

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

RAFAEL VIDO DE ALENCAR

**ASSOCIAÇÃO DE PÓS VEGETAIS E *Bacillus thuringiensis* PARA O
CONTROLE DE *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera:
Tenebrionidae)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DOIS VIZINHOS

2015

RAFAEL VIDO DE ALENCAR

**ASSOCIAÇÃO DE PÓS VEGETAIS E *Bacillus thuringiensis* PARA O
CONTROLE DE *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera:
Tenebrionidae)**

Trabalho de Dissertação apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo de Gouvea
Co-orientadores: Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva e Prof^a Dr^a Michele Potrich

DOIS VIZINHOS

2015

A368a Alencar, Rafael Vido.
Associação de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera:Tenebrionidae) / Rafael Vido de Alencar – Dois Vizinhos : [s.n], 2015.
55f.;il.

Orientador: Alfredo de Gouveia
Co-orientador: Everton Ricardi Lozano da Silva, Michele Potrich.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Dois Vizinhos, 2015 .
Inclui Bibliografia

1. Ave - Criação. 2. Pragas - Controle. I. Gouveia, Alfredo de, orient. II. Silva, Everton Ricardi Lozano da, co-orient. III. Potrich, Michele, co-orient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos. IV. Título
CDD: 636.5082

Ficha catalográfica elaborada por Rosana da Silva CRB:9/1745



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Associação de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

por

Rafael Vido De Alencar

Dissertação apresentada às oito e meia do dia dezoito de setembro de dois mil e quinze, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Banca examinadora:

Dr. Alfredo de Gouvea
UTFPR

Dr. (a) Natalia Ramos Mertz
UNICENTRO

Dr. (a) Michele Potrich
UTFPR

Visto da Coordenação: _____

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família, por
todo apoio prestado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente que me sempre me mostrou o melhor caminho a ser seguido;

Agradeço a minha família por estar sempre ao meu lado sendo mais que uma família, um porto seguro;

Dedico aos meus pais Maria e Osvaldo pela paciência, pelas horas dedicada a mim, algumas vezes longe, mas sempre presentes dentro do coração;

Dedico a minha irmã que por mais de mil quilômetros de distância a amizade verdadeira sempre existiu e sempre existirá.

Agradeço aos meus professores Alfredo, Everton e Micheli por todo apoio prestado nesta caminhada.

Agradeço a professora Natalia Ramos Mertz, que compôs a banca examinadora por ter aceitado o convite e disponibilizado seu tempo para a ocasião.

“Tudo o que somos é o resultado do que temos pensado.
Se uma pessoa fala ou age com pensamento
ruim, a dor a segue, tal como a roda segue a pata do boi
que puxa a carroça...
Se uma pessoa fala ou age com um pensamento
puro, a felicidade a segue, como uma sombra
que nunca a abandona.”

(Pensamento budista)

RESUMO

ALENCAR, Rafael. V. **Associação de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)**. 2015. 55 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

O inseto-praga de maior importância na produção avícola mundial é *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido como cascudinho de aviário. Sua presença nos galpões avícolas ocasiona diversos prejuízos à cadeia, sendo eles, transmissores de patógenos, perdas no ganho de peso das aves, danificação de instalações, prejuízos nas carcaças. O controle de *A. diaperinus* é feito principalmente com produtos químicos sintéticos que trazem malefícios como a contaminação do ambiente, deixam resíduos nas carcaças dos animais e contaminação de aplicadores. Desta forma, é necessário encontrar novas alternativas de controle que visam minimizar impactos ligados à produtividade e ao meio ambiente. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* e a associação destes sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*, em condições de laboratório. Foram testadas três linhagens de *B. thuringiensis*, ips82, br147 e br81, na concentração de 3×10^8 , adicionados à ração para aves. A mistura foi dividida em cinco placas de acrílico com 12 poços cada, sendo alocadas 12 larvas ou 12 adultos de *A. diaperinus* em cada poço. As plantas utilizadas para a obtenção dos pós vegetais foram arruda, pitanga, menta e laranjeira na concentração de 20%. Os pós (20g) foram adicionados e misturados a 80 g de ração de frangos esterilizada. A mistura foi dividida em cinco partes e adicionada em placas de petri, sendo alocadas 20 larvas ou 20 adultos de *A. diaperinus* em cada repetição. A associação dos métodos consistiu na preparação de suspensões das linhagens br 81 ips 82 e br 147 de *B. thuringiensis*, na concentração 3×10^8 UFC/mL à concentração do pó vegetal (5%) de pitanga incluídos em 22,8 g de ração comercial para frangos. Todos os experimentos foram avaliados a mortalidade dos cascudinhos, durante dez dias. O extrato de pitanga ocasionou 63,73% de mortalidade acumulada em larvas de cascudinho, diferindo dos demais extratos. Já para a mortalidade em adultos, a pitanga e a laranja 70% e 61,55% respectivamente diferiram significativamente da testemunha. No experimento com Bt para larvas as três subespécies diferiram significativamente da testemunha, apresentando mortalidade acumulada respectivamente de 60%, 55% e 61,66%, já a testemunha apresentou apenas 15%. Para adultos as três subespécies não diferiram significativamente da testemunha. A associação de métodos apresentou mortalidade para larvas, significativamente se comparado com a testemunha, porém apenas o tratamento 3 (br81+5% de extrato de pitanga) obteve acima de 55% de mortalidade. Para adultos os tratamentos 2 (ips82+5% de extrato de pitanga) e 3 (br81+5% de extrato de pitanga) ocasionaram mortalidade significativamente se comparados com a testemunha. A associação de bactéria com extrato apresentou efeito inseticida para larvas e adultos.

Palavras-chave: Cascudinho; Plantas inseticidas; Controle Biológico; Avicultura.

ABSTRACT

ALENCAR, Rafael. V. **Association between *Bacillus thuringiensis* and vegetable powders for the control of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)**. 2015. 55 leaves. Dissertation (MSc in Zootecnia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

The most important insect pest in the global poultry production is *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), known as avian mealworm. This insect can be vector of pathogens, thus its presence in poultry houses results in several losses to the productive chain, such as reduction of weight gain and damages of carcasses. The control *A. diaperinus* is done mainly with synthetic chemicals that are harmful to the environment, leave residues in the meat and contaminate the workers. Therefore, new alternative of controls that minimize impacts related to productivity and the environment are needed. The objective of this study was to evaluate the effect of vegetable powders, *Bacillus thuringiensis* and their association upon *A. diaperinus* larvae and adults at laboratory conditions. Three *B. thuringiensis* strains have been tested, ips82, br147 and br81, at concentration of 3×10^8 colony forming unit/ml added to poultry food. The mixture was divided in five acrylic dishes with 12 wells each and 20 larvae or adults of *A. diaperinus* were allocated in each well. Plants used for vegetable powders were rue, surinam cherry, mint and orange at concentration of 20%. The powders (20g) were added and mixed to 80g of sterilized feed for chickens. The mixture was divided in five parts and added to Petri dishes, where 20 larvae or adults of *A. diaperinus* were allocated in each replicate. The association of methods consisted in preparing suspensions of *B. thuringiensis* strains, br81, ips82 and br147 at the concentration of 3×10^8 spores/ml to the vegetable powder (5%) included in 22.8g of commercial feed for chicken. The mealworm mortality was assessed in all experiments for 10 days. Surinam cherry extract caused 63.73% accumulated mortality of the mealworm larvae, differing from the other extracts. As for mortality of adults, surinam cherry and orange presented 70% and 61.55% respectively with significant difference from the control. The three *B. thuringiensis* strains differed significantly from the control group for larvae cumulative mortality resulting respectively in 60%, 55% and 61.66%, whereas control group was only 15%. No significant differences were observed for adults. The association of methods presented significant larvae mortality when compared to the control, but only treatment 3 (br81 + 5% surinam cherry extract) presented over than 55% mortality. Treatment 2 (ips 82 + 5% surinam cherry extract) caused significant mortality in adults. Therefore, *B. thuringiensis* associated with vegetable powders at the described concentrations and associations showed insecticidal effect on larvae and adults of *A. diaperinus*.

Keywords: Mealworm; Insecticide Plants; Biological Control; Poultry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Recipiente com cama de aviário e ração, onde os insetos foram mantidos até a realização dos experimentos..... | 30 |
| Figura 2 | Moinho de facas do tipo Willye, utilizando peneira número 3..... | 32 |
| Figura 3 | Placas de Petri com pontos de inoculação com UFC para a determinação da concentração a ser utilizada nos bioensaios..... | 34 |
| Figura 4 | Placa de acrílico com poços individualizados e os tratamentos de 5% de extrato, larvas, repetição 3..... | 35 |
| Figura 5 | Preparação da mistura da associação de <i>B. thuringiensis</i> e extrato vegetal a 5%..... | 37 |
| Figura 6 | Larvas com paralisia/mortalidade através do emprego do extrato de pintaga a 5%+ BR81 a 3×10^8 | 43 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Nome científico, nome popular e parte da planta utilizada para a obtenção dos pós vegetais..... | 32 |
| Tabela 2 | Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> após 10 dias de tratamento com pós vegetais a 20%. Temperatura $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ | 38 |
| Tabela 3 | Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> após 10 dias de tratamento com pó vegetal de pitanga sobre nas concentrações de 5%, 7,5%,10%, 12,5%, 15%, 17,5% e 20%. Temperatura $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ | 40 |
| Tabela 4 | Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> após 10 dias de tratamento com <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre a concentração de 3×10^8 . Temperatura $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ | 41 |
| Tabela 5 | Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> após 10 dias de tratamento com <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre a concentração de 3×10^8 , associado a 5% de pó vegetal de pitanga. Temperatura $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ | 43 |
| Tabela 6 | Porcentagem média (\pm EP) da mortalidade nos tempos de 24 a 240 horas de larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> tratadas com <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre a concentração de 3×10^8 , associado a 5% de pó vegetal de pitanga. Temperatura $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$ | 45 |

SUMÁRIO

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | Introdução..... | 13 |
| 2 | Revisão Bibliográfica..... | 16 |
| 2.1 | A Avicultura..... | 16 |
| 2.2 | <i>Alphitobius diaperinus</i> (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)..... | 18 |
| 2.2.1 | Biologia <i>Alphitobius diaperinus</i> | 18 |
| 2.2.2 | Danos do cascudinho a produção..... | 19 |
| 2.3 | Métodos de controle <i>Alphitobius diaperinus</i> | 20 |
| 2.3.1 | Controle químico..... | 21 |
| 2.3.2 | Controle físico..... | 21 |
| 2.3.3 | Controle mecânico/cultural..... | 22 |
| 2.3.4 | Controle biológico..... | 23 |
| 2.3.4.1 | <i>Bacillus thuringiensis</i> | 24 |
| 2.3.5 | Controle alternativo com plantas inseticidas..... | 25 |
| 2.3.6 | Associação de extratos vegetais e <i>Bacillus thuringiensis</i> para o controle de insetos praga..... | 28 |
| 3 | Material e Métodos..... | 29 |
| 3.1 | Obtenção de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 29 |
| 3.2 | Obtenção dos extratos vegetais | 30 |
| 3.3 | Obtenção e Multiplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i> | 33 |
| 3.4 | Quantificação de <i>Bacillus thuringiensis</i> | 33 |
| 3.5 | Efeito dos pós vegetais sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 34 |
| 3.6 | Avaliação de diferentes concentrações do extrato com potencial inseticida..... | 35 |
| 3.7 | Avaliação de linhagens de <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 36 |
| 3.8 | Associação de pó vegetal e <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 36 |
| 3.9 | Análise Estatística | 37 |
| 4 | Resultados e Discussão..... | 38 |
| 4.1 | Efeito dos pós vegetais sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 38 |
| 4.2 | Avaliação de diferentes concentrações do extrato com potencial inseticida..... | 39 |
| 4.3 | Efeito de subespécies de <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 40 |

| | | |
|-----|--|----|
| 4.4 | Associação de pó vegetal e <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> | 42 |
| 5 | Conclusões..... | 46 |
| 6 | Referências..... | 48 |

1 INTRODUÇÃO

A avicultura Brasileira representa um papel importante no segmento agroindustrial, tanto no Brasil como no exterior, contendo uma das atividades mais tecnificadas. O Brasil é o maior exportador de carne de frango e está entre os três maiores produtores mundiais (Brasil, China e Estados Unidos), desta forma, gerando 3,6 milhões de empregos diretos e indiretos ligados à produção (UBABEF, 2014). A principal concentração da produtividade avícola está na região sul do país, aonde se concentra as principais empresas integradoras. Atualmente, grande parte da produção do Brasil vem do sistema de comodato, no qual empresas fornecem insumos para a produção, como pintainhos, vacinas e ração e os produtores se concentram no local da criação (galpões avícolas) e na mão-de-obra (UBABEF, 2014).

Com alta produtividade e sistemas tecnificados com controle de temperatura, comedouros e bebedouros automáticos fornecendo ração e água 24 horas, obteve-se o condicionamento próprio para as aves produzirem cada vez mais. Porém junto às aves, os insetos-praga, como o cascudinho de aviário, obtiveram o habitat ideal para sua procriação (PINTO et al., 2002).

Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), vulgarmente conhecido como cascudinho-de-aviário, infesta galpões avícolas, sendo encontrado principalmente em cima da cama das aves, preferencialmente abaixo dos comedouros e bebedouros, onde a oferta de comida e umidade é abundante (SALIN et al., 2000; PINTO et al., 2002). Os prejuízos que este inseto ocasiona são inúmeros, atuando como veiculador de diversos patógenos como a *Salmonella campylobater*, *Eimeria tenella*, *Escherichia coli*, *Aspergillus fumigatus* entre outros. Também causam danificações estruturais (cortinas, piso, pé direito e comedouros), perdas no ganho de peso, na conversão alimentar, condenções de órgãos devido este inseto liberar uma substância tóxica que é carcinogênica ocasionando lesões hepáticas, e ocasiona problemas na comercialização final do produto, pois seu controle atualmente é feito através de inseticidas químicos que deixam resíduos na carne, desta forma, dificultando negociação para União Européia (JAPP et al., 2010).

Entre os métodos de controle de *A. diaperinus* o mais utilizado é o controle químico, com inseticidas sintéticos formulados à base de piretroides e

organofosforados (LAMBKIN, 2011; VIANA, 2011; MARCHESE et al., 2011). Este tipo de controle apresenta inúmeras desvantagens como a intoxicação das aves e dos aplicadores, a resistência dos insetos para o princípio ativo, contaminação do ambiente, resíduos nas carcaças dos animais e seleção de populações resistentes (ALVES et al., 2005). Outros métodos utilizados em menor escala são o físico e mecânico/cultural, que consistem em aumentar e baixar temperatura, inundar a cama, armadilhas para captura de insetos, barreiras entre outros que desfavorecem a entrada do inseto praga em questão, prevenindo infestações (GALLO et al. 2002).

A necessidade do desenvolvimento de estratégias de controle inovadoras/alternativas passa a existir, a fim de amenizar o surgimento de novas pragas, antes consideradas como secundárias e amenizar organismos não alvo e inimigos naturais (SCHLÜTER, 2006).

Os sistemas alternativos de controle vêm sendo estudado através da utilização plantas inseticidas visando a não degradabilidade do ecossistema, a não contaminação dos seres humanos, e a não seleção de populações de insetos-praga resistentes. Plantas essas que contém metabólitos secundários (fenólicos, polifenóis, quinonas, flavonas, flavonoides, taninos, cumarinas, terpenoides, alcaloides, lectinas e polipeptídeos) que atuam na proteção da planta contra ataque de predadores (COWAN, 1999). Metabólitos secundários que atuam como inibidor do crescimento, redução da fase reprodutiva, inibidores de apetite, desta forma podendo levar os insetos à morte por inanição ou toxicidade direta (JUNIOR, 2003).

As plantas podem ser utilizadas para o controle de varias formas, sendo elas em forma de pós-secos, óleos essenciais e extrato aquoso (GALLO et al., 2002). Dentre as plantas com potencial inseticida mais utilizada são a Citronela (*Cymbopogon nardus*) e o Nim (*Azadirachta indica*) (ROEL, 2001). Poncio (2010) avaliou o efeito inseticida de extratos vegetais na concentração de 10%, sendo que o extrato de pitanga, sobre *Microtheca ochroloma* Stal (Coleoptera: Chysomelidae) provocou mortalidade larval de 50% e 80%, respectivamente aos seis e 10 dias após a aplicação.

Outro método de controle adentra os sistemas de produção alternativa, o controle biológico investiga primeiramente os inimigos naturais da praga estudada, sendo assim, os principais inimigos naturais do *A. diaperinus* são divididos em fungos, bactérias, vírus e nematóides. O fungo *Beauveria bassiana* (Balls.) é o fungo

mais pesquisado/ utilizado para o controle de cascudinho sendo que Alves et al. (2005a) verificou 70% de mortalidade em larvas de *A. diaperinus* em relação a testemunha.

A bactéria *B. thuringiensis*, foi descoberta no Japão sendo responsável pela mortalidade de bicho-da-seda. Esta bactéria entomopatogênica é Gram-positiva aeróbica, desta forma, facilmente encontrada nos ambientes (BOBROWSKI et al., 2003). No processo de esporulação, *B. thuringiensis* produz proteínas conhecidas como cristais, que são compostas por δ -endotoxinas que são tóxicas para insetos da ordem coleóptera que inclui o *A. diaperinus* (BRAVO et al., 2007). Este Bt pode ser implementado de diversas formas sendo via aplicação na cama, incluído na ração, pulverizados sobre os insetos, entre outros.

Mendeleck (1993) observou a efetividade de *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* para as famílias Cucujidae, Tenebrionidae e Nitidulidae todas pertencentes a ordem Coleoptera. Esta bactéria é considerada como principal patógeno para o controle de insetos pragas (BRAVO et al., 2011).

Dentre os benefícios de se utilizar o controle biológico é a eficiência relacionada à saúde dos aplicadores, proteção ao meio ambiente, carcaças livres de produtos químicos, assim, podendo ser comercializada para a Europa com agregação de valores (GALLO, 2002; HAAS-COSTA, 2010).

A associação de pós vegetais, com as bactérias entomopatogênicas, apesar de poucos estudos elaborados, se mostra importante elaborar mais pesquisas, com diversos tipos de extratos, e diferentes subespécies de Bt, tendo em vista que estes podem sofrer um efeito chamado de efeitos sinérgicos ou aditivos, ou seja, potencializam o efeito um do outro para o controle efetivo da praga em questão. Porém Pessoa et al. (2014) destacaram, que deve haver compatibilidade entre extratos vegetais e as bactérias entomopatogênicas, pois os extratos podem agir sobre as bactérias (metabólitos secundários), alterando o modo de ação desse agente.

Desta forma a associação de extratos e subespécies de Bt, visa potencializar os métodos de controles unitários para o controle de *A. diaperinus* em sistemas de produções alternativos, tendo em vista a cadeia produtiva avícola para uma possível agregação de valor comercial as aves, já que o tratamento de controle submetido foi utilizado com produtos naturais.

OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito de pós vegetais e *Bacillus thuringiensis* e a associação destes sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*, em condições de laboratório.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Selecionar pós-vegetais que apresentem efeito inseticida sobre adultos e larvas de *A. diaperinus*;

Selecionar subespécies de *B. thuringiensis* que apresentem efeito inseticida sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*;

Avaliar a associação de pós-vegetais e subespécies de *B. thuringiensis* sobre larvas e adultos de *A. diaperinus in vitro*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A AVICULTURA

O aumento da densidade populacional nas últimas décadas, fez com que a demanda de alimentos praticamente dobrasse, sobretudo alimentos que se referem à proteína de origem animal. O histórico da avicultura, há quatro décadas, mostra a ascensão da demanda mundial de carne de aves, principalmente pelo fator custo, comparando-se a outras proteínas de origem animal (GIROTTO e AVILA, 2008). No Brasil a avicultura no ano de 2011 garantiu o recorde de produção dos últimos anos fechando o ano em 13.058 milhões de toneladas, sendo que a importância social avícola consiste em uma maior presença nos estados do sul e do sudeste brasileiro. O Brasil se destaca na balança comercial, no qual exporta atualmente cerca de 69% da produção para 150 países do mundo, tornando-o maior exportador mundial. O

consumo per capita nos últimos 13 anos aumentou cerca de 30%, chegando à marca de 41,80 quilos de carne/habitante/ano (UBABEF, 2014).

O sul brasileiro é o principal exportador de frangos de corte e, entre os três estados produtores, o Paraná é o principal exportador brasileiro representando cerca de 29,35% de todo o volume exportado no Brasil. Os três estados do sul somam 71,70% do volume brasileiro de frangos exportados, mostrando a importância da avicultura nesta região e vice versa (UBABEF, 2014).

A competitividade do ramo avícola na produção de proteína, em relação à produção de outras proteínas de origem animal, está ligada principalmente ao grande avanço tecnológico que o segmento vem apresentando nas últimas quatro décadas. Os indicadores tecnológicos que se destacam são a genética (melhoramento genético) e índices zootécnicos, como ganho de peso diário, conversão alimentar e rendimento de carcaça entre outros. O intervalo entre a postura, nascimento e o abate de uma ave pode levar de 50 a 60 dias em média, com produção de 1,5 a 2 quilos de carne/ave (DAI PRA e ROLL, 2012).

Entre os sistemas de produção existentes no Brasil, o sistema de integração empresa e produtor é o principal. Este sistema foi implantado na década de 1950 e consiste no fornecimento dos animais, insumos como ração e medicamentos e assistência técnica para a condução da produção. Já o produtor disponibiliza as instalações dos galpões, em média de 100 metros de comprimento por 15 metros de largura, e a mão-de-obra, sendo remunerado pela média do lote. Este sistema é um confinamento para aves, no qual elevadas densidades destas são colocadas dentro dos galpões e é feita a reutilização de camas (maravalhas, casca de arroz) de três até vinte vezes, com os intervalos entre os lotes diminuindo, variando de 4 a 15 dias. Estes fatores contribuem para a multiplicação de micro-organismos patogênicos e para o aumento populacional dos insetos-praga, como *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), o cascudinho de aviário (REZENDE, 2009).

O cascudinho é a porta principal de entrada de patógenos como a salmonelose (*Salmonella spp*) que acomete as aves e humanos (HAZELEGER et al., 2008; ROCHE et al., 2009; LEFFER et al., 2010). Também causam prejuízos financeiros para o produtor, que perde na média dos lotes, e para a empresa com as condenações de carcaças. Nesse sentido, deve ser estudado o controle do cascudinho com técnicas seguras e financeiramente econômicas, tendo em vista

que este inseto em questão é uma das principais pragas do ramo avícola e praga secundária em grãos armazenados (GAZONI et al., 2012).

2.2 *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

O cascudinho de aviário é um besouro originário do Oeste da África e desde a década de 80 já foi considerado um dos principais insetos praga da avicultura, sendo encontrado nos galpões avícolas, principalmente na cama (ARENDS, 1987; HASSEMER et al., 1998).

2.2.1 BIOLOGIA *Alphitobius diaperinus*

O ciclo biológico do cascudinho de aviário dura em torno de 55 dias, dividido entre cinco fases reprodutivas, sendo elas a pré-ovoposição (três dias), ovo (cinco dias), larvas (trinta e oito dias), pupa (cinco dias), adultos sem quitinização (quatro dias) e assim concluindo a quitinização. Estes insetos se reproduzem com facilidade quando a temperatura está em torno de 27 °C e a umidade relativa de 80 % (CHERNAKI-LEFFER et al. 2001). Ainda, de acordo com os autores Chernaki-leffer et al. (2001), temperaturas abaixo de 16,5°C reduzem a população dos insetos, tendo em vista que a fase larval não se desenvolve, porém esta temperatura pode afetar no desenvolvimento das aves.

Silva (2005) verificou que à medida que a temperatura minimiza, os estádios larvais podem aumentar de oito para 11. Segundo Sallet (2013) as larvas recém-eclodidas exibem coloração esbranquiçada até o terceiro ínstar, a partir do quarto instar a coloração marrom vai escurecendo a cada ecdise.

A. diaperinus adulto possui o corpo ovulado, tegumento marrom escuro, cabeça prognata subquadrangular encaixada no protoráx, quase até a altura dos olhos, mesotoráx curto, e seu comprimento pode variar de 6,0mm a 6,83mm e sua largura 2,75mm a 3,17mm (VERGARA e GAZANI, 1996). O aparelho bucal tanto na larva, quanto no adulto é do tipo mastigador (CHERNAKI-LEFFER et al., 2001). Os adultos possuem olhos ventrais, três pares de pernas com esporões que pode ser critério para diferenciação de machos e fêmeas, onde espinhos da tíbia são curvos em machos e retos nas fêmeas (SALLET, 2013).

Após 10 dias da emergência as fêmeas podem reproduzir, podendo ter um período de vida de 90 a 400 dias (PAIVA 2000; CHERNAKI-LEFFER et al. 2001). Fêmeas de *A. diaperinus* podem depositar cerca de 200 a 400 ovos em cada postura, chegando à média de 2000 ovos durante a sua vida. A postura danifica o piso do aviário, sendo realizada nas rachaduras ou em esterco e água.

A disseminação do *A. diaperinus* nos aviários é muito rápida, sendo que o aumento populacional ocorre a cada novo lote de frangos. A cada dia, os intervalos entre lotes estão diminuindo e assim favorecendo o cascudinho devido ao baixo controle durante o vazio sanitário. A interferência na mortalidade de *A. diaperinus* em relação ao seu ciclo biológico está na temperatura dos aviários durante o vazio sanitário. Durante o inverno, as cortinas são levantadas caindo à temperatura, abaixo de 16,5°C e, acima de 60°C, quando a fermentação ocorre através do controle físico que consiste em molhar a cama e cobrir com lona para a fermentação (CHERNAKI-LEFFER et al., 2001).

A distribuição populacional do *A. diaperinus* nos aviários de frangos de corte foi citado por Uemura et al. (2008), onde maiores concentrações do inseto foram constatadas em áreas de alojamento em função temperaturas e na concentração da ração durante todo o período de criação.

2.2.2 DANOS DO CASCUDINHO A PRODUÇÃO

Os danos que *A. diaperinus* pode causar à produção avícola podem ser diretos e indiretos. Os indiretos são a depreciação nas instalações, como a danificação do pé direito, perfuração das cortinas e perfuração do piso. Já os principais diretos são a diminuição no ganho de peso diário, aumento na conversão alimentar (aves consomem maior quantidade de ração para ganhar um kg de peso) (PAIVA, 2000). Estes insetos alimentam-se das aves mortas e das mais fracas, causando lesões na pele destas últimas (JAPP, 2010). Além disso, *A. diaperinus* é o principal vetor para a entrada de patógenos como o fungo *Aspergillus fumigatus* que causa aspergilose, o protozoário *Eimeria tenella* que causa coccidiose, as bactérias *Escherichia. coli*, *Salmonella spp.*, que acomete tanto frangos quanto humanos, o vírus *Retrovirus aviário Tipo C* que causa Leucose e *Herpes vírus gallid 2*, doença

de Newcastle, e parasitoses como *Hymenolepis carioca*, *H. cantiana*, *Choanotaenia infundibulum* que contribuem para a queda dos índices produtivos (PAIVA, 2000).

No frigorífico ocorrem perdas qualitativas e quantitativas. A condenação de carcaças, o descarte de órgãos aproveitados como subprodutos são consequências da ingestão dos insetos que no organismo da ave libera uma secreção denominada benzoquinina, substância tóxica e carcinogênica, que pode levar a lesões hepáticas, (TSENG et al., 1971), podendo ser tóxica inclusive para humano. Neste contexto, há uma preocupação com a biossegurança de produtos e subprodutos oriundos da avicultura e a biosseguridade dos plantéis infestados com cascudinho (DINEV, 2013).

Segundo LAY et al. (2011) o cascudinho afeta negativamente o bem estar animal, que atualmente é defendido por ONGs (Organizações não governamentais) no mundo inteiro, alterando o comportamento das aves, tirando a zona de conforto desses animais. É válido ressaltar que além dos prejuízos nas aves e nos galpões avícolas, há também a preocupação com os produtores, ou operadores de aviários, que também podem ter sua saúde prejudicada pelo cascudinho. Isto porque a praga é carreadora de patógenos que podem causar doenças como asma, rinites e conjuntivites (WOLF, 2013).

Considerando-se a importância dos agravos deletérios do cascudinho para a avicultura atual, há a necessidade do desenvolvimento de estratégias de controle direcionadas para o favorecimento de toda a cadeia produtiva da avicultura.

2.3 MÉTODOS DE CONTROLE *Alphitobius diaperinus*

O controle do cascudinho dentro dos aviários é dificultado devido seu ciclo de vida curto e a sua rápida proliferação. Devido a estas dificuldades, os métodos de controle do cascudinho dentro dos aviários em sua maioria são químico, físico, químico, mecânico e cultural. Contudo existem pesquisas com o método de controle alternativo, com destaque para o biológico e controle com extratos de plantas.

Entre os métodos de controle, o mais difundido e utilizado é o químico, com a utilização de piretroides e organofosforados (MARCHESE et al., 2011; VIANA, 2011).

2.3.1 CONTROLE QUÍMICO

O controle químico é o método de controle mais utilizado na avicultura nos últimos 30 anos, os principais inseticidas químicos sintéticos formulados usados são à base de piretroides e organofosforados (LAMBKIN, 2011). Outros produtos químicos utilizados para minimizar o problema de resistência são do grupo das avermectinas mais especificamente a ivermectina (MILLER, 1990).

Segundo Japp (2010), o uso de inseticidas pode causar resistência da população, contaminar o ambiente/cama, deixar resíduos nas carcaças dos animais, contaminar aplicadores.

Além dos fatores prejudiciais na cama, nas carcaças e para humanos, o uso de inseticidas químicos resulta na proibição da exportação de carne para a União Européia, que não permite o uso de determinados grupos de inseticidas químicos para o controle de insetos, devido ao resíduo na carne que pode ser prejudicial a saúde humana (WOLF, 2013).

2.3.2 CONTROLE FÍSICO

Este método se baseia na utilização de fogo, na inundação e no manejo da temperatura. Altas temperaturas dentro dos galpões avícolas é uma forma de controle do cascudinho. O intervalo entre lotes é a principal época de controle do cascudinho nos aviários, quando temperaturas podem ser elevadas (acima de 45 °C) para a população do cascudinho de aviário ser afetada. Altas temperaturas são obtidas através do amontoamento da cama e da umidificação com água e posteriormente cobertas com lonas plásticas para que ocorra a fermentação (WOLF, 2013).

O controle pelo frio é feito no inverno e em regiões de clima frio, quando no intervalo entre os lotes, produtores abrem as cortinas para que todo o ciclo do cascudinho de aviário seja afetado pela queda brusca de temperatura abaixo de 15 °C (PAIVA, 2000).

De acordo com Wolf (2013) a associação de métodos físicos umidade (vapor de água presente na cama), temperatura (aumentar ou diminuir a temperatura dentro dos galpões avícolas) e adição de cal hidratada, resultaram na aceleração do

ciclo biológico do inseto em questão, porém sem controle do mesmo. A elevação da temperatura para 45°C resultou na mortalidade total de adultos e larvas do cascudinho de aviário e a adição de cal hidratada de 400 g.m⁻² ocasionou mortalidade acima de 35% em larvas e adultos.

O controle físico é uma das alternativas que pode ser associado a outros métodos de controle para que possa ter uma maior efetividade na mortalidade de *A. diaperinus*, tendo em vista uma certa tolerância do inseto em questão a alta e baixa temperatura.

2.3.3 CONTROLE MECÂNICO/CULTURAL

O método de controle mecânico consiste em medidas manuais, onde armadilhas, catação manual ou algum tipo de barreira seja estabelecido para a prevenção de infestações, como adição de cal hidrata, telas anti-pássaros entre outros. Já os métodos culturais consistem no estabelecimento de práticas baseando-se na biologia do inseto, como intervalo entre lotes, catação de restos de comida nos comedouros, limpeza dentro dos galpões e manejo da cama (GALLO et al. 2002).

A retirada total da cama a cada lote produzido inviabiliza o custo econômico da produção, tendo em vista que o intervalo entre lotes tem caído consideravelmente. Além disso, o aproveitamento de camas avícolas tem-se estendido de 5 lotes a 20 lotes. A remoção parcial da cama, em áreas com dejetos uniformes, viabiliza a entrada do novo lote de frangos com uma maior eficiência no controle de cascudinho de aviário e a diminuição da presença de calos nas patas dos frangos (BELLAYER et al., 2003).

O controle mecânico envolve os detalhes da construção dos galpões, manejo dos resíduos e práticas sanitárias, evitando gastos desnecessários ao produtor, bem como a explosão da densidade de pragas e danos ambientais. A retirada de animais mortos presentes nas camas, limpeza das sobras de ração embaixo dos comedouros e batimento da cama através de batedores comerciais, são medidas mecânicas e culturais que auxiliam no controle do *A. diaperinus* (RODRIGUEIRO, 2008).

2.3.4 CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico é a utilização do inimigo natural (predadores, parasitoides ou patógenos) contra pragas e vetores (JUNIOR, 2011). Os principais inimigos naturais de *A. diaperinus* são os agentes microbianos, principalmente fungos e bactérias entomopatogênicas (GALLO et al., 2002).

O controle microbiano é uma alternativa promissora para o controle de insetos-praga em aviários, sobretudo devido à seletividade e a biossegurança para as aves e aplicadores. Gallo et al. (2002) e Haas-Costa et al. (2010) destacam como vantagens de se utilizar o controle biológico para o controle de cascudinho a eficiência relacionada à saúde dos aplicadores, carcaças livres de produtos químicos, não prejudica a eficiência produtiva das aves e não contaminam o meio ambiente.

Alves et al. (2005a) relataram como controle natural do *Alphitobius diaperinus* a ocorrência natural do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., em aviários comerciais em Cascavel, Paraná, sendo que larvas do cascudinho eram mais susceptíveis a infestação do fungo em média de 49 a 100% de contaminação.

O controle biológico foi citado por Alves et al. (2005b) que comprovaram a patogenicidade de nematóides da família Steinernematidae contra larvas e adultos de cascudinho de aviário, sendo que as larvas foram mais susceptíveis ao entomopatogêno *S. carpocapsae*.

A implantação do método de controle biológico é o principal fundamento para que ocorra sucesso na mortalidade de cascudinho de aviário. Para o controle microbiano a dificuldade está associada a um ambiente com altas concentrações de amônia volátil, produto excretado como forma de urina pelas aves (GALLO, 2002). É necessária a investigação de novas formas de implantação para o controle biológico de forma que haja um controle de ambiente para que não prejudique os agentes entomopatogênicos assim efetivando o controle de *A. diaperinus* dentro dos galpões avícolas.

2.3.4.1 *Bacillus thuringiensis*

A bactéria *Bacillus thuringiensis* foi descoberta no Japão, em 1902, por Ishiwata, que a relacionou como responsável pela mortalidade do bicho-da-seda. Porém, somente em 1920, na Europa, é que os primeiros ensaios para o controle biológico foram implementados (HABIB e ANDRADE, 1998). Este agente entomopatogênico se trata de uma bactéria Gram-positiva aeróbica ou facultativamente anaeróbica, que é facilmente encontrada em qualquer ambiente (BOBROWSKI et al., 2003).

Glare e O'callaghan (2000) citaram espécies susceptíveis a *B. thuringiensis*, dentre a ordem díptera são mais de 266 espécies susceptíveis a bactéria, sendo que a ordem coleoptera 106 espécies apresentaram susceptibilidade a bactéria. Os mesmos autores destacam que a ordem mais susceptível ao Bt é a lepidóptera com 572 espécies.

Devido às suas características é que *B. thuringiensis* é o principal patógeno utilizado no controle de insetos pragas sendo das ordens Díptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera entre outras (BRAVO et al., 2011).

O seu ciclo de vida se divide em duas fases principais: a primeira, de crescimento vegetativo, onde a bactéria se multiplica por bipartição e a outra fase, a de esporulação, que consiste na formação de esporos (MARTINS et al., 2007). Em seu processo de esporulação Bt produz proteínas conhecidas como cristais parasporais, que são compostos por δ -endotoxinas que são tóxicas para insetos e são inofensivas aos humanos, plantas e outros animais. As δ -endotoxinas são divididas em duas famílias multigênicas chamadas Cry e Cyt (MAAGD et al., 2003). O grupo de proteínas Cry é altamente tóxico a insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Diptera. As proteínas Cyt são altamente tóxicas contra a ordem díptera (BRAVO et al., 2007).

No que diz respeito à diferenciação de bactéria e esporo, a importância está relacionada devido o esporo da bactéria apresentar patogenicidade uma vez que a parede celular deste contém proteínas semelhantes às proteínas dos cristais, com características químicas e patogênicas (HABIB e ANDRADE, 1998). Assim, a maioria dos produtos comercializados associa esporos e cristais com a intenção de aumentar sua atividade tóxica (POLANCZYK, 2004).

Em estudo sobre patologia e alterações histológicas causadas por *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* em cinco coleopteros, Mendeleck (1993) constatou a efetividade de *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* para os coleópteros das famílias Cucujidae, Tenebrionidae e Nitidulidae. A explicação para diversas famílias está relacionada à solubilização dos cristais no intestino de cada inseto, podendo variar a eficácia na mortalidade entre famílias e ordens de cada inseto. Ainda, de acordo com o autor, para larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) verificou-se mortalidade de 30%, após 136 horas da aplicação.

Sone et al. (2003) analisaram 97 estirpes de *B. thuringiensis* contra o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) e verificaram que 26 estirpes causaram mortalidade superior a 50% nos insetos. Em trabalho semelhante, Martins (2009) ao avaliar 215 estirpes de *B. thuringiensis* sobre *A. grandis* verificou cinco estirpes (S325, S601, S785, S811 e S1806) que ocasionaram mortalidade acima de 75% em larvas.

Sallet (2013) avaliou 193 estirpes da bactéria *B. thuringiensis*, a fim de conhecer a toxicidade destas sobre o cascudinho de aviário. Entre as estirpes avaliadas, apenas 10 apresentaram toxicidade ao inseto adultos e destas, somente duas, a S1806 nativa e a S2492 recombinante, provocaram mortalidade de 60% e 80% respectivamente.

Neste contexto são necessários novos experimentos com diferentes linhagens de Bt, para que novas linhagens apresentem efeito inseticida para ordem coleoptera mais especificamente sobre a espécie *A. diaperinus*, tendo em vista que diversas linhagens de Bt apresentam proteínas específicas para cada ordem de inseto.

2.3.5 CONTROLE ALTERNATIVO COM PLANTAS INSETICIDAS

Este método de controle consiste na utilização de plantas e seus componentes para o controle alternativo do inseto-praga tendo em vista a não degradação do ecossistema. É um dos controles mais estudados a nível laboratorial devido a sua rápida degradabilidade no ecossistema, desta forma, diversificando a forma de utilização como óleos essenciais, extratos aquosos e extratos secos na forma de pó (GALLO et al., 2002; MARCOMINI, 2009).

Em pesquisas realizadas nos vegetais para verificar a existência de compostos que atuam diretamente e indiretamente na atividade inseticida ou como fator de repelência, Cowan (1999) verificou que são metabólitos secundários como compostos fenólicos, quinonas, cumarinas, terpenoides, alcaloides, polifenóis, flavonas, taninos, lectina, polipeptídeos entre outros compostos, que variam de espécie para espécie. Compostos esses que causam a inibição da alimentação, deterrência, redução de consumo, retardamento no desenvolvimento, deformações, menor taxa de oviposição, esterilidade de adultos e mortalidade (FERNANDES et al. 1996).

Mazzonetto e Vendramim, (2003) avaliaram o efeito de pós de origem vegetal sobre o fator de repelência e mortalidade de caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). A casca do fruto de *Citrus sinensis* transformado em pó, resultou em 35% a menos de inseto em relação à testemunha por afastamento da ração, comprovando a repelência do pó sobre o caruncho. O efeito do pó de *C. sinensis* resultou em uma mortalidade de 25% para adultos.

Almeida et al. (2004) avaliaram a atividade inseticida de cinco extratos vegetais etanólicos sendo Camomila romana (*Anthemis nobilis*), Nim (*Azadirachta indica*), Chá preto (*Camellia sinensis*), Cróton (*Croton tiglium*) e Pimenta do reino (*Piper nigrum*) sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). Verificou que a mortalidade de *C. maculatus* aumenta conforme a exposição dos extratos, sendo que os extratos de nim e pimenta do reino ocasionaram mortalidade acima de 95%.

Em estudo com extratos aquosos e alcoólicos Marcomini et al. (2005) testaram um extrato aquoso de menta (*Mentha sp.*) e seis extratos etanólicos de alfavaca (*Ocimum sp.*), batata yácon (*Smallantus sanchifolius*), cipó-de-são-joão (*Pyrostegia venusta*), eucalipto (*Eucaliptus sp.*), pau-fava (*Senna macranthera*) e timbó (*Derris urucu*) a 2%, para o controle de *A. diaperinus*. De acordo com os autores, houve mortalidade significativa na fase larval para os extratos de alfavaca e de cipó-de-são-joão, com mortalidades superiores a 40%. Para adultos, apenas o extrato de eucalipto ocasionou mortalidade superior a 26%.

O óleo essencial de *C. sinensis*, ocasionou atividade repelente sobre adultos de *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), na concentração de 0,5%, desta forma, obtendo 100% de eficácia (ASTOLFI et al., 2007).

Marcomini (2009) constatou a efetividade do óleo essencial de neem sobre *A. diaperinus*, obtendo mortalidade acima de 87% em adultos sobre a concentração de 10% de óleo. Esta alta mortalidade pode ser explicada através dos compostos presentes na *Azadirachta indica*. Esta árvore pertence à família Meliaceae, que possui compostos secundários como azadiractina e limonoides (ARAÚJO et al. 2010). Azadiractina e limonoides, segundo Junior (2003), age em ação supressora de apetite ou inibidora de crescimento em insetos.

Pegorini et al. (2010) verificaram que o extrato etanólico de osmarin (alecrim) resultou em uma mortalidade acima de 89% em larvas de *A. diaperinus* quando aplicado na concentração de 15% misturados a ração.

O óleo essencial de arruda na dosagem de 25 µL/20g de feijão, apresentou alta toxicidade a adultos *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão representando 100% de mortalidade (LOPES et al., 2011).

Em estudo com o produto Mitestop (formulado através do extrato de semente de nim), Walldorf et al. (2012) testaram-no em diferentes concentrações (1:20, 1:33, 1:60), pulverizados sobre adultos e larvas de *A. diaperinus*. Segundo os autores, o produto foi eficiente na concentração de 1:60, em que as larvas logo após a aplicação morreram. Após duas horas da aplicação dois terços dos adultos morreram e, após 24 horas, a mortalidade foi de 100%.

Os efeitos inseticidas das plantas sobre insetos pragas variam de acordo com formas de extração das plantas, fase de vida do inseto, aplicação final do produto, etc. Pois a utilização de pó apresenta a desvantagem da não concentração dos metabólitos secundários. Porém, a distribuição de *A. diaperinus* dentro dos aviários facilita a utilização de pós introduzidos na ração de frangos de maneira que o maior nível populacional deste inseto é sobre os comedouros de aves. Neste contexto de utilização de produtos alternativos provenientes de árvores com efeitos inseticidas, vale ressaltar a importância deste método devido às vantagens presentes como equilíbrio do ecossistema, sem deixar resíduos de pesticidas químicos, não causando resistência dos insetos praga e facilidade na aplicação em conjunto com um menor custo de controle.

2.3.6 ASSOCIAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS E *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE DE INSETOS PRAGA

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) consiste em uma somatória de tecnologias de controle, em varias áreas de atuação, sendo eles físicos, químicos, mecânicos/cultural, biológicos, alternativos com extrato de plantas e outros métodos para o controle de pragas. Para o desenvolvimento e implantação do MIP são necessárias três etapas sendo elas, avaliação do ecossistema (pragas-chaves, períodos críticos de infestação), tomada de decisão (entrar ou não com controle-atingir o nível de dano econômico/custo/benefício) e escolha da estratégia de controle a ser utilizada (métodos reportados acima) (GALLO et al., 2002).

Reportado o inseto praga acima, e sabendo dos prejuízos que esta paraga ocasiona, faz se necessárias novas buscas de controle alternativo, sendo eles em muitas situações a associação de duas ou mais estratégias de controle, principalmente para atingir diferentes fases do desenvolvimento da praga. A associação de métodos de controle pode resultar em maior mortalidade de insetos, pois pode haver um efeito chamado de sinérgico ou aditivo, ou seja, potencializam o efeito um do outro para o controle efetivo da praga. No caso de *B. thuringiensis* e dos extratos, a associação pode ser positiva devido o extrato apresentar metabólitos secundários que podem agir como inibidores de crescimento e inibidores de apetite (JUNIOR, 2003). Desta forma auxiliando o favorecimento da entrada dos entomopatogênicos podendo levar os insetos à morte por lise celular através das δ -endotoxinas. Saito e Iuchini (1998) acreditam que o extrato pode ocasionar um quadro de estresse sobre a praga, desta forma levando-a adquirir doenças infecciosas, tornando-a mais suscetível às toxinas das bactérias que tem seu modo de ação mais efetivo.

Tsuchiya et al. (1996), citou que alguns metabólitos secundários de plantas como taninos e saponinas podem agir se ligando as proteínas extracelulares e paredes celulares de bactérias, desta forma, inibindo seus efeitos. Silva et al. (2012) relatou efeitos negativos a associação do produto comercial Dalneem® e Pironim® (nim) sobre as unidades formadoras de colônias de *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki*, desta forma, reduzindo a eficiência da bactéria. Já Pessoa et al. (2014) verificaram que a associação dos extratos de uva-do-japão, urucum e mamona com *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* causaram mortalidade acumulada de 100% para

Anticarsia gemmatalis (Lepidoptera, noctuidae), diferindo significativamente da testemunha e indicando sinergismo dos métodos de controle.

Knaak et al. (2010) analisaram histopatologicamente o intestino médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) 3 a 27 horas após a ingestão de extratos de *Petiveria alliacea*, *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Malva silvestris*, *Baccharis genistelloides* e *Ruta graveolens* e a associação destes extratos com *Bacillus thuringiensis aizawai*. De acordo com os autores, a associação dos extratos de *P. alliacea*, *Z. officinale*, *C. citratus* e *M. silvestris*, com *B. thuringiensis* causou alterações nas microvilosidades, desorganização do intestino médio e hipertrofia das células epiteliais, confirmando a interação positiva dos extratos e a bactéria.

O extrato de trombeta e pimenta em associação com bactérias Bt teve pontos positivos no controle de *A. gemmatalis*, de forma que os extratos não afetaram as bactérias, e prolongaram o período de ovo-adulto (VILANI, 2013).

Desta forma a associação de extratos e subespécies de Bt, visa diminuir as perdas ocasionadas por *A. diaperinus*, e seu controle atual sem prejudicar os agroecossistemas, e uma possível agregação de valor comercial ao tratamento submetido, já que o mesmo foi tratado, com produtos naturais para o controle biológico. Ressaltando que este trabalho é pioneiro no âmbito de controle associado para pragas da ordem coleoptera e da família tenebrionidae.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

3.1 OBTENÇÃO DE *Alphitobius diaperinus*

Os insetos foram coletados em aviários comerciais de corte localizados no município de Dois Vizinhos, sem tratamento químico e, posteriormente foram

transportados ao laboratório de Controle Biológico. Os insetos foram mantidos em recipientes plásticos com capacidade de 50 L, em sala climatizada ($25 \pm 3^\circ\text{C}$ e Umidade Relativa (UR) de $60 \pm 5\%$), por no mínimo sete dias, a fim de adaptação com substrato (cama de aviário) e ração para frangos até a realização dos bioensaios (Figura 1) (WOLF, 2013). Para a realização dos experimentos, os adultos e larvas selecionados foram de tamanho similar, sem a determinação do sexo e idade dos indivíduos.



Figura 1- Recipiente com cama de aviário e ração, onde os insetos foram mantidos até a realização dos experimentos. Fonte: Autor.

3.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS

As plantas utilizadas no estudo foram selecionadas devido ao poder inseticida apresentado em trabalhos relatados por outros autores. A Pintanga, *Eugenia uniflora* (L.) (Myrtales: Myrtaceae), é uma planta nativa Brasileira, do bioma da Mata Atlântica. Tem forma arredondada e cor avermelhadas (ALMEIDA; FARIA; SILVA, 2012). Esta planta apresenta compostos fenólicos com ação antioxidante. Os metabólitos secundários presentes nas folhas de *E. uniflora* são antraquinonas, esteróides, triterpenos, heterosídeos flavonóides, heterosídeos saponínicos e taninos (FIUZA et. al., 2009). Em estudo com óleo essencial de *E. uniflora* em diferentes concentrações (1,25%, 2,5%, 5% e 10%) sobre a formiga cortadeira *Atta laevigata* foi observado mortalidade acima de 80% das formigas sobre todas as concentrações, sendo que a concentração de 5% ocasionou 100% de mortalidade (JUNG et al., 2013). A Laranja *Citrus sinensis* (L.) (Rutaceae), é originaria da Ásia

(DAVIES; ALBRIGO, 1994). Esta planta possui flavonóides, como o acetato de octila, responsável pelo sabor e aroma do fruto (CITRUS BR, 2013). Mazzonetto, Vendramim, (2003) avaliaram o efeito de pós de origem vegetal sobre o fator de repelência e mortalidade em caruncho *Acanthoscelides obtectus*. A casca do fruto de *Citrus sinensis* transformado em pó, resultou em 35% a menos de inseto em relação à testemunha por afastamento da ração, comprovando a repelência do pó. E para mortalidade, o efeito do pó de *Citrus sinensis* resultou em uma mortalidade de 25% para adultos e ovoposição. Em estudo com óleo essencial de *Citrus sinensis*, sobre adultos de *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), constatou atividade repelente para a concentração de 0,5%, (ASTOLFI et al., 2007). A Arruda, *Ruta graveolens* (L.) (Sapindales: Rutaceae), contém princípios ativos como flavonóides (rufina), cumarinas e alcalóides (SOUZA et al., 2007). Esta planta também é conhecida como ruta-de-cheiro-forte devido as suas folhas ser altamente aromáticas. A arruda é originária da Europa (LORENZI; MATOS 2008). Em bioensaios realizados com óleo essencial de arruda na dosagem de 25 µL/20g de feijão, apresentou alta toxicidade, representando 100% de mortalidade em adultos *Acanthoscelides obtectus* em grãos de feijão. O que comprova o efeito inseticida (LOPES et al., 2011). O extrato de arruda já obteve alto efeito inseticida para o controle de lagartas do maracujá *Dione juno juno* (SANTOS, 2006). A Hortelã, *Mentha spicata* (L.) (Lamiales: Lamiaceae), possui princípios ativos para o controle e repelência de insetos pragas, como terpenos, aldeídos, taninos, resinas, flavonóides, ácidos, carotenos entre outros. (ARAÚJO et al., 2010). Marcomini (2005) avaliou o efeito inseticida para *M.spicata* como extrato vegetal etanólico, e verificou a mortalidade acima de 30% para o estágio larval e acima de 18% para adultos na concentração de 2% de extrato. Ressalta a importância de novos estudos desta planta para o controle efetivo do cascudinho, com diferentes tipos de implantação da mesma.

Foram utilizadas quatro espécies de plantas (Tabela 1).

Tabela 1- Nome científico, nome popular e parte da planta utilizada para a obtenção dos pós vegetais, utilizados nos bioensaios.

| Nome científico | Família | Nome Popular | Parte Utilizada |
|-------------------------|-----------|--------------|-----------------|
| <i>Ruta graveolens</i> | Rutaceae | Arruda | Folhas |
| <i>Mentha spicata</i> | Lamiaceae | Hortelã | Folhas |
| <i>Citrus sinensis</i> | Rutaceae | Laranja | Folhas |
| <i>Eugenia uniflora</i> | Myrtaceae | Pitanga | Folhas |

Todas as plantas foram obtidas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, na parte da tarde entre as 13:00 as 15:00, no dia 09/10/2013.

Para a obtenção dos pós vegetais (extratos), as partes das plantas foram secadas em estufa (40°C) por 48 horas dentro de sacos de papel kraft. Posteriormente as plantas secas foram moídas em moinho de facas do Tipo *Willye* (Figura 2), até granulometria de 0,45 mm, obtendo-se um pó fino que foi armazenado por no máximo 60 dias em recipientes de vidro fechados e isolados da exposição à luz até a utilização nos bioensaios para não degradação mediante exposição solar dos metabólitos secundários.



Figura 2- Moinho de facas do tipo Willye, utilizando peneira número 3. Fonte: Autor.

3.3 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE *Bacillus thuringiensis*

As linhagens BR 81, IPS 82 e BR 147 de *B. thuringiensis* liofilizadas foram obtidas da coleção de entomopatógenos do laboratório de Genética e Taxonomia de Microrganismos da Universidade Estadual de Londrina – UEL. As linhagens foram multiplicadas em meio de cultura líquido, caldo nutriente. Para tal, 20 µl das amostras das linhagens originais foram adicionadas em frascos Erlenmayer, contendo 50 mL de meio caldo nutriente previamente autoclavado. Os frascos foram colocados em agitador horizontal (shaker), à temperatura de 32°C e 150 rpm durante 96 horas, conforme metodologia adaptada de Alves et al. (1998). Após esse período as suspensões foram centrifugadas a 14.000 rpm para a separação da massa de esporos e cristais, as quais foram acondicionadas em tubos eppendorf e mantidas em freezer a -4°C por no máximo dois meses para a utilização nos experimentos.

3.4 QUANTIFICAÇÃO DE *Bacillus thuringiensis*

Para a quantificação das linhagens de *B. thuringiensis* foi utilizado o método de diluição seriada. A partir da massa de esporos e cristais centrifugados, para cada linhagem, com o auxílio de micropipetador, amostras de 1 mL foram adicionadas em tubos de vidro com 10 mL de água destilada esterilizada (suspensão original). A partir da suspensão original realizou-se a diluição seriada até 10^{-11} . Em seguida, cada diluição foi agitada por 30 segundos em agitador do tipo vórtex e inoculada, com o auxílio de um micropipetador, em cinco pontos na superfície do meio de cultura ágar nutriente, em placas de Petri, de acordo com a técnica desenvolvida por E.M. Rios (UFPE/Recife, Departamento de antibióticos), relatada por Alves et al. (1998).

Para cada suspensão foram utilizadas três placas de Petri. Após a inoculação, as placas foram deixadas abertas na câmara de fluxo laminar durante cinco minutos para a evaporação do excesso de água e em seguida foram acondicionadas em câmara climatizada ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, 18 a 24h), conforme Alves et al. (1998). Após tal período, quantificou-se o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) (Figura 3) e determinou-se a concentração 3×10^8 UFC/mL para a utilização nos

bioensaios. A concentração utilizada foi determinada através de outros experimentos realizados por diversos autores.

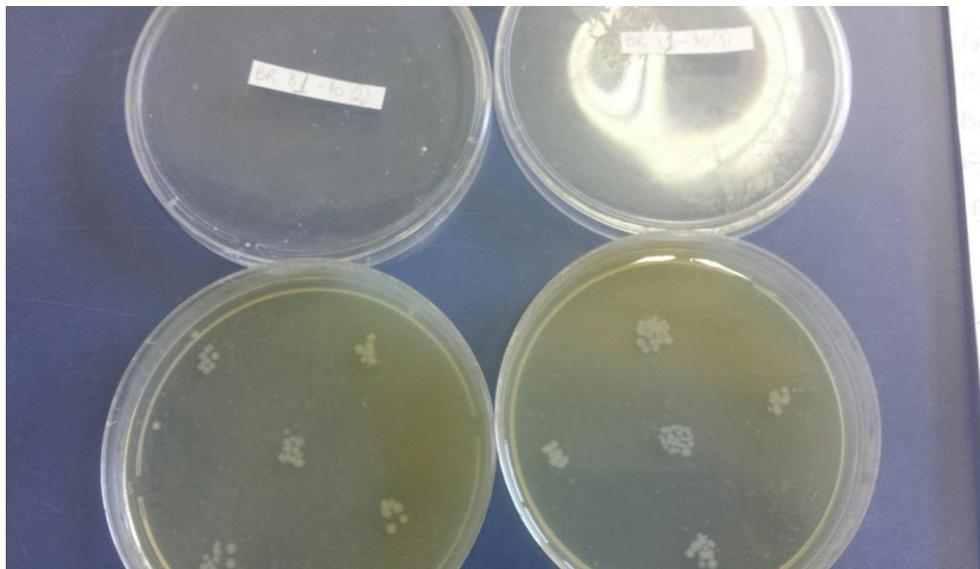


Figura 3- Placas de Petri com pontos de inoculação em meio de cultura ágar nutriente, com UFC de Bt para a determinação da concentração a ser utilizada nos bioensaios. Fonte: Autor.

3.5 EFEITO DOS PÓS VEGETAIS SOBRE LARVAS E ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus*

Para a avaliação do efeito inseticida, os pós vegetais foram avaliados na concentração de 20%, misturando-se 20 gramas dos extratos em 80 gramas de ração comercial, previamente esterilizada em autoclave. A testemunha consistiu em apenas ração comercial. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em cinco partes iguais e distribuída em placas de Petri (150 mm x 20 mm). Cada placa foi considerada uma repetição e recebeu 20 larvas ou 20 adultos de *A. diaperinus*, totalizando 100 insetos por tratamento. Como testemunha utilizou-se apenas ração comercial esterilizada. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. A avaliação foi realizada diariamente, durante 10 dias, sendo que no primeiro dia de avaliações, avaliaram-se as 12 e 24 horas iniciais, assim, quantificando-se o número de indivíduos mortos.

3.6 AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO COM POTENCIAL INSETICIDA

Após a determinação do extrato com maior potencial inseticida para *A. diaperinus*, este foi avaliado em diferentes concentrações, visando determinar a menor concentração com efeito inseticida para matar 50% dos insetos e utilizar no experimento de associação. Para tal, o extrato foi avaliado nas concentrações de 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5% e 20% sobre os insetos, misturando-se o extrato na ração comercial previamente esterilizada, conforme descrito no item 3.4.6. Após a preparação da mistura, esta foi distribuída em placas de acrílico (repetições) com 12 poços cada (Figura 4). Cada poço recebeu 0,4 gramas da mistura (ração+extrato) e uma larva ou um adulto. Para cada concentração foram utilizadas cinco repetições, totalizando 60 insetos por tratamento. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. A avaliação foi realizada diariamente, durante 10 dias, sendo que no primeiro dia de avaliações, avaliaram-se as 12 e 24 horas iniciais, assim, quantificando-se o número de indivíduos mortos.

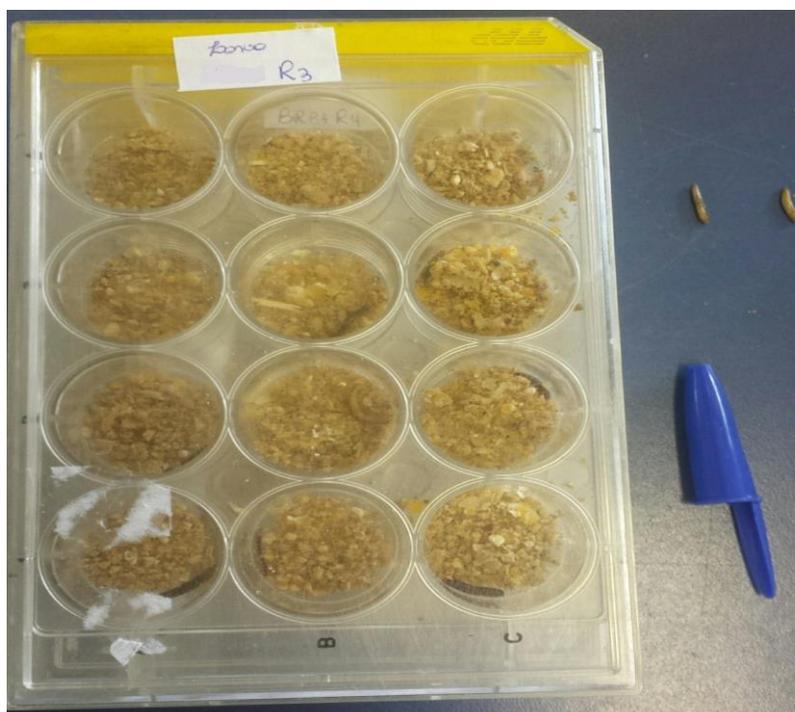


Figura 4- Placa de acrílico (repetição), com poços individualizados contendo os tratamentos. Fonte: Autor.

3.7 AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE LARVAS E ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus*

Foram preparadas suspensões das linhagens de *B. thuringiensis*, IPS 82, BR81 e BR147 na concentração 3×10^8 UFC/mL (tratamentos). Um volume de 10 mL de cada tratamento foi adicionado em 24g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi colocada em porções de 0,4 g em placas de acrílico, com 12 poços individualizados (Figura 4). Foram utilizadas cinco placas para cada tratamento, sendo que cada placa foi considerada uma repetição, a qual recebeu 12 larvas ou 12 adultos, totalizando 60 insetos/ tratamento. Como testemunha foi misturada à ração o mesmo volume em água destilada esterilizada. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. A avaliação foi realizada diariamente, durante 10 dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos, sendo que no primeiro dia avaliou-se nos tempos de 12 e 24 horas após a montagem, seguindo os mesmos padrões de avaliação nos experimentos anteriores.

3.8 ASSOCIAÇÃO DE PÓ VEGETAL E *Bacillus thuringiensis* SOBRE LARVAS E ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus*

Foram preparadas suspensões das linhagens BR 81 IPS 82 e BR 147 de *B. thuringiensis*, na concentração 3×10^8 UFC/mL (tratamentos), associados à concentração do pó vegetal (5%), determinada no item 3.6.2 (Pitanga). Um volume de 10 mL da suspensão de *B. thuringiensis*, juntamente com 1,2 g de extrato vegetal, foram adicionados em 22,8 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada (Figura 5).



Figura 5-Preparação da associação de *B. thuringiensis* e extrato vegetal a 5%. Fonte: Autor.

Após a preparação da mistura esta foi subdividida em porções de 0,4 g em cada poço das placas de acrílico, distribuindo 12 larvas e 12 adultos em cada poço. O delineamento experimental, a montagem do experimento e as condições de incubação e avaliação foram às mesmas descritas no item 3.4.8.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de mortalidade foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk utilizando-se o programa Assistat 7.7 Beta[®] e transformados em Arcoseno (Asen (Raiz (x/100))). Os dados transformados foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas com pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Assistat 7.7 Beta[®] (SILVA E AZEVEDO, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 EFEITO DOS PÓS VEGETAIS SOBRE LARVAS E ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus*

Verificou-se que o extrato de pitanga ocasionou maior mortalidade acumulada para larvas (63,73%), diferindo significativamente da testemunha (37,93%). As médias de mortalidade causada pelos demais extratos não diferiram da testemunha e nem de pitanga. Para adultos, os pós vegetais que apresentaram efeito inseticida significativo foram pitanga (70%) e laranja (61,55%) (Tabela 2).

Tabela 2- Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de *A. diaperinus* após 10 dias de tratamento com pós vegetais a 20%. Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$.

| Tratamento | Mortalidade Acumulada em Larvas (%) \pm EP | Mortalidade Acumulada Adultos (%) \pm EP |
|------------|---|---|
| Testemunha | 37,93 \pm 0,66 b | 5,90 \pm 0,18 b |
| Hortelã | 50,09 \pm 0,78 ab | 36,71 \pm 0,64 ab |
| Arruda | 42,26 \pm 0,70 ab | 33,00 \pm 0,54 ab |
| Laranja | 49,98 \pm 0,78 ab | 61,55 \pm 0,91 a |
| Pitanga | 63,73 \pm 0,92 a | 70,00 \pm 1,0 a |
| CV(%) | 16,74 | 38,92 |

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A alta mortalidade de larvas no tratamento da testemunha pode estar relacionada a insetos com idade mais avançada, sendo que este experimento apenas usou o critério de tamanho similar.

Salin et al. (2000) verificaram que a presença do cascudinho é mais constante embaixo dos comedouros onde há grande oferta de ração e temperaturas mais elevadas, sendo que neste experimento, o fornecimento de ração foi ad libitum e temperaturas foram controladas, para expressar o melhor potencial.

O efeito inseticida apresentado pelo extrato de pitanga pode estar relacionado com a presença de taninos, flavonoides (AURICCHO et al., 2007) e fenóis (FIUZA, 2009).

Os taninos presentes na pitanga são responsáveis pela adstringência das folhas, frutos e sementes das plantas, tornando-se impalatável para os insetos e para os animais (MONTEIRO et al., 2005). Devido a isto, causam redução no crescimento e afetam a sobrevivência dos insetos (SCHALLER, 2008).

Poncio (2010) avaliou o efeito inseticida de extratos vegetais na concentração de 10%, sendo que o extrato de pitanga, sobre *Microtheca ochroloma* Stal (Coleoptera: Chysomelidae) provocou mortalidade larval de 50% e 80%, respectivamente aos seis e 10 dias após a aplicação.

O efeito apresentado pelo extrato de laranja nos adultos pode estar relacionado aos compostos secundários presentes na planta, como os limonoides (JAYAPRAKASHA et al., 1997) e os fenóis (AVELLANEDA, 2011). O grupo dos limonoides atua como inibidor ou retardador de crescimento, supressor de apetite, e ainda pode causar danos à maturação e reduzir a capacidade reprodutiva dos insetos (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Mazzonetto e Vendramim (2003) avaliaram o extrato em pó de laranja misturado com feijão para o controle de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), a fim de diminuir prejuízos deste inseto no feijão armazenado. No primeiro teste constataram uma alta atividade de repelência, sendo que entre 12 extratos estudados a laranja apresentou 35% a menos de insetos nas parcelas/tratamento. No segundo teste foi avaliado o percentual de mortalidade causado pelos extratos sobre o inseto-praga adulto, e verificaram mortalidade acumulada de 25%, diferindo significativamente da testemunha (0,8%).

4.2 AVALIAÇÃO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO COM POTENCIAL INSETICIDA.

Verificou-se que o extrato de pitanga ocasionou maior mortalidade acumulada ao final dos dez dias para larvas, nas concentrações de 5% e 17,5%, diferindo da testemunha. Porém as demais concentrações não diferiram das concentrações de 5% e 17,5% e da testemunha. Para adultos, as concentrações de 5%, 10%, 15%, 17,5% e 20% diferenciaram significativamente da testemunha (Tabela 3).

Tabela 3- Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de *A. diaperinus* após 10 dias de tratamento com pó vegetal de pitanga em diferentes concentrações. Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$.

| Tratamento | Mortalidade Acumulada em Larvas (%) \pm EP | Mortalidade Acumulada em Adultos (%) \pm EP |
|------------|--|---|
| Testemunha | 00,00 \pm 0,00b | 05,45 \pm 0,02c |
| 5% | 15,00 \pm 0,03a | 27,27 \pm 0,05ab |
| 7,5% | 08,33 \pm 0,03ab | 09,09 \pm 0,02bc |
| 10% | 05,00 \pm 0,02ab | 27,27 \pm 0,02ab |
| 12,5% | 08,33 \pm 0,03ab | 21,81 \pm 0,02abc |
| 15% | 06,67 \pm 0,02ab | 30,90 \pm 0,05ab |
| 17,5% | 18,33 \pm 0,04a | 38,18 \pm 0,05ab |
| 20% | 10,00 \pm 0,03ab | 40,00 \pm 0,03a |
| CV(%) | 69,43 | 41,09 |

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Costa et al. (2004) relatou o uso de extratos de plantas inseticidas em insetos-praga e seu resultado como deterrência, atraso no desenvolvimento e mortalidade, e sugeriu a associação de extratos de plantas a outras práticas de controle de pragas para minimizar danos econômicos provocados por tais pragas.

Marcomini et al.(2009) observaram uma maior mortalidade de adultos de *A. diaperinus* a medida que aumentava a concentração de óleo de nim, sendo que a concentração de 10% ocasionou 87% de mortalidade, desta forma, diferindo significativamente da testemunha.

4.3 EFEITO DE SUBESPÉCIES DE *Bacillus thuringiensis* SOBRE LARVAS E ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus*

Verificou-se que as três linhagens de *B. thuringiensis* avaliadas causaram mortalidade acima de 50% para larvas de *A. diaperinus*, com percentuais de 60%, 61,67% e 55%, respectivamente para as linhagens IPS82, BR81 e Br147, todas diferindo significativamente da testemunha (15%), mais não diferindo entre si. Para

adultos verificou-se que não houve diferença significativa na mortalidade dos insetos entre as linhagens e a testemunha (Tabela 4).

Tabela 4- Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de *A. diaperinus* após 10 dias de tratamento com *B. thuringiensis* sobre a concentração de 3×10^8 . Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$.

| Tratamento | Mortalidade Acumulada em Larvas (%) \pm EP | Mortalidade Acumulada em Adultos (%) \pm EP |
|------------|--|---|
| Testemunha | 15,00 \pm 0,06b | 26,67 \pm 0,10 a |
| IPS 82 | 60,00 \pm 0,08a | 33,33 \pm 0,15a |
| BR 81 | 61,67 \pm 0,09a | 36,67 \pm 0,17a |
| BR 147 | 55,00 \pm 0,20a | 40,00 \pm 0,25a |
| CV(%) | 17,52 | 31,33 |

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Mendeleck (1993) constatou o efeito inseticida de *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* para as seguintes famílias de coleópteros: Cucujidae, Tenebrionidae e Nitidulidae. A explicação para mortalidade em diversas famílias está relacionada à solubilização dos cristais no intestino de cada inseto, podendo variar a eficácia na mortalidade entre famílias e ordens de cada inseto.

Os coleópteros, geralmente são mais resistentes a *B. thuringiensis*, comparando-se a dípteros e lepidópteros. As linhagens utilizadas neste estudo foram previamente selecionadas como eficazes para o controle da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) (Informação pessoal – dados não publicados).

Sone et al. (2003) analisaram 97 estirpes de *B. thuringiensis* contra o bicudo do algodoeiro *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) e verificaram que 26 estirpes foram eficientes em mais de 50% de mortalidade dos insetos. Da mesma forma, Praça (2004) analisou 300 estirpes de *B. thuringiensis* em *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae) e verificou que as estirpes S234 e S997 ocasionaram mortalidade significativa para larvas e uma menor concentração letal (CL50).

Em avaliação de 215 estirpes de *B. thuringiensis* sobre larvas do bicudo do algodoeiro, *A. grandis*, foi observado que cinco estirpes (S325, S601, S785, S811 e S1806) ocasionaram mortalidade acima de 75% (MARTINS, 2009).

Em estudo para a seleção de 194 estirpes de *B. thuringiensis* para o controle do cascudinho de aviário, Sallet (2013) também verificou maior percentual de mortalidade em larvas, para três estirpes de *B. thuringiensis* subespécie *israelenses* (S907, S1122, S1806), com maior percentual de mortalidade ocasionado pela estirpe S1806 (60%).

4.4 ASSOCIAÇÃO DE PÓ VEGETAL E *Bacillus thuringiensis* SOBRE LARVAS E ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus*

Verificou-se que nos tratamentos IPS 82+Pitanga à 5%, BR 81+Pitanga à 5% e BR 147+Pitanga à 5% ocasionaram mortalidade significativa para larvas (Figura 6), em comparação com a testemunha. Porém, o tratamento BR81+Pitanga à 5%, ocasionou maior mortalidade (58%), diferindo significativamente da testemunha e das demais associações (Tabela 5). Já para adultos os tratamentos IPS 82+Pitanga à 5% e BR 81+Pitanga à 5% diferiram significativamente em relação a testemunha para mortalidade e diferiram entre si, sendo que o tratamento BR 81+Pitanga à 5% foi o melhor. O tratamento BR 147+Pitanga à 5% não diferiu significativamente da testemunha (Tabela 5).

Tabela 5- Percentual médio (\pm EP) da mortalidade acumulada de larvas e adultos de *A. diaperinus* após 10 dias de tratamento com *Bacillus thuringiensis* à concentração de 3×10^8 , associado a 5% de pó vegetal de pitanga. Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$.

| Tratamento | Mortalidade Acumulada em Larvas (%) \pm EP | Mortalidade Acumulada em Adultos (%) \pm EP |
|-----------------------|--|---|
| 1-Testemunha | 01,38 \pm 0,03c | 00,00 \pm 0,00c |
| 2-IPS 82+Pitanga à 5% | 26,38 \pm 0,08b | 12,50 \pm 0,09b |
| 3-BR 81+Pitanga à 5% | 58,33 \pm 0,09a | 34,72 \pm 0,10a |
| 4-BR 147+Pitanga à 5% | 18,05 \pm 0,06b | 06,94 \pm 0,08bc |
| CV(%) | 21,15 | 52,14 |

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A maior mortalidade em larvas e adultos de *A. diaperinus* causada pelo tratamento BR 81+Pitanga à 5% pode estar associada ao poder inseticida que a bactéria BR 81 contém. A bactéria BR 81, assim como as demais ocasionou maior mortalidade de larvas em relação à testemunha (Tabela 4).



Figura 6-Larvas de *A. diaperinus* mortas através do emprego do extrato de pitanga a 5%+ BR81 a 3×10^8 .

O efeito sinérgico foi citado por Lucho (2004) que utilizou extrato de *Melia azedarach*, associado com *B. thuringiensis aizawai*, e observou que o resultado da

associação resultou em uma maior mortalidade do que se comparados sozinhos para mortalidade em *S. frugiperda*.

A associação de métodos de controle foi citado por Berlitz (2006), que utilizou a associação de *B. thuringiensis* e *Melia azedarach* no controle de *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) e obteve apenas 11% de mortalidade em larvas para todas as concentrações utilizadas. Para a explicação da não eficácia da associação, foi citado o possível efeito antagônico da bactéria sobre o extrato vegetal ou vice-versa.

Knaak et al. (2010) observaram alterações nas microvilosidades, desorganização do intestino médio e hipertrofia das células epiteliais de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), na interação de extratos de *Petiveria alliacea*, *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Malva silvestris*, *Baccharis genistelloides* e *Ruta graveolens* com *B. thuringiensis*, resultando em uma interação positiva para o controle de lagartas, diferindo significativamente da testemunha.

Considerando-se o percentual de mortalidade para larvas de *A. diaperinus* dentro dos tempos, observou-se que nos tempos de 24-72 e 96-144 horas apenas a associação BR81+pitanga a 5% causou maior mortalidade, diferindo dos demais tratamentos e da testemunha (Tabela 6). Este dado pode estar associado à ação mais rápida da bactéria quando misturada ao extrato de pitanga, devido ao estresse causado pelo extrato, desta forma, tornando as larvas mais suscetíveis às toxinas de Bt (SAITO e LUCHINI, 1998). Singh et al. (2007) avaliou o efeito associado de *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* e azadiractina, obtida através de extrato de sementes de nim, e observaram mortalidade de larvas de *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). Através da associação o tempo de mortalidade foi reduzido. A explicação dos autores consistiu que os métodos utilizados sofreram uma interação complementar, sendo que a azadiractina facilitou o acesso das toxinas Bt aos receptores do intestino, conseqüentemente acelerando as ligações das toxinas aos receptores.

No tempo de 168-240 horas, para larvas, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha, evidenciando o efeito da associação nas primeiras 144 horas pós aplicação.

Para adultos, no tratamento BR81+pitanga a 5% observou-se resultado semelhante ao observado para larvas nos tempos 24-72 horas e 96-144 horas, com os percentuais de mortalidade diferindo das respectivas testemunhas. No tempo 168-240 também observou-se diferença significativa entre o tratamento BR81+pitanga a 5% e testemunha (Tabela 6).

Tabela 6- Porcentagem média (\pm EP) da mortalidade nos tempos de 24 a 240 horas de larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus* tratadas com *Bacillus thuringiensis* sobre a concentração de 3×10^8 , associado a 5% de pó vegetal de pitanga. Temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$, 14 horas de fotofase e U.R. de $70 \pm 10\%$.

| Larvas | | | | |
|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|-------|
| Tratamentos | 24-72h \pm EP | 96-144 \pm EP | 168-240 \pm EP | CV(%) |
| 1-Testemunha | 0,00 \pm 0,00Ab | 00,00 \pm 0,00Ac | 01,38 \pm 0,03Aa | 23,14 |
| 2-IPS 82+Pitanga à 5% | 04,16 \pm 0,08Bb | 13,88 \pm 0,09Ab | 08,33 \pm 0,09ABa | 44,55 |
| 3- BR 81+Pitanga à 5% | 20,82 \pm 0,09Ba | 36,10 \pm 0,10Aa | 01,38 \pm 0,10Ca | 63,55 |
| 4-BR147+Pitanga à 5% | 04,16 \pm 0,06Ab | 08,33 \pm 0,08Ab | 05,55 \pm 0,08Aa | 42,33 |
| CV(%) | 63,24 | 33,39 | 126,77 | |
| Adultos | | | | |
| Tratamentos | 24-72h \pm EP | 96-144 \pm EP | 168-240 \pm EP | CV(%) |
| 1-Testemunha | 0,00 \pm 0,00Ab | 0,00 \pm 0,00Ab | 00,00 \pm 0,00Ab | 23,14 |
| 2-IPS 82+Pitanga à 5% | 04,16 \pm 0,08Aab | 02,77 \pm 0,09Ab | 05,55 \pm 0,09Aab | 38,47 |
| 3- BR 81+Pitanga à 5% | 09,72 \pm 0,09Ba | 13,88 \pm 0,10Aa | 11,10 \pm 0,10ABa | 43,33 |
| 4-BR147+Pitanga à 5% | 0,00 \pm 0,00Aab | 00,00 \pm 0,00Ab | 06,94 \pm 0,08Aab | 55,67 |
| CV(%) | 146,87 | 82,86 | 98,73 | |

Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey(P<0,05).

Na avaliação em relação entre os tempos, para larvas, verificou-se que o tratamento 3 apresentou picos de mortalidade no tempo de 24-72 com percentual de 20,82% e aos 96-144 horas o maior percentual de mortalidade,

36,10%, diferindo significativamente entre todos os tempos (Tabela 6). Para adultos, pode-se observar que o tratamento 3 ocasionou um pico de mortalidade aos 96-144 horas de 13,88% porém não diferiu do tempo de 168-240h (Tabela 7).

Aronson e Shai (2001) citaram que existe uma hipótese do *B. thuringiensis* ter alguma relação simbiótica com as plantas, para explicar a produção de toxinas específicas e eficientes.

Knowles (1994) relata o tempo de ação inseticida de *B. thuringiensis* em diferentes etapas, desde a absorção a paralisia geral do inseto. A lise celular e ruptura podem ocorrer de 1 a 7 horas após a exposição da bactéria perante o inseto, já a morte por falta de alimento pode ocorrer do primeiro ao terceiro dia após a exposição.

5 CONCLUSÕES

O extrato de pitanga e laranja na concentração de 20% apresentou efeito inseticida para adultos de *A. diaperinus*.

O extrato de pitanga na concentração de 5% apresentou efeito inseticida para larvas de *A. diaperinus*.

As três linhagens de *Bacillus thuringiensis*, na concentração de 3×10^8 , apresentaram efeito inseticida para larvas de *A. diaperinus*. e somente as linhagens IPS82 e BR81 apresentaram efeito inseticida para adultos de *A. diaperinus*.

Na associação da bactéria com extrato, somente o tratamento 3 (BR81+pitanga à 5%) apresentou efeito inseticida para larvas e adultos, diferindo significativamente da testemunha e demais tratamentos.

O tratamento 3 (BR81+pitanga à 5%) sobre a mortalidade acumulada em larvas, apresentou melhor eficiência nas horas de 24-72h e 96-144h.

Para a resposta da melhor eficiência da bactéria perante o extrato para mortalidade em *A. diaperinus*, pode estar relacionada à produção de toxinas hidrolisadas pelas bactérias interferirem no balanço osmótico da membrana apical, ocasionando lise e ruptura celular e conseqüentemente morte do inseto. Desta forma, tendo em vista que após a infecção do inseto, o mesmo cessa a

alimentação e não consome mais ração com extrato de pitanga e morre por inanição.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. J.; FARIA, M. V.; SILVA, Paulo R. Biologia experimental em Pitangueira: uma revisão de cinco décadas de publicações científicas. **Ambiência Guarapuava** (PR) v.8 n.1 p. 177 - 193 Jan./Abr. 2012

ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C. ; SANTOS, N. R.; ARAÚJO, M.E. R.; RODRIGUES, J.P. **Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *callosobruchus maculatus* (fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae)**. R. bras. Agrociência, v. 10, n. 1, p. 67-70, jan-mar, 2004.

ALVES, S.B.; MORAES, S.A. **Quantificação de inoculo de patógenos de insetos**. In: ALVES, S.B. Controle microbiano de insetos. p.765-777, 2.ed. Piracicaba: Fealq 1998.

ALVES, L.F.A.; GASSEN, M.H.; PINTO, F.G.S.; NEVES, P.M.O.J.; ALVES, S.B. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) sobre o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em aviário comercial de Cascavel, PR. **Neotropical Entomology**, v.34, n.3, p. 507-510, 2005a.

ALVES, L.F.A.; ROHDE, C.; ALVES, V. S. Patogenicidade de *Steinernema glaseri* e *S. carpocapsae* (Nematoda: Rhabdita) Contra o Cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology** **34(1)**, Jan-Feb, P.139-141,2005b.

ARAÚJO, S. G.; MORAIS, M. L., et. al. **Avaliação da Atividade Antioxidante de *Mentha sp.*** 1º Congresso de Farmácia da UFSJ, 2010.

ARENDS J.J.; Control, management of the litter beetle. **Poultry Digest**. p. 172-176, 1987.

ARONSON, A. I.; SHAI, Y. **Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective :unique features of their mode of action**. FEMS Microbiology Letters. V.195, n.1, p.1 a 8, 2001.

ASTOLFI, V.; BORGES, L. R.; Estudo do Efeito Repelente e Inseticida do Óleo Essencial das Cascas de *Citrus sinensis* L. OSBECK no Controle de *Sitophilus zeamais* MOTS em Grãos de Milho (*Zeamays* L.). Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007.

ASSISTAT Versão 7.6 beta (2011). SILVA, F. de A. S. e.; AZEVEDO, C. A. V. de. In: Homepage <http://www.assistat.com>. DEAG-CTRN-UFCG - Atualiz.14/03/2015.

AURICCHIO, M. T.; BUGNO A.; BARROS, S. B. M.; BACCHI, E. M. **Atividades Antimicrobiana e Antioxidante e Toxicidade de *Eugenia uniflora***. Latin American Journal of Pharmacy - 26 (1) – 2007.

AVELLANEDA, Z. E.; MORENOA, V.S.; FRAGOSO, A. V.; et al. **Phytochemicals and antioxidant activity of comminuted orange (*Citrus sinensis* L.)**. Atenas, Grécia, 2011.

BELLAVER, C.; COSTA, C.F.; FIGUEIREDO, E.A.P.; JAENISCH, F.R.F.; FAVERO, J.A.; PALHARES, J.C.P.; FIORENTIN, L.; BRUM, P.A.R.; ABREU, P.G.; AVILA, V.S. **Boas práticas de produção de frangos**. Concórdia, 2003. (Circular Técnica n.38). 2003.

BERLITZ, D.L. Toxicologia de *Bacillus thuringiensis* e *Melia azedarach* em organismos associados a orizicultura. **Dissertação: Mestrado**. Universidade do Vale do Rio dos Sinos – São Leopoldo, RS. p.83, 2006.

BOBROWSKI, V.L.; FIUZA, L.M.; PASQUALI, G; BOSANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. Ciencia Rural, Santa Maria, v.34, n.1, p.843-850, setembro- outubro, 2003.

BRAVO, A.; GILL, S.S.; SOBERÓN, M. Mode of action os *Bacillus thuringiensis* Cry and Cit toxins and their potential for **insect control**. Toxicon, oxford, v.49,n.4, p.423-435, janeiro 2007.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S.S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a sucessful bioinsecticide. Insect Biochemistry and Molecular biolgy, Oxford, v.41, n.7, p.423-431, julho 2011.

CITRUS BR. **Brasil é o maior produtor mundial de laranja**. Disponível em: <http://www.uagro.com.br/editorias/agricultura/laranja/2013/08/07/brasil-e-o-maior-produtor-mundial-de-laranja.html>. Acessado em: 18/07/2014.

CHERNAKI-LEFFER, A. M.; LAZZARI, F. A.; LAZZARI, S. M. N.; ALMEIDA, L. M. Controle do cascudinho. **Avicultura Industrial**, 92 (1094). São Paulo, p. 22-25, 2001.

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P.; FIUZA, L.M. **Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas**. Acta Biologica Leopoldensia Vol. 26 Nº 2 p.173-185, julho/dezembro 2004.

COWAN, Marjorie M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, V.12, Nº4, p564–582, 1999.

DAI PRA, M.A.; ROLL, V.F.B. (Orgs.). Cama de aviário: utilização, reutilização e destino. **Porto Alegre**: Manas/Evangraf. p.86, 2012.

DAVIES, F.S.; ALBRIGO, L.G. **Crop production science in horticulture 2: citrus**. Wallingford: CAB International, 1994. 254p.

DINEV, Ivan. The darkling beetle (*Alphitobius diaperinus*) – a health hazard for broiler chicken production. **Trakia Journal of Sciences**, Vol. 11, № 1, 2013.

FERNANDES, W.D.; FERRAZ, J.M.G.; FERRACINI, V.L.; HABIB, M.E.M. Deterrência alimentar e toxidez de extratos vegetais em adultos de *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.25, p.553-556, 1996.

FIUZA, T. S.; REZENDE, M. H.; SABÒIA-MORAIS, S. M. T.; Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia Vol 6(3), 59-69, 2009.**

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; et al. **Entomologia Agrícola**, v.10. Piracicaba: FEALQ, 2002. et al. Entomologia agrícola. Piracicaba, 2002.

GAZONI, F. L., et. al. Avaliação da Resistência do Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (PANZER) (Coleoptera:Tenebrionidae) Diferentes Temperaturas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.79, n.1, p.69-74, jan./mar., 2012.

GIROTTI, A.F.; AVILA, V.S. **Produção Frangos de Corte: importância econômica**. 2008 Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br/SP/aves/Importancia-economica.html>>. Acesso em: 13.06. 2014.

GLARE, T.R. ; O'CALLAGHAN, M. **Bacillus thuringiensis: Biology, ecology and safety**. Chichester John Wiley, 350p. 2000.

HAAS-COSTA, J.; ALVES, L.F.A.; DAROS, A.A. Safety of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Gallus domesticus* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal**, v. 53, n.2, p. 465-471, 2010.

HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES S. B.(ed.) **Controle Microbiano de Insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.383-427.

HASSEMER, M. J.; JUNIOR, A. C.; SCHEUERMANN, G. N. Ciclo de vida de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) em laboratório. **5ª Jornada de Iniciação Científica Embrapa – JINC**. p.20, 1998.

HAZELEGER, W.C.; BOLDER, N.M.; BEUMER, R.R.; JACOBS-REITSMA, W.F. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant java between successive broiler flocks. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, p. 6887-6891, 2008.

JAPP, A.K.; BICHO, C.L.; SILVA, A.V.F. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 7, jul. 2010.

JAYAPRAKASHA, G. K.; et al. Limonoids from *Citrus reticulata* and their moult inhibiting activity in mosquito *Culex quinquefasciatus* larvae. **Phytochemistry** Vol. 44, No. 5, pp. 843-846, 1997.

JUNG, P. H.; SILVEIRA, A. C.; NIERI, E. M.; Atividade inseticida de *E. uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. *Floresta e Ambiente*, 20 (2):191-196, abr/jun, 2013.

JUNIOR, C.V. **Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos**. *Quim. Nova*, Vol. 26, No. 3, 390-400, 2003.

JUNIOR, M.E. **Controle biológico de insetos pragas**. I seminário mosaico ambiental: olhares sobre o ambiente. Campos dos Goytacazes. Rio de Janeiro. 16p. Agosto. 2011.

KNAAK, N.; TAGLIARI, M.S.; FIUZA, L.M. Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Instituto Riograndense do Arroz, Cachoeirinha, RS, Brasil**. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.1, p.83-89, jan./mar., 2010.

KNOWLES, B. H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ-endotoxins. **Advances in Insect Physiology**. V.24, n.2, p.275-308, 1994.

LAMBKIN, T.A.; FURLONG, M.J. Metabolic mechanisms only partially explain resistance to pyrethroids in Australian broiler house populations of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 104, p. 629-635, 2011.

LAY, D.C.JR.; FULTON, R.M.; HESTER, P.Y.; KARCHER, D.M.; KJAER, J.B.; MENCH, J.A.; MULLENS, B.A.; NEWBERRY, R.C.; NICOL, C.J.; O'SULLIVAN N.P.; PORTER, R.E. Hen welfare in different housing systems. **Poultry Science**, v. 90, n. 1, p. 278-294, jan. 2011.

LEFFER, A.M.; KUTTEL, J.; MARTINS, L.M.; PEDROSO, A.C. ASTOLFI-FERREIRA, C.S.; FERREIRA, F.; FERREIRA, A.J.P. Vectorial competence of larvae and adults of *Alphitobius diaperinus* in the transmission of *Salmonella* Enteritidis in poultry. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. v. 10, issue 5, p. 481-487, jun. 2010.

LOPES, E.S.; ORLANDA, J.F.F; **Universidade Estadual do Maranhão (UEMA)**, 51 Congresso Brasileiro e química são luiz aranhão. 9 a 13 Outubro 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. p. 477. 2º Ed. Nova odesa, SP, Instituto Plantarum, 2008.

LUCHO, A.P.R. Manejo de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em arroz irrigado. **Dissertação Mestrado**. Universidade do Vale do Rio dos Sinos – São Leopoldo, RS. p.73, 2004.

MAAGD, R.A.; BRAVO, A.; BERRY, C.; CRICKMORE, N.; SCHNEPF, H.E. Structure, Diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. **Annual Review of Genetics**. v.37, p.409-433, 2003.

MARCHESE, Luiz Paulo C., et. al. **Viabilização do Uso da Terra Diatomácea no Controle do Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae): Ensaios de Campo**. Simpósio de Inovação Tecnológica UNIOESTE, 2011.

MARCOMINI, Angelina M.; ALVES Luis F. A.; BONINI, A. K.; MERTZ, N. R.; SANTOS, J. C. Atividade inseticida de extratos vegetais e do óleo de nim sobre adultos de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera, Tenebrionidae). **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.76, n.3, p.409-416, jul./set., 2009.

MARCOMINI, Angelina M.; ALVES Luis F. A.; NOGUEIRA; Marisa A.; et al. **Avaliação preliminar de extratos vegetais para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera; Tenebrionidae)**. UNICENTRO XIV EAIC - Encontro Anual de Iniciação Científica - Guarapuava, 2005.

MARTINS, E.S. **Estudo da atividade de proteínas Cry, derivadas de *Bacillus thuringiensis* ativas para inseto-praga do algodoeiro**. Tese do Programa de pós-graduação. p. 158, Brasília, 16 julho 2009.

MARTINS E.S, PRAÇA, L.B, DUMAS, V.F., SILVA-WERNECK, J., SONE, E.H., WAGA, I.C., BERRY, C., MONNERAT, R.G. **Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates toxic to cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*)**. Biological Control, v. 40, p. 65-68, 2007.

MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de Pós de Origem Vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em Feijão Armazenado. **Neotropical Entomology** 32(1), p.145-149, 2003.

MENDELECK, E. Patologia e alterações histológicas causadas por *Bacillus thuringiensis* var. tenebrionis em cinco coleópteros pragas de cereais armazenados. **Dissertação de Mestre em ciências biológicas**. p.116, UNICAMP, Campinas, 1993.

MILLER, R.W. Use of ivermectin to control the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in a simulated poultry broiler house. **Poultry Science**, v. 69, p.1281-1284, 1990.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. **Taninos: uma abordagem da química à ecologia**. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 5, 892-896, 2005.

PAIVA, D.P. Cascudinhos: biologia. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2000, Chapecó-SC. **Anais...** Chapecó, SC: Núcleo Oeste de Médicos Veterinários. p.135-139, 2000.

PEGORINI, C.S., GOUVEA A., POTRICH, M., SILVA, E.R.L., SMANIOTTO, L.F., SIMIONATO, S., LUCKMANN, D., PIZZATTO, M. **Atividade inseticida de**

***Azadirachta indica* E *Rosmarinus officinalis* SOBRE *Alphitobius diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE).** Trabalho iniciação científica. CNPQ. p.6, 2010.

PESSOA, A. S.; LOZANO, E. R.; VILANI, A.; POTRICH, M.; MATOS, L.L.; OLIVEIRA, T.M.; PESSOA, G.M. *Bacillus thuringiensis* berliner e *anticarsia gemmatalis* hübner (Lepidoptera: erebidae) sob ação de extratos vegetais. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.81, n.4, p. 329-334, 2014.

PINTO, Diego M.; RIBEIRO, Paulo B.; SILVEIRA JUNIOR, Paulo; et al. Flutuação Populacional de *Gnatocherus cornutus* (Coleoptera: Tenebrionidae), em Granja Avícola, em Pelotas, RS. **XVI Congresso de Iniciação Científica**, 2002.

PRAÇA, L.B.; BATISTA, A.C.; MARTINS, É.S.; SIQUEIRA, C.B.; DIAS, D.G.S.; GOMES, A.C.M.M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R.G. **Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera**, Pesq. agropec. bras., Brasília, v.39, n.1, p.11-16, jan. 2004.

POLANCZYK, R.A. Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). 2004. p.158 **Tese doutorado**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2004.

PONCIO, SÔNIA. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Microtheca ochroloma* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae)**. Tese Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2010.

REZENDE, S.R.F. **Fungos Entomopatogênicos no Controle do *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) como Estratégia de Biossegurança na Avicultura**. 2009. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Zootecnia. UFRRJ. Seropédica-RJ, 2009.

ROCHE, A.J.; COX, N.A.; RICHARDSON, L.J.; BUHR, R.J.; CASON, J.A. FAIRCHILD, B.D; HINKLE, N.C. Transmission of Salmonella to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Poultry Science**, v. 88, n. 1, p. 44-48, jan. 2009.

RODRIGUEIRO, T.S.C. **Distribuição espacial, bioensaios com nematoides entomopatogênicos e inseticidas em população de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), de aviário de corte do Estado de São Paulo: subsídios para programas de manejo integrado e controle biológico**. 2008. 131 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. UNICAMP. Campinas, 2008.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**. 1(2), p. 43-50, 2001.

SAITO, M.L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998.

SALIN, C.; DELETTRE, Y.R.; CANNAVACCIUOLO, M.; VERNON, P. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **European Journal of Soil Biology**, v.36, n.2, p.107-115, 2000.

SALLET, L.A.P. Seleção de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Universidade de Brasília. **Departamento de Biologia Molecular**. Tese doutorado. P.92, agosto, 2013.

SANTOS, B.S., FARIAS, P.M.A., MENEZES, F.D., FERREIRA, R.C., ALVES JÚNIOR, S., FIGUEIREDO, R.C.B.Q., BELTRÃO, E.I.C **“Lectin functionalized quantum dots for recognition of mammary tumors”**. SPIE, v.6096, p.1J-8J, 2006.

SILVA, A.S.; HOFF, G.; DOYLE, R.L.; SANTURIO, J.M.; MONTEIRO, S.G. Ciclo biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* em laboratório. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, n.2, p.177-181, 2005.

SILVA, E. R. L.; ALVES, L. F.A.; MARTINELO, L.; FROMENTINI, M. A.; MARCHESE, L. P.C.; PINTO, F. G.S.; POTRICH, M.; NEVES, P. M.O.J. Natural phytosanitary products effects on *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki* (Berliner). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, suplemento 1, p. 2891-2904, 2012.

SINGH, G.; RUP, P. J.; KOUL, O. Acute, sublethal and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* toxins on *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Bulletin of Entomological Research**, v. 97, p. 351-357, 2007.

SCHALLER, A. **Induced plant resistance to herbivory. Phenylpropanoid metabolism induced by wounding and insect herbivory**. Springer, p.189-208, 2008.

SCHLÜTER, M.A. **Avaliação de extratos vegetais no controle de *Anticarsia gemmatilis* HÜBNER, 1818 (Lepdoptera: Noctuidae) sob diferentes pressões populacionais a campo**. 77f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Maria, 2006.

SONE, E. H.; WAGA, I. C.; PRAÇA, L. B.; MONNERAT, R. G. Prospecção de estirpes de *Bacillus thuringiensis* toxica ao bicudo do algodoeiro (*Anthonomus grandis* BOHEMAN 1943). VIII talento estudantil anais 2003, p.125.

SOUZA, O. I. O. N.; PINTO, M.A.; SILVA, I.R.; Atividades farmacológicas da arruda (*Ruta graveolens*). In: **VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007**, Caxambu, MG. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007, Caxambu, MG.

TSENG, Y.L.; DAVIDSON, J.A.; MENZER, R.E. Morphology and chemistry of the odoriferous gland of the lesser mealworm, *A. diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Annals Entomology of Society American**, v. 64, p. 425-430, 1971.

TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; FUJIWARA, S.; TANIGAKI, S.; OHYAMA, M.; TANAKA, T.; IINUMA, M. **Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin resistant *Staphylococcus aureus***. Journal of Ethnopharmacology, v.50, n.1, p.27-34, 1996.

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. **Relatório Anual 2014**. São Paulo: UBABEF, 2014. Disponível em: <http://www.abef.com.br/ubabef/exibenoticiaubabef.php?notcodigo=2761>. Acesso em: 20. 04. 2015.

UEMURA, D. H.; ALVES, L.F.A.; OPAZO, M.A.U.; ALEXANDRE, T. M.; OLIVEIRA, D.G.P; VENTURA, M.U. Distribuição e dinâmica populacional do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários de frango de corte. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v.75, n.4, p.429-435, out./dez., 2008.

VERGARA, C.; GAZANI, R. Biologia de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Revista Peruana de Entomologia**, v.39, p.1-5, 1996.

VIANA, Marco A. de O. **Resposta à ação de Terra Diatomácea no Controle de *Alphitobius diaperinus* em Granjas de Frango de Corte**. 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, outubro de 2011.

VIEGA JÚNIOR, C. **Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos**. Quim. Nova, Vol. 26, No. 3, 390-400, 2003.

VILANI, A. Atividade de produtos fitossanitários naturais sobre *Anticarsia gemmatalis* hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki* e seletividade a *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). **Dissertação de mestrado**. Pato Branco, p.85, 2013.

WALLDORF, Volker; MEHLHORN, Heinz; AL-QURAIHY, Saleh; et al. Treatment with a neem seed extract (MiteStop®) of beetle larvae parasitizing the plumage of poultry. **Parasitol Res.**, 110, p.623–627, 2012.

WOLF, J. **Associação de métodos químicos e físicos visando o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera:Tenebrionidae)**. 2013. 116f. Tese (Mestrado Zootecnia)- Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos.