AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

LEVANTAMENTO DA ENTOMOFAUNA E MICOBIOTA DE GRÃOS DE *Phaseolus vulgaris* L. E *Vigna unguiculata* L. TRATADOS PELO PROCESSO DE IRRADIAÇÃO

FABRICIO CALDEIRA REIS

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

**Orientador:
Prof. Dr. Valter Arthur**

**São Paulo
2018**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**LEVANTAMENTO DA ENTOMOFAUNA E MICOBIOTA DE GRÃOS DE *Phaseolus*
vulgaris L. E *Vigna unguiculata* L. TRATADOS PELO PROCESSO
DE IRRADIAÇÃO**

FABRICIO CALDEIRA REIS

**Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Aplicações**

**Orientador:
Prof. Dr. Valter Arthur**

Versão Corrigida

**São Paulo
2018**

“Aos meus pais **Geraldo Robinson dos Reis** e
Maria Beatriz Caldeira Reis (*in memoriam*)

Por tudo”.

“À minha noiva **Adriana Maria Vieira Jorge**

pelo amor, carinho e incentivo na busca do conhecimento”.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Valter Arthur do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP pela oportunidade, orientação e confiança depositada.

Ao Dr. Marcos Roberto Potenza (IB/APTA) por apoiar cada etapa desta pesquisa contribuindo com conhecimento teórico e prático.

À Profa. Dra. Simone Aquino agradeço pelos ensinamentos sobre micologia, técnicas laboratoriais, padronização de metodologia, incentivo e sábias palavras sobre os caminhos da vida.

A Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN pela concessão da bolsa de estudo viabilizando a conclusão deste trabalho.

Pela oportunidade sou grato à cada membro do corpo docente, direção e a administração do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares IPEN-CNEN.

Agradeço ao Dr. Pablo Antônio Vásquez Salvador (IPEN/CNEN-SP) pela irradiação dos materiais. Também sou grato à Pesquisadora Teresa Jocys e ao técnico agrícola José Edvaldo de Almeida (IB/APTA), que apoiaram cada etapa da pesquisa e contribuíram com a coleta das amostras.

Aos meus amigos Msc. Márcio Martins de Araújo pelos ensinamentos e apoio na manutenção das criações entomológicas, Valéria Del Valle Veiga e Marcos Miada pelo auxílio na língua inglesa.

A toda equipe do Laboratório de Pragas em Horticultura (IB/APTA) que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

RESUMO

REIS, F. C. **Levantamento da entomofauna e micobiota de grãos de *Phaseolus vulgares* L. e *Vigna unguiculata* L. tratados pelo processo de irradiação.** 2018. 105 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

No presente trabalho realizou-se o levantamento da entomofauna e fungos associados a grãos de *P. vulgares* e *V. unguiculata* comercializados na cidade de São Paulo, avaliou-se a presença de fungos no corpo dos artrópodes identificados nas amostras de *P. vulgares* L. e *V. unguiculata* L., avaliou-se a atividade de água das amostras e estudou-se os efeitos do processo de irradiação na desinfestação de artrópodes e na redução da carga fúngica em grãos de *P. vulgares* e *V. unguiculata*. As amostras foram coletadas no comércio varejista em diferentes regiões da cidade São Paulo/SP. Foi adquirido 1 kg de 11 diferentes variedades entre *P. vulgares* (Branco, Bolinha, Carioca, Jalo, Preto, Rajado, Rosinha, Roxo e Vermelho) e *V. unguiculata* (Fradinho, Corda). As amostras foram desinfetadas em hipoclorito de sódio (0,5 %), enxaguadas em água destilada e distribuídos 10 grãos por placa de Petri em duplicata, contendo agar Batata Dextrose. As placas foram incubadas por 5 dias na temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, em incubadora (B.O.D.). O mesmo procedimento de plaqueamento foi realizado para os insetos isolados das amostras. No irradiador multipropósito ^{60}Co IPEN/CNEN/SP as amostras foram irradiadas com doses de 5 e 10 kGy e os insetos foram submetidos a doses crescentes de 0 a 3,4 kGy. Diversos gêneros fúngicos foram isolados independentemente da variedade analisada. Foi constatada presença de fungos associados a insetos em todas as amostras analisadas. A dose recomendada para letalidade imediata e simultânea nas espécies *Callosobruchus maculatus*, *Acanthoscelides obtectus* e *Zabrotes subfasciatus* foi de 3,0 kGy. As doses de 5 e 10 kGy são capazes de reduzir, porém não eliminam a carga fúngica dos feijões analisados. Os valores obtidos na análise de atividade de água (Aa) situaram-se abaixo do limite ideal para crescimento fúngico diretamente nos grãos.

Palavras-chave: Fungos, insetos, feijão e irradiação de alimentos

ABSTRACT

REIS, F. C. **Study of entomofauna and mycobiota in grains of *Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. treated by gamma-irradiation process.** 2018. 105 p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

In this study we evaluated the entomofauna and fungi associated with *Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* L. found in the market in São Paulo city, measured the presence of fungi in arthropod bodies from samples of *P. vulgaris* L. and *V. unguiculata* L., examined water activity from the samples and studied the effects of irradiation for arthropod deinfestation and fungal load reduction in *P. vulgaris* L. and *V. unguiculata* L. grains. The samples were collected in different retailers within São Paulo city. One kilogram of 11 several varieties of beans were purchased. Sodium hypochlorite (0,5 %) were used for sample disinfection, washed in distilled water and distributed 10 beans per Petri dish in Potato Dextose Agar medium. Dishes were incubated at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ for 5 days. The same procedure was adopted for the insects found in the samples. Samples were irradiated at 5.0 kGy and 10,0 kGy and the insects in dose range from 0 to 3,4 kGy, in the multipurpose gamma-irradiator ^{60}Co IPEN/CNEN/SP. Several fungal genera were isolated independently of bean type. It was verified the presence of fungi related to insects in all samples. The recommended dose for immediate and simultaneous lethality was 3,0 kGy in *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* species. The 5,0 kGy and 10,0 kGy doses can reduce but cannot eliminate the fungal load at all. The values obtained in the water activity (A_w) analysis were below the ideal condition for fungal growth on grain.

Key words: Fungi, insects, beans and food irradiation

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	17
2.1	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1	Classificação e origem.....	18
3.2	Importância social e econômica do feijão	19
3.3	Aspectos no Armazenamento de grãos de feijões.....	21
3.4	Principais insetos presentes no período de armazenamento	22
3.5	Contaminação fúngica no período de armazenamento.	24
3.6	Influência da atividade de água no desenvolvimento de fungos	26
3.7	Radiação gama na conservação de alimentos	28
3.8	Efeitos físico-químicos e nutricionais em feijões irradiados.	31
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1	Coleta das amostras	33
4.2	Coleta dos insetos presentes nas amostras	34
4.3	Isolamento da microbiota fúngica das amostras.....	35
4.4	Isolamento da microbiota fúngica dos insetos presentes nas amostras.	36
4.5	Irradiação das amostras	36
4.6	Determinação da dose letal imediata.....	36
4.7	Determinação de atividade de água (Aa).....	37
4.8	Análise estatística	37
5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	38
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6.1	Levantamento da entomofauna	39

6.2 Avaliação da presença de fungos em insetos.....	43
6.3 Determinação da dose Letal imediata.....	52
6.4 Redução da carga fúngica em grãos de <i>Phaseolus vulgares</i> L. e <i>Vigna unguiculata</i> L.	54
6.5 Determinação da atividade de água (Aa).....	83
7 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais insetos presentes no período de armazenamento de <i>P. vulgaris</i> e <i>V.unguiculata</i> . A- <i>Zabrotes subfasciatus</i> vista dorsal. B- <i>Acanthoscelides obtectus</i> vista dorsal. C- <i>Callosobruchus maculatus</i> vista dorsal.	24
Figura 2 - Influência combinada da atividade da água e do pH no crescimento microbiano.....	27
Figura 3 - Locais de coleta das amostras.....	33
Figura 4 - Materiais utilizados na coleta de insetos presentes nas amostras. A – Aspirador entomológico, B – Peneira, C – Acondicionamento das amostras. .	34
Figura 5 - Isolamento da microbiota fungicadas amostras. A - Amostras, B - Desinfestação em hipoclorito, C – Plaqueamento das amostras, D - Amostras plaqueadas, E - Microcultivo.	35
Figura 6 - Equipamento do Laboratório De Química e Farmacologia De Produtos Naturais IB/APTA.	37
Figura 7 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Bolinha (Controle).....	54
Figura 8 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Bolinha (5 kGy).....	54
Figura 9 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Bolinha (10 kGy).....	55
Figura 10 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Bolinha.	55

Figura 11 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Branco (Controle).....	56
Figura 12 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Branco (5 kGy).....	57
Figura 13 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Branco (10 kGy).....	57
Figura 14 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Branco.....	58
Figura 15 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Carioca (Controle).....	59
Figura 16 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Carioca (5 kGy).....	59
Figura 17 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Carioca (10 kGy).....	60
Figura 18 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Carioca.....	60
Figura 19 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Corda (Controle).....	61
Figura 20 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Corda (5 kGy).	62

Figura 21 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Corda (10 kGy).	62
Figura 22 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Corda.	63
Figura 23 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Fradinho (Controle).	64
Figura 24 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Fradinho (5 kGy).....	64
Figura 25 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Fradinho (10 kGy).....	65
Figura 26 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Fradinho.	65
Figura 27 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Jalo (Controle).	66
Figura 28 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Jalo (5 kGy).	67
Figura 29 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Jalo (10 kGy).....	67
Figura 30 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Jalo.	68

Figura 31 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Preto (Controle).	69
Figura 32 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Preto (5 kGy).....	69
Figura 33 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Preto (10 kGy).....	70
Figura 34 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Preto.	70
Figura 35 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Rajado (Controle).....	71
Figura 36 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Rajado (5 kGy).....	72
Figura 37 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Rajado (10 kGy).....	72
Figura 38 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Rajado.....	73
Figura 39 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Rosinha (Controle).....	74
Figura 40 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Rosinha.....	74

Figura 41 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Roxo (Controle).....	75
Figura 42 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Roxo (5 kGy).....	76
Figura 43 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Roxo (10 kGy).....	76
Figura 44 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Roxo.....	77
Figura 45 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Vermelho (Controle).....	78
Figura 46 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Vermelho (5 kGy).....	78
Figura 47 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade de Vermelho (10 kGy).....	79
Figura 48 - Distribuição de espécies de fungos pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Vermelho.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de insetos (0 e 45 dias) e porcentagem de infestação nos diferentes variedades de <i>Phaseolus vulgares</i> L. e <i>Vigna unguiculata</i> L.	39
Tabela 2 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Preto.	43
Tabela 3 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Rajado.	44
Tabela 4 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Carioca.	44
Tabela 5 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Bolinha.	45
Tabela 6 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Fradinho.	46
Tabela 7 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Rajado.	47
Tabela 8 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Vigna unguiculata</i> . Variedade Corda.	47
Tabela 9 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Jalo.	48
Tabela 10 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Rosinha.	48
Tabela 11 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de <i>Phaseolus vulgaris</i> . Variedade Roxo.	49

Tabela 12 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Vermelho.49

Tabela 13 - Estimativa da dose letal DL_{50} (kGy), DL_{90} (kGy), intervalo de confiança (I.C.) a 95%; coeficiente angular, erro-padrão da média (EP); Qui-quadrado (χ^2) e graus de liberdade (G.L.) *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus*.52

Tabela 14 - Indivíduos adultos de *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* expostos a doses crescentes de radiação gama (CO^{60}). Número médio de mortalidade imediata (N^*) e eficiência (% Ef^{**}).53

Tabela 15 - Atividade de água de diferentes variedades de *P. vulgaris* e *V. unguiculata* (Controle, 5 e 10 kGy) adquiridas no comércio varejista da cidade de São Paulo.83

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Brasil perante o mercado externo de comercialização de feijão. ...21

Quadro 2 - Atividade de água para crescimento e para produção de toxina de alguns fungos filamentosos.....27

Quadro 3 - Composição centesimal média (g/100g) em base seca do feijão cru.
.....31

1 INTRODUÇÃO

Feijão é o nome comum dado para determinar sementes que pertencem a gêneros da família Fabaceae, contendo nutrientes como proteínas, ferro, cálcio, vitaminas, carboidratos e fibras (TARTARIN, 2016).

A cultura do feijoeiro apresenta uma ampla diversidade nos tipos de grãos, forma, tamanho e cores. Atualmente estão disponíveis no mercado inúmeras variedades comerciais, o que permite o seu cultivo por todo o país (BARROSO et al., 2007).

MARTÍN-CABREJAS et al. (1997), explicam que anualmente a produção de feijão sofre perdas significativas quando são submetidos à estocagem em condições ambientais de altas temperaturas, alta umidade relativa do meio e tempo de armazenamento prolongado, tornando-os susceptíveis aos fenômenos de endurecimento, infestação de insetos, mudanças de textura, cor e sabor, degradação de fitatos e metionina, contribuindo para o aumento do tempo de cocção.

Os produtores de feijão buscam novas opções de armazenamento que mantenham melhor a qualidade, não somente da semente para utilização no plantio, mas também dos grãos de feijão destinados ao mercado para consumo (BRAGANTINI, 2005).

Os grãos de feijão armazenados são atacados principalmente pelos carunchos *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann) e *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (BOTELHO, 2002). Além dos prejuízos causados nos grãos, os insetos podem atuar como vetores mecânicos de fungos, sendo o controle de ambas medidas importantes na segurança e qualidade dos grãos armazenados (AQUINO e POTENZA, 2013).

Segundo MAZIERO e BERSOT (2010), o ambiente tropical favorece o desenvolvimento e a proliferação da maioria dos fungos com importância na agropecuária e o melhor método para controlar a contaminação de micotoxinas em alimentos é prevenir o crescimento de fungos através da adoção de boas práticas de produção de alimentos. O processo de irradiação pode ser utilizado na conservação de alimentos, redução de perdas pós-colheita, desinfestação de cereais, grãos e leguminosas, controle de microrganismos patogênicos,

aumento do tempo de prateleira de frutas, vegetais, raízes e tubérculos, entre outros (DIEHL, 2002).

Os custos estimados em relação aos benefícios da irradiação comercial mostram ser competitivos em comparação aos tratamentos físicos e térmicos (VILLAVICENCIO, 1998). CATTARUZZI (2012), relata que utilizando um irradiador de Cobalto 60 (^{60}Co) com doses baixas (até 1kGy), o custo varia entre R\$ 20,00 e R\$ 30,00 por tonelada, já utilizando doses altas (mais de 10 kGy), o custo varia entre R\$ 200,00 e R\$ 500,00 por tonelada de alimento.

Em função do elevado número de perdas e da expansão das áreas de produção do feijão, existe a necessidade do desenvolvimento de técnicas frente aos problemas que ocorrem no período de armazenamento. Para tanto, a metodologia de irradiação vem sendo aplicada em feijões e outros grãos. Sendo assim, torna-se essencial o conhecimento desta técnica e os efeitos em fungos, insetos e no próprio grão.

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer o prognóstico das condições fitossanitárias de diferentes variedades de feijão comercializadas no mercado varejista da cidade de São Paulo.

2.1 Objetivos específicos

- Realizar um levantamento da entomofauna e fungos associados a *P. vulgares* e *V. unguiculata* comercializados na cidade de São Paulo.
- Avaliar a presença de fungos no corpo dos artrópodes identificados nas amostras de *P. vulgares* e *V. unguiculata*.
- Avaliar a atividade de água das amostras comercializadas no mercado varejista.
- Avaliar os efeitos do processo de irradiação na desinfestação de artrópodes e na carga fúngica em grãos de *P. vulgares* e *V. unguiculata*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Classificação e origem

O feijão-caupi é descrito como uma dicotiledônea pertencente à ordem *Fabales*, família *Fabaceae*, subfamília *Faboideae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, secção *Catianga* e espécie *Vigna unguiculada* (L.) Walp. Já o feijão-comum pertence à família *Fabaceae*, tribo *Phaseoleae*, subtribo *Phaseolinae*, gênero *Phaseolus* e espécie *Phaseolus vulgaris* L. (VIJAKUMAR et al., 2010).

Segundo regulamento técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2008), somente as espécies *P. vulgaris* e *V. unguiculata*, feijão comum e feijão-caupi, respectivamente, são consideradas como feijão.

No Brasil, o feijão é classificado em dois grupos perante o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: I e II. Dentro do grupo I, está o feijão-comum, que pertence à espécie *P. vulgaris*. No grupo II encontra-se o feijão-caupi (feijão-de-corda ou feijão-macassar), que pertence à espécie *V. unguiculata* (GONZAGA, 2014).

A origem evolutiva do gênero *Phaseolus* e sua diversificação primária ocorreram nas Américas (DEBOUCK, 1991). Populações selvagens de feijão crescem desde o norte do México até o norte da Argentina, em altitudes entre 500 e 2.000 metros e não são encontradas naturalmente no Brasil (DEBOUCK, 1986). De acordo com HANCOOK (2004), *P. vulgaris* teria se disseminado nas Américas do Norte e do Sul durante milhares de anos e nos últimos 10.000 anos teria adquirido características provocadas pela sua domesticação como o desenvolvimento de vagens mais persistentes.

A dispersão dentro das regiões de domesticação provocou uma redução da diversidade genética em decorrência dos efeitos da deriva genética e pressão para adaptação às novas condições ambientais propicia ao cultivo e ao consumo humano (GEPTS, 1998).

Segundo FREIRE FILHO (1988), o feijão-caupi, cultura de origem africana, foi introduzido na América Latina, no século XVI, pelos colonizadores espanhóis e portugueses e em seguida no Brasil, provavelmente no estado da

Bahia, se expandindo posteriormente para outras áreas do Nordeste e em seguida para outras regiões do país.

Dentre os diferentes produtos agrícolas encontrados nas regiões tropicais, o caupi se destaca pelo alto valor nutritivo, além do baixo custo de produção. É amplamente cultivado pelos pequenos produtores, constituindo um dos principais componentes da dieta alimentar, especialmente na zona rural (ANDRADE JUNIOR et al., 2002).

ANDRADE JUNIOR et al. (2002) afirmam que o mercado do feijão-caupi se restringe a grãos secos, grãos verdes (hidratados) e sementes, havendo já algumas iniciativas para o processamento industrial, para produção de farinha e produtos pré-cozidos e congelados. O mercado ainda tem contornos regionais, concentrando-se, principalmente, nas regiões Nordeste e Norte, tendo indícios de expansão da cultura para a região Sudeste, principalmente no norte de Minas Gerais e Rio de Janeiro.

3.2 Importância social e econômica do feijão

A cultura do feijão ocupa lugar de destaque na agricultura brasileira, tanto em área plantada como em volume de produção, além de ser importante na ocupação de mão de obra. Desde a colonização é cultivado, sendo um componente importante na dieta básica da população brasileira (LOLLATO et al., 2001).

Características técnicas, agronômicas e culturais credenciam a cultura do feijão como excelente alternativa de exploração agrícola para pequenas propriedades. No Brasil, dados do Censo Agropecuário de 2006 atribuem à agricultura familiar quase 70 % da produção nacional de feijão, o que reforça sua vocação para produção em pequena escala (POSSE et al., 2010).

A primeira safra, ou “safra das águas” (também chamada de “safra do Sul e Sudeste”), é colhida a partir de novembro até março, com maior intensidade em dezembro; a semeadura geralmente é feita entre agosto e outubro, podendo se estender até novembro e dezembro. A 2ª safra, ou “safra da seca” (também chamada de “safra do Nordeste e Sudeste”), é colhida de

abril-maio até junho-julho; nesse caso, a semeadura é feita entre janeiro e abril. A 3ª safra, ou “safrinha”, também é conhecida como “safra de outono-inverno”, “safra do Sudeste” e “safra irrigada”; a semeadura é feita a partir de maio, com a colheita entre agosto e outubro (SILVA e WANDER, 2013; POSSE et al., 2010).

O feijão representa uma das mais importantes fontes proteicas na dieta humana em países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais. O maior consumo desse produto ocorre nas Américas (41,7 %), seguindo-se a Ásia (34,2 %), a África (18,6 %), a Europa (3,8 %) e a Oceania (0,1 %) (FAO, 2018).

Atualmente a cultura do feijão está se expandindo sentido a região do centro oeste para fins de exportação. Considerando as três safras de 2017, a área total de feijão no Brasil foi 3.179,8 mil hectares cultivados, acréscimo de 12,1 % em relação à safra passada, sendo 1.446,8 mil hectares com feijão-comum cores, 323,7 mil hectares com feijão-comum preto e 1.409,3 mil hectares com feijão-caupi. A produção nacional de feijão foi de 3.418,3 mil toneladas, 36 % maior que a última temporada, sendo parte da produção destinada para exportação (Quadro 1) (CONAB, 2017).

Conforme os dados registrados pela Conab em 2013, a produção mundial de feijão situou-se em torno de 23,1 milhões de toneladas. Os seis principais países produtores de feijão, que juntos são responsáveis por cerca de 60% da produção mundial, são: Brasil, Índia, Myanmar, China, EUA e México (CONAB, 2016).

A Pesquisa Nacional de Saúde – PNS (IBGE, 2014) classificou o consumo regular de feijão, dentre outros alimentos, como marcador de padrão saudável. Ricos em proteínas, carboidratos, fibra, vitaminas e minerais e baixo teor de gordura e o não consumo está diretamente ligado com diversos problemas de saúde pública, destacando-se a hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo 2 e obesidade (GEIL e ANDERSON, 1994).

Quadro 1 - Brasil perante o mercado externo de comercialização de feijão.

País de destino	ton.	País de origem	ton.
Egito	15.691	China	227.246
Índia	9.690	Argentina	46.445
Paquistão	2.540	Bolívia	28.962
Portugal	1.213	Países baixos	499
Indonésia	981	Suíça	480

Fonte: FAO, (2018).

3.3 Aspectos no armazenamento de grãos de feijões

A estocagem de grãos de feijão em condições inadequadas de temperatura e umidade relativa do ar resulta na alteração de cor, textura, sabor, aumento do tempo de cozimento e aumento na dureza final dos grãos devido ao efeito *hard-to-cook* (HTC), podendo também alterar algumas características nutricionais do alimento (YOUSIF et al., 2002; REYES-MORENO et al., 1993).

Para BRAGANTINI (2005), a causa mais frequente de perdas no armazenamento é o ataque de insetos, fungos e roedores, podendo ocorrer diminuição das qualidades intrínsecas como a aparência e o sabor.

AFONSO JÚNIOR e CORRÊA (2000), analisaram os efeitos imediatos e após 6 meses de diferentes combinações de temperatura do ar de secagem e o grau de umidade na colheita sobre a qualidade fisiológica da semente de feijão colhida com diferentes níveis de umidade, correlacionando esses fatores com testes de suscetibilidade a danos mecânicos. A qualidade fisiológica e a suscetibilidade a danos mecânicos foram inversamente relacionadas com a temperatura do ar de secagem e com o grau de umidade do produto na colheita.

SILVA et al. (2000), descreveram a aeração como uma técnica muito utilizada para a prevenção de problemas associados à conservação dos grãos armazenados, tendo como principais objetivos: resfriar, uniformizar a temperatura, prevenir o aquecimento e o umedecimento e promover remoção

de odores na massa de grãos. Segundo BRAGANTINI (2005), o controle de temperatura reduz a atividade de água e inibe o desenvolvimento de microrganismos e de insetos-praga.

O armazenamento de feijão é feito, geralmente, em condições ambientais não controladas (VIEIRA e YOKOYAMA, 2000). SANTOS et al. (2005) observaram que a enzima esterase tem aumento de atividade durante o armazenamento não controlado, comprometendo a qualidade do grão.

3.4 Principais insetos presentes no período de armazenamento

Originário da América Central, *Z. subfasciatus* se tornou praga agrícola, quando se estabeleceu em grãos armazenados. Dispersou-se pelas regiões tropicais e subtropicais por meio do comércio de sementes e, atualmente, está presente nas Américas Central e do Sul, África, Índia e Região Mediterrânea (SOUTHGATE, 1978; HILL, 1990).

Zabrotes subfasciatus (Fig. 1) caracteriza-se por ser uma praga primária e só infesta os grãos após a colheita, no armazenamento do feijão (PACHECO e PAULA, 1995). A fêmea tem coloração marrom e difere do macho por ser maior e apresentar quatro manchas de cor creme nos élitros. Coloca, em média, 36 ovos aderidos firmemente nas sementes (QUINTELA, 2015). Os adultos apresentam longevidade média de $9,4 \pm 1,54$ dias para as fêmeas e $13,3 \pm 2,51$ dias para os machos e o ciclo evolutivo de $28,9 \pm 8,5$ dias (SARI et al. 2003).

As fêmeas precisam de um contato direto com os grãos para estimular a produção ovariana (CREDLAND e DENDY, 1992). A deposição dos ovos pode ser influenciada também pelo grau de infestação, pois em infestações de pouco substrato e um alto número de indivíduos, as fêmeas adotam estratégias para haver competição por alimentos entre as larvas depositando muitos ovos em um único grão (TEIXEIRA e ZUCOLOTO, 2012).

Acanthoscelides obtectus é o principal caruncho do feijoeiro nas regiões temperadas em clima ameno e pode iniciar o ataque antes da colheita do feijão, inserindo os ovos nas vagens (QUINTELA, 2015). A possível origem da espécie indica para regiões equatoriais da América Latina, disseminando-se

junto com as culturas de *P. vulgaris* pelo continente Americano, Europa e África (HUIGNARD, 1979).

Os adultos medem de 2 mm a 4mm de comprimento, apresentam coloração pardo-escuros, com pontuações avermelhadas no abdome, pernas e antenas e os fêmures posteriores possuem um largo espinho ventral (LORINI et al., 2010). As fêmeas são maiores e possuem curvatura da extremidade do pigídio menos acentuado com inclinação oblíqua (MAZZONETTO, 2002).

As condições ambientais para um ótimo desenvolvimento são: temperatura a 30° C e 70 a 80 % de umidade relativa. Nestas condições o tempo de desenvolvimento do ovo ao adulto dura em média 27,5 dias e a longevidade dos adultos é de 11,8 dias (PACHECO e PAULA, 1995; PEREIRA e SALVADORI, 2006).

Callosobruchus maculatus, originário da África está distribuído em todas as regiões tropicais e subtropicais, sendo importante praga de *V. unguiculada*, podendo promover infestações cruzadas entre campo e armazém. Os adultos possuem aproximadamente 3 mm de comprimento, corpo oval, cabeça defletida sob o protórax, rostro curto e achatado. Os élitros, de coloração amarronzada em forma de “X”, são curtos deixando o pigídio exposto (PACHECO e PAULA, 1995).

A infestação por *C. maculatus* pode se iniciar no campo, as fêmeas ovipositam em média 80 ovos, os quais são depositados na superfície dos grãos. Após a eclosão, as larvas penetram nas sementes onde se alimentam dos cotilédones formando galerias até atingirem a fase de pupa no seu interior. (QUINTELA et al., 1991). As condições ideais para o desenvolvimento são 32,5 °C de temperatura e umidade relativa de 90 %. O período médio de desenvolvimento entre ovo e adulto é de 23 dias (PACHECO e PAULA, 1995).

Figura 1 - Principais insetos presentes no período de armazenamento de *P. vulgaris* e *V. unguiculata*. A - *Zabrotes subfasciatus* vista dorsal. B - *Acanthoscelides obtectus* vista dorsal. C - *Callosobruchus maculatus* vista dorsal.

Fonte: Padil, 2018.

3.5 Contaminação fúngica no período de armazenamento

MAIA e CARVALHO JUNIOR (2010), descrevem os fungos como microrganismos heterotróficos unicelulares ou pluricelulares, estes últimos caracterizados pela formação de estruturas filamentosas, as hifas, que constituem o micélio. Na fase reprodutiva, o micélio forma estruturas assexuadas e/ou sexuadas que originam os esporos, principais responsáveis pela propagação das espécies.

No armazenamento, além das alterações decorrentes do metabolismo do próprio grão, há o metabolismo de microrganismos associados, principalmente fungos, cujos principais danos causados são mudanças de coloração do grão, desgaste das reservas nutritivas, alterações na estrutura de carboidratos, lipídeos, proteínas e vitaminas, produção de toxinas, aquecimento da massa de grãos e presença dos próprios microrganismos (FAGUNDES et al. 2005).

Os fungos presentes no período de armazenamento de grãos compreendem principalmente espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* podendo estar presentes como contaminantes, ou na forma de micélios dormentes entre os tecidos do pericarpo ou do tegumento das sementes, podendo se desenvolver e provocar danos aos grãos (DHINGRA, 1985; MACHADO, 2000).

De acordo com CARVAJAL e ARROYO (1997), os fungos potencialmente capazes de produzir micotoxinas, metabólitos secundários tóxicos, são denominados toxigênicos, e podem contaminar os grãos no campo, antes mesmo da colheita ou durante o armazenamento, persistindo em alimentos e rações destinados ao consumo humano e de animais.

O termo micotoxina é derivado da palavra grega “*mykes*” que significa fungo e do Latim “*toxican*” que significa toxinas. O termo é usado para designar um grupo de compostos produzidos por algumas espécies de fungos durante seu crescimento, podendo causar doenças ou morte quando ingeridas pelo homem ou animais. As micotoxinas são contaminantes naturais de difícil controle em alimento. Estima-se que cerca de 25 % de todos os produtos agrícolas do mundo estejam contaminados por tais substâncias (BENETT e KLICH, 2003).

Segundo IAMANAKA et al. (2010), a produção de micotoxinas depende do crescimento fúngico, portanto pode ocorrer em qualquer época do crescimento, colheita, ou estocagem do alimento. Contudo, o crescimento do fungo e a presença de toxinas não são sinônimos, porque nem todos os fungos produzem toxinas. Por outro lado, as micotoxinas podem permanecer no alimento mesmo após a destruição dos fungos que as produziram.

A espécie *A. flavus* produz aflatoxinas B1 e B2, enquanto *A. parasiticus* produz as aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 (MOSS, 1991). A toxicidade das aflatoxinas decresce na ordem B1>B2>G1>G2 (SCUSSEL, 2005). A toxina B1 é a mais tóxica das toxinas, causando uma variedade de efeitos adversos e, em alguns casos, podem ser letais em animais e humanos, sendo considerada pelo IARC (2002) “*International Agency for Research on Câncer*” como pertencente à classe 1, composto carcinógeno para humanos.

A magnitude das perdas econômicas devido às micotoxinas embora não seja totalmente visível, implica um custo em vários níveis, como por exemplo:

- (i) Perdas diretas de produtos agrícolas;
- (ii) Perdas de animais acompanhadas de diversas taxas de morte;
- (iii) Doenças humanas;
- (iv) Diminuição da velocidade de crescimento em animais;

(v) Custos indiretos dos sistemas de controle existentes para algumas micotoxinas;

(vi) Rejeição de produtos pelo mercado importador;

O melhor método para controlar a contaminação de micotoxinas em alimentos é prevenir o crescimento de fungos através da adoção de boas práticas de produção de alimentos (MAZIERO e BERSOT, 2010).

3.6 Influência da atividade de água no desenvolvimento de fungos

Segundo SCOTT (1957), a água presente nos alimentos pode apresentar-se na forma de molécula livre ou ligada ao substrato. A atividade de água (A_a) (Quadro 2) é um dos fatores intrínsecos dos alimentos, sendo uma medida qualitativa que possibilita avaliar a disponibilidade de água livre, que é suscetível a diversas reações. Já o teor de umidade é uma medida quantitativa que determina o percentual em peso de toda água presente no alimento, tanto livre quanto ligada.

A água livre que, não se encontra ligada com as moléculas constituintes do produto, está disponível para as reações físicas, químicas e biológicas, tornando-se o principal responsável pela deterioração dos alimentos (WELTI e VERGARA, 1997).

NORTHOLT et al. (1997) verificaram que a atividade de água (A_a) do substrato desempenha papel importante no crescimento fúngico e na produção de micotoxinas. Os valores de A_a oscilam entre 0 e 1, sendo que a A_a da maioria dos alimentos frescos é superior a 0,99.

Quadro 2 - Atividade de água (Aa) para crescimento e para produção de toxina de alguns fungos filamentosos.

Microrganismo	Aa mínima	
	Crescimento	Produção de toxina
<i>Aspergillus clavatus</i>	0,85	0,99 (patulina)
<i>Aspergillus flavus</i>	0,78	0,83-0,87 (aflatoxina)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,83	0,85 (ocratoxina)
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,82	0,87 (aflatoxina)
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,87	0,97 (ácido pinicílico)
<i>Penicillium expansum</i>	0,83 – 0,85	0,99 (patulina)
<i>Penicillium patulum</i>	0,83 – 0,85	0,95 (patulina)
<i>Penicillium viridicatum</i>	0,83	0,83-0,86 (ocratoxina)

Adaptado de Larry e Beuchat (1993).

Os fungos são os microrganismos mais resistentes à diminuição da atividade de água, sendo os principais responsáveis pela deterioração de alimentos na faixa de Aa de 0,61-0,70, isso se deve ao fato de que nessa faixa não há competição com bactérias (LARRY e BEUCHAT, 1993).

Figura 2 - Influência combinada da atividade da água e do pH no crescimento microbiano.

Adaptado de Pitt e Hocking 2009.

3.7 Radiação gama na conservação de alimentos

A irradiação de alimentos possui a capacidade de destruir patogênicos e deteriorantes presentes nos alimentos. É empregada, ainda, para eliminar insetos e retardar o processo germinativo em produtos vegetais. Desta forma, há um aumento na segurança dos alimentos destinados ao consumo humano e uma redução nas perdas (RESURRECCION, 1995).

Segundo SILVA et al. (2010), a irradiação dos alimentos é realizada em áreas apropriadas (planta estrutural de Cobalto-60), providas de sala de irradiação, piscina de armazenamento, sistema transportador, console de controle e depósito para separar o material irradiado. Os alimentos a serem irradiados são conduzidos ao interior da câmara de irradiação, recebendo a dosagem de radiação gama adequada, a qual foi pré-calculada em função da taxa de dose, isto é, quantidade de radiação por tempo.

A quantificação das doses de radiação é feita em função da energia absorvida pelo produto irradiado. A unidade de medida utilizada é o Gray (Gy) ou quilogray (kGy), sendo que um Gray equivale a um Joule de energia por quilograma de alimento irradiado (WALDER; CAMARGO, 2007).

A legislação brasileira segue as recomendações internacionais sugeridas pela *Food and Agriculture Organization* (FAO), *International Atomic Energy Agency* (IAEA) e *Codex Alimentarium*, da Organização das Nações Unidas (ONU).

Em 26/01/2001, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (ANVISA), aprovou a Resolução (RDC) nº 21, que não restringe quais alimentos podem ser irradiados e nem a dose máxima absorvida para se obter o fim desejado, desde que não haja prejuízo nas suas qualidades funcionais e sensoriais.

Segundo a RDC nº 21, qualquer alimento pode ser irradiado desde que sejam observadas as seguintes condições:

- a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida;
- a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometa as propriedades funcionais e/ou atributos sensoriais dos alimentos;

- a embalagem deve ter condições higiênicas aceitáveis para o processo de irradiação.

A RDC nº 21 estabelece ainda que, quando um produto irradiado é usado como ingrediente em outro alimento, este fato deve ser mencionado na embalagem final, indicando que o alimento foi tratado pelo processo de irradiação, sendo o símbolo da “radura” opcional (LEAL et al., 2004).

De acordo com NEVES et al. (2002), no processo de irradiação de alimentos, apenas os raios gama entram em contato com o produto sem qualquer risco de contaminação radioativa. O uso da técnica de irradiação para a conservação de alimentos, por si só, não soluciona todos os problemas de perdas. Ao contrário dos métodos químicos convencionais, a irradiação não apresenta efeitos residuais, devendo preservar o alimento em condições assépticas após ser irradiado para evitar nova contaminação microbiana (GCIIA, 1990).

A primeira utilização de radiações ionizantes com resultados promissores no controle das pragas foi realizada por RUNNER (1916), que aplicou raios X para controlar a espécie de *Lasioderma serricorne*. No entanto, o grande avanço nesse tipo de pesquisa só ocorreu a partir de 1950, devido a alguns fatores como: a descoberta da resistência de certas pragas aos produtos químicos e os problemas toxicológicos causados por estes produtos. O processo de irradiação pode solucionar esses tipos de problemas, uma vez que não induz o processo de resistência e nem deixa resíduos (HOSSAIN et al., 1972; ARTHUR et al., 1973).

A irradiação de alimentos, além de auxiliar no controle de pragas, também atua na conservação dos alimentos, trata-se de uma tecnologia moderna, limpa e avançada, tornando-se uma alternativa promissora.

Entre os tratamentos utilizados para desinfestação de grãos, a radiação gama vem se destacando pela sua eficiência, uma vez que o substrato tratado pela radiação ionizante recebe a dose que inibe a reprodução ou provoca a morte dos insetos (ARTHUR, 1997). Conforme AHMED (2001), a desinfestação da maioria dos alimentos secos, através da irradiação, pode ser alcançada com doses muito baixas (até 1 kGy), porém, a sensibilidade a radiação, varia conforme a ordem do inseto, como para estágios de desenvolvimento do insetos.

A aplicação de doses entre 2 e 7 kGy de radiação de ^{60}Co resulta em uma destruição considerável de microrganismos presentes nos alimentos, praticamente eliminando os patógenos (WHO, 1994). Outra constatação importante foi realizada por SALEH et al. (1996) e ABD EL-AAL et al. (1997) que observaram os efeitos da radiação gama em fungos, aplicando doses entre 4 e 6 kGy, visando uma completa inibição do fungo em diferentes alimentos.

Entretanto, já foram descritos mecanismos de reparo do DNA, envolvidos na resistência à radiação ionizante e, entre os microrganismos que demonstram tal habilidade, estão incluídos alguns fungos (BORECHAM e MITCHEL, 1994).

Outros autores relacionam o aumento da radiorresistência de microrganismos com o aumento das duplas ligações *carbono-carbono* na membrana lipídica, uma vez que os fosfolipídios são essenciais tanto na estrutura como na função da membrana celular (REDPATH e PATTERSON, 1978). ABOU SHADY et al. (1992) concluíram que a resistência à radiação é proporcional à concentração total de lipídios, em células bacterianas. As paredes celulares dos fungos contêm apreciáveis frações de lipídios (até 20 %) como no caso de algumas espécies de *Aspergillus* (HARWOOD e RUSSEL, 1984). AZIZ et al. (1997) relacionam a radiorresistência de esporos com a porcentagem dos lipídeos totais do micélio. Os mesmos autores relataram que a quantidade de lipídios no micélio de *A. flavus* é de 7,8 %.

SALAMA et al. (1977) relataram que a variação na resistência fúngica à radiação é também devido ao conteúdo de água no micélio e a produção de radioprotetores químicos naturais. Os fungos elaboram numerosos produtos metabólicos como álcoois, ácidos, enzimas, pigmentos corantes, polissacarídeos, esteróis e alguns produtos de natureza complexa como ergotina, antibióticos como penicilina, notatina, flavicina, fumigacina e espinosilina.

A literatura ainda aponta que tais constituintes intracelulares fúngicos (compostos sulfídricos, pigmentos, aminoácidos, proteínas e ácidos graxos) são os responsáveis pela radiorresistência (AZIZ et al., 1997; SILVEIRA, 1995). AQUINO et al. (2010) observaram que 15 % das amostras irradiadas de boldo, tratadas com a dose de 5 kGy, apresentaram

contaminação fúngica, cujo fungo que apresentou crescimento ou radorresistência foi *A. flavus*. Entretanto, um fator que contribui para o efeito da radiação ionizante é o conteúdo de água disponível no meio.

3.8 Efeitos físico-químicos e nutricionais em feijões irradiados.

O feijão é um alimento fornecedor de nutrientes essenciais ao ser humano, como proteínas, ferro, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas (principalmente do complexo B), carboidratos, fibras (Quadro 3) e ocupa o terceiro lugar entre os alimentos consumidos, totalizando 11,2 % das calorias ingeridas por dia (SOARES, 1996).

Quadro 3 - Composição centesimal média (g/100g) em base seca do feijão cru.

Variedade	Proteínas	Lipídeos	Colesterol	Carboidratos	Fibra alimentar	Cinzas	Cálcio	Magnésio
Carioca	20,0	1,3	NA	61,3	18,4	3,5	123	210
Fradinho	20,2	2,4	NA	61,2	23,6	3,5	78	178
Jalo	20,1	0,9	NA	61,5	30,3	3,9	98	170
Preto	21,3	1,2	NA	58,8	21,8	3,8	111	188
Rajado	17,3	1,2	NA	62,9	24,0	3,7	111	170
Rosinha	20,9	1,3	NA	62,2	20,6	3,6	68	184
Roxo	22,2	1,2	NA	60,0	33,8	4,0	120	162

Adaptado de TACO (2011). NA: não aplicável

Segundo MENDES et al. (2011), a irradiação de alimentos vem se destacando como método alternativo capaz de garantir o nível de segurança dos produtos sem acarretar grandes alterações das características nutricionais e sensoriais. Este processo visa preservar e desinfestar alimentos estendendo a vida útil do produto e reduzindo perdas das safras durante o armazenamento (NASCIMENTO, 1992).

O tratamento por irradiação promove uma melhora nutricional em grãos por meio da redução dos fatores antinutricionais tais como: fenólicos totais, taninos e inibidores de tripsina. Os alimentos, além de apresentarem substâncias nutritivas essenciais para o desenvolvimento do organismo, podem também conter uma variedade de fatores antinutricionais, como os inibidores

de proteínas, oxalatos, taninos, nitritos, dentre outros, assim denominados, devido ao fato de interferirem na absorção de nutrientes, podendo acarretar danos à saúde quando ingeridos em altas quantidades (BENEVIDES et al., 2011). MOURA et al., (2005) observaram diminuição do sabor amargo, cor acentuada e brilhante em feijão preto irradiado com doses 2, 4, 6, 8 e 10 kGy.

Em pesquisa para avaliar as alterações em feijão (*P. vulgaris*), variedade carioca Tybatã submetido às doses de 1, 2, 6 e 10 kGy, não foi observada diferença significativa quanto à sua cor e capacidade de hidratação dos grãos, porém, os feijões irradiados demonstraram redução significativa no tempo de cocção (ARMELIN et al., 2007). Segundo PINN (1992), os feijões (*P. vulgaris*) irradiados com doses de 10 kGy apresentam redução no tempo de cocção de aproximadamente 64 % em relação ao feijão não irradiado.

BRIGIDE e CANNIATTI-BRAZACA (2011) avaliaram a alteração dos minerais em *P. vulgaris* variedade carioca, sob o efeito da irradiação comparando feijões cru e feijões macerado/cozido. Não houve alterações nos teores de minerais, comparando o feijão cru e macerado/cozido, para as doses de 2, 6 e 10 kGy.

Em função do elevado número de perdas, da expansão das áreas de produção do feijão e o aumento significativo de procura no mercado interno e externo, existe a necessidade do desenvolvimento de técnicas frente aos problemas que ocorrem no período de produção, armazenamento, distribuição e comércio. A radiação gama vem sendo empregada como método auxiliar no controle de infestações e descontaminação de grãos armazenados. Portanto, a utilização desta técnica no feijão comercializado abriria a possibilidade de oferecer ao público consumidor uma opção de maior confiabilidade e qualidade sanitária ao alimento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das amostras

O levantamento foi realizado no comércio varejista localizado em diferentes regiões da cidade São Paulo/SP (Fig. 3). Foram adquiridos 1 kg de 11 diferentes variedades entre *P. vulgares* (Branco n=16, Bolinha n =14, Carioca n= 15, Jalo n =13, Preto n = 20, Rajado n =15, Rosinha n =11, Roxo n =9, Vermelho n = 8) e *V. unguiculata* (Fradinho n =13, Corda n =15).

Figura 3 - Locais de coleta das amostras.

Adaptado de Google maps (2018).

4.2 Coleta dos insetos presentes nas amostras

Para a coleta dos insetos foi utilizado aspirador entomológico (Fig. 4 - A), peneiras de diferentes granulometrias (Fig. 4-B) e frascos de acondicionamento para posterior identificação. As amostras para triagem de 45 dias foram mantidas em sala climatizada com $27 \pm 2^\circ \text{C}$ de temperatura e umidade relativa de $70 \pm 5 \%$ (Fig. 4-C), a fim de se coletar insetos adultos oriundos de ovos, larvas e pupas.

Figura 4 - Materiais utilizados na coleta de insetos presentes nas amostras. A – Aspirador entomológico, B – Peneira, C – Acondicionamento das amostras.

Fonte: Autor da tese.

4.3 Isolamento da microbiota fúngica das amostras.

As amostras (100 g cada) (Fig. 5-A) foram desinfetadas em hipoclorito de sódio (0,5%) (Fig. 5-B), durante 3 minutos, enxaguadas em água destilada estéril, foram distribuídos 10 grãos por placa de Petri em duplicata (Fig. 5-C), contendo agar Batata Dextrose (ABD). As placas (Fig. 5-D) foram incubadas por 5 dias na temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, em incubadora tipo B.O.D. (BERJAK, 1987). A contagem dos gêneros fúngicos foi dada em percentual e posteriormente, os diferentes tipos morfológicos foram isolados em tubos contendo agar Batata Dextrose e submetidos à técnica de microcultivo (Fig. 5-E) (RIDELL, 1950).

Figura 5 - Isolamento da microbiota fúngica das amostras. A - Amostras, B - Desinfestação em hipoclorito, C – Plaqueamento das amostras, D - Amostras plaqueadas, E - Microcultivo.

Fonte: Autor da tese.

4.4 Isolamento da microbiota fúngica dos insetos presentes nas amostras.

O mesmo procedimento de plaqueamento foi realizado para os insetos isolados das amostras. Os fungos foram classificados até gênero, conforme as características macro e microscópicas, entretanto aqueles pertencentes ao gênero *Aspergillus* foram classificados até espécie, de acordo com os seguintes compêndios: Raper e Fennell (1965) e Arx (1974).

4.5 Irradiação das amostras

As amostras de grãos de feijão foram irradiadas com doses de 5 e 10 kGy para redução da carga fúngica e para determinação da dose letal imediata dos insetos foram aplicadas as doses de 0; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; 2,0; 2,2; 2,4; 2,6; 2,8; 3,0; 3,2 e 3,4 no irradiador multipropósito Cobalto-60 IPEN/CNEN/SP, com taxa de dose no período das irradiações de 3,23 kGy/h.

4.6 Determinação da dose letal imediata

Populações de *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* foram mantidas em *P. vulgares* e *C. maculatus* em *V. unguiculata*, mantidos em sala condicionada 27 ± 2 ° C, com umidade relativa (U.R.) de 60 ± 10 %. Adultos recém-emergidos com 3 a 7 dias de idade foram utilizados para determinar as doses letais de radiação gama. Foram utilizadas 5 repetições de 20 insetos, confinados em um recipiente de polietileno (10 mL), para cada dose. As parcelas experimentais foram submetidas a doses crescentes de radiação conforme descrito no item 4.5. As doses foram obtidas de acordo com o tempo de exposição do inseto. A mortalidade foi avaliada dentro de duas a quatro horas após a radiação.

4.7 Determinação de atividade de água (Aa)

Os valores de Aa das amostras foram obtidos utilizando-se o equipamento AQUALAB CX-2, da Decagon Devices Inc (Fig. 6).

Figura 6. Equipamento do Laboratório de Química e Farmacologia de Produtos Naturais IB/APTA.

Fonte: Autor da tese.

4.8 Análise estatística

Para quantificar os fungos isolados das amostras controle e irradiadas foi aplicado o método de estatística descritiva, calculando-se o desvio padrão e a frequência relativa. A diversidade de fungos encontrados nas amostras controle foi demonstrada através do modelo de distância euclidiana (frequência relativa do grupo controle). Os insetos foram quantificados em número total e porcentagem de infestação. A dose letal imediata dos insetos foi calculada através do método de Probit (FINNEY, 1971) utilizando o programa POLO PLUS (LEORA SOFTWARE, 2003). Os resultados de atividade de água (Aa) das amostras foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e teste de Tukey a 5 % de significância.

5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Levantamento da entomofauna

Tabela 1 - Número de insetos (0 e 45 dias) e porcentagem de infestação nas diferentes variedades de *Phaseolus vulgaris* (*) e *Vigna unguiculata* (**).

Variedades <i>n</i>	Família	Espécie	N. de indivíduos		% de amostras Infestadas
			0	45	
Bolinha*	15	Bostrichidae <i>Rhyzopertha dominica</i>	1	-	6,66
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	1	2	13,33
		Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	7	6	13,33
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	9	15	26,66
		Liposcelididae <i>Liposcelis</i> spp.	-	2	6,66
		Pteromalidae <i>Dinarmus basalis</i>	1	-	6,66
Branco*	17	Pteromalidae <i>Dinarmus basalis</i>	2	-	5,88
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	-	13	17,64
Carioca*	16	Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	4	-	18,75
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	12	26	43,75
		Pteromalidae <i>Dinarmus basalis</i>	2	-	6,25
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	17	10	31,25
		Bruchidae <i>Zabrotes subfasciatus</i>	15	7	6,25
Corda**	16	Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	229	129	56,25
Fradinho**	15	Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	77	3911	60,00
		Pteromalidae <i>Dinarmus basalis</i>	1	17	6,66
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	-	3	20
		Liposcelididae <i>Liposcelis</i> spp.	-	41	6,66
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	-	2	6,66
		Anobiidae <i>Lasioderma serricorne</i>	-	2	13,33
Jalo*	13	Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	3	9	15,38
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	1	5	15,38
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	22	43	38,46
		Anobiidae <i>Lasioderma serricorne</i>	-	1	7,69
Preto*	19	Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	313	6	15,78
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	20	22	57,89
		Anobiidae <i>Lasioderma serricorne</i>	2	-	5,26
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> sp.	1	-	5,26
		Silvanidae <i>Oryzaephilus surinamensis</i>	-	5	5,26
		Liposcelididae <i>Liposcelis</i> spp.	-	7	5,26
Rajado*	15	Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	4	4	40,00
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	5	6	13,33
		Liposcelididae <i>Liposcelis</i> sp.	-	1	6,66
Rosinha*	10	Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	1	8	40
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	2	14	20
		Anobiidae <i>Lasioderma serricorne</i>	-	1	10
Roxo*	9	Bostrichidae <i>Rhyzopertha dominica</i>	3	-	11,11
		Bruchidae <i>Acanthoscelides obtectus</i>	3	-	11,11
		Curculionidae <i>Sitophilus</i> spp.	-	28	44,44
		Bruchidae <i>Callosobruchus maculatus</i>	-	2	11,11
Vermelho*	6	Curculionidae <i>Sitophilus</i> sp.	-	1	16,66

A variedade Fradinho apresentou o maior número de insetos (4054), seguido das variedades Preto (376) e Corda (358). (Tabela 1). Resende et al. (2008) afirmam que a presença de insetos-praga causa a deterioração intensa dos grãos de feijão, resultando na redução da sua qualidade tecnológica. A presença do inseto-praga ao longo do período de armazenamento aumenta a temperatura e a absorção de água dos grãos de feijão.

Callosobruchus maculatus apresentou o maior número de indivíduos, oriundos de ovos e larvas e porcentagem de infestação na triagem de 45 dias na variedade Fradinho. Sousa et al. (2008) avaliaram o ataque de *C. maculatus* ao feijão caupi comercializado em Teresina-PI, onde a porcentagem de ataque foi cerca de 24,2 % no atacado e de 16 % no varejo.

MOTA et al. (2002) relataram que vicilinas de origem tóxica isoladas de *V. unguiculata*, influenciam no desenvolvimento e na sobrevivência de *C. maculatus*. GATEHOUSE et al. (1989) descrevem que o alto nível de inibidores de tripsina, duas a três vezes superiores aos níveis encontrados nas sementes de *V. unguiculata* dos genótipos suscetíveis, é responsável pela resistência a *C. maculatus*.

Foi constatada a presença de *Sitophilus* spp. nas variedades Vermelho, Roxo, Rosinha, Rajado, Preto, Jalo, Fradinho e Bolinha. Cursino et al. (2008), em levantamento da coleopterofauna em grãos de feijão armazenado e comercializado nas feiras livres da região metropolitana do Recife-PE, o feijão fradinho foi o mais infestado com 54 %, seguido do carioca 41 % e branco 5 %. O Coleóptero mais encontrado no experimento foi o *Z. subfasciatus* com 42 %, seguido do *C. maculatus* 41 %, *A. obtectus* 16 %, *S. oryzae* 0,7 % e *S. zeamais* 0,3 %.

Segundo LARA (1997), a proteína denominada arcelina, substância química presente no feijoeiro, confere resistência a *Z. subfasciatus*. BOIÇA JUNIOR et al., (2002), descreve que *P. vulgaris*, variedade Bolinha, é considerada suscetível ao ataque de *Z. subfasciatus*. MORAES et al. (2011) observaram que alguns genótipos de *P. vulgaris* apresentam resistência do tipo não preferência para oviposição por *Z. subfasciatus*, em teste com chance de escolha.

MAZZONETO e VENDRAMIM (2002), verificaram que *P. vulgaris*, variedade carioca melhoradas contendo arcelina (Arc1, Arc2, Arc3 e Arc4)

prejudicam *Z. subfasciatus*, alongando o período de desenvolvimento (ovo a adulto), diminuindo o peso, a longevidade de machos e de fêmeas e a fecundidade, sugerindo a ocorrência de não-preferência para alimentação e/ou antibiose nos referidos genótipos.

GUEDES (1991), relata que a presença de algum heteropolissacarídeo em *P. vulgaris* é responsável pela resistência a *A. obtectus*.

Observou-se a presença do parasitoide *D. basalis* nas variedades Bolinha, Branco, Carioca e Fradinho. De acordo com Islam e Kabir (1995) *D. basalis* possui o potencial de suprimir populações do gênero *Callosobruchus* em armazéns especialmente onde os materiais não são armazenado por períodos prolongados.

Em estudo para determinar os insetos que atacam os grãos de feijão armazenado *V. unguiculata* e *P. vulgaris* em Porto Velho, Rondônia, SILVA e COSTA (2016) observaram as espécies *C. maculatus*, *Z. subfasciatus* e *A. obtectus*, em ambas as espécies de feijão não havendo diferença significativa em relação aos insetos presentes.

Foram observados indivíduos de *Liposcelis* spp. nas variedades Bolinha (2), Fradinho (41), Preto (7) e Rajado (1). Segundo MOUND (1989), esses insetos são atraídos para os grãos devido à grande quantidade de poeira produzida e a presença de fungos no ambiente de armazenamento.

A espécie *R. dominica* foi observada nas variedades Bolinha (1) e Roxo (3). *O. surinamensis* foi encontrado apenas na variedade Preto (5). Já *L. serricorne* estava presente nas variedades Fradinho (2), Jalo (1), Preto (2) e Rosinha (1). Na literatura não foi descrito o desenvolvimento e a caracterização como insetos-praga de *R. dominica* e *O. surinamensis* em grãos de *P. vulgaris* e *V. unguiculata*. A sua presença pode ocorrer em estabelecimentos varejista e atacadista devido à disponibilidade de diversos produtos de diferentes origens aumentando o risco de infestação cruzada.

As embalagens dos alimentos podem variar consideravelmente no nível de resistência à infestação devido às diferentes propriedades físicas dos vários materiais utilizados e as características biológicas das diferentes espécies de insetos como, tamanho de corpo, capacidade de escalada em

superfícies lisas e mandíbulas capazes de perfurar as embalagens favorecendo assim as infestações cruzadas (STEJSKAL, 2017).

A espécie *L. serricorne* pode atacar produtos armazenados deterioráveis e perecíveis, entre os quais destacam os frutos secos, grãos, feijão, farelos, farinhas e rações. É descrita, com certa frequência, infestando soja armazenada, causando sérios prejuízos aos armazenadores e afetando a qualidade do produto oferecido nos mercados interno e externo (LORINI et al., 2010; MASON, 2003). FRAENKEL e BLEWITT (1943), demonstram que *L. serricorne* não necessita de grande concentração de carboidratos em sua dieta e tem baixa necessidade de vitaminas como a tiamina, piroxidina, riboflavina, ácido nicotínico e ácido pantotênico, podendo, assim desenvolver-se satisfatoriamente em grande variedade de alimentos, tanto de origem vegetal quanto animal.

6.2 Avaliação da presença de fungos em insetos

Tabela 2 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Preto.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Callosobruchus maculatus</i>	20	<i>Penicillium</i> spp.	35,7
		<i>A. flavus</i>	35,7
		<i>A. niger</i>	17,9
		Leveduras	53,6
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	20	<i>A. flavus</i>	25,0
		<i>Penicillium</i> spp.	39,6
<i>Lasioderma serricorne</i>	2	FNE	100,0
<i>Liposcelis</i> spp.	7	Leveduras	57,1
		<i>A. flavus</i>	42,8
<i>Dinarmus basalis</i>		<i>Penicillium</i> spp.	80,0
<i>Sitophilus</i> spp.	1	(---)	(---)
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	5	<i>Rhizopus stolonifer</i>	20,0

FNE - Fungo não esporulado

(---) - Sem crescimento fúngico

(n) – Número de insetos utilizados.

Foram isolados os fungos *Penicillium* spp., *A. flavus*, *A. niger*, Leveduras, FNE, *A. ochraceus* e *R. stolonifer* dos insetos procedentes das amostras da variedade Preto. A maior diversidade de fungos foi observada nas espécies *C. maculatus* e *A. obtectus*. Os indivíduos de *L. serricorne* apresentaram 100 % de contaminação por FNE. A espécie *Sitophilus* spp. não apresentaram contaminação fúngica. Os indivíduos de *D. basalis* e *O. surinamensis* apresentaram 80 % de *Penicillium* spp. e 20,0 % de *R. stolonifer* respectivamente. Foi observado 57,1 % de Leveduras e 42,8 % de *A. flavus* nos indivíduos de *Liposcelis* spp. (Tab. 2).

Tabela 3 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Rajado.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Callosobruchus maculatus</i>	8	<i>Eurotim chevalieri</i>	25,0
<i>Sitophilus</i> spp.	11	Leveduras	40,0
<i>Liposcelis</i> sp.	1	(---)	(---)

(---) - Sem crescimento fúngico

(n) – Número de insetos utilizados

Foram coletados nas amostras de feijão variedade Rajado, os insetos *C. maculatus* com 25,0 % de *E. chevalieri*, *Sitophilus* spp. com 40,0 % de Leveduras e *Liposcelis* sp. não apresentou contaminação fúngica (Tab 3.)

Tabela 4 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Carioca.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Callosobruchus</i>	4	Leveduras	50,0
<i>Sitophilus</i> spp.	20	<i>Chaetomium</i> spp.	3,1
		<i>Rhizopus stolanifer</i>	3,1
		FNE	12,5
		<i>Eurotim chevalieri</i>	9,4
<i>Dinarmus basalis</i>	2	(---)	(---)
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	20	<i>Penicillium</i> spp.	18,5
		Leveduras	18,5
<i>Zabrotes subfasciatus</i>	20	<i>Alternaria alternata</i>	13,6
		<i>Penicillium</i> spp.	41,0

FNE - Fungo não esporulado

(---) - Sem crescimento fúngico

(n) – Número de insetos utilizados

Nos insetos presentes nas amostras coletadas da variedade Carioca *C. maculatus* apresentou 50 % de frequência de leveduras. *Sitophilus* spp. foi a espécie com maior diversidade de fungos: *Chaetomium* spp. (3,1 %), *R. stolanifer* (3,1 %), FNE (12,5 %) e *E. chevalieri* (9,4 %). Não foram isolados fungos nos indivíduos de *D. basalis*. Os fungos *Penicillium* spp e leveduras, isolados de *A. obtectus* apresentaram 18,5 % de frequência cada. Os indivíduos plaqueados de *Z. subfasciatus* apresentaram 13,6 % de *A. alternata* e 41,0 % de *Penicillium* spp. (Tab. 4).

Tabela 5 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Bolinha.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	20	<i>Eurotium chevalieri</i>	4,2
		Leveduras	33,3
		<i>Cladosporium</i> spp.	4,2
		<i>Penicillium</i> spp.	4,2
		<i>A. flavus</i>	4,2
		<i>A. niger</i>	4,2
<i>Liposcelis</i> spp.	2	(---)	(---)
<i>Callosobruchus maculatus</i>	13	<i>Eurotium chevalieri</i>	50,0
		<i>A. ochraceus</i>	12,5
		Leveduras	25,0
<i>Sitophilus</i> spp.	3	(---)	(---)
<i>Dinarmus basalis</i>	1	(---)	(---)

(---) - Sem crescimento fúngico

(n) – Número de insetos utilizados

Os fungos *E. chevalieri*, *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *A. flavus* e *A. niger* isolados de *A. obtectus* apresentaram 4,2 % de frequência. Foi observado 33,3 % de Leveduras isoladas de *A. obtectus*. Não foi observada contaminação fúngica nos indivíduos plaqueados de *Sitophilus* spp, *Liposcelis* spp. e *D. basalis*. Foram isolados os fungos *Eurotium chevalieri* (50,0 %), *A.*

ochraceus (12,5 %) e leveduras (25 %) dos indivíduos de *C. maculatus* plaqueados (Tab. 5).

Tabela 6 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Fradinho.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Callosobruchus maculatus</i>	20	<i>Eurotim chevalieri</i>	11,3
		Leveduras	24,0
		<i>Rhizopus stolanifer</i>	13,9
		FNE	2,5
		<i>A. flavus</i>	10,1
		<i>A. ochraceus</i>	2,5
		<i>Penicillium</i> spp.	1,2
		<i>Alternaria alternata</i>	1,2
<i>Dinarmus basalis</i>	18	<i>A. flavus</i>	12,5
		Leveduras	15,0
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	2	(---)	(---)
<i>Sitophilus</i> spp	3	(---)	(---)
<i>Lasioderma serricorne</i>	2	(---)	(---)

FNE - Fungo não esporulado

(---) - Sem crescimento fúngico

(n) – Número de insetos utilizados

Não foram isolados fungos dos insetos *A. obtectus*, *Sitophilus* spp e *L. serricorne*. Foi observado nos indivíduos plaqueados de *D. basalis* 15 % de leveduras e 12,5 % de *A. flavus*, enquanto que em *C. maculatus* foram identificados os fungos *E. chevalieri* (11,3 %), leveduras (24,0 %), *R. stolanifer* (13,9 %), FNE (2,5 %), *A. flavus* (10,1 %), *A. ochraceus* (2,5 %), *Penicillium* spp (1,2 %) e *A. alternata* (1,2 %) (Tab. 6).

Tabela 7 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Rajado.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>C. maculatus</i>	8	<i>Eurotium chevalieri</i>	100,0
<i>Sitophilus</i> spp.	11	<i>Eurotium chevalieri</i>	100,0
<i>Liposcelis</i> sp.	1	Leveduras	80,0
		FNE	20,0

FNE – Fungo Não Esporulado

(n) – Número de insetos utilizados

Ambos os insetos *C. maculatus* e *Sitophilus* spp. apresentaram 100,0 % de *E. chevalieri*. Foi observado em *Liposcelis* sp. 80,0 % de Leveduras e 20 % de FNE (Tab. 7).

Tabela 8 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Corda.

Insetos	(n)	Fungos isolados por inseto	(%)
		<i>Cladosporium</i> spp.	20,0
		<i>Eurotium chevalieri</i>	100,0
		Leveduras	40,0
<i>C. maculatus</i>	20	<i>A. clavatus</i>	33,3
		<i>Chaetomium</i> spp.	33,3
		<i>A. flavus</i>	25,0
		<i>A. niger</i>	12,5
		<i>A. fumigatus</i>	12,5

(n) – Número de insetos utilizados

Foram isolados os fungos *Cladosporium* spp. (20 %), *E. chevalieri* (100,0 %), leveduras (40,0 %), *A. clavatus* (33,3 %), *Chaetomium* spp. (33,3 %), *A. flavus* (25,0 %), *A. niger* (12,5 %) e *A. fumigatus* (12,5 %) de indivíduos de *C. maculatus* oriundos das amostras da variedade Corda (Tab. 8).

Tabela 9 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Jalo.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>C. maculatus</i>	12	Leveduras	75,0
<i>Sitophilus</i> sp.	1	<i>A. flavus</i>	100,0
<i>A. obtectus</i>	20	<i>A. niger</i>	1,0
<i>Lasioderma serricorne</i>	1	Leveduras	100,0

(n) – Número de insetos utilizados

Foi observado 75,0 e 100,0 % de frequência de Leveduras nos indivíduos plaquados de *C. maculatus* e *L. serricorne* respectivamente. *Sitophilus* sp. apresentou 100,0 % de *A. flavus* e *A. obtectus* apresentou 1,0 % de *A. niger* (Tab. 9).

Tabela 10 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Rosinha.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Sitophilus</i> spp.	7	Leveduras	50,0
<i>A. obtectus</i>	16	<i>Eurotium chevalieri</i>	20,0
<i>Lasioderma serricorne</i>	1	Leveduras	100,0

(n) – Número de insetos utilizados

Os indivíduos plaqueados de *Sitophilus* spp. e *L. serricorne* apresentaram 50,0 e 100,0 % de leveduras respectivamente. Foi isolado 20,0 % *E. chevalieri* proveniente de *A. obtectus* (Tab. 10).

Tabela 11 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Roxo.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Rhyzopertha dominica</i>	3	<i>Phoma</i> spp.	8,3
<i>A. obtectus</i>	3	<i>Cladosporium</i> spp.	16,6
<i>Sitophilus</i> spp.	20	(---)	(---)
<i>C. maculatus</i>	2	(---)	(---)

(---) - Sem crescimento fúngico

(n) – Número de insetos utilizados

Não foram observados fungos provenientes dos insetos plaqueados *Sitophilus* spp. e *C. maculatus*. Os indivíduos de *R. dominica* e *A. obtectus* apresentaram 8,3 % de *Phoma* spp. e 16,6 % de *Cladosporium* spp. respectivamente.

Tabela 12 - Frequência (%) de fungos isolados de insetos coletados em amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Vermelho.

Insetos	(n)	Fungos isolados	(%)
<i>Sitophilus</i> sp.	1	<i>A. flavus</i>	9,5

(n) – Número de insetos utilizados

Foi isolado de *Sitophilus* sp., presente nas amostras da variedade Vermelho *A. flavus* com 9,5 % de frequência.

Segundo BULL (1993), a qualidade dos grãos pode ser afetada ainda no campo, antes da colheita, onde se inicia a infestação pelos insetos e a contaminação por fungos. Os fungos de armazenamento estão sempre presentes em alto número e em todo o tipo de material como ar, poeira, água que são constituintes normais da película de grãos e sementes (LAZZARI,1997).

FARONI e SILVA (2008), descrevem que insetos e ácaros têm sido envolvidos no transporte de esporos de fungos na massa de grãos. É sabido que pelo menos os insetos-pragas mais comuns de grãos armazenados transportam grande carga de inóculos de fungos. Como no desenvolvimento da

população de insetos ocorre aumento da temperatura e da umidade do grão, criam-se, assim, condições favoráveis para o desenvolvimento do fungo.

DUNKEL (1988), apresentou hipóteses da relação insetos-fungos em danos de grãos armazenados, afirmando que algumas espécies de insetos são disseminadores, enquanto outras se alimentam de fungos. Alguns fungos de armazenamento atraem e promovem o crescimento da população de insetos e podem repelir algumas espécies, devido a excreção de toxinas prejudiciais.

FERREIRA-CASTRO et al. (2012), observaram que *S. zeamais* carregam fungos, tais como, *A. flavus* e *F. verticillioides* favorecendo uma maior produção de micotoxinas. No presente estudo, foi observado que os indivíduos de *S. zeamais* coletados das variedades Carioca e Rajado também carregaram os fungos *Chaetomium* spp., *R. stolonifer*, FNE, *E. chevalieri* e leveduras. Em razão de aves e roedores, *S. zeamais* demonstrou ser importante vetor para vários gêneros fúngicos conforme reportado por AQUINO e POTENZA (2013).

Espécies pertencentes ao gênero *Sitophilus* promovem o crescimento e a disseminação de fungos de armazenamento em grãos provavelmente pela combinação de inoculação durante a oviposição, pelo metabolismo larval e hábitos alimentares. Durante a oviposição, o ovipositor é introduzido em um orifício aberto no endosperma pelo aparelho bucal da fêmea. Se o núcleo do grão anteriormente usado para oviposição estiver contaminado com esporos de fungos, tanto fora como dentro do pericarpo, é provável que estes se aderem ao ovipositor e assim sejam inoculados nos próximos grãos (DUNKEL, 1988). Conforme DUNKEL (1988), leveduras atuam como mutualistas alojados no intestino de *L. serricorne* e *Sitophilus* spp. Estes fungos são essenciais para os insetos, fornecendo vitaminas B não disponíveis nos produtos armazenados.

No presente trabalho foram isolados fungos em indivíduos de *Liposcelis* spp. Segundo LORINI (2002), esses insetos são atraídos pela poeira e por fungos, devido ao seu hábito alimentar. KALINOVIC et al. (2006), relatou que o gênero *Liposcelis* pode se alimentar de microrganismos como *Mucor* spp., *A. niger*, *A. flavus*, *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. e *Fusarium* spp. Alguns insetos são disseminadores de fungos no armazenamento, enquanto outros diminuem a carga fungica (SINHA, 1971).

Segundo OLIVEIRA et al. (1984), a infestação de *C. maculatus* pode começar no campo e continuar no armazém. SAUER et al., (1984) relatam que a infestação por insetos pré-colheita pode levar ao aumento da produção de aflatoxina na pós colheita.

Algumas micotoxinas demonstraram possuir atividade inseticida. WRIGHT (1979), observou que a ocratoxina, citrinina, rubratoxina B e a patulina atuaram como inibidores de crescimento em *L. serricorne*, diminuindo seu peso larval significativamente. O fato de certos metabólitos dos fungos apresentarem a capacidade de inibir o crescimento de outros fungos e insetos não está ligado a uma possível pressão de seleção natural. Sugere-se que existam algumas características morfofisiológicas nos sistemas bioquímicos dos fungos e os estádios iniciais de desenvolvimento dos insetos que permitem esse controle.

Segundo DUNKEL (1992), o crescimento da população de *Tribolium castaneum* e *T. confusum* no sistema de armazenamento aumenta a concentração de compostos antifúngicos (quinonas) excretados pelos besouros diminuindo a carga fungica presente.

6.3 Determinação da dose Letal imediata

Tabela 13 - Estimativa da dose letal DL_{50} (kGy), DL_{90} (kGy), intervalo de confiança (I.C.) a 95%; coeficiente angular, erro-padrão da média (EP); Qui-quadrado (χ^2) e graus de liberdade (G.L.) *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus*.

Espécie	N	DL_{50} (kGy) (I.C. 95%)	DL_{90} (kGy) (I.C. 95%)	Coeficiente angular $\pm$ EP	χ^2	G.L.
<i>C. maculatus</i>	1000	1.87 (1.70 - 2.07)	2.56 (2.43 - 3.48)	7.58 ± 0.42	44.3	7
<i>A. obtectus</i>	1000	1.98 (1.82 - 2.16)	3.23 (2.81 - 4.06)	6.01 ± 0.38	24.0	7
<i>Z. subfasciatus</i>	1000	1.87 (1.73 - 2.02)	2.79 (2.50 - 3.33)	7.35 ± 0.41	28.0	7

N – Número de insetos utilizados.

A dose de radiação gama necessária para atingir 90 % (DL_{90}) de mortalidade imediata de indivíduos adultos de *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* foi 2,76; 3,23 e 2,29 kGy respectivamente (Tab. 13).

De acordo com WANDERLEY et al. (2000), doses acima de 2,0 kGy reduzem a taxa de insetos adultos emergidos estabelecendo o controle de *Z. subfasciatus*.

BOTELHO et al. (2002), observaram em estudo que doses de até 2,0 kGy, podem ser usadas para a desinfestação de grãos de feijão infestados com *A. obtectus* sem alterar as propriedades das linhagens Arcelina-2 e 3.

Segundo DIOP et al. (1997), a utilização da radiação ionizante em doses esterilizantes abaixo de 1 kGy para a desinfestação de grãos com a presença de *C. maculatus*, possui a desvantagem de deixar os carunchos vivos no filme da embalagem. No entanto, a expectativa de vida é reduzida com 97% de mortalidade dos indivíduos adultos após 20 dias.

Tabela 14 - Indivíduos adultos de *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* expostos a doses crescentes de radiação gama (CO^{60}). Número médio de mortalidade imediata (N*) e eficiência (%Ef**).

Dose (kGy)	<i>C. maculatus</i>		<i>A. obtectus</i>		<i>Z. subfasciatus</i>	
	N*	%Ef**	N*	%Ef**	N*	%Ef**
1.0	1,60 d	8,00	1,40 d	7,00	1,20 e	6,00
1.2	1,80 d	9,00	1,80 d	9,00	1,60 e	8,00
1.4	2,60 d	13,00	2,60 d	13,00	2,40 de	12,00
1.6	3,80 d	19,00	3,80 d	19,00	3,80 de	19,00
1.8	8,40 c	42,00	8,0 c	40,00	8,40 cd	42,00
2.0	14,00 b	70,00	14,00 b	70,00	12,20 bc	61,00
2.2	17,80 a	89,00	16,70 ab	83,50	14,00 abc	70,00
2.4	17,80 a	89,00	16,70 ab	83,50	14,00 abc	70,00
2.6	20,00 a	100,00	18,00 ab	90,00	15,80 ab	79,00
2.8	20,00 a	100,00	19,00 a	95,00	19,00 a	95,00
3.0	20,00 a	100,00	20,00 a	100,00	20,00 a	100,00
3.2	20,00 a	100,00	20,00 a	100,00	20,00 a	100,00
3.4	20,00 a	100,00	20,00 a	100,00	20,00 a	100,00
C.V.	9,89		14,87		13,44	

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Obteve-se 100% de controle em *C. maculatus* aplicando a dose de 2.6 kGy (Tab. 14). As espécies *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* apresentaram números médios similares nas doses de 2.8; 3.0; 3.2 e 3.4 kGy.

SILVA e ARTHUR (2003), observaram mortalidade imediata de *Z. subfasciatus* nas doses de 6,5 e 7,0 kGy utilizando irradiadores modelo Gammabeam 650 (taxa de dose: 1,25 kGy/h) e Gammacell 220 (taxa de dose: 1,26 kGy/h, respectivamente).

FONTES et al. (2003), estudando a influência da taxa de dose para desinfestação de feijão caupi infestado com formas imaturas de *C. maculatus*, observaram que esta é um fator muito importante no processo de irradiação, sendo o ideal utilizar alta taxa de dose de radiação para tratamento quarentenário.

6.4 Redução da carga fúngica em grãos de *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* L.

Figura 7 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Bolinha (Controle).

Figura 8 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Bolinha (5 kGy).

Figura 9 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Bolinha (10 kGy).

Figura 10 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Bolinha.

No grupo controle da variedade Bolinha observou-se, 5 % de *Penicillium* spp.; 0,7 % de *F. verticillioides*; 2,14 % de FNE; 1 % de *A. flavus*; 0,7 % de *A. niger*; 1 % de *Phoma* spp., 3,2 % de Leveduras; 0,7 % de *R. stolonifer*; 4,2 % de *E. chevalieri*; 0,3 % de *A. ochraceus* e 1 % de *A. alternata* (Fig. 7).

Foi verificado nas amostras irradiadas com a dose de 5 kGy da variedade Bolinha, 0,3 % de *Cladosporium* spp; 2,14 % de *Penicillium* spp.; 6 % de Leveduras e os fungos *A. niger*, FNE, *Curvularia* spp., *Phoma* spp., *E. chevalieri*, *A. alternata* e *A. flavus* apresentaram 0,3 % de frequência relativa cada (Fig. 8). Em relação ao grupo da variedade Bolinha irradiado com a dose de 10 kGy foi observado 0,7 % de *A. niger*, *Phoma* spp. e *Penicillium* spp.; 1 % de FNE e 0,3 % de *F. verticillioides*, *E. chevalieri*, Leveduras, *R. stolonifer* e *A. flavus* (Fig. 9).

Os fungos *E. chevalieri* e *Penicillium* spp. não apresentaram similaridade com o restante dos fungos identificados de acordo com a análise de distância euclidiana sendo considerados outliers (Fig. 10).

Figura 11 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Branco (Controle).

Figura 12 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Branco (5 kGy).

Figura 13 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Branco (10 kGy).

Figura 14 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Branco.

Das amostras analisadas no grupo controle da variedade Branco (Fig. 11) foram observados os fungos *Penicillium spp.*, *A. flavus*, *A. niger*, FNE, leveduras *Cladosporium spp.*, *E. chevalieri*, *Mucor spp.*, *A. ochraceus* e *R. stolonifer* com 3,43; 5; 2,81; 6,25; 3,12; 0,62; 2,18; 0,93; 1,87; 2,18 % de frequência absoluta respectivamente.

Nas amostras da variedade Branco irradiadas com 5 kGy (Fig. 12) *Penicillium spp.* apresentou a maior frequência 14,06 % seguido de *A. Flavus* (1,87%), *E. chevalieri* (1,87 %), FNE (1,56 %) e *Cladosporium spp.* (0,31 %). Foram isolados do grupo irradiado com 10 kGy (Fig. 13) os fungos *Penicillium spp.*, *E. chevalieri*, leveduras, FNE e *A. flavus*. FNE se distanciou dos demais fungos isolados comportando-se como outliers (Fig. 14).

Figura 15 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Carioca (Controle).

Figura 16 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Carioca (5 kGy).

Figura 17 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade Carioca (10 kGy).

Figura 18 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Carioca.

Foi observado nas amostras não irradiadas da variedade Carioca, 6 % de *Penicillium* spp.; 5 % de *E. chevalieri*; 0,3 % de *R. stolonifer*, 3 % de *A. flavus*; 8 % de FNE; 2,6 % de leveduras; 1,6 % de *Phoma* spp. e 3,6 % de *A. alternata* (Fig. 15).

Nas amostras da variedade Carioca irradiadas com 5 kGy, FNE apresentou a maior frequência, 2,6 %, seguido de *Penicillium* spp. 2% e *Cladosporium* spp. 1,3 % (Fig. 16). Foram isolados do grupo irradiado com 10 kGy os fungos *Penicillium* spp., leveduras, FNE e *Phoma* spp (Fig. 17). O fungo FNE manteve-se como outliers (Fig. 18).

Figura 19 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Corda (Controle).

Figura 20 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Corda (5 kGy).

Figura 21 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Corda (10 kGy).

Figura 22 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Corda.

No grupo controle da variedade Corda (Fig. 19) observou-se 0,6 % de *Cladosporium* spp., 2,3 % de *Penicillium* spp., 2 % de *E. chevalieri*, 16,6 % de FNE, 11,3 % de leveduras, 1 % de *R. stolonifer*, 0,33 % de *Curvularia* spp., 0,66 % de *A. ochraceus*, 0,33 % de *Bipolaris* spp. e 0,33 % de *A. niger*. Foi verificado nas amostras irradiadas com a dose de 5 kGy (Fig. 20) os fungos *A. flavus*, FNE, *Nigrospora* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *E. chevalieri*, *Mucor* spp., *A. ochraceus*, *Bipolaris* spp., leveduras, *A. clavatus* e *Phoma* spp. com 4,0;11,0; 0,33; 11,0; 1,0; 2,0; 0,33; 0,33; 0,33; 1,33; 1,33 e 0,33 % de frequência respectivamente. Em relação ao grupo da variedade corda irradiado com a dose de 10 kGy (Fig. 21) foi observado 1,33 % de *Cladosporium* spp., 3,0 % de *Penicillium* spp., 14,66 % de FNE, 0,33 % de *E. chevalieri* e 0,33 % de *A. flavus*. De acordo a análise de distância euclidiana os fungos FNE e Leveduras se comportaram como outliers (Fig. 22).

Figura 23 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Fradinho (Controle).

Figura 24 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Fradinho (5 kGy).

Figura 25 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Vigna unguiculata*. Variedade Fradinho (10 kGy).

Figura 26 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Fradinho.

Do total das amostras controle analisadas da variedade Fradinho foram isolados 2,3 % de FNE; 1,92 % de *Chaetomium* spp.; 0,38 % de *Nigrospora* spp.; 6,5 % de leveduras; 4,6 % de *Penicillium* spp.; 6,15 % de *E. chevalieri*; 0,76 % de *Cladosporium* spp.; 0,38 % de *A. niger* e *Phoma* spp.; 1,92 % de *A. flavus* e 4,23 % de *R. stolonifer* (Fig. 23). O grupo irradiado com 5 kGy da variedade Fradinho apresentou 1,15 % de *Chaetomium* spp.; 9,2 % de FNE; 1,9 % de *Penicillium* spp.; 4,6 % de leveduras; 3 % de *Cladosporium* spp.; 0,7 % de *R. stolonifer*; 0,8 % *A. flavus*; 0,38 % de *E. chevalieri* e *A. niger* (Fig. 24). Foram isolados do grupo irradiado com 10 kGy 1,5 % de FNE e 1,9 % de Leveduras (Fig. 25). Nas amostras da variedade Fradinho os fungos outliers foram *E. chevalieri* e Leveduras (Fig. 26).

Figura 27 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Jalo (Controle).

Figura 28 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolos vulgaris*. Variedade de Jalo (5 kGy).

Figura 29 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolos vulgaris*. Variedade de Jalo (10 kGy).

Figura 30 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Jalo.

As análises de contaminação fúngica das amostras controle da variedade Jalo (Fig. 27) apresentaram 6,15 % de *Cladosporium* spp., 6,92 % de *E. chevalieri*, 8,84 % de FNE, 2,3 % de *Penicillium* spp, 0,38 % de *Phoma* spp., 3,07 % de *A. flavus* e 0,38 % de *A. fumigatus*. No tratamento de 5 kGy (Fig. 28) FNE manifestou-se em 5,76 % das amostras. A frequência relativa observado nos fungos leveduras e *Cladosporium* spp. foi inferior a 1 %. Foram isolados 2,3 % de FNE, 0,38 % de *A. flavus* e 0,38 % de *E. chevalieri* no tratamento de 10 kGy (Fig. 29). Nas amostras analisadas da variedade Jalo, FNE manifestou-se como outliers (Fig. 30).

Figura 31 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Preto (Controle).

Figura 32 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Preto (5 kGy).

Figura 33 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Preto (10 kGy).

Figura 34 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Preto.

As análises de contaminação fúngica das amostras controle da variedade Preto (Fig. 31), apresentaram 0,5 % de *R. stolonifer*; 19,5 % de F.N.E; 1,75 de *E. chevalieri*; 2,75 % de *A. flavus*; 2,25 de *Penicillium* spp.; 0,25 % de *A. ochraceus*; 5,5 de leveduras; 0,5 % de *Cladosporium* spp.; 0,5 % de *Curvularia* spp.; 0,25 % de *A. niger* e 0,25 % de *A. clavatus*. No tratamento de 5 kGy (Fig. 32), da variedade Preto, FNE manifestou-se em 9,75 % das amostras. A frequência relativa observada nos fungos *A. flavus*, *Cladosporium* spp., *E. chevalieri*, *Bipolaris* spp., *Alternaria alternata* e *Penicillium* spp. foi inferior a 2 %. Foram isolados 4,5 % de FNE; 1,25 % de *Penicillium* spp.; 0,25 % de *A. niger*, *A. flavus*, *Bipolaris* spp. e Leveduras no tratamento de 10 kGy (Fig. 33). Nas amostras analisadas da variedade Preto, FNE manifestou-se como outliers (Fig. 34).

Figura 35 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Rajado (Controle).

Figura 36 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Rajado (5 kGy).

Figura 37 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Rajado (10 kGy).

Figura 38 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Rajado.

As amostras do grupo controle da variedade Rajado apresentaram 0,6 % de *Curvularia* spp.; 9,3 % de *A. niger*; 4,6 % de *E. chevalieri*; 0,6 % de *Scopulariopsis* spp.; 2,6 % de *Penicillium* spp.; 4,3 % de FNE; 10,6 % de *A. flavus*; 0,6 % de *R. stolonifer*; 1,6 % de leveduras; 2,3 % de *Cladosporium* spp.; 0,3 % de *A. ochraceus*; 1,6 % de *A. fumigatus* e 0,3 % de *Chaetomium* spp. (Fig. 35). Dentre as espécies isoladas nas amostras irradiadas com 5 kGy (Fig. 36), *A. flavus* e *A. niger* apresentaram a maior frequência relativa 7,3 e 6,3 % respectivamente, seguidos de FNE 5,3 %. Nas amostras irradiadas com 10 kGy (Fig. 37) foram isolados 10 diferentes gêneros. As espécies *A. flavus*, *A. niger* e *A. ochraceus* apresentaram 1; 1,3 e 0,3 % de frequência relativa respectivamente. Nas amostras analisadas da variedade Rajado, *A. niger* e *A. flavus* se apresentaram como outliers (Fig. 38).

Figura 39 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Rosinha (Controle).

Figura 40 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Rosinha.

Nas amostras do grupo controle da variedade Rosinha (Fig. 39), foi observado os fungos FNE, *A. flavus*, *Curvularia* spp., *E. chevalieri*, *Phoma* spp., leveduras, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Penicillium* spp., *Alternaria alternata*, *A. penicilliioides* e *Cladosporium* spp. com 6,81; 9,09; 0,9; 3,63; 0,45; 1,36; 0,45; 2,72; 0,45; 0,45 e 0,45 % de frequência respectivamente. Não foi observado crescimento fúngico nas amostras irradiadas com 5 e 10 kGy. Nas amostras analisadas da variedade Rosinha, FNE, *A. flavus* e Leveduras comportaram-se como outliers (Fig. 40).

Figura 41 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Roxo (Controle).

Figura 42 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Roxo (5 kGy).

Figura 43 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Roxo (10 kGy).

Figura 44 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Roxo.

As amostras do grupo controle da variedade Roxo (Fig. 41) apresentaram 9,4 % de *E. chevalieri*, 10,5 % de *Penicillium* spp., 13,3 % de leveduras, 3,3 % de FNE, 0,5 de *A. ochraceus*, 1,6 % de *A. flavus*, 1,1 % de *Phoma* spp., 1,1 % de *Bipolaris* spp. e 1,1 % de *R. stolonifer*. No tratamento com 5 kGy (Fig. 42) *Penicillium* spp. manifestou-se em 5 % das amostras. A frequência relativa observado nos fungos *Curvularia* spp., *Cladosporium* spp. e *A. flavus* foi inferior a 3 %. Os fungos *Cladosporium* spp., FNE, *Bipolares* spp. e *Penicillium* spp isolados nas amostras irradiadas com 10 kGy apresentaram frequência inferior a 2 % (Fig. 43). Nas amostras analisadas da variedade Roxo *E. chevalieri*, *Penicillium* spp. e Leveduras apresentaram-se como outliers (Fig. 44).

Figura 45 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Vermelho (Controle).

Figura 46 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Vermelho (5 kGy).

Figura 47 - Frequência de espécies de fungos isolados de amostras de *Phaseolus vulgaris*. Variedade de Vermelho (10 kGy).

Figura 48 - Distribuição de espécies de fungos (Grupo controle) pelo dendrograma de clusters (modelo de distância euclidiana) da análise MDS das amostras. **Outliers. Variedade Vermelho.

Foi observado nas amostras do grupo controle da variedade Vermelho (Fig. 45) 0,6 % de *Rhizopus stolonifer*, 3,7 % de *A. flavus*, 5 % de FNE, 10 % de Leveduras, 3,1 % de *E. chevalieri*, 0,6 % de *Nigrospora* spp., 0,6 % de *Bipolaris* spp., 0,6 % de *Penicillium* spp., 0,6 % de *Chaetomium* spp., 1,8 % de *Phoma* spp. 1,2 % de *Cladosporium* spp. e 0,6 % de *A. niger*. Nas amostras irradiadas com 5 kGy (Fig. 46) *A. flavus* apresentou a maior frequência, 3,7 % seguido de *E. chevalieri* com 3,1 %. Foi isolado no grupo irradiado com 10 kGy (Fig. 47) o fungo *A. flavus* com 2,5 % de frequência. Os fungos FNE e Leveduras não apresentaram similaridade com o restante dos fungos identificados de acordo com a análise de distância euclidiana sendo considerados outliers (Fig. 48).

Os resultados observados no presente trabalho nas diferentes variedades de *P. vulgaris* estão de acordo DOMIJAN et al. (2005) que em estudo para identificar fungos transmitidos por sementes nas culturas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), isolou os fungos: *Cladosporium* spp. (98 %) *Alternaria* spp. (75 %), *Aspergillus* spp. (73 %), *Rhizopus* spp. (73 %), *Penicillium* spp. (69 %), *Fusarium* spp. (38 %), *Botrytis* spp. (27 %), *Trichothecium* spp. (24 %) e *Chaetomium* spp. (18 %) e TSENG et al. (1995) identificou os seguintes gêneros provenientes de grãos de *P. vulgaris* coletados em Taiwan: *Aspergillus* (48,5 %), *Penicillium* (27,6 %), *Eurotium* (6,7 %), *Rhizopus* (5,3 %) e *Curvularia* (2, 4 %).

As amostras irradiadas com a dose de 5 kGy apresentaram resultados semelhantes aos encontrados por LIMA et al. (2008) que verificaram a presença dos fungos *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. e *Rhizopus* spp. em amostras irradiadas com 2,5 kGy em feijão Fradinho após 7 dias de incubação.

Conforme isolado das amostras nas variedades Bolinha, Branco, Corda, Fradinho, Preto, Rajado, Rosinha e Vermelho, *Aspergillus niger* é uma das poucas espécies de fungos que receberam o *status* de GRAS (*Generally Regarded As Safe*) conferido pela *Food and Drug Administration* (FDA) devido à sua baixa toxicidade, sendo que alguns isolados desse fungo produzem ocratoxina apenas em baixas quantidades (VARGA et al., 1996).

Os resultados das amostras do grupo controle de *P. vulgaris* nas variedades Carioca, Preto, Rajado e Bolinha são similares aos observados por

BENÍCIO et al. (2003), que verificaram a presença dos fungos *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* e *A. ochraceus*. Segundo FAO (2006) em condições apropriadas, *Aspergillus* spp. cresce no amendoim, milho e em outros grãos, podendo produzir aflatoxinas, compostos identificados pela Agência Internacional de Pesquisa de Câncer como poderoso carcinogênico.

TORRES et al. (1998), realizaram avaliação da incidência de patógenos em sementes de Fradinho armazenados por pequenos produtores nos municípios de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). Os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram os mais frequentes. Já as amostras coletas no presente trabalho apresentaram maior frequência dos fungos *E. chevalieri*, *Penicillium* spp. e Leveduras.

AZIZ (2004) encontrou em amostras de amendoim, milho e grão-de-bico os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* e *Rhizopus* com a dose de 5 kGy reduziram a carga fungica. Nas amostras de *P. Vulgaris* e *V. unguiculata* a dose de 5 kGy não foi capaz de inibir totalmente o crescimento dos fungos.

Os fungos isolados *A. niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *E. chevalieri*, FNE, *Phoma* spp., *Penicillium* spp., leveduras, *R. stolonifer*, *Cladosporium* spp., *Bipolaris* spp., *Curvularia* spp. e *A. alternata* demonstraram resistência nas variedades de feijão estudadas após a tratamento com a dose de 10 kGy. Conforme COVE (1977) a melanina presente nos conídios de *Curvularia* spp. e *Alternaria* spp. e a produção de conídios diplóides e poliplóides em espécies de *Aspergillus* conferem maior resistência à irradiação. Segundo Salama et al (1977) fatores morfológicos, biológicos e bioquímicos, indicam que a variabilidade na resistência de fungos a radiação ionizante se deve ao conteúdo de água micelial e a produção natural de substância química que atuam como radioprotector. O papel da melanina na fotoproteção é absorver e dissipar os fótons de radiação ionizante dentro de sua estrutura (WOLBARSHT et al., 1981) e devido a sua complexa estrutura resulta na absorção de toda a porção do espectro eletromagnético (MEREDITH e SARNA, 2006).

De acordo com CORDERO e CASADEVALL (2017), a capacidade de produzir melanina confere vantagens adaptativas aos organismos que a possuem, consistindo em uma importante barreira aos efeitos deletérios de vários estresses ambientais. Alguns fungos parecem realizar radiosíntese, ou

seja, usar a melanina pigmentada para converter a radiação gama em energia química para o seu crescimento. Este mecanismo proposto pode ser semelhante aos caminhos anabolizantes para a síntese de carboidratos em organismos fototróficos, que capturam fótons a partir de luz visível com pigmentos como a clorofila cuja energia é então utilizada na fotólise de água para gerar energia química. No entanto, os fungos que contêm melanina empregam uma via de múltiplos passos semelhante à fotossíntese, ou algumas caminhos de quimiossíntese desconhecidos até o momento.

Conforme observado nas amostras das variedades Bolinha, Branco, Carioca, Fradinho, Preto e Rajado, Leveduras apresentaram resistência a dose de 10 kGy, CHIN LI et al (2015) em estudo, verificaram que Leveduras podem atuar como agentes bioabsorvedores de resíduos de ^{60}Co , sendo economicamente benéficas para remoção de resíduos radioativos ou para a sua utilização como bioindicadores.

Segundo TELLES (2015) a composição química de um substrato desempenha papel fundamental para a contaminação fúngica. O mesmo autor obteve resultados que demonstram que os feijões apresentam compostos funcionais que estão associados à mecanismos de defesa contra patógenos, como os fungos. Dentre estes compostos estão algumas proteínas e os compostos fenólicos que em sinergia podem ser encontrados nos feijões e contribuir como uma barreira de defesa contra a produção de toxinas.

SILVA et al. (2002) ao analisar trinta amostras de feijões de diferentes marcas comerciais obtidas no mercado varejista da cidade de Goiânia, verificou apenas uma amostra contaminada com aflatoxinas B1 e G1. A amostra positiva foi submetida à cocção sob pressão de 0,7 kgf/cm² por 30 minutos, à temperatura de 116° C, e novamente analisada para detecção de aflatoxinas. Os mesmos níveis de toxinas foram detectados, o que demonstra a insuficiência desse tipo de tratamento térmico na sua inativação.

O cálculo por distância euclidiana permite o mapeamento espacial de objetos de forma que as posições relativas no espaço mapeado reflitam o grau de similaridade (GIRALDI e NORONHA, 2011). Nas amostras analisadas os fungos que se distanciaram, sendo considerados outilers, foram FNE, Leveduras, *E. chevalieri*, *Penicillium* spp. *A. flavus* e *A. niger*. O fato das amostras serem coletadas em diferentes localidades e a presença de insetos

contribuiu para a diversidade de fungos e agrupamentos observados indicando uma possível não preferência de substrato. DHINGRA e COELHO NETO (1998) relataram que o crescimento de fungos no armazenamento depende quase exclusivamente do teor de água dos grãos em equilíbrio com a umidade relativa do ar e da temperatura.

6.5 Determinação da atividade de água (Aa).

Tabela 15 - Atividade de água de diferentes variedades de *P. vulgaris* e *V. unguiculata* (Controle, 5 e 10 kGy) adquiridas no comércio varejista da cidade de São Paulo.

Amostras	Controle	5 kGy	10 kGy	C.V.
Jalo	0,68 a	0,69 a	0,69 a	0,86
Rajado	0,59 b	0,61 a	0,61 a	0,94
Rosa	0,58 b	0,61 a	0,61 a	0,47
Vermelho	0,59 b	0,60 a	0,60 a	0,35
Roxo	0,61 b	0,64 a	0,64 a	0,78
Preto	0,67 b	0,70 a	0,70 a	0,76
Fradinho	0,55 b	0,62 ab	0,64 a	4,75
Branco	0,58 b	0,62 a	0,62 a	0,26
Corda	0,58 b	0,62 a	0,63 a	1,20
Bolinha	0,55 b	0,61 a	0,61 a	1,19
Carioca	0,58 b	0,62 a	0,62 a	1,38

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma linha pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Os valores de atividade de água (Aa) das variedades Rajado, Rosa, Vermelho, Roxo, Preto, Fradinho, Branco, Corda, Bolinha e Carioca variaram entre 0,55 e 0,68 diferindo estatisticamente das amostras irradiadas com 5 e 10 kGy que apresentaram valores entre 0,60 e 0,70. Não foi observado diferença significativa entre as amostras do grupo controle (0 kGy), 5 e 10 kGy da variedade Jalo.

A água ligada aos materiais possui comportamento diferenciado, pois não congela, não atua como solvente e não atua como reagente. Conceito físico-químico introduzido aos microbiologistas por SCOTT (1957), a atividade da água (Aa) quantifica a relação entre a umidade nos alimentos e a

capacidade dos microrganismos de se desenvolver neles. Determinada pela fórmula $Aa=P/P_0$, define-se como a relação existente entre a pressão de vapor de uma solução ou de um material (P) com relação à pressão de vapor da água pura (P_0) à mesma temperatura (FIRMINO et al. 2006).

Os fungos de armazenamento podem crescer a um nível mais baixo atividade de água (0,70-0,75) em comparação com fungos de campo que requerem uma maior atividade da água ($> 0,9$) (MAGAN e LACEY, 1984). LARRY e BEUCHAT (1983), observaram o valor mínimo de 0,61 no qual o crescimento de fungos foi observado.

AQUINO et al. (2011), avaliou a influência da atividade de água em amostras de arroz irradiado com as doses de 2 e 4 kGy e verificou que os valores das amostras controle variaram de 0,58 a 0,63, apresentando uma redução com o aumento das doses, após o tratamento. CAMARGO et al. (2012), relata que não houve correlação de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$) entre o aumento das doses de radiação gama e a diminuição dos valores de atividade de água em amendoim.

Os valores obtidos indicam aumento significativo da atividade de água em relação a dose de radiação gama aplicada. FROTA et al. (2008), relata que o feijão caupi possui atributos como altos teores de energia, proteínas, fibras e minerais, baixa atividade inibitória de tripsina e, apesar de reduzido conteúdo lipídico, contém alta proporção de ácidos graxos insaturados. Segundo RAMÍREZ-CÁRDENAS et al. (2008), o feijão comum apresenta conteúdo elevado dos minerais ferro, zinco, cálcio, cobre e manganês. CAMARGO et al. (2011), observaram que a irradiação alterou o perfil de ácidos graxos, diminuindo a porcentagem de ácidos graxos saturados, aumentou a porcentagem de ácidos graxos insaturados.

Conforme DHINGRA e ACUÑA (1997), grãos com Aa de 0,67 a 0,73 estão sujeitos à degradação de proteínas, carboidratos e fosfolípidos, afetando a cor, odor e sabor. O aumento de ácidos graxos insaturados e a degradação de arranjos moleculares após o tratamento por radiação é um possível fator relacionado ao aumento da atividade de água das amostras.

7 CONCLUSÕES

- Foram isolados, nas amostras analisadas, os gêneros fúngicos: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chaetomium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Nigrospora*, *Phoma*, *Scopulariopsis* e *Mucor*.
- Foram identificados os insetos: *R. dominica*, *Sitophilus* spp, *C. maculatus*, *A. obtectus*, *Liposcelis* spp, *D. basalis*, *Z. subfasciatus*, *L. serricorne* e *O. surinamensis*.
- A análise de distancia euclidiana indicou a não similaridade na formação de grupos, indicando uma não predileção por parte dos fungos nas variedades estudadas.
- Foi constatada presença de fungos associados a insetos em todas as amostras analisadas, comprometendo a qualidade do grão e favorecendo a contaminação por microorganismos.
- A dose recomendada para letalidade imediata e simultânea nas espécies *C. maculatus*, *A. obtectus* e *Z. subfasciatus* foi de 3.0 kGy.
- As doses de 5 e 10 kGy são capazes de reduzir, porém não eliminaram a carga fúngica dos feijões analisados.
- Os valores obtidos na análise de Atividade de água (Aa) situaram-se abaixo do limite ideal para crescimento fúngico diretamente nos grãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-AAL, S. S.; AZIZ, N. H. Effects of gamma radiation on mycotoxin production by toxigenic moulds in local karish cheese. **Egyptian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 151-168, 1997.

ABOU-SHADY, M. R.; EL-BEIH F., M.; TAWFIK Z. S. Role of lipids in bacterial radioresistance. **5th Conf. Nucl. Sci. Appl.**, v. 2, p. 513-523, 1992.

AFONSO JÚNIOR, P. C.; CORRÊA, P. C. Efeitos imediato e latente da secagem de sementes de feijão colhidas com diferentes níveis de umidade. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 33-40, 2000.

AHMED, M. Disinfestations of stored grains, pulses, dried fruits and nuts, and other dried foods. **Food Irradiation Principles and Applications**. New York: Wiley, p. 77–112, 2001.

ANDRADE JÚNIOR, A. S. de; SANTOS, A. A. dos; SOBRINHO, C. A.; BASTOS, E. A.; MELO, F. de B.; Viana, F. M. P. Cultivo do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). **Teresina: Embrapa Meio-Norte**, p. 108, 2002.

AQUINO, S.; GONÇALEZ, E.; ROSSI, M.H.; NOGUEIRA, J. H. C.; REIS, T.A.; CORRÊA, B. Evaluation of Fungal Burden and Aflatoxin Presence in Packed Medicinal Plants Treated by Gamma Radiation **Journal of Food Protection**, v.73, n.5, p. 932–937, 2010.

AQUINO, S.; NUNES, F. CRISTINE, T.; CORRÊA, B. Efeito da radiação gama nas propriedades sensoriais, atividade de água e micobiota de arroz. **ConScientiae Saúde**, vol. 10, n. 2, p. 215-222, 2011.

AQUINO, S.; POTENZA, M. R. Análise da micobiota associada à entomofauna em rações a granel para animais domésticos. **Arq. Inst. Biol.** v. 80, n. 2, p. 243-247, 2013.

ARMELIN, J. M.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; PIEDADE, S.M. de S.; MACHADO, F.M.V.F.; SPOTO, M.H.F. Avaliação física de feijão carioca irradiado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 3, p. 498-502, 2007.

ARTHUR, V.; WIENDL, F. M.; PACHECO, J.M.; WALDER, J.M.M.; SCRILLO, R.B. Mortalidade e reprodução de *Sitophilus zeamais*, Mots. em macarrão irradiado In: Uso y calibracion de fuentes intensas de radiacion. **Informe del Seminario**. p. 18-22, 1973.

ARTHUR, V. Controle de insetos pragas por radiações ionizantes. **Biológico**, v. 59, n. 1, p. 77-79, 1997.

ARX, J.A. The genera of fungi sporulating in pure culture. Vaduz: J. Cramer, 313p, 1974.

AZIZ N. H.; M. Z. EL-FOULY; M. R. ABU-SHADY; L. A. A. MOUSSA. Effect of Gamma radiation on the Survival of Fungal and Actinomycetal Florae Contaminating Medicinal Plants. **Appl. Radiat. Isot.** v.48, n.1, p. 71-76, 1997.

AZIZ', N. H.; MOUSSA, L. A. A. Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-radiation. **Journal of Food Safety**. p. 24, 2004.

BARROSO, M. do R.; MAGALHÃES M. J.; CARNIDE V.; MARTINS, S.; VEGAS, C. A.; CACHÓN, M. R. Caracterização e Avaliação de Diferentes Espécies de Leguminosas Grão na Região de Trás-os-Montes. **Candeias Artes Gráficas**. p. 65, 2007.

BENEVIDES, C. M. de J.; SOUZA, M. V.; SOUZA, R. D. B.; LOPES, M. V. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**. v. 18, n.2, p. 67-79, 2011.

BENÍCIO V.; ARAÚJO, E.; SOUTO, F. M.; SOUTO, F. M.; BENÍCIO, M. J.; FELISMINO, D. C. Identificação e características culturais de espécies do

gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28, n. 2, p. 180-183, 2003.

BENNET, J.W. & KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical of Microbiology Review** 16. p. 497–516, 2003.

BERJAK, P. Stored seeds: The problems caused by micro-organisms (with particular reference to the Fungi). In: NASSER, L.C.; WETZEL, M.M.; FERNANDES, J.M. (Ed.). **Advanced International Course on Seed Pathology**. Passo Fundo: ABRATES, p.38-50, 1987.

BORECHAM, D. R.; MITCHEL, R. E. J. Heat and radiation stress response regulation in yeast by HSP104. **Radiation Research**. v. 137, p. 190-195, 1994.

BOTELHO, A. C. G., ARTHUR, V., & AMARAL FILHO, B. F. Influência de linhagens de feijão portadoras de variantes da proteína arcelina irradiadas sobre a reprodução de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 69, n. 2, p. 95-98, 2002.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; BOTELHO, A. C. G.; TOSCANO, L. C. Comportamento de genótipos de feijoeiro ao ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 69, p. 51-55. 2002.

BRAGANTINI, C. Alguns aspectos do armazenamento de sementes e grãos de feijão /. – Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. p. 28, 2005.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 21, de 26 de Janeiro de 2001. **Aprova o regulamento técnico para irradiação de alimentos**. Publicada no D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 29 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12 de 28 mar. 2008. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 31 mar. Seção 1, p. 11-14. 2008.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / ministério da saúde, secretaria de atenção à saúde, departamento de atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde. p. 156, 2014

BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Avaliação dos efeitos da cocção e irradiação na composição do feijão carioca (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alim. Nutr.** v. 22, n. 1, p. 97-102, 2011.

BULL, L.T. Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, **POTAFOS**. p. 300, 1993.

CAMARGO, A. C. de; VIEIRA, T. M. F. DE S.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; ALENCAR, S. M. de; CALORI-DOMINGUES, M. A.; SPOTO, M. H. F.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Gamma Irradiation of in-Shell and Blanched Peanuts Protects against Mycotoxic Fungi and Retains Their Nutraceutical Components during Long-Term Storage. **Int. J. Mol. Sci.** v. 13, n. 9, p. 10935-10958, 2012.

CARVAJAL, M.; ARROYO, G. Management of aflatoxin contaminated maize in Tarmaulipas, México. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 45, n. 4, p. 1301-1305, 1997.

CATTARUZZI, E. B. Análise sobre a predisposição do consumidor em arcar com o custo do alimento processado por radiação ionizante. São Paulo, Tese (Doutorado) - **Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares**, Universidade de São Paulo. p. 110, 2012.

CONAB - Companhia Nacional de abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira grãos, Safra 2016/17 - **Décimo segundo levantamento, Brasília**. v. 4, p. 1-158, 2017.

CONAB - Perspectivas para a agropecuária. **Companhia Nacional de Abastecimento**. v.4, p. 129, 2016.

CORDERO, R. J. B.; CASADEVALL, A. Functions of fungal melanin beyond virulence. **Fungal Biology Reviews**. v. 31, p. 99-112, 2017.

COVE, D. J. The genetics of *Aspergillus nidulans*, In: SMITH J. E.; PALEMAN J. A. (ed.), Genetics and physiology of *Aspergillus*. **Academic Press, Inc.** p. 81-95. 1977.

CREDLAND, P. F.; DENDY, J. Intraespecific variation in bionomic characteres of the Mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 65, p. 39-47, 1992.

CURSINO, M. C. C. S.; SILVA, M. P. da; SANTOS, A. B. R. dos. Coleoptero fauna Observada Em Grãos De Feijão Armazenado E Comercializado Nas Feiras Livres Da Região Metropolitana DO Recife - PE. **XXII Congresso Brasileiro De Entomologia**. 2008.

DADACHOVA E.; CASADEVALL, A. Ionizing Radiation: how fungi cope, adapt, and exploit with the help of melanina. **Curr. Opin. Microbiol.** v. 11, p.525–531, 2008.

DEBOUCK, D.G. Primary diversification of *Phaseolus* in the Americas: three centers? **Plant Genetic Resources Newsletter**. v. 67, p. 2-8, 1986.

DEBOUCK, D.G. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). Common beans: research for crop improvement. **Cali: CIAT**, p.55-118, 1991.

DHINGRA, O. D.; ACUÑA, R. S. Patologia de semente de soja. **Viçosa**: Ed. UFV, p. 119, 1997.

DHINGRA, O. O. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.7, n.1, p.139-146, 1985.

DHINGRA, O. D.; COELHO NETO, R. A. Micotoxinas em grãos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 6, n. 1, p. 49-101, 1998.

DIEHL, J. F. Food irradiation: past, present and future. **Radiation Physics and Chemistry**. v. 63, p. 211-215, 2002.

DIOIP, Y. M.; MARCHIONI', E.; BAZ, D.; HASSELMAN, C. Radiation disinfestation of cowpea seeds contaminated by *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 21, n. 1, p. 69-81, 1997.

DOMIJAN, A. M.; PERAICA, M.; LENDER, V. Z.; CVJETKOVIC, B.; JURJEVIC, Z.; TOPOLOVEC-PINTARIC, S.; IVIC, D. Seed-borne fungi and ochratoxin A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Republic of Croatia. **Food and Chemical Toxicology**. v. 43, p. 427-432, 2005.

DUNKEL, F. V. The relationship of insects to the deterioration of stored grain by fungi. **International Journal of Food Microbiology**. v. 7 , p. 227- 244, 1988.

DUNKEL, F. V. The Stored Grain Ecosystem: A Global Perspective. **J. stored Prod. Res.** v. 28, n. 2, p. 73-87, 1992.

FAO. Faostat. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 22 de fev. 2018.

FAGUNDES, C. A. A.; ELIAS, M. C.; BARBOSA, F. F. Desempenho industrial de arroz secado com ar aquecido por queima de lenha e de GLP. **Revista Brasileira de Armazenamento**. v. 30, p. 8-15, 2005.

FARONI, L. R. D'A.; SILVA, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J.S. (Ed.). **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil. p. 371-406. 2008.

FERREIRA-CASTRO, F. L.; POTENZA M. R.; ROCHA L. O.; CORREA B. Interaction between toxigenic fungi and weevils in corn grain samples. **Food Control**. v. 26, n. 2, p. 594-600, 2012.

FINNEY, D.J. Probit analysis. 3. ed. London: **Cambridge University Press**, p. 315, 1971.

FIRMINO, P. de T.; SILVA, V. S.; ANJOS, G. G. DOS; SILVA, A. C.; OLIVEIRA, D. M. de. Atividade de água para conservação das sementes de mamona. 2º **Congresso Brasileiro de Manona**, 2006.

FONTES, L. S.; ARTHUR, V.; ARTHUR, P. B. Influência da taxa de dose de radiação gama do cobalto-60 para desinfestação de feijão caupi (vigna unguiculata, l.) Infestado com formas imaturas de callosobruchus maculatus. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, suplemento 3, p.21-23, 2003

FRAENKEL G.; BLEWITT M. The natural foods and food requirements of several species of stored product insects. **Transactions of the Royal Entomological Society of London**. p. 457-490. 1943.

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília, DF: IITA: EMBRAPA, p. 26-46. 1988.

FROTA, K. de M. G.; SOARES, R. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 28, n. 2, p. 470-476, 2008.

GCIIA. Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos. A irradiação de alimentos: ficção e realidade. **Ficha Descritiva 114**. Gebrüder Bornträger, p. 666, 1964.

GEPTS, P. Origin and evolution of commom bean: past events and recentes trends. **HortScience Alexandria**, v. 37, n. 7, p. 1124-1130, 1998.

GIRALDI, J. M. E.; NORONHA, A. B. Uma comparação entre duas abordagens para construção de mapas perceptuais. **Revista Alcance - Eletrônica**, v. 18, n. 3, p. 243-257, 2011.

GEIL, P. B.; ANDERSON, J. W. Nutrition and health implications of dry beans: a review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 13, n. 6, p. 549-558, 1994.

GONZAGA, A. C. de O. Feijão: o produtor pergunta, a Embrapa. 2 ed. rev. e ampl. – Brasília, DF: **Embrapa**. p. 247, 2014.

GUEDES, R. N. C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Rev. Bras. Armaz.** p. 3-48, 1991.

GATEHOUSE, A. M. R.; GATEHOUSE, J. A.; DOBIE, P.; KILMINSTER, A. M.; BOULTIER, D. Biochemical basis of insect resistance in *Vigna unguiculata*. **J. Sci. Food Agric.** 30: 948-958, 1989.

HANCOOK, J. F. Protein plant in: Plant evolution and the origen of crop species. 2nd ed. Cambridge: **CABI Publishing**, chap. 9. p. 195-208, 2004.

HARWOOD, J. L.; RUSSEL, N. J. Distribution of lipids. In: **Lipids in Plants and Microbes** (Ed. Friedman). Academic Press, New York. p. 35-70, 1984.

HILL, D.S. Pests of stored products and their control. New York: **CRC Press**, p. 274, 1990.

HOUSSAIN, M. M.; BROWER, J. H.; TILTON, E. W. Sensitivity to an acute gamma radiation exposure of successively irradiated generations of the cowpea weevil. **Journal of Economic Entomology**, v. 65, n. 6, p. 1566-1568, 1972.

HUIGNARD, J. Regulation of the bean weevil reproduction (*Acanthoscelides obtectus*: Coleoptera Bruchidae) and research on techniques of protection of stored beans. In: **International Working Conference on Stored Product Entomology**, 2, Ibadan, Nigéria 1978. Proceedings: Georgia, USA. p. 360-371, 1979.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, vol. 7, p.138-161, 2010.

IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. In: **IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans** (Lyon, France), v. 82, p. 601, 2002.

IBGE. Percepção do Estado se Saúde, Estilo de Vida e Doenças Crônicas. **Pesquisa Nacional de Saúde**. p.181, 2014.

ISLAM, W.; KABIR, S. M. H. Biological control potential of *Dinarmus basalis* (Rond.) (Hymenoptera: Pteromalidae), a larval-pupal ectoparasitoid of the pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (L.). **Crop Protection**. v. 14, n. 6, 1995.

KALINOVIC, I.; ROZMAN, V.; LISKA, A. Significance and feeding of psocids (Liposcelididae, Psocoptera) with microorganisms. In: Proceedings 9th International Conference on Stored - Product Protection, Passo Fundo, p. 15-18, 2006.

LARA, F. M. Resistance of wild and near isogenic bean lines with arcelin variants to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). I- winter crop. **An. Soc. Entomol. Brasil** 26: 551-559, 1997.

LARRY, R.; BEUCHAT, L. R. Influence of water activity on growth, metabolic activities and survival of yeast's and molds. **Journal of Food Protection**. v. 46, p. 135-141, 1983.

LAZZARI, F.A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. 2.ed. **Curitiba: Ed. do Autor**, p. 134, 1997.

LEAL, A. S., KRAMBROCK, K., RODRIGUES, R. R., Ressonância Paramagnética Eletrônica – RPE aplicada a análise de especiarias irradiadas (com radiação gama), **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.24, n. 3, p. 427-430, 2004.

LEORA SOFTWARE. Polo. In: ROBERTSON, J.L.; PREISLER, H.K.; RUSSEL, R.M. (Ed.). A user's guide to probit or logit analysis. Berkeley: LeOra Software. p. 7-11. 2003.

LI, C. C.; CHUNG, H. P.; WEN, H. W.; CHANG, C. T.; WANG, Y. T.; CHOU, F. I. The radiation resistance and cobalt biosorption activity of yeast strains isolated from the Lanyu low-level radioactive waste repository in Taiwan. **Journal of Environmental Radioactivity**. v.146, p. 80-87, 2015.

LIMA, K. dos S. C.; COELHO, M. J. E.; SANTOS LIMA, A. L.; SILVA O. F.; GODOY, R. L. de O. Toxigenic fungus in cowpea bean grains submitted to different gamma irradiation doses. **Rev. Ciên. Vida**. v. 28, p. 201-203, 2008.

LIMA, M. P. L., OLIVEIRA, J. V., BARROS, R., TORRES, J. B. Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**. v. 30, n. 2, p. 289-295, 2001.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. DE B.; HENNING, A. A. Principais Pragas e Métodos de Controle em Sementes durante o Armazenamento – **Série Sementes**. Circular Técnica 73. p. 12, 2010.

LOLLATO, M. A.; SEPULCRI, O.; DEMARCHI, M. Cadeia produtiva do feijão: diagnóstico e demandas atuais. Londrina: **IAPAR - Instituto Agrônômico do Paraná**. p. 48, 2001.

MACHADO, J. C. Tratamento de sementes no controle de doenças. Lavras: **LAPS/UFLA/FAEPE**, p. 13, 2000.

MAGAN, N., LACEY, J., Effect of temperature and pH on water relations of field and storage fungi. **Trans. Br. Mycol. Soc.** v. 82, p. 71–81, 1984.

MAIA, L. C.; CARVALHO JUNIOR, A. A. Introdução: os fungos do Brasil. In: FORZZA, R. C., org., et al. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. v. 1, p. 43-48, 2010.

MARTÍN-CABREJAS, M. A.; ESTEBAN, R. M.; PEREZ, P.; MAINA, G.; WALDRON, K. W. Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during long-term storage. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v. 45, n. 8, p. 3223-3227, 1997.

MARTINS, D. S., BARRIGOSI, J. A. F., SILVA, R. F. Efeitos de danos do caruncho (*Acanthoscelides obtectus* SAV, 1831) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**. vol. 9, n. 1, p. 91-100, 1987.

MASON, L. J., Indianmeal moth: *Plodia interpunctella* (Hubner). In: Purdue University, **Cooperative extension service**. Rev. 4, 2003.

MAZIERO M. T.; BERSOT, L. dos S. Micotoxinas Em Alimentos Produzidos No Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande**, v.12, n.1, p. 89-99, 2010.

MAZZONETTO, F. Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) e *Acanthoscelides obtectus* (Say). Dissertação (Mestrado em Entomologia). **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, SP**. p. 134. 2002.

MAZZONETO, F.; VENDRAMIM, J. D. Aspectos Biológicos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em Genótipos de Feijoeiro com e sem Arcelina. **Neotrop. Entomol.** vol.31 no.3 Londrina July/Sept. 2002.

MELCHIOR, H. Engler's syllabus der Pflanzenfamilien. Gerbruder Borntraeger Berlin. 1964.

MENDES, N. da S. R.; SILVA, Y. P. A.; TIRABOSQUI, P. C. A.; BASSINELLO, P. Z.; ARTHUR, V.; SOUZA, A. R. M. de. Efeito da irradiação gama sobre fatores antinutricionais em feijões comerciais (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca. In: **Congresso Nacional De Pesquisa De Feijão**, Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011.

MEREDITH, P.; SARNA, T. The physical and chemical properties of eumelanin. **Pigment Cell Res.** v 19, p. 572-594. 2006.

MOSS, M. O. Economic importance of mycotoxins-recent incidence. **International Biodeterioration, Birmingham.** v. 27, p. 195-205, 1991.

MOUND, L. Common insect pests of stored food products. London: **British Museum of Natural History**, p. 68, 1989.

MOTA, A. C.; FERNANDES, K. V. S.; SALES, M. P.; FLORES, V. M. Q.; XAVIER FILHO, J. Cowpea vicilins: fraction of urea denatured sub-units and

effects on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) development. **Braz. Arch. Biol. Technol.** 25: 1-5, 2002.

MOURA, N. C.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; SPOTO, M. H. F.; ARTHUR, V. Avaliação sensorial de feijão preto submetido à radiação de cobalto-60. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(2): 370-374, 2005.

MORAES, C. P. B. de; BOIÇA JUNIOR, A. L.; SOUZA, J. R. de; COSTA, J. T. da. Determinação dos tipos de resistência em genótipos de feijoeiro ao ataque de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 58, n.4, p. 419-424, jul/ago, 2011.

NASCIMENTO, L.M. Efeito da radiação gama (^{60}Co) nas propriedades físico-químicas e sensoriais de feijões envelhecidos (*Phaseolus vulgaris*). São Paulo, Tese (Doutorado) - **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade São Paulo**. p. 135, 1992.

NEVES, L.C.; MANZIONE, R.L.; VIEITES, R.L. Radiação gama na conservação pós-colheita da nectarina (*Prunus pérsica* var. *nucipersica*) frigoconservada. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, n. 3, p. 676-679, 2002.

NORTHOLT, M.D.; VAN EGMOND, H.P.; PAULSCH, W.E. Differences between *Aspergillus flavus* strains in growth and aflatoxin production in relation to water activity and temperature. **Journal of Food Protection**, v. 40, p. 778-781, 1997.

OLIVEIRA, F. J.; SANTOS, J. H. R.; ALVES, J. F.; PAIVA, J. B.; ASSUNÇÃO, M. V. Perdas de peso em sementes de cultivares de caupi, atacadas pelo caruncho. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasília, v.19, n.1, p.47-52, 1984.

PACHECO, I. A.; PAULA, D. C. Insetos de grãos armazenados – Identificação e biologia. Fundação Cargill.Campinas, p. 228, 1995.

PADIL. PaDIL – High quality images and Information tools designed for Biosecurity and Biodiversity. Disponível em: <http:// <http://www.padil.gov.au/>> Acesso em 12 de fevereiro de 2018.

PEREIRA, P. R. V. da S.; SALVADORI, J. R. Identificação dos principais Coleoptera (Insecta) associados a produtos Armazenados. **Embrapa – Empresa Brasileira de Agropecuária**. p. 33, 2006.

PINN, A. B. R. O. Efeito das radiações gama sobre a disponibilidade de ferro em feijões (*Phaseolus vulgaris*). São Paulo, Dissertação (Mestrado) – **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo**. p. 129, 1992.

PITT, J. I.; Hocking, A. D. Fungi and food Spoileg. 3 ed. **Springer Science + Business Media**, LLC. 2009.

POSSE, S. C. P.; RIVA-SOUZA, E. M.; SILVA, G. M. da; FASOLO, L. M.; SILVA, M. B. da; ROCHA, M. A. M. Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro-comum na região central-brasileira: 2009-2011. Vitória, ES: **Incapar - Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural**. p. 245, 2010.

QUINTELA, E. D. Manual de identificação de insetos e outros invertebrados pragas do feijoeiro - 2. ed.atual. - Santo Antônio de Goiás: **Embrapa Arroz e Feijão**. p. 91, 2015.

QUINTELA, E. D.; NEVES, B. P. das; QUINDERE, M. A. W.; ROBERTS, D. W. Principais pragas do Caupi no Brasil. Goiânia: **EMBRAPA-CNPAF**. p. 38, 1991.

RAMÍREZ-CÁRDENAS, L.; LEONEL, A. J.; COSTA, N. M. B. Efeito do processamento doméstico sobre o teor de nutrientes e de fatores antinutricionais de diferentes cultivares de feijão comum. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v. 28, n.1, p. 200-213, 2008.

RAPER, K.B.; FENNEL, D.I. The genus *Aspergillus*. Baltimore Williams and Wilkins, 1965.

REDPATH, J. L.; PATTERSON, L. K. The effect of membrane fatty acid composition on the radiosensitivity of *E. coli*. **Radiation Research**, v. 75, n. 2, p. 443-447, 1978.

RESENDE, O.; CORRÊA, P. C.; FARONI, L. R. D' A.; CECON, P. R. Avaliação da Qualidade Tecnológica do Feijão Durante o armazenamento. **Ciênc. agrotec.** Lavras, v. 32, n. 2, p. 517-524, 2008.

RESURRECCION, A. V. A.; GALVEZ, F. C. F.; FLETCHER, S. M.; MISRA, S. K. Consumers attitudes towards irradiated food: results of a new study. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 193-196, 1995.

REYES-MORENO, C.; PAREDES-LÓPEZ, O.; GONZALEZ, E. Hard-to- cook phenomenon in common beans — A review, Critical Reviews in **Food Science and Nutrition**, v. 33, n.3, p. 227-286. 1993.

RIDELL, R.W. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. **Mycologia**, v.42, p.265- 270, 1950.

ROCHA, M. M.; CARVALHO, K. J. M. de; FREIRE FILHO, F. R.; LOPES, A. C. de A.; GOMES, R, L, F.; SOUSA, I. da S. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesq. agropec. bras.** v. 44, n. 3, p. 270-275, 2009.

RUNNER, G. A. Effects of roentgen rays on the tobacco or cigarette beetle and results of experiments with a new form of roentgen tube. **Journal of Agricultural Research**, v. 6, n.11, p. 383-388, 1916.

SALAMA, A. M.; ALI, M. I.; EI-KIRDASSY, Z. H. M.; ALI, T. M. A Study on Fungal Radioresistance and Sensitivity. **Zbl. Bakt. Abt. II Bd**, v. 132, p. 1-13, 1977.

SALEH, N. A.; AZIZ, N. H. Incidence of mycotoxins in feedstuffs and effects of gamma irradiation and sodium propionate on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. **Journal of the Egyptian Medical Association**. v. 56, p. 281-299, 1996.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Rev. bras. sementes**. v. 27, n. 1, p. 104-114, 2005.

SARI, L. T.; RIBEIRO-COSTA, C. S.; PEREIRA, P. R. V. da S. Aspectos biológicos de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera, Bruchidae) em *Phaseolus vulgaris* L., cv. Carioca (Fabaceae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 47, n. 4, p. 621-624, 2003.

SAUER D.B.; STOREY, C. L.; WALKER, D. E. Fungal populations in US farming-stored grain and their relationship to moisture, storage time, regions and insect infestation. **Phytopathology**. v. 74, p. 1050–1053, 1984.

SCOTT, W. J. Water Relations of Food Spoilage Microorganisms, Advances in: **Food Research**, v. 7, p. 83-127, 1957.

SCUSSEL, V. M. Fungos em grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. Armazenagem de grãos. Campinas: IBG, 2002. p. 675-804. **Sementes**. v. 27, n. 1, p. 104-114, 2005.

SILVA, D. J. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3.ed. **Viçosa: UFV**, p. 235 2002.

SILVA, F. K. L; ARTHUR, V. Determinação da dose letal imediata de radiação gama para *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera, Bruchidae) em diferentes irradiadores. **Rev. de Agricultura. Piracicaba**, v. 78, n. 2, p. 267-276, 2003.

SILVA, J. L. da; ALBENONES, J. de M.; OLIVEIRA, J. P. de; COSTA, J. L. da S.; RIBEIRO, K. de O.; NICOLAU, E. S.; OLIVEIRA, A. N. de. Ocorrência de

aflatoxinas em feijões comercializados no mercado varejista de Goiânia-Go. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 32, n.2, p. 109-114, 2002.

SILVA, J. S.; LACERDA FILHO, A.F.; DEVILLA, I.A. Aeração de grãos armazenados. In: SILVA, J.S. Secagem e armazenagem de produtos agrícolas. **Viçosa: Editora Aprenda Fácil**. p. 261-277. 2000.

SILVA, L. K. F.; ARTHUR, V. Efeito do fracionamento de dose de radiação gama sobre *Sitophilus oryzae* (LINNAEUS, 1763) (Coleoptera: Curculionidae); *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Arq. Inst. Biol.** v. 71, n. 2, p. 253-256, 2004.

SILVA, K. D.; BRAGA, V. de O.; QUINTAES, K. D.; HAJ-ISA, N. M. A.; NASCIMENTO, E. S. Conhecimento e atitudes sobre alimentos irradiados de nutricionistas que atuam na docência. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.30, n3, p. 645-651, 2010

SILVA, T. T.; COSTA, F. M. da. Survey of Insects that Attack Stored Bean Grains *Vigna unguiculata* (L.) and *Phaseolus vulgaris* L. in Porto Velho, Rondônia, Brazil. **EntomoBrasilis**. v. 9, n. 2, p. 124-128, 2016.

SILVA, O. F. da; WANDER, A. E. O feijão comum no Brasil passado, presente e futuro. Santo Antônio de Goiás-GO: Embrapa Arroz e Feijão, (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 287) 63 p. 2013.

SILVEIRA, V. D. Micologia. 5.ed. Rio de Janeiro: **Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, 1995.

SINHA, R. N. Fungus as food for some stored product insects. **Journal of Economic Entomology**. v. 64, p. 3-6, 1971.

SOARES, A. G. Consumo e qualidade nutritiva. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO. **Anais**. Goiânia: UFGO, 1996. v. 2, p. 73-79, 1996.

SOARES, M.A.; ZANUNCIO, J.C.; LEITE, G.L.D.; REIS, T.C.; SILVA, M.A. Controle biológico de pragas em armazenamento: uma alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos no Brasil? **Unimontes Científica**. v.11, n.1, 2009.

SOUSA, A. H. de; BRITO, J. E. DE; MAIA, P. H. DA S.; MARACAJÁ, P. B.; GEREMIAS, L. D. Ataque do *Callosobruchus maculatus* ao Feijão Caupi Comercializado Em Teresina-Pi – Brasil. **Expressão, Mossoró**, v. 39, n. 1, p. 77-80, 2008.

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

STEJSKAL, V.; BOSTLOVA, M.; NESVORNA, M.; VOLEK, V.; DOLEZAL, V.; HUBERT, J. Comparison of the resistance of mono- and multilayer packaging films to stored-product insects in a laboratory test. **Food Control**. v. 73, p. 566-573, 2017.

TACO-Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA –UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl. p. 161, 2011.

TARTARIN, B. B. G.; BARROS W. S.; SOUZA, L. C. D. de. Principais pragas na cultura do feijoeiro comum. **Rev. Conexão Eletrônica** – Três Lagoas, MS. v.13, n. 1, 2016.

TEIXEIRA, I. R. V.; ZUCOLLOTO, F. S. Intraspecific competition in *Zabrotes subfasciatus*: Physiological and behavioral adaptations to different amounts of host. **Insect Science**. v. 19, n. 1, p. 102–111, 2012.

TELLES, A. C. Feijões: Características Químicas E Ocorrência De Aflatoxinas. Dissertação (Mestrado). **Universidade Federal Do Rio Grande**, Escola De

Química E Alimentos Programa De Pós-Graduação Em Engenharia E Ciência De Alimentos. p. 78, 2015.

TORRES, S. R.; PEIXOTO, A. R.; CARVALHO, I. M. S. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão-massacar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Revista Brasileira de Sementes**. v. 20, n. 2, p. 245-248, 1998.

TSENG, T. C.; TU, J. C.; TZEAN, S. S. Mycoflora and mycotoxins in dry bean (*Phaseolus vulgaris*) produced in Taiwan and in Ontario, Canada. **Bot. Bull. Acad. Sin.** v. 36, p. 229-234, 1995.

VARGA, J.; KEVEI, E.; RINYU, E.; TÉREN, J.; KOZAKIEWICZ, Z. Ochratoxin production by *Aspergillus* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 12, p. 4461-4464, 1996.

VIEIRA, E. H. N.; YOKOYAMA, M. Colheita, processamento e armazenamento. In: VIEIRA, E. H. N.; RAVA, C. A. **Sementes de feijão** - produção e tecnologia. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. p. 233-248 , 2000.

VIJAYKUMAR, A.; SAINI, A.; JAWALI, N. Phylogenetic analysis of subgenus *Vigna* species using nuclear ribosomal RNA ITS: Evidence of hybridization among *Vigna unguiculata* subspecies revealed by arbitrarily primed polymerase chain reaction analysis. **Journal of Heredity**. v. 101, n. 2, p. 177-188, 2010.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Avaliação dos efeitos da radiação ionizante de ^{60}Co em propriedades físicas, químicas e nutricionais dos feijões *Phaseolus vulgaris* L, e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. São Paulo, Tese (Doutorado) - **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo**. p. 138, 1998.

WALDER, J. M. M.; CAMARGO, A. C. Irradiação de alimentos. Divulgação da tecnologia de irradiação de alimentos e outros materiais. 2007. Disponível em: <http://www.cena.usp.br/> Acesso em: 21 junho de 2018.

WANDERLEY, dos S. V.; ARTHUR, V.; CARBONELL, S. A. M.; BERGMANN, E. C. Effect of Gama Radiation on Arcelin Protein and its Influence on *Z. subfasciatus*. **J. Nuclear Agric. Biol.** v. 29, n. 1, p. 1-7, 2000.

WELTI, J.; VERGARA, F. Atividade de água, Conceito y aplicación em alimentos com alto contenido de humedad. In: AGUILERA, J. M. **Temas en Tecnología de Alimentos**. Santiago – Chile, v. 1, p. 11-26, 1997.

WOLBARSHT, M. L., WALSH, A. W., GEORGE, G. Melanin, a unique biological absorber. **Appl. Opt.** v. 20, n. 13, p. 2184-2186, 1981.

WHO - WORLD AND HEALTH ORGANIZATION Evaluation of certain mycotoxins in food. Technical Report Series 906:1–62. 2002. WHO - World Health Organization. **Safety and nutritional adequacy of irradiated food**, p.1-17, World Health Organization, Geneva, 1994.

WRIGHT, V. F. Interactions of Stored Product Insects with Storage Fungi of the genus *Pentctllium* with Emphasis on Secondary Metabolites. Tese (Doutorado). **University of Minnesota, Minneapolis, MN**, p.70, 1979.

YOUSIF, A. M.; DEETH, H. C.; CAFFIN, N. A. Effect of storage time and conditions on the hardness and cooking quality of adzuki (*Vigna angularis*). **LWT – Food Science and Technology**, v. 35, n. 4, p. 338-343, 2002.