

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CARLA SAMANTA PEGORINI**

**ASSOCIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* E  
*Bacillus thuringiensis* SOBRE *Alphitobius diaperinus* (PANZER)  
(COLEOP.: TENEBRIONIDAE)**

**DISSERTAÇÃO**

**DOIS VIZINHOS - PR  
2016**

CARLA SAMANTA PEGORINI

**ASSOCIAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* E  
*Bacillus thuringiensis* SOBRE *Alphitobius diaperinus* (PANZER)  
(COLEOP.: TENEBRIONIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Dois Vizinhos, como requisito à obtenção do título de Mestre em Zootecnia - Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alfredo de Gouvea  
Co-orientadores: Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva. Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Michele Potrich

DOIS VIZINHOS - PR  
2016



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**

**Título da Dissertação n° 067**

**Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleop.: Tenebrionidae)**

**Carla Samanta Pegorini**

Dissertação apresentada às treze horas e quarenta minutos do dia vinte e sete de junho de dois mil e dezesseis, 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. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho . . . . .

Banca examinadora:

---

**Everton Ricardi Lozano da Silva**  
UTFPR-DV

---

**Michele Potrich**  
UTFPR-DV

---

**Gislayne Fernandes Lemes Trindade Vilas**  
Boas - UEL

---

**Prof. Dr. Douglas Sampaio Henrique**  
Coordenador do PPGZO

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

P376a Pegorini, Carla Samanta.

Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) ( Coleop.: Tenebrionidae) – Dois Vizinhos: [s.n], 2016. 64f.

Orientador: Alfredo de Gouvea

Coorientadores: Everton Ricardi Lozano da Silva, Michele Potrich

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Dois Vizinhos, 2016.

Inclui bibliografia

1. Ave - Criação 2. Pragas agrícolas – Controle biológico 3. Essências e óleos essenciais I. Gouvea, Alfredo de, orient. II. Silva, Everton Ricardi Lozano da, coorient. III. Potrich, Michele, coorient. IV. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos V. Título.

CDD: 632.96

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva RB:9/1745

Dedico à minha família, que se fizeram presentes em todos os momentos desta etapa e, principalmente, foram âncoras nos momentos difíceis.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pela luz concedida para chegar até aqui.

A minha família, meus pais Lauri e Noeli, pelo carinho, amor e respeito, pelo incentivo dado, e principalmente pela ajuda prestada, em muitas ocasiões. À minha irmã Jessica, que por muitos momentos se fez presente nas etapas difíceis, prestando ajuda. Obrigada a vocês, minha base.

Ao meu amigo, namorado e companheiro, Murilo, obrigada pela paciência.

À UTFPR-DV, por ser minha segunda casa, casa de ensinamentos, de muitas amizades, e principalmente, grandes lições que serão levadas para a vida. Foram muitos anos vestindo a camisa da universidade, desde o curso Técnico, Graduação e por fim, o Mestrado.

Ao meu orientador, Alfredo de Gouvêa, pelo incentivo e apoio prestado durante essa fase.

Ao co-orientador, Everton Ricardi Lozano da Silva, principalmente por toda a paciência, pelos ensinamentos transmitidos, pela confiança e amizade depositada.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Michele Potrich, pela amizade e confiança, que vem bem antes do Mestrado.

Aos professores que passaram durante esses dois anos, transmitindo conhecimentos e nos mostrando as possibilidades de expandir novas ideias, obrigada.

Aos colegas de aula, pela amizade, carinho, pela ajuda mútua em muitos momentos.

Aos colegas de laboratório, obrigada pela ajuda prestada.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

*“O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem. O que Deus quer é ver a gente aprendendo a ser capaz de ficar alegre a mais, no meio da alegria, e mais alegre ainda no meio da tristeza! Todo caminho da gente é resvaloso, mas cair não prejudica demais. A gente levanta, a gente sabe, a gente volta.”*

*João Guimarães Rosa*

## RESUMO

PEGORINI, Carla Samanta. Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleop.: Tenebrionidae). 2016. 64f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR. Dois Vizinhos-PR, 2016.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* e a associação destes sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*, em condições de laboratório. Para tal, foram avaliadas diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora* (0%, 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,0%; 1,25% e 1,5%) sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*, visando selecionar a concentração que causasse cerca de 50% de mortalidade nos insetos, para utilização no experimento de associação. Para ocorrer emulsificação do óleo foi misturado 10 µL do tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%) em água. Também foi realizada a avaliação do efeito inseticida de diferentes linhagens (BR 137, BR 140 e BR 146) de *B. thuringiensis*, na concentração  $3 \times 10^8$  UFC/mL, sobre larvas e adultos de *A. diaperinus* para selecionar a linhagem que causasse maior percentual de mortalidade para ser utilizada no experimento de associação. Em ambos os experimentos, 10 mL de cada concentração (óleo ou bactéria) foi adicionada e misturada a 38 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada, para adultos e em 20 g de ração, para larvas. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito partes iguais e distribuída em placas de Petri (150 mm x 20 mm), para adultos e em placas de acrílico, com 12 poços individualizados, para larvas. Cada placa foi considerada uma repetição e recebeu 12 larvas ou 12 adultos, totalizando 96 insetos por tratamento. Como testemunha foi misturada à ração 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 nove dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos. Para o experimento de associação foram utilizadas as três linhagens de *B. thuringiensis* (BR 137, BR 140 e BR 146), na concentração  $3 \times 10^8$  UFC/ml e o óleo essencial de *E. uniflora* na concentração de 1% por ter causado 50% de mortalidade sobre as larvas. O delineamento experimental e os procedimentos para montagem, armazenamento e avaliação foram os mesmos descritos para os experimentos anteriores. O óleo essencial de *E. uniflora*, na concentração de 0,75% causou maior mortalidade em larvas de *A. diaperinus* (70,83%), porém, não diferiu da concentração de 1% (50%). Para adultos, o óleo essencial não causou efeito inseticida nas concentrações avaliadas. As linhagens de *B. thuringiensis*, BR 137, BR 140 e BR 146 apresentaram efeito inseticida com mortalidades de 38,54%, 48,95% e 51,04% respectivamente, para larvas de *A. diaperinus*. Para adultos, as linhagens não apresentaram efeito inseticida. Na associação das linhagens BR 137, BR 140 e BR 146 com o óleo essencial de *E. uniflora* a 1%, as mortalidades foram de 80,55%, 62,50% e 81,94%, respectivamente. O óleo essencial de *E. uniflora* causou efeito inseticida somente sobre larvas de *A. diaperinus*. As três linhagens de *B. thuringiensis* foram patogênicas somente para larvas de *A. diaperinus*. Na associação das linhagens de *B. thuringiensis* e o óleo essencial de *E. uniflora*, os agentes não interferiram negativamente um sobre o outro, evidenciando a possibilidade de utilização de tal associação. Os resultados aqui obtidos foram observados de forma significativa na fase larval, o que faz com que mais estudos sejam desenvolvidos a fim de selecionar

linhagens mais virulentas e concentrações com maior efeito inseticida para insetos adultos.

**Palavras Chave:** Avicultura, Controle Alternativo, Pitanga, Controle Biológico, Bactéria Entomopatogênica, Cascudinho de aviário.

## ABSTRACT

PEGORINI, Carla Samanta. Essential Oil Association of *Eugenia uniflora* and *Bacillus thuringiensis* to control *Alphitobius diaperinus* (PANZER) (Coleop.: TENEBRIONIDAE). 2016. 64 leaf. Dissertation (Master's in Animal Science) – Post Graduate Program in Animal Science. (Concentration Area: Production and Animal Nutrition), Federal Technological University of Paraná - UTFPR. Dois Vizinhas-PR, 2016.

The objective of this study was to evaluate the effect of essential oil of *Eugenia uniflora* and *Bacillus thuringiensis* alone and the association these on larvae and adult *Alphitobius diaperinus* in laboratory conditions. To this, they were evaluated essential oil different concentrations of *E. uniflora* (0%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1,0%, 1,25% and 1,5%) on larvae and adult *A. diaperinus*, in order to select the concentration that caused around 50% mortality in insects, for use in association experiment. To occur emulsification of oil was mixed 10 uL of tense active Tween® 80 (0,01%) in water. It was performed to evaluate the effect of insecticide different strains (BR 137, BR 140 and BR 146) of *B. thuringiensis*, concentration  $3 \times 10^8$  CFU/mL, on larvae and adults of *A. diaperinus* to select the strain that causes most mortality percentage to be used in association experiment. In both experiments, 10 mL of each concentration (oil or bacteria) was added and mixed to 38 g of commercial feed for broilers, previously sterilized, for adults and 20 g of feed, for larvae. After preparation of the mixture, this was divided into eight equal parts and distributed in Petri dishes (150 mm x 20 mm) for adults and acrylic plates with 12 individual wells to larvae. Each plate was considered a repetition and received 12 larvae and 12 adults, totaling 96 insects per treatment. As control was mixed with feed sterilized distilled water. The plates were placed in a climatic chamber at  $27 \pm 2$  ° C, RH  $70 \pm 10\%$  and photoperiod of 14 hours. The evaluation was conducted every day for nine days by quantifying the number of dead individuals. For the association experiment were used the three strains of *B. thuringiensis* (BR 137, BR 140 and BR 146), at the concentration  $3 \times 10^8$  CFU/mL and the essential oil of *E. uniflora* at a concentration of 1% for causing 50 % mortality of the larvae. Experimental design and procedures for assembly, storage and evaluation were the same as described for the previous experiments. The essential oil of *E. uniflora* at a concentration of 0,75% caused higher mortality in larvae of *A. diaperinus* (70,83%), however, did not differ from concentration of 1% (50%). For adults, the essential oil showed no insecticidal effect on measured concentrations. The strains of *B. thuringiensis*, BR 137, BR 140 and BR 146 presented insecticidal effect with mortalities of 38,54%, 48,95% and 51,04% respectively for larvae of *A. diaperinus*. For adults, the strains showed no insecticidal effect. The association of lines BR 137, BR 140 and BR 146 with the essential oil of *E. uniflora* 1% mortalities were 80,55%, 62,50% and 81,94%, respectively. The essential oil of *E. uniflora* caused only insecticidal effect on larvae of *A. diaperinus*. The three strains of *B. thuringiensis* were pathogenic only for larvae of *A. diaperinus*. The association of strains of *B. thuringiensis* and *E. uniflora* essential oil, agents do not interfere negatively on one another, suggesting the possible use of such an association. The results obtained were observed significantly in the larval stage, which means that more studies are developed in order to select more virulent strains and concentrations higher insecticidal effect to adult insects.

**Keywords:** Poultry, Alternative Control, Pitanga, Biological Control, Entomopathogenic Bacteria, Poultry Mealworm.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada, de larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*, causada por diferentes concentrações do óleo essencial de *Eugenia uniflora*.....38

**Tabela 2:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada de larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus* causada por diferentes linhagens de *Bacillus thuringiensis*.....43

**Tabela 3:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada de larvas de *Alphitobius diaperinus* submetidos ao óleo de *E. uniflora* à 1%, *Bacillus thuringiensis* e a associação destes.....48

**Tabela 4:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada de adultos de *Alphitobius diaperinus* submetidos ao óleo de *E. uniflora* à 1%, *Bacillus thuringiensis* e a associação destes.....49

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Avicultura e o controle de <i>Alphitobius diaperinus</i> : uma barreira a ser superada.....	15
2.1.1 Manejo integrado de <i>Alphitobius diaperinus</i> em aviários de corte .....	18
2.2 Plantas inseticidas e o controle biológico como possíveis alternativas de controle para <i>A. diaperinus</i> .....	21
2.2.1 Utilização de plantas inseticidas como estratégia de controle de insetos-praga.....	23
2.2.2 Utilização de <i>Bacillus thuringiensis</i> como estratégia de controle de insetos-praga... 26	
2.3 Associação de óleo essencial e <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	32
3.1 Obtenção de <i>Alphitobius diaperinus</i> e do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> .....	32
3.2 Obtenção, multiplicação e quantificação de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	33
3.3 Avaliação de diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	34
3.4 Avaliação de diferentes linhagens de <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	35
3.5 Associação do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	35
3.6 Análise Estatística .....	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
4.1 Avaliação de diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	37
4.2 Avaliação de diferentes linhagens de <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	41
4.3 Associação do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Bacillus thuringiensis</i> sobre larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> .....	46
5. CONCLUSÃO .....	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54

## 1. INTRODUÇÃO

Entre as atividades da agropecuária brasileira, a avicultura de corte representa significativa importância para as finanças comerciais, no que diz respeito à produção e exportação da carne, levando o Brasil a ter umas das produções avícolas mais desenvolvidas do mundo. Contudo, há fatores limitantes dessa atividade que precisam ser superados por comprometerem a produção, como os insetos-praga.

*Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido como cascudinho de aviário é considerado a principal praga da avicultura (SALLET, 2013). Tanto as larvas como os adultos possuem hábito gregário, sendo encontrados os maiores focos na cama, sob os bebedouros, comedouros e próximo aos pés direitos do galpão. Instalações com alta incidência dessa praga (ALVES, et al, 2005) acabam interferindo na conversão alimentar, ganho de peso, causam ferimentos no sistema digestório das aves (ALVES et al, 2011), além de liberarem substâncias tóxicas, como as quinonas, que causam lesões no fígado, condenando esses órgãos no abatedouro. Além disso, *A. diaperinus* atua como vetor de fungos, bactérias e protozoários (ALVES et al, 2011).

Para o controle desse inseto, os avicultores utilizam convencionalmente produtos químicos sintéticos na cama durante o período de fermentação, que se dá entre os lotes, após a retirada das aves. Assim, há grande risco das próximas aves que serão alojadas se alimentarem dos restos de insetos mortos pelos produtos, causando contaminação das mesmas. Soma-se a isso o fato dos inseticidas serem tóxicos para o homem e o meio ambiente, além de selecionar populações de insetos resistentes (HASSEMER et al., 2014)

Nesse sentido, é de fundamental importância o desenvolvimento de alternativas de controle que sejam eficientes e de baixo impacto para a saúde do homem e das aves. Entre as alternativas para o controle do inseto-praga, tem-se o controle biológico, por meio de entomopatógenos (fungos e bactérias) e óleos essenciais de plantas, como controle alternativo.

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (Bacillales: Bacillaceae) é o agente biológico mais comercializado na forma de bioinseticidas e vem sendo utilizado separadamente ou associado a outras formas de controle no Manejo Integrado de Pragas. Trata-se de uma bactéria Gram-positiva, esporulante e cristalífera, apresentando

especificidade aos insetos e baixa toxidez para os organismos não alvos, como as aves (LUCHO et al, 2010) e os mamíferos (LIMA, 2010), sendo segura para a utilização no controle de pragas (SALLET, 2013).

A espécie *B. thuringiensis* apresenta linhagens que são patogênicas para várias ordens de insetos, principalmente para Lepidoptera, Coleoptera e Diptera (BALBINOTTE, 2012). Os esporos dessa espécie podem suportar temperaturas de 75°C durante 10 minutos, apresentando resistência ao calor, o que permite sua resistência no solo por longos períodos (RABINOVITCH et al., 2000).

Quanto aos óleos essenciais, geralmente são biodegradáveis, com baixa toxicidade a mamíferos e possuem substâncias de natureza terpênica, conhecidas como aromáticas, resultantes do metabolismo secundário das plantas, podendo apresentar efeito repelente ou atraente (KNAAK; FIUZA, 2010; COSME; CARVALHO; MOURA, 2007).

Os óleos essenciais apresentam efeitos colaterais para várias ordens de insetos-praga, tais como: inibição da oviposição, alterações hormonais, inibição do acasalamento e fertilidade, motilidade intestinal, inibição da biossíntese de quitina, mortalidade nas diferentes fases (ROEL, 2001; COSME; CARVALHO; MOURA, 2007) e a deterrência nos insetos, provocando assim uma deficiência nutricional, com e consequente atraso no seu desenvolvimento e até mesmo deformações (COSTA et al, 2004; COSME; CARVALHO; MOURA, 2007). Segundo Isman (2000), as plantas pertencentes à família Myrtaceae apresentam a melhor ação inseticida, tornando a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) uma planta potencial no controle alternativo de insetos-praga.

Os métodos alternativos de controle aplicados em um sistema de produção podem ser potencializados quando associados a um ou mais métodos de controle. Dessa forma, a associação dos métodos alternativos pode abrir o leque de abrangência sobre organismos-alvo, como por exemplo, atingindo diferentes espécies e até mesmo diferentes fases de desenvolvimento de uma mesma espécie. Segundo Saito & Luchini (1998), se um agente de controle causar estresse a uma praga, essa estará sujeita a doenças, fazendo com que esteja mais suscetível as toxinas de Bt, por exemplo, permitindo ação mais rápida do agente, e consequentemente, aumentando os índices de mortalidade.

Vilani (2013), analisou extratos vegetais aquosos de *Eugenia uniflora*, *Capsicum baccatum* var. *pendulum* Willd. (Solanaceae), *Brugmansia suaveolens* Willd.

(Solanaceae) e *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) na concentração 5% associados a *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* (Btk) Berliner sobre lagartas de segundo ínstar de *A. gemmatalis*. Observou-se que nenhum dos extratos causou mortalidade ou afetou negativamente no ciclo do inseto. Porém, na associação de Btk com o extrato de pitanga, reduziu a mortalidade de *A. gemmatalis*, ao passo que para o extrato de pimenta observou-se o efeito contrário, aceleração da mortalidade.

Sob esse ponto de vista, estudos sobre a associação de bactérias entomopatogênicas e óleos essenciais de plantas são importantes, pois, segundo Pessoa et al. (2014), mesmo ambos sendo mais seguros que os produtos químicos sintéticos, deve haver compatibilidade entre os mesmos, para que não haja interferência no modo de ação de um sobre o outro.

Tendo em vista que *A. diaperinus* é considerado um inseto de difícil controle, devido a seus hábitos, de estar entre frestas e sob a cama na fase larval, torna as medidas de controle prejudicadas, uma vez que geralmente as aplicações de inseticidas químicos sintéticos são superficiais, não atingindo todas as fases do inseto. Dessa forma, visando a associação de métodos de controle, os agentes podem estar sendo utilizados simultaneamente ou em conjunto, com diferentes modos de ação que podem apresentar efeito sinérgico, contribuindo para o manejo da praga.

Com esse intuito, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* e a associação destes sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*, em condições de laboratório.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Avicultura e o controle de *Alphitobius diaperinus*: uma barreira a ser superada**

A avicultura industrial brasileira tem se destacado nacional e internacionalmente devido aos avanços no setor, resultado de tecnologias aplicadas visando a sanidade, sustentabilidade e conseqüentemente a qualidade da carne de frango (UBABEF, 2012).

O Brasil é considerado o maior exportador mundial de carne de frango desde 2004 e o terceiro maior produtor de carne de aves. Tais rankings conferem ao país, uma

participação no agronegócio de 10,2 bilhões de dólares, com a exportação de 4,76 milhões de toneladas a 155 países, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA (2015).

Essa conquista do mercado externo se deve aos elevados índices de controle sanitário das granjas avícolas, as quais estão livres de problemas, como a gripe aviária, que atingiu a produção mundial, e também ao aumento do consumo interno de carne de frango (EMBRAPA, 2013). Uma vez que a carne de frango é uma excelente fonte proteica de alto valor biológico e com preços mais baixos, quando comparadas a outras carnes, faz com que seja acessível para qualquer classe econômica (UBABEF, 2011), resultando em consumo per capita interno de 45 kg por ano (SINDIAVIPAR, 2015).

A criação das aves é feita em galpões padronizados (aviários), em regime de confinamento, conforme exigências de cada empresa, variando os lotes de criação de 28 a 50 dias, com intervalos entre lotes de uma a quatro semanas, o que torna a atividade intensa e produtiva nos últimos anos (SALLET, 2013). A atividade intensa, tem resultado em mudanças no manejo da criação, estimulando aumento do número de aves por alojamento, maior número de lotes sobre a mesma cama e, em intervalos entre lotes menores, possibilitando assim a maior proliferação de insetos-praga (REZENDE, 2009). Tais práticas de manejo, tem resultado em acúmulo das excretas das aves na cama, o que, junto à umidade dos bebedouros e a temperatura do galpão ideal às aves, favorecem o desenvolvimento da principal praga avícola, o cascudinho de aviário, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) (JAPP; BICHO; SILVA, 2010).

*A. diaperinus* é originário do continente Africano e é conhecido também como praga secundária de grãos armazenados, farinhas e rações animais (ARENDS, 1987; ALEXANDRE et al., 2006; MARQUES et al., 2013). O cascudinho é considerado em todo o mundo, a principal praga do setor avícola. Acredita-se que tenha sido introduzido nos aviários, por meio de rações contaminadas e, sob condições de temperatura e umidade favoráveis, se adaptaram facilmente (AZEVEDO et al., 2010; JAPP; BICHO; SILVA, 2010; RIBEIRO, 2011).

Este inseto é encontrado ao abrigo de luz, na cama das aves, sob os comedouros e bebedouros e, principalmente em galpões onde o piso ainda é de chão batido, pois cava galerias para depositar seus ovos, ficando esse ambiente, protegido durante o vazio sanitário (JAPP; BICHO; SILVA, 2010).

Nos aviários, com as condições essenciais de desenvolvimento (27°C e 80% de UR), o ciclo médio de vida do cascudinho dura de cinco a oito semanas, com oviposição média variando de 1000 a 1800 ovos férteis. As larvas eclodem com quatro a sete dias após a postura, apresentando coloração esbranquiçadas e tamanho em torno de 1,5 mm de comprimento (JAPP; BICHO; SILVA, 2010; ESQUIVEL; CRIPPEN; WARD, 2012).

A fase larval pode apresentar de seis a 11 ínstaes, podendo variar de 30 a 100 dias, conforme as condições do ambiente, e ao final podem medir até 13 mm de comprimento e apresentar coloração marrom escura, momento em que irão passar para a fase de pupa. Essa fase dura cerca de sete a oito dias e, então emergem os adultos, de coloração branca, ficando na cor marrom após quatro dias (JAPP; BICHO; SILVA, 2010; ESQUIVEL; CRIPPEN; WARD, 2012). Os adultos começam o acasalamento entre 10 a 20 dias após a emergência e podem viver até 400 dias dependendo das condições ambientais (JAPP; BICHO; SILVA, 2010; OUROFINO, 2011; ESQUIVEL; CRIPPEN; WARD, 2012; MELO, 2013).

Esses insetos adaptados às condições dos galpões se alimentam de ração, fezes e animais mortos (CHERNAKI-LEFFER, 2004), representando importância no aspecto econômico e sanitário, pois são ingeridos pelas aves, interferindo no crescimento, ganho de peso inicial e também comprometem a saúde das mesmas, transmitindo doenças e ocasionando mortalidade (CHERNAKI-LEFFER et al., 2001; SANTOS et al., 2009; JAPP; BICHO; SILVA, 2010; ALVES et al., 2011; GAZONI et al., 2012).

Os danos estão relacionados ao hábito alimentar das aves, as quais ingerem as larvas e adultos dos insetos e conseqüentemente tem a conversão alimentar prejudicada. Quando os insetos adultos são ingeridos, os élitros podem lesionar o trato gastrointestinal (moela e papo), deixando assim vulnerável a entrada de patógenos (CHERNAKI-LEFFER et al., 2001; JAPP; BICHO; SILVA, 2010; ALVES et al., 2011). Os insetos também podem liberar substâncias tóxicas como a quinona, a qual causa lesão no fígado, condenando a carcaça e órgãos no abatedouro (OUROFINO 2011; WOLF, 2013) além de ser considerado como um veiculador de diversos patógenos, destacando-se as enterobactérias, protozoários, fungos e viroses aviárias que podem levar as aves à morte (CHERNAKI-LEFFER et al., 2002; JAPP; BICHO; SILVA, 2010; ALVES et al., 2011; ESQUIVEL; CRIPPEN; WARD, 2012; SALLET, 2013; GIOLO et al., 2013).

Outros danos causados pelos insetos estão relacionados à infraestrutura do galpão, sendo encontrados furos nos sistemas de isolamento térmico, perfurando painéis evaporativos de *pad cooling*, utilizados para o sistema de resfriamento dos aviários; mutilando as cortinas, as quais protegem os ventos e mantêm a temperatura ideal na fase inicial dos pintainhos, prejudicando o desenvolvimento inicial dos mesmos e furos nas estruturas de madeiras (TURNER, 1986; JAPP; BICHO; SILVA, 2010; OUROFINO 2011).

Além dos problemas relatados acima, quando a cama do aviário está muito seca e há infestação de cascudinho, os insetos se alojam nas penas das aves, ocasionando estresse, bem como lesões na pele ao morderem ao redor do folículo, resultando também na condenação das carcaças no abate (OUROFINO 2011).

Dada a importância econômica e o comportamento ecológico e biológico do inseto, o mesmo requer uma série de estratégias de controle, tais como manejo sanitário correto da cama, métodos físicos, cultural, utilização de produtos químicos sintéticos, produtos biológicos e produtos alternativos, à base de plantas inseticidas. É importante ressaltar a necessidade de que as estratégias de controle sejam eficientes ao controle dos insetos, mas que ao mesmo tempo sejam seguros às aves, bem como ao homem e o meio ambiente.

Os métodos de controle apresentam algumas restrições devido ao comportamento dos insetos. Por exemplo, quando aplicado produtos químicos, além de deixar resíduos na carcaça das aves e conseqüentemente criar barreiras comerciais, pode ser um método ineficiente, não atingindo todas as fases de desenvolvimento do mesmo, devido ao seu habitat, em galerias no piso e frestas do aviário. Nesse contexto, a realização de pesquisas que buscam associar estratégias de controle menos impactantes às aves, ao homem e ao ambiente, são necessárias para melhoria do manejo desse inseto-praga.

### 2.1.1 Manejo integrado de *Alphitobius diaperinus* em aviários de corte

As estratégias utilizadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP) são associadas a técnicas econômicas e ambientalmente sustentáveis. Tais estratégias podem ser usadas visando maior efetividade de controle, através do uso integrado de todas as técnicas de

controle possíveis, buscando manter a densidade populacional de um organismo abaixo do nível de dano econômico (COSTA, 2009; BARBOSA; QUEIROZ, REIS FILHO, 2012).

Para o efetivo controle do cascudinho, o ambiente deve estar impróprio para a infestação e proliferação dos insetos, o que requer a utilização de diversas estratégias ou métodos de controle.

Um dos métodos é o físico, que consiste no controle da temperatura, uma vez que a faixa ideal para o desenvolvimento de *A. diaperinus*, varia de 20°C a 38°C (GAZONI et al., 2012). De acordo com o autor, a mortalidade de larvas e adultos submetidos a uma temperatura inferior a -10°C, no período de uma hora, foi de 100% em ambientes sem maravalha e de 65% a 75% em ambientes com maravalha. Quando superior a 45°C, em ambiente com maravalha, a mortalidade foi de 100% para larvas e adultos, concordando com o método de fermentação da cama, onde a temperatura é superior a 55°C.

Nos períodos entre lotes, a cama pode ser amontoada e umedecida com água, sendo em seguida recoberta com lonas plásticas para que as temperaturas possam ser elevadas a 50°C e 60°C, ocorrendo a fermentação e conseqüentemente, o controle dos insetos (GAZONI et al., 2012).

Outro método para o controle físico de *A. diaperinus* é a utilização associada de condicionadores químicos como a cal hidratada, cal virgem, sulfato de alumínio e gesso agrícola, os quais provocam mudanças na umidade da cama e produzem gases dentro dos aviários. Essas condições, de temperatura e umidade alteradas, tornam o ambiente impróprio para o desenvolvimento dos insetos (WOLF et al., 2014).

Wolf et al. (2014), associando a cal hidratada e temperatura, na dosagem de 400g/m<sup>2</sup> de cal hidratada em condições de laboratório, constatou mortalidade para adultos e larvas de 35,62% e 45,62%, respectivamente, e em temperatura controlada de 45°C, houve mortalidade total de larvas e adultos do inseto.

O controle cultural por sua vez é realizado, principalmente nos períodos entre lotes, na intenção de interferir no ciclo biológico do cascudinho. A remoção de restos de rações dos comedouros, realizar manejo da cama e manter o galpão organizado são medidas que evitam a proliferação dos insetos (AVILA et al., 2007). De acordo com autores, recomenda-se o amontoamento da cama em leiras de 1,5 m de altura, cobertas com lona, até o momento próximo ao alojamento dos pintainhos, por aproximadamente 14 dias para a compostagem da cama.

O período de vazio sanitário, no decorrer dos anos, foi diminuindo para no máximo 3 a 5 dias de intervalo entre os lotes de aves. Dessa forma, o controle do cascudinho não tem sido eficiente, devido ao pouco tempo para a realização das medidas de controle e desinfecção e o manejo adequado da cama no galpão.

As medidas de controle necessárias que são aplicadas sofrem interferência dos hábitos dos insetos e da presença constante das aves, o que dificulta essas práticas, principalmente quando o controle químico é utilizado, pois mesmo sendo eficiente, pode causar intoxicação nas aves (ALVES et al., 2005), pois como já mencionado acima, o período entre lotes é cada vez mais reduzido.

Os produtos químicos sintéticos, que geralmente são à base de piretroides e organofosforados (CHERNAKI-LEFFER; SOSA-GOMEZ; ALMEIDA, 2006) devem ser aplicados somente ao final do lote de produção, o que também limita o processo de controle de *A. diaperinus* (ALEXANDRE et al., 2006; SANTOS et al., 2009). Além disso, quando utilizados inadequadamente, favorecem a seleção populações de insetos resistentes aos compostos (GAZONI et al., 2012; HASSEMER et al., 2014), a qual pode ser verificada através da sequência de DNA dos mesmos (SALLET, 2013).

Assim, os produtos químicos sintéticos podem apresentar desvantagens, como a deposição de seus resíduos nos tecidos das aves, comprometendo a segurança dos alimentos, e no meio ambiente, além de apresentar um custo elevado dos produtos (RODRIGUEIRO et al., 2008; JAPP; BICHO; SILVA, 2010; HASSEMER et al., 2014).

Outro problema da utilização dos produtos químicos sintéticos na avicultura é encontrado quando se refere à exportação. A União Europeia, por exemplo, não importa a carne procedente de criações que recebem esse tipo de controle, devido aos resíduos que podem ficar na carcaça dos frangos (JAPP; BICHO; SILVA, 2010; SALLET, 2013), o que faz com que novas práticas de controle sejam adotadas nos sistemas convencionais (SANTORO et al., 2010; WOLF et al., 2014; SILVA et al., 2015), na intenção de substituir os inseticidas químicos sintéticos.

Diante do exposto, novas estratégias são necessárias para melhorar o controle de *A. diaperinus*, reduzindo ou eliminando a utilização dos produtos químicos sintéticos. Entre essas estratégias tem-se o controle biológico, com a utilização de entomopatógenos (ALVES et al., 2005), e o controle com a utilização de produtos naturais a base de plantas com potencial inseticida (MARCOMINI et al., 2009).

Esses métodos de controle podem ser menos impactantes e mais seguros às aves sem deixar resíduo na carne do frango, não comprometendo a saúde humana e o ambiente.

O interesse por desenvolver estratégias de controle, associando-se plantas inseticidas e entomopatógenos, que podem ter ação conjunta e que minimizem a utilização dos produtos químicos, visa priorizar um sistema sustentável e com eficiência de controle de *A. diaperinus*.

## 2.2 Plantas inseticidas e o controle biológico como possíveis alternativas de controle para *A. diaperinus*

A ideia de alternativo empregada aqui refere-se a uma alternativa à utilização de produtos químicos sintéticos. Nesse sentido, os métodos alternativos de controle estão relacionados a métodos que utilizam substâncias não tóxicas ao homem e ao meio ambiente.

Entre essas alternativas, destaca-se a utilização de plantas com atividade inseticida. As plantas possuem substâncias conhecidas como metabólitos secundários, responsáveis pela proteção destas contra patógenos e herbívoros, sendo promissoras para o controle de insetos-praga. O emprego dessas substâncias apresenta vantagens quando comparadas com a utilização de produtos químicos sintéticos: inseticidas naturais são degradados rapidamente, não persistindo no ambiente; a resistência dos insetos às substâncias apresenta processo lento; são de fácil acesso e não deixam resíduos em alimentos e apresentam baixo custo de produção, tornando-se uma estratégia acessível a pequenos produtores (ROEL, 2001; SANTOS et al., 2012; SANTOS et al., 2013; VILANI, 2013).

Estudos com relação à utilização de plantas com potencial inseticida são realizados, apresentando-se uma opção para o manejo integrado de pragas. No entanto, estudos sobre a utilização de plantas inseticidas para o controle de *A. diaperinus* são escassos.

Quando se fala em agricultura sustentável, busca-se encontrar os métodos para que isso seja possível. Uma das ferramentas utilizadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP), e que cada vez mais assume papel importante, é o controle biológico. O controle

biológico, de acordo com Parra et al. (2002), é considerado um fenômeno natural, onde ocorre uma regulação do número de plantas e animais pelos próprios inimigos naturais, sendo os agentes bióticos de mortalidade.

O controle biológico pode ser interpretado de três formas: como um campo de estudo onde se entende a ecologia comportamento e fisiologia de populações; fenômeno natural onde quase todas as espécies possuem inimigos naturais que regulam suas populações e por último, uma estratégia de controle de pragas através da utilização de parasitóides, predadores e agentes microbianos (GONÇALVES, 1996), sendo estes últimos comercializados como bioinseticidas.

No Brasil, os produtos microbianos são na sua maioria formulados em empresas de pequeno porte de capital nacional. A comercialização de bioinseticidas corresponde a 2% do mercado brasileiro e o número de produtos registrados e comercializados de origem microbiana chega a 60 tipos diferentes, onde os principais são o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin e a bactéria *Bacillus thuringiensis*, Berliner (Bacillales: Bacillaceae) (JÚNIOR; PAULI; SOSA-GÓMEZ, 2013; ZORZETTI, 2015).

Para que um produto biológico seja registrado, é necessário um grande tempo de pesquisa e conhecimento do organismo a ser utilizado para o controle de pragas específicas (MAPA, 2014). No entanto, dentro dos produtos biológicos registrados no Brasil para diferentes pragas, principalmente as pragas do setor agrícola, não há registros de produtos biológicos para o controle de *A. diaperinus*. Dentre os agentes que poderiam apresentar resultados satisfatórios para o controle do cascudinho, seria *B. thuringiensis*. Uma vez sendo eficiente para o controle dessa praga, o agente poderia ser aplicado na cama ou na ração, apresentando maiores chances de entrar em contato com o inseto, atingindo as diferentes fases de desenvolvimento do mesmo, além de permanecer mais tempo no ambiente. Dessa forma, com a utilização de *B. thuringiensis* nos aviários para o controle de *A. diaperinus*, tornaria a produção avícola mais eficiente, uma vez que as perdas causadas pelo cascudinho estariam diminuindo, e consequentemente, melhorando o desempenho de produção de cada lote de frangos.

### 2.2.1 Utilização de plantas inseticidas como estratégia de controle de insetos-praga

A utilização de produtos alternativos provenientes de plantas vem sendo um forte aliado para o controle de diferentes insetos, atuando no equilíbrio ambiental, sem deixar resíduos químicos e retardando a resistência sobre populações dos mesmos.

Em meados do século 20, o Brasil produzia e exportava inseticidas botânicos em grande escala, tais como o piretro, rotenona e nicotina, os quais apresentavam segurança no seu uso agrícola e menor impacto sobre o meio ambiente. Esses inseticidas foram importantes nas décadas de 1930 e 1940 para o controle de praga. Porém, nas décadas de 1950 e 1960, com a Revolução Verde, os inseticidas botânicos foram substituídos pelos inseticidas químicos sintéticos produzidos pelos países industrializados (MENEZES, 2005).

Atualmente, o interesse e a necessidade de buscar os métodos alternativos de menor impacto, tanto humano como ambiental, estão retomando as forças pela busca de produtos eficientes a base de plantas, que possam ser utilizados com eficiência nas produções para o controle de pragas.

As plantas possuem compostos que são utilizados para seu desenvolvimento e também para sua defesa, denominados, respectivamente de metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são encontrados em todas as células vegetais, os quais possuem açúcares, aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos, que são fundamentais para a vida da planta (BIERMANN, 2009). Já os metabólitos secundários são encontrados em pequenas proporções nos tecidos das plantas e estão relacionados com a defesa contra o ataque de micro-organismos e insetos, podendo acarretar na morte dos mesmos, ou até mesmo repelência, no caso dos insetos, garantindo assim a sobrevivência e a propagação da planta no habitat (MENEZES, 2005; BIERMANN, 2009; SANTOS et al., 2012).

Já são conhecidos pouco mais de 100 mil metabólitos secundários, os quais são classificados quanto à presença ou não de nitrogênio na sua composição. Existem grupos de metabólitos secundários importantes, que são responsáveis por garantir a sobrevivência das plantas, sendo eles: terpenos, compostos fenólicos, alcaloides, flavonoides, taninos, quinonas e também os óleos essenciais (SANTOS et al., 2012; SANTOS et al., 2013).

As substâncias das plantas podem causar diferentes efeitos quando administrados sobre os insetos, tais como repelência, inibição da oviposição e alimentação, alteração hormonal, deformações, infertilidade e mortalidade em diferentes fases de vida (ROEL, 2001; MENEZES, 2005; SANTOS et al., 2012).

Muitas plantas com potencial inseticida servem de alimentos para vários insetos, os quais possuem mecanismos enzimáticos que inativam os princípios ativos, ou evitam os estágios e partes das plantas onde se encontram as maiores concentrações das substâncias tóxicas (CORRÊA; SALGADO, 2011).

Plantas das famílias Poaceae, Myrtaceae, Lamiaceae, Piperaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae se destacam quanto a atividade inseticida (MEDEIROS; JUNIOR; TORRES, 2005; PEGORINI et al., 2009), sendo algumas ativas contra espécies limitadas de insetos, e muitas vezes, são biodegradáveis, apresentando baixa ou nenhuma atividade tóxica aos mamíferos (ROEL, 2001; CORRÊA; SALGADO, 2011).

A família Myrtaceae apresenta papel importante, tanto econômico, podendo ser utilizado para a alimentação, como ecológico, servindo seus frutos de alimento para a fauna silvestre (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014). É considerada uma das famílias mais representativas do Brasil, compreendendo diversas vegetações, onde são descritos 23 gêneros e aproximadamente 1034 espécies (SOBRAL et al., 2016). As plantas mais conhecidas, pertencentes a essa família são: *Psidium guajava* L. (goiaba), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Eugenia sprengelii* DC. (murta), *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto), *Syzygium aromaticum* L. (cravo-da-índia), entre outras (MORAIS; CONCEIÇÃO; NASCIMENTO, 2014).

As plantas inseticidas podem ser utilizadas contra os insetos-pragas, por meio de produtos com formulações em pó, extratos aquosos e etanólicos e na forma de óleos essenciais (ESTRELA et al., 2006; PINTO JUNIOR et al., 2010).

Os óleos essenciais são compostos por substâncias aromáticas e componentes de natureza terpênica, que podem apresentar toxicidade, ação repelente, inibir a alimentação e até mesmo influenciar no desenvolvimento dos insetos (KNAAK; FIUZA, 2010). Alguns fatores podem atuar diretamente na composição dos óleos essenciais, como o clima, estação do ano, condições geográficas, colheita e tipo de destilação (MACIEL et al., 2002).

Dentro do grupo dos terpenoides, os principais compostos encontrados nos óleos essenciais são os monoterpenos e sesquiterpenos. Os monoterpenos apresentam atividade inseticida, inibindo a enzima acetilcolinesterase, a qual é responsável pela

retirada da acetilcolina da fenda sináptica, no processo de transmissão do impulso nervoso. Nessa situação, o impedimento da transmissão do impulso nervoso ocasiona a morte do animal por paralisia (KNAAK; FIUZA, 2010).

Pinto Junior et al. (2010) avaliaram diferentes concentrações dos óleos essenciais de sassafrás, *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (Lauraceae) e eucalipto, *Eucalyptus viminalis* Labill. (Myrtaceae) sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*. O resultado foi de que o óleo essencial de sassafrás foi 100% eficiente com a menor concentração letal, 2,5%, do que o óleo de eucalipto, na concentração de 3,5%, para produzir a mesma mortalidade de larvas e adultos.

Coitinho et al. (2011), em estudo sobre a toxicidade de óleos essenciais sobre o gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) verificaram que o óleo essencial de *E. uniflora*, aplicado por contato e ingestão, causou baixa toxicidade (8,5) sobre adultos. Nesse estudo, os autores observaram que o modo de ação do óleo no sistema nervoso dos insetos, está diretamente relacionado com a rapidez na mortalidade, uma vez que, segundo Isman (2006), o óleo essencial interfere no neuromodulador octopamina, que é responsável por regular os batimentos cardíacos, os movimentos, o comportamento e o metabolismo dos insetos.

Em avaliação de extratos de *E. uniflora*, obtidos por diferentes métodos (Decocção, Infusão, Alcoólico, Maceração, Óleo Essencial) sobre a saúva cabeça-de-vidro, *Atta laevigata* Smith (Hymenoptera: Formicidae), nas concentrações de 1,25%, 2,5% e 5%, Jung et al. (2013), verificaram que apenas o óleo essencial causou mortalidade significativa de 84,4%, 94,1% e 100% para as respectivas concentrações, evidenciando o maior potencial inseticida quando comparado aos demais métodos de extração.

Marques et al. (2013) avaliaram diferentes concentrações (0%, 1%, 3%, 5%, 7% e 9%) dos óleos de nim e citronela (0%, 5%, 10%, 15% e 20%) sobre adultos de *A. diaperinus* e, observaram variação no percentual de mortalidade dos insetos. Conforme o aumento da concentração utilizada dos óleos, o percentual de mortalidade também aumentou, de 17% a 59% para o óleo de nim e de 55% a 81%, para o óleo de citronela.

O óleo essencial de *Cunila angustifolia* Benth (Labiatae: Lamiaceae), em diferentes concentrações (0%, 1%, 5% e 10%), foi avaliado sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*, em laboratório e a campo. Em laboratório, as concentrações de 5% e 10% foram eficientes para adultos e larvas, com mortalidade de 100% dos insetos. À campo, todas as concentrações provocaram redução de insetos (adultos e larvas), quando

comparados ao grupo controle (0%), concluindo que 5% foi a concentração mais eficiente, apresentando efeito inseticida para larvas e adultos de *A. diaperinus* (PRADO et al. 2013).

As plantas com potencial inseticida podem atuar sobre diferentes ordens de insetos. Pauliquevis & Favero (2015), trabalhando com diferentes métodos de aplicação do óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* L. Miq. (Piperaceae) sobre *S. zeamais*, verificaram que o óleo foi eficiente pelo método de fumigação, apresentando toxicidade por superfície de contato e repelência em superfície de grãos tratados, mostrando-se promissora para o controle dessa praga.

Com os estudos relatados sobre o efeito de óleos essenciais de plantas sobre insetos, há perspectivas para resultados promissores e alternativos a serem alcançados, os quais podem minimizar ou até mesmo substituir o uso de produtos químicos sintéticos. Dessa forma, a avicultura pode estar viabilizando sua produção, tornando o meio ambiente mais limpo e seguro, e conseqüentemente diminuindo os riscos de intoxicação do homem e das aves, o que faz com que haja segurança alimentar das carnes.

### 2.2.2 Utilização de *Bacillus thuringiensis* como estratégia de controle de insetos-praga

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria naturalmente encontrada no ambiente, aeróbia ou facultativamente anaeróbia e Gram-positiva, a qual requer temperatura ideal para desenvolvimento de 30°C, podendo variar de 10°C e 45°C (HABIB; ANDRADE, 1998; BOBROWSKI et al., 2003).

A bactéria apresenta duas fases diferentes no seu ciclo de vida, onde uma é o crescimento vegetativo, multiplicando-se por bipartição, e a outra fase é de esporulação, na qual ocorre a formação de esporos (SALLET, 2013). Na fase de esporulação, as bactérias produzem inclusões proteicas cristalinas parasporais, que são compostas por duas proteínas diferentes, conhecidas como Cry e Cyt. As proteínas ou toxinas Cry, também são conhecidas como  $\delta$ -endotoxinas e apresentam atividade tóxica a insetos, principalmente às ordens Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera e nematoides (BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007; CAMPANINI et al., 2012; SALLET, 2013),

enquanto as proteínas Cyt possuem atividade hemolítica, sendo também específicas para insetos (BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007).

O modo de ação de *B. thuringiensis* pode ser explicado por dois diferentes modelos, onde um é dependente da formação de poros e outro da transdução de sinal (BRAVO; SOBERÓN, 2008).

Quando os cristais são ingeridos pelos insetos, estes são solubilizados em pH alcalino no intestino, liberando as  $\delta$ -endotoxinas na forma de protoxinas que são ativadas por proteases intestinais. As toxinas ativadas ligam-se a receptores específicos localizados nas microvilosidades das células epiteliais do mesêntero, formando os poros na membrana celular, causando desequilíbrio iônico entre o citoplasma e a parte externa da célula. Tal desequilíbrio resulta em destruição das microvilosidades, hipertrofia das células epiteliais e lise celular, ocasionando morte por inanição, paralisia dos músculos e septicemia (BOBROWSKI et al., 2003; PRAÇA et al., 2004; BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007; FIUZA, 2010).

O outro modelo supõe que após a ativação das toxinas nas microvilosidades, ocorre a estimulação de uma proteína G (transdução de sinais celulares) e adenilato ciclase, ativando a proteína Quinase A, resultando na morte celular programada, ou mesmo autodestruição celular (BRAVO; SOBERÓN, 2008).

A eficiência de *B. thuringiensis* depende dos tipos dos genes *cry* funcionais, que codificam diferentes proteínas. Atualmente estão descritas 779 proteínas Cry, distribuídas em 73 grupos, os quais codificam diferentes  $\delta$ -endotoxinas, com poder de toxicidade para larvas de insetos de diversas ordens (CRICKMORE et al., 2016, [http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)). O que a torna uma estratégia de controle viável é o fato de apresentar especificidade a insetos susceptíveis, seguro ao ambiente e não apresentar atividade tóxica para animais endotérmicos, inclusive as aves (ALVES, 1998; PINTO; FIUZA, 2003; BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007; LIMA, 2010; SALLET, 2013).

Segundo Silva (2010), a suscetibilidade dos insetos às diferentes linhagens influencia diretamente na patogenicidade, dependendo das características do hospedeiro como o pH intestinal, complexo enzimático, receptores moleculares e a linhagem. Nesse sentido, diversos estudos referentes à seleção de linhagens de bactérias para o controle de insetos-praga, têm sido realizados nos últimos anos, visando o desenvolvimento de novos bioinseticidas e ou estratégias de controle específicos. Linhagens de *B. thuringiensis* têm sido pesquisadas sobre as ordens Lepidoptera (*Spodoptera frugiperda*

J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)) e Coleoptera (*Oryzophagus oryzae*, Costa Lima (Coleoptera: Curculionidae)) (BERLITZ et al., 2010).

Em estudo, a fim de verificar a atividade inseticida sobre *O. oryzae* com uma linhagem de *B. thuringiensis* contendo genes *cry3*, específicos a coleópteros, Steffens et al. (2000) obtiveram 53,41% de mortalidade às larvas do gorgulho aquático. Ainda sobre larvas de *O. oryzae*, Pinto et al. (2003), estudando seis diferentes isolados de *B. thuringiensis*, contendo genes *cry3* e *cry7*, constataram que todos os isolados causaram mortalidade corrigida de 50% a 100%, comprovando que os genes *cry3* e *cry7* codificam toxinas específicas a coleópteros.

Weathersbee et al. (2002), fornecendo por ingestão *B. thuringiensis* subespécie *tenebrionis* para larvas de bicudo-da-raiz, *Diaprepes abbreviatus* Linnaeus (Coleoptera: Curculionidae), com idades de primeiro ínstar, e 5 a 12 semanas nas concentrações de 0, 3,0, 30 e 300 µL/mL, verificaram que, com o passar das semanas, apesar da bactéria ter menor toxicidade nos últimos ínstars, a mesma causa mortalidade antes mesmo das larvas chegarem a fase adulta.

Monnerat et al. (2012), em trabalho com *B. thuringiensis* subespécie *israelensis*, o qual é específico para o controle de dípteros, também verificaram efeito tóxico quando utilizaram o mesmo sobre larvas do bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Tenebrionidae), pois a mortalidade causada com essa linhagem Bti foi semelhante à observada com a subespécie *tenebrionis* que é específica para o controle de coleópteros.

Em estudo recente, referente à seleção de isolados de *B. thuringiensis* para a broca do café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), Zorzetti (2015) testou potencial inseticida de 34 isolados sobre larvas do inseto. Do total, 11 isolados causaram mortalidade acima de 96%, para larvas de *H. hampei* não diferenciando significativamente entre si quando comparadas ao isolado padrão IPS82. Os 23 isolados restantes (67,6%) ocasionaram mortalidade abaixo de 21,2%, não sendo considerados patogênicos a *H. hampei*.

Pares et al. (2008), a fim de verificar a atividade inseticida de *B. thuringiensis* sobre larvas de *A. diaperinus*, incorporou na dieta 44 diferentes linhagens. Os resultados foram negativos sobre larvas, sendo que nenhuma das linhagens avaliadas causaram mortalidades significativas.

Com relação à seleção de linhagens de *B. thuringiensis* para *A. diaperinus*, Sallet (2013) testou 193 estirpes de *B. thuringiensis*, das quais duas destacaram-se para o controle do cascudinho, sendo a estirpe nativa S1806 e a estirpe de *B. thuringiensis* recombinante S2492, que causaram 60% e 80% de mortalidade, respectivamente.

Diante do exposto, a seleção de linhagens de *B. thuringiensis* que apresentem efeito inseticida para *A. diaperinus* pode ser um fator chave para o controle da referida praga. A identificação de linhagens potenciais pode configurar-se em uma alternativa de controle de *A. diaperinus* nos sistemas avícolas de produção, pois este tipo de controle é mais seguro às aves, ao homem e ao meio ambiente. Além disso, *B. thuringiensis* pode ser associada a outras estratégias de controle de *A. diaperinus*, melhorando a eficiência do manejo da praga.

### 2.3 Associação de óleo essencial e *Bacillus thuringiensis*

O manejo integrado de pragas, como já mencionado, prevê a utilização de uma série de estratégias de controle. Essas estratégias de controle podem ser utilizadas simultaneamente ou de forma associada, visando melhores resultados para o controle de insetos-praga.

Um das possibilidades para essas estratégias e que vêm sendo estudadas, é a associação de métodos menos tóxicos, como os produtos alternativos a base de plantas inseticidas, como por exemplo, os óleos essenciais, associados a agentes de controle biológico (agentes entomopatogênicos). De acordo com Saito & Luchini (1998), o agente a base de plantas pode ocasionar um quadro de estresse sobre a praga, levando-a adquirir doenças infecciosas, consequentemente tornando-a mais suscetível às toxinas das bactérias, que irão apresentar modo de ação mais efetivo.

Quanto ao *A. diaperinus*, a associação dos métodos de controle pode apresentar uma série de vantagens, tais como a otimização de tempo, qualidade e segurança alimentar, menor poluição do ambiente e do homem por produtos químicos sintéticos, bem como atingir também, as diferentes fases de desenvolvimento desse inseto-praga.

Nesse sentido, a associação de agentes biológicos, no caso *B. thuringiensis* e óleos essenciais pode ser uma alternativa viável e inovadora, que pode configurar-se em uma nova estratégia de controle de insetos-praga, aumentando a eficiência de controle

de espécies que sejam de difícil controle, como *A. diaperinus*. Tal associação pode ser vantajosa, sobretudo pelos diferentes modos de ação entre os agentes envolvidos, as quais podem ser complementares e até mesmo contribuir para o manejo da resistência do inseto-praga alvo. No caso específico de *A. diaperinus*, ainda deve-se considerar as características ecológicas e reprodutivas, uma vez que, quando aplicado os produtos, nem todas as fases de desenvolvimento do mesmo serão atingidas.

O resultado encontrado com a aplicação de produtos naturais de origem vegetal e agentes entomopatogênicos sobre as pragas podem determinar uma ação mais rápida do entomopatógeno ou um maior índice de mortalidade, levando a associação a ser positiva ou benéfica. Esse resultado é decorrente a alguns fatores, tais como: quando o inseto possui mecanismos de defesas contra os entomopatógenos; quando as condições ambientais não são favoráveis e quando as quantidades do entomopatógeno são elevadas (BERLITZ; FIUZA, 2005).

No entanto, as associações podem apresentar diferentes resultados, com efeitos de sinergismo, antagonismo e aditivismo. O efeito sinérgico se refere quando a ação combinada entre os agentes (associação) é significativamente superior a soma dos efeitos alcançados por cada agente individual (tratamentos). Já o antagonismo, se refere à ação da associação dos agentes sendo inferior quando os mesmos são avaliados individualmente. O efeito aditivo corresponde a um efeito superior da associação, quando comparados aos efeitos de cada agente individualmente, porém ainda fica abaixo de ser considerado sinergismo (OLIVEIRA, 1986; SILVA, 2010), evidenciando-se a importância de estudos de associação e os efeitos de agente sobre o outro.

Singh, Rup e Koul (2007), trabalhando com azadiractina associado com *B. thuringiensis* subespécie *kurstaki* sobre lagartas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), do primeiro ao quarto ínstar, observaram que a associação foi positiva, acelerando a mortalidade. Utilizando Btk de forma isolada, a mortalidade ocorreu até o quinto dia e quando associados, Btk + azadiractina, observaram aumento na toxicidade, reduzindo o tempo de mortalidade (100%) para o terceiro dia.

De acordo com os autores, a associação pode não apresentar sinergismo, mas pode ser complementar, podendo a azadiractina ter facilitado o acesso das toxinas Btk aos receptores do intestino, conseqüentemente acelerando as ligações das toxinas aos receptores (SINGH; RUP; KOUL, 2007).

Silva (2010) associando diferentes produtos fitossanitários naturais, incluindo óleo de nim, com *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* linhagem S1905, em ensaio *in vivo*

com *Anticarsia gemmatalis*, verificou que os produtos Bion<sup>®</sup>, Planta Clean, Ecolife<sup>®</sup> e óleo de nim tiveram um efeito antagônico a ação das toxinas dos cristais, com variação da mortalidade de *A. gemmatalis* de 12% a 18%, comparando-se à testemunha (0,0%). De acordo com o autor, alguns produtos (Biogermex, Calda Sulfocálcia, Ecolife<sup>®</sup>) também afetaram negativamente os esporos, reduzindo significativamente a formação de UFC/mL tanto na aplicação conjunta quanto na separada. Em contrapartida, os produtos Matam Plus, Supermagro, Pironin e Extrato de Crisântemo em conjunto com Btk-S1905 não afetaram negativamente a formação de UFC/mL, apresentando efeito aditivo à toxicidade das proteínas do cristal.

Vilani (2013), trabalhou com extratos vegetais aquosos de *Eugenia uniflora*, *Capsicum baccatum* var. *pendulum* Wild. (Solanaceae), *Brugmansia suaveolens* Willd. (Solanaceae) e *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) na concentração 5% associados a esporos e cristais de *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* (Btk) Berliner sobre lagartas de segundo ínstar de *A. gemmatalis*. Observou-se que nenhum dos extratos causou mortalidade ou afetou negativamente o empupamento, emergência e período ovo-adulto de *A. gemmatalis*. Porém, na associação de Btk e o extrato de pitanga, houve redução na mortalidade de *A. gemmatalis*, ao passo que para o extrato de pimenta observou-se o efeito contrário, aceleração da mortalidade.

Luchmann (2014) associando o óleo essencial de manjerona, *Origanum majorana* L. (Lamiaceae) em diferentes concentrações e Btk em concentração letal sobre parâmetros biológicos de *A. gemmatalis*, verificou que a associação não provocou efeito ovicida sobre o inseto e a mortalidade mínima foi de 40%. O óleo na CL<sub>50</sub>, associado à Btk CL<sub>40</sub> causou efeito inibitório sobre as toxinas do cristal de Btk e, na dose do óleo CL<sub>60</sub>, a fase larval foi prolongada, afetando o período de formação e emergência de pupas.

A associação de bactérias entomopatogênicas e plantas inseticidas para o controle de pragas é um método alternativo de controle de insetos-praga que vem sendo explorada em estudos. Dessa forma, pensando nas pragas avícolas, principalmente *A. diaperinus*, que é o alvo desse trabalho, são necessários mais estudos sobre a associação de agentes de controle e métodos de aplicação, em busca de resultados eficientes para o controle do mesmo, bem como estudos sobre a segurança das plantas (com atividade inseticida) sobre as aves. A alternativa de controle, associando-se agentes entomopatogênicos às plantas inseticidas, mostrando-se eficiente para o controle de *A. diaperinus*, torna a atividade avícola mais rentável e saudável, uma vez que não haverá

aplicação de inseticidas químicos sintéticos e perdas causadas por esse inseto, como por exemplo, os danos causados na infraestrutura em geral, e principalmente, carcaças de frangos livres de lesões causadas pelos insetos e de resíduos químicos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

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

#### 3.1 Obtenção de *Alphitobius diaperinus* e do óleo essencial de *Eugenia uniflora*

Os insetos adultos de *A. diaperinus* foram coletados em aviários com cama livre de inseticidas químicos sintéticos e em laboratório foram separados da cama suja e colocados em caixas plásticas com capacidade de 6 L, com tampa telada para oxigenação, contendo maravalha limpa, ração para frangos e pedaços de papelão corrugado, simulando o ambiente encontrado nos aviários, para que os adultos realizassem postura, para a posterior utilização das larvas nos experimentos (SALLET, 2013). Os insetos foram mantidos em laboratório, com sala climatizada ( $27 \pm 3^\circ\text{C}$  e Umidade Relativa (UR) de  $60 \pm 5\%$ ) para adaptação, por no mínimo sete dias, período suficiente para a postura dos ovos e emergência das larvas.

Para a realização dos experimentos, os adultos foram selecionados de tamanho similar, na coloração marrom-claro, sem a determinação do sexo e idade dos indivíduos, conforme metodologia adaptada (WOLF, 2013). Após a emergência das larvas, essas foram selecionadas com tamanho similar, de aproximadamente 4 mm, de segundo e terceiro ínstar e com idade média dos indivíduos de quatro dias, adaptado de Sallet (2013). O óleo essencial de *E. uniflora* foi fornecido pela empresa Garden City de São Paulo-SP, o qual foi extraído das folhas pelo método de arrasto de vapor.

### 3.2 Obtenção, multiplicação e quantificação de *Bacillus thuringiensis*

As linhagens BR 137, BR 140 e BR 146 de *B. thuringiensis* foram obtidas da coleção de entomopatógenos do laboratório de Genética e Taxonomia de Microrganismos da Universidade Estadual de Londrina – UEL. Essas linhagens foram previamente selecionadas com efeito inseticida para larvas da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae) em condições de laboratório, as quais causaram mortalidade acima de 96% em larvas de primeiro ínstar, conforme Zorzetti (2015).

As linhagens foram multiplicadas em meio de cultura sólido, ágar nutriente (13 g de extrato de carne, 20 g de ágar e 1 L de água destilada esterilizada). Para isso, a partir das amostras originais foram preparadas suspensões, raspando-se a massa bacteriana e suspendendo em 10 mL de água destilada esterilizada. A partir dessa suspensão, 100 µL das amostras foram espalhadas, com auxílio da alça de Drigalski, sobre a superfície do meio de cultura ágar nutriente, em placas de Petri. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante 96 horas, tempo necessário para o crescimento das colônias. Após o crescimento, com o auxílio de uma espátula, em câmara de fluxo laminar, as bactérias foram raspadas das placas, e acondicionadas em tubos Eppendorf com 10 mL de água destilada esterilizada e mantidas em freezer a  $-4^\circ\text{C}$  até a utilização nos experimentos.

Para a quantificação das linhagens de *B. thuringiensis* foi utilizado o método de diluição seriada. A partir da massa bacteriana estocada, para cada linhagem, com o auxílio de um micropipetador, uma amostra de 1 mL foi adicionada a um tubo de vidro com 10 mL de água destilada esterilizada (suspensão original) e agitado em agitador do tipo Vortex durante 30 segundos. A partir da suspensão original realizou-se a diluição seriada até  $10^{-11}$ . Em seguida, cada diluição foi novamente agitada por 30 segundos em agitador do tipo Vortex e inoculada, com o auxílio de um micropipetador, em 10 pontos de 5 µL/ponto em duas placas de Petri com meio de cultura ágar nutriente.

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 a temperatura de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , por 18 a 24h (ALVES; PEREIRA, 1998). Após tal período, quantificou-se o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) e determinou-se a concentração de  $3 \times 10^8$  UFC/mL

para a utilização nos bioensaios.

### 3.3 Avaliação de diferentes concentrações do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*

Para a avaliação do efeito inseticida do óleo essencial de *E. uniflora*, foi preparada uma solução de óleo a 10% e dessa concentração foram preparadas as concentrações dos bioensaios: 0% (água destilada esterilizada), 0,25%; 0,50%; 0,75%; 1,0%; 1,25% e 1,5%. Para ocorrer emulsificação do óleo foi misturado 10 µL do tenso ativo Tween<sup>®</sup> 80 (0,01%) em água. As referidas concentrações foram avaliadas sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*, visando determinar a concentração com efeito inseticida para matar 50% dos insetos e utilizar no experimento de associação. Para tal, 10 mL de cada concentração foi adicionada e misturada a 38 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito partes iguais (4,75 g) e distribuída em placas de Petri (150 mm x 20 mm), para adultos. Para larvas, 10 mL de cada concentração foi adicionada e misturada a 20 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito placas (2,5 g) e distribuída em placas de acrílico com 12 poços individualizados (0,2 g/poço). Como testemunha foi misturada à ração água destilada esterilizada, tanto para os bioensaios com larvas, bem como para os adultos. Cada placa, tanto para adultos como para larvas, foi considerada uma repetição e recebeu 12 larvas ou 12 adultos, totalizando 96 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 nove dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos, sendo que no primeiro dia avaliou-se nos tempos de 12 e 24 horas.

### 3.4 Avaliação de diferentes linhagens de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*

As linhagens utilizadas para os bioensaios, BR 137, BR 140 e BR 146 foram pré-selecionadas em testes sobre larvas de *H. hampei* com mortalidades acima de 95% por Zorzetti (2015).

Foram preparadas suspensões das linhagens BR 137, BR 140 e BR 146 de *B. thuringiensis*, na concentração  $3 \times 10^8$  esporos/mL (tratamentos). Um volume de 10 mL de cada suspensão foi adicionada e misturada a 38 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito partes iguais (4,75 g) e distribuída em placas de Petri (150 mm x 20 mm), para adultos. Para larvas, 10 mL de cada concentração foi adicionada e misturada a 20 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito placas (2,5 g) e distribuída em placas de acrílico com 12 poços individualizados (0,2 g/poço). Como testemunha foi misturada à ração água destilada esterilizada, tanto para os bioensaios com larvas, bem como para os adultos. Cada placa, tanto para adultos como para larvas, foi considerada uma repetição e recebeu 12 larvas ou 12 adultos, totalizando 96 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 nove dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos, sendo que no primeiro dia avaliou-se nos tempos de 12 e 24 horas.

### 3.5 Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*

Foram preparadas soluções das linhagens BR 137, BR 140 e BR 146 de *B. thuringiensis* na concentração  $3 \times 10^8$  esporos/mL (tratamentos), conforme descrito no item 3.4, utilizando-se como meio da diluição óleo essencial de pitanga (Bt+OE) à 1%, em um volume de 10 mL. O volume de 10 mL das soluções de Bt+OE foram

adicionadas e misturadas a 38 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito partes iguais (4,75 g) e distribuída em placas de Petri (150 mm x 20 mm), para adultos. Para larvas, 10 mL de cada concentração foi adicionada e misturada a 20 g de ração comercial para frangos, previamente esterilizada. Após a preparação da mistura, esta foi dividida em oito placas (2,5 g) e distribuída em placas de acrílico com 12 poços individualizados (0,2 g/poço). Como testemunha foi misturada à ração água destilada esterilizada, tanto para os bioensaios com larvas, bem como para os adultos. Cada placa, tanto para adultos como para larvas, foi considerada uma repetição e recebeu 12 larvas ou 12 adultos, totalizando 96 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 nove dias, quantificando-se o número de indivíduos mortos, sendo que no primeiro dia avaliou-se nos tempos de 12 e 24 horas.

### 3.6 Análise Estatística

Em todos os experimentos, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk utilizando-se o programa Assistat 7.7 Beta<sup>®</sup> e, quando necessário, transformados em Arcoseno (Asen (Raiz (x/100))). Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), pelo teste de Kruskal Wallis, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Assistat 7.7 Beta<sup>®</sup> (SILVA, 2014).

Para as percentagens de mortalidade de larvas e adultos de *A. diaperinus* submetidos ao óleo essencial de *E. uniflora* em diferentes concentrações e às diferentes linhagens de *B. thuringiensis*, foi determinada a eficiência das concentrações pela fórmula de Schneider-Orelli (1947):

$$\text{MC}\% = \left( \frac{\text{Mortal.}(\%) \text{ em T} - \text{Mortal.}(\%) \text{ em C}}{100 - \text{Mortal.}(\%) \text{ em C}} \right) * 100,$$

onde: MC(%) = mortalidade corrigida; C = mortalidade da testemunha e T = mortalidade nas concentrações. Para esse cálculo, foi utilizado como mortalidade no controle o maior valor entre as mortalidades constatada no grupo controle.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação de diferentes concentrações do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*

Para larvas, verificou-se que o óleo essencial de *E. uniflora*, na concentração de 0,75% causou mortalidade acumulada de 70,83%, com eficiência inseticida de 56,25%, diferindo significativamente da testemunha, (33,33%), porém sem diferir das demais concentrações (Tabela 1). Ao analisar os percentuais de mortalidade larval dentro dos tempos, verificou-se que as diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*, não causaram mortalidade significativa, comparando-se à testemunha.

Quando comparada a mortalidade larval entre os tempos, pode-se observar que no período de 168-216 horas, todas as concentrações apresentaram diferenças significativas quando comparadas aos tempos anteriores, com exceção da concentração 0,25%, que causou maior mortalidade no tempo de 96-144 horas (Tabela 1).

Nos testes com adultos de *A. diaperinus*, verificou-se que o óleo essencial de *E. uniflora* não provocou efeito inseticida significativo em nenhuma das concentrações avaliadas, pois tanto a mortalidade observada dentro dos tempos, quanto a mortalidade acumulada, não diferiram significativamente da testemunha, conseqüentemente, não apresentando eficiência inseticida sobre adultos (Tabela 1).

O óleo essencial de *E. uniflora*, à 1% causou mortalidade de 20, 83% no tempo de 168-216 horas, diferindo dos demais intervalos de tempo avaliados. No entanto, é importante ressaltar que essa maior tendência de mortalidade observada no tempo de 168-216 também foi observada em todos os demais tratamentos, incluindo a testemunha, uma vez que os insetos estando mais velhos, podem estar sujeitos à maior mortalidade. As concentrações de 0,25% e 1,25% não apresentaram diferenças significativas quando comparadas entre os tempos de 0-72h, 96-144h e 168-216h (Tabela 1).

**Tabela 1:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada, de larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*, causada por diferentes concentrações do óleo essencial de *Eugenia uniflora*.

Mortalidade de larvas (%)						
Tratamento	0-72h	96-144h	168-216h	p	Acumulada	Eficiência (%)*
Água	1,04 $\pm$ 0,97 aB	7,29 $\pm$ 1,76 aB	25,00 $\pm$ 3,60 aA	<0,05	33,33 $\pm$ 2,94 b	---
<i>E. uniflora</i> 0,25%	3,12 $\pm$ 2,05 aB	14,58 $\pm$ 4,35 aA	4,66 $\pm$ 4,65 aB	<0,05	59,37 $\pm$ 4,52 ab	39,06
<i>E. uniflora</i> 0,50%	0,00 $\pm$ 0,00 aB	10,41 $\pm$ 1,94 aAB	31,25 $\pm$ 6,02 aA	<0,05	41,66 $\pm$ 6,25 ab	12,5
<i>E. uniflora</i> 0,75%	7,29 $\pm$ 4,01 aB	21,87 $\pm$ 2,54 aAB	41,66 $\pm$ 3,60 aA	<0,05	70,83 $\pm$ 7,21 a	56,25
<i>E. uniflora</i> 1,0%	1,04 $\pm$ 0,97 aB	15,62 $\pm$ 3,10 aAB	33,33 $\pm$ 4,16 aA	<0,05	50,00 $\pm$ 5,31 ab	25,00
<i>E. uniflora</i> 1,25%	3,12 $\pm$ 1,42 aB	13,54 $\pm$ 3,27 aB	39,58 $\pm$ 3,82 aA	<0,05	56,00 $\pm$ 6,37 ab	34,37
<i>E. uniflora</i> 1,50%	7,29 $\pm$ 2,73 aB	20,83 $\pm$ 4,41 aAB	32,29 $\pm$ 4,98 aA	<0,05	60,41 $\pm$ 5,04 ab	40,62
p	>0,05	>0,05	>0,05		<0,05	
Mortalidade de adultos (%)						
Tratamento	0-72h	96-144h	168-216h	p	Acumulada	Eficiência(%)*
Água	0,00 $\pm$ 0,00 aB	15,62 $\pm$ 4,27 aA	16,66 $\pm$ 3,60 aA	<0,05	32,29 $\pm$ 4,52 a	---
<i>E. uniflora</i> 0,25%	4,16 $\pm$ 1,47 aA	6,25 $\pm$ 2,44 aA	12,05 $\pm$ 3,29 aA	>0,05	22,91 $\pm$ 4,83 a	-13,84
<i>E. uniflora</i> 0,50%	4,16 $\pm$ 1,47 aB	14,58 $\pm$ 1,94 aA	16,66 $\pm$ 5,89 aA	<0,05	35,41 $\pm$ 6,71 a	4,62
<i>E. uniflora</i> 0,75%	4,16 $\pm$ 1,47 aB	11,45 $\pm$ 3,58 aAB	19,79 $\pm$ 4,15 aA	<0,05	35,41 $\pm$ 4,10 a	4,62
<i>E. uniflora</i> 1,0%	4,16 $\pm$ 2,08 aB	7,29 $\pm$ 2,29 aB	20,83 $\pm$ 2,08 aA	<0,05	32,29 $\pm$ 3,10 a	0
<i>E. uniflora</i> 1,25%	4,16 $\pm$ 2,08 aA	12,05 $\pm$ 3,29 aA	17,70 $\pm$ 4,27 aA	>0,05	34,37 $\pm$ 6,49 a	3,07
<i>E. uniflora</i> 1,50%	4,16 $\pm$ 2,08 aB	18,75 $\pm$ 4,10 aA	16,66 $\pm$ 3,89 aA	<0,05	39,58 $\pm$ 5,04 a	10,76
p	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	

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).

\*Mortalidade corrigida determinada pela fórmula de Schneider-Orelli (1947), na qual:  $MC\% = \left( \frac{Mortal.(%)em T - Mortal.(%)em C}{100 - Mortal.(%)em C} \right) * 100$ , onde: MC(%) = mortalidade corrigida; C = mortalidade da testemunha e T = mortalidade nas concentrações. Para esse cálculo, foi utilizado como mortalidade no controle o maior valor entre as mortalidades constatada no grupo controle.

A mortalidade causada pelo óleo de pitanga deve-se aos compostos presentes em sua constituição. De acordo com Brun & Mossi (2010), no óleo de pitanga, entre os terpenoides, há predominância dos sesquiterpenos Curzereno, Germacrona, Atractilona e Selina- 1, 3,7(11)-trien-8-ona. Segundo Veigas Junior (2003), os sesquiterpenos agem nos insetos de forma a inibir o crescimento na fase larval, são supressores de apetite e tóxicos, sendo que os insetos, ao ingerir, paralisam a alimentação e acabam morrendo lentamente.

Prado (2007), em avaliação do óleo essencial de *C. angustifolia*, aplicado sobre larvas e adultos de *A. diaperinus*, nas concentrações de 1%, 5% e 10%, verificou mortalidade nas primeiras 24 horas. As concentrações de 5% e 10% causaram 100% de mortalidade para os adultos em menos de uma hora após a aplicação. Já para as larvas de último ínstar, no mesmo período, obteve 83%, 98% e 100%, respectivamente, para as concentrações supracitadas. Segundo o autor, esses resultados se devem a alta toxicidade da *C. angustifolia* devido aos terpenos presentes no óleo essencial, principalmente a pulegona. Segundo Corrêa & Salgado (2011), a explicação para resultados obtidos de mortalidade por aplicação é de que algumas substâncias podem atuar por contato, ou seja, são absorvidas pela quitina do exoesqueleto ou vias respiratórias, apresentando uma ação fumigante.

Marcomini et al. (2009) testaram, por contato, sobre adultos de *A. diaperinus*, 23 extratos de plantas e o óleo essencial de nim nas concentrações de 0,1%, 1%, 5% e 10%. Apenas cinco tratamentos causaram mortalidade em percentuais que diferenciaram significativamente da testemunha, sendo que o óleo essencial de nim causou o maior percentual de mortalidade, 97,5%, após 168 h.

O resultado obtido com adultos, neste trabalho, na concentração de 1% do óleo essencial de *E. uniflora*, o qual provocou mortalidade significativa a partir de 168 horas após a ingestão, possivelmente se deve à variação dos tipos de substâncias presentes no óleo essencial e a forma de aplicação. Nesse caso, o óleo essencial misturado à ração deixou o alimento impróprio para a alimentação, fazendo que os insetos demorassem mais para ingerir e/ou ingerindo em menor quantidade. Quando situações como essa são observadas, Costa et al. (2004), recomenda que sejam utilizadas maiores concentrações do produto a base de plantas, a fim de inibir a alimentação dos insetos ou prejudica-los após a ingestão.

Visando analisar os constituintes voláteis da *C. angustifolia*, Savaris et al. (2012) constataram, como constituinte majoritário (56,1%), a substância pulegona,

monoterpeno responsável pela inibição da acetilcolinesterase nos insetos. Os autores verificaram ainda que o óleo essencial provocou eficiência de 100% na mortalidade da fase adulta do caruncho-do-feijão, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) nas diferentes doses utilizadas (0.001, 0.002, 0.004 e 0.008 mL cm<sup>-2</sup>), 24 horas após a exposição aos insetos, corroborando com os dados de *A. diaperinus* relatado por Prado (2007).

Szolyga et al (2014) avaliaram os óleos essenciais de *Thuja occidentalis* L. (Cupressaceae) e *Tanacetum vulgare* L. (Asteraceae) e seus compostos principais sobre larvas de *A. diaperinus* por ingestão, na concentração de 10 mg/mL<sup>-1</sup>, sobre duas idades diferentes (10 e 20 dias). Os autores verificaram que tanto os óleos essenciais como os compostos testados separadamente apresentaram atividade inseticida, variando conforme a idade das larvas. As larvas mais jovens apresentaram maior suscetibilidade nos testes, apresentando menor ganho de peso e maior mortalidade. Já as larvas com 20 dias de idade apresentaram crescimento e desenvolvimento semelhantes ao grupo controle.

A fim de verificar a atividade inseticida do óleo essencial das plantas *Citrus limonum* Burman (Rutaceae), *Litsea cubeba* Lour (Lauraceae), *Cinnamomum cassia* Presl (Lauraceae) e *Allium sativum* L. (Asparagales: Alliaceae), Wang et al. (2014) testaram por contato, sobre larvas e adultos de *A. diaperinus* as concentrações de 0, 5, 10, 20, 40, 80, e 160 µg/cm<sup>2</sup>. Nas concentrações avaliadas, apenas os óleos de *A. sativum* e *L. cubeba* apresentaram efeito inseticida sobre larvas de *A. diaperinus*, no período de 48 horas, causando mortalidades de 76,7% e 64,4%, respectivamente. Para os adultos, a mortalidade não diferiu significativamente da testemunha. Essa diferença de mortalidade observada entre larvas e adultos é semelhante à observada neste trabalho, uma vez que o óleo essencial de *E. uniflora* causou mortalidade significativa para as larvas, variando conforme a concentração utilizada e para os adultos, não houve mortalidade significativa.

O óleo essencial das plantas com potencial inseticida tem mostrado resultados variáveis, com percentual de mortalidade dos insetos variável conforme a concentração utilizada. Marques et al. (2013) avaliaram diferentes concentrações (0%, 1%, 3%, 5%, 7% e 9%) dos óleos de nim e citronela (0%, 5%, 10%, 15% e 20%) sobre adultos de *A. diaperinus* e, observaram variação no percentual de mortalidade dos insetos. Conforme o aumento da concentração utilizada dos óleos, o percentual de mortalidade também aumentou, de 17% a 59% para o óleo de nim e de 55% a 81%, para o óleo de citronela.

O ciclo médio de vida de *A. diaperinus* é de cinco a oito semanas, mas pode durar até 400 dias, quando as condições não são ideais para desenvolvimento, pois podem hibernar e deixar de se alimentar por vários dias (SILVA et al., 2005; JAPP; BICHO; SILVA, 2010). Tal fato pode justificar os baixos percentuais de mortalidade observados para adultos, uma vez que a ração misturada com o óleo pode não ter sido ingerida pelos insetos. Já as larvas, que apresentaram percentuais significativos de mortalidade acumulada, pode ser explicado pelo fato de que as larvas se alimentam mais do que os adultos, e que devido a exposição aos tratamentos, mesmo comendo menos, as mesmas não deixaram de se alimentar.

Vale também ressaltar que essa variação encontrada nos resultados com óleos essenciais de plantas sobre *A. diaperinus* pode estar relacionada com os compostos que estão presentes em cada planta. As plantas com efeito inseticida possuem no seu metabolismo secundário, compostos que são determinados por fatores genéticos. No entanto esses compostos podem ainda sofrer variação pelo clima, sazonalidade, altitude, temperatura e disponibilidade hídrica (LOPES, 2008), podendo alterar as concentrações de cada substância.

Dessa maneira, considerando os fatores que limitam o controle de *A. diaperinus* e as estratégias de controle, o óleo essencial de *E. uniflora* pode ser uma alternativa viável. Contudo, estudos mais aprofundados são necessários visando identificar qual o período de desenvolvimento do inseto é mais suscetível ao óleo, formas de aplicação do óleo, bem como estudos de campo.

#### 4.2 Avaliação de diferentes linhagens de *Bacillus thuringiensis* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*

Verificou-se, para larvas, que as linhagens de *B. thuringiensis*, BR 137, BR 140 e BR 146 causaram mortalidade acumulada, respectivamente de 38,54%, 48,95% e 51,04%, diferindo da testemunha (5,20%), sendo verificada a eficiência de mortalidade de 48,35% para a linhagem BR 146 (Tabela 2).

Ao analisar os percentuais de mortalidade larval dentro dos tempos, observou-se que, no tempo 0-72 horas, a linhagem BR 140 causou 10,41% de mortalidade, diferindo

da testemunha (1,04%). Para o período de 96-144 horas, as linhagens BR 140 e BR 146 causaram mortalidade de 12,50% e 13,54%, respectivamente, diferenciando-se da testemunha (1,04%) e para o último intervalo de tempo (168-216 h), todas as linhagens causaram mortalidade significativa, entre 25% e 34%, comparando-se à testemunha, 3,12% (Tabela 2). Quando comparada a mortalidade entre os tempos, observou-se que no período de 168-216 horas, somente a linhagem BR 137 apresentou maior diferença significativa quando comparada aos tempos anteriores (Tabela 2).

Nos testes com adultos de *A. diaperinus*, considerando-se a mortalidade acumulada, verificou-se que as diferentes linhagens de *B. thuringiensis* não causaram efeito inseticida sobre *A. diaperinus*. O mesmo efeito foi observado ao analisar os percentuais de mortalidade dentro dos tempos e entre os tempos (Tabela 2).

**Tabela 2:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade, ao longo do tempo e acumulada, de larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus* causada por diferentes linhagens de *Bacillus thuringiensis*.

Mortalidade de larvas (%)						
Tratamento	0-72h	96-144h	168-216h	p	Acumulada	Eficiência (%)*
Testemunha	1,04 $\pm$ 0,97 bA	1,04 $\pm$ 0,97 bA	3,12 $\pm$ 1,42 bA	>0,05	5,20 $\pm$ 2,05 b	---
BR 137	1,04 $\pm$ 0,97 bB	4,16 $\pm$ 2,08 abB	33,33 $\pm$ 5,10 aA	<0,05	38,54 $\pm$ 3,27 a	35,16
BR140	10,41 $\pm$ 1,94 aB	12,50 $\pm$ 4,16aAB	26,04 $\pm$ 3,73 aA	<0,05	48,95 $\pm$ 6,94 a	46,15
BR146	6,25 $\pm$ 3,21 abB	13,54 $\pm$ 3,58 aAB	31,25 $\pm$ 3,21 aA	<0,05	51,04 $\pm$ 5,78 a	48,35
p	<0,05	<0,05	>0,05		<0,05	
Mortalidade de adultos (%)						
Tratamento	0-72h	96-144h	168-216h	p	Acumulada	Eficiência (%)*
Testemunha	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	4,16 $\pm$ 1,47 aA	<0,05	4,16 $\pm$ 1,47 a	---
BR 137	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	3,12 $\pm$ 1,42 aA	>0,05	3,12 $\pm$ 1,42 a	-1,08
BR140	2,08 $\pm$ 1,27 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	2,08 $\pm$ 1,27 aA	>0,05	4,16 $\pm$ 1,47 a	0
BR146	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	4,16 $\pm$ 2,08 aA	>0,05	4,16 $\pm$ 2,08 a	0
p	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05	

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).

\*Mortalidade corrigida determinada pela fórmula de Schneider-Orelli (1947), na qual:  $MC\% = \left( \frac{Mortal.(%)em T - Mortal.(%)em C}{100 - Mortal.(%)em C} \right) * 100$ , onde: MC(%) = mortalidade corrigida; C = mortalidade da testemunha e T = mortalidade nas concentrações. Para esse cálculo, foi utilizado como mortalidade no controle o maior valor entre as mortalidades constatada no grupo controle.

Os efeitos de *B. thuringiensis* sobre os insetos varia conforme a linhagem da bactéria e concentração utilizada, bem como de acordo com o inseto-praga, sendo que geralmente os coleópteros são mais resistentes a ação da bactéria. No intuito de identificar estirpes com potencial inseticida para a ordem Coleoptera, Sone et al. (2003) testaram 97 estirpes de *B. thuringiensis* contra larvas de *Anthonomus grandis* Boh (Coleoptera: Curculionidae) e verificaram que 26 estirpes apresentaram eficiência com mortalidade superior à 50% dos insetos.

Também em trabalho de seleção de linhagens de *B. thuringiensis* sobre diferentes ordens de insetos, Praça et al. (2004) avaliaram 300 linhagens de *B. thuringiensis*, visando selecionar linhagens efetivas contra larvas de insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. Os autores puderam observar que em relação ao coleóptero *A. grandis*, duas estirpes (S234 e S997) se mostraram mais efetivas, as quais apresentaram toxicidade também contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae).

Como já é sabido, *B. thuringiensis* é uma bactéria capaz de produzir toxinas a diferentes ordens de insetos. Barreto (2005) reuniu 188 amostras de solo, das quais 341 amostras de *B. thuringiensis* foram identificadas. Os isolados foram testados sobre os insetos da ordem Lepidoptera e sobre o bicudo-da-soja, *Sternechus subsignatus* Boh (Coleoptera: Curculionidae), coró-da-soja, *Phyllophaga cuyabana* Moser (Coleoptera: Melolonthidae), vaquinha, *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae) e cascudinho do aviário, *A. diaperinus*. Nesse caso, os isolados apresentaram efeito inseticida somente sobre os lepidópteros e para os coleópteros não apresentaram toxicidade, evidenciando a maior resistência de coleópteros à toxicidade de *B. thuringiensis*.

Bergamasco (2009) avaliou sete isolados de *B. thuringiensis* sobre larvas de *S. frugiperda* e *A. grandis*. Foram também utilizadas duas linhagens padrão, efetivas a ordem Lepidoptera (*B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) HD1 e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Bta) HD137) e uma linhagem padrão para o controle da ordem Coleoptera (*B. thuringiensis* var. *tenebrionis* (Btt)). Como resultado, o autor obteve respostas positivas para esses testes, pois todos os isolados foram patogênicos para *S. frugiperda* e *A. grandis*. Para *A. grandis*, quatro dos isolados não diferenciaram do controle positivo Btt, apresentando os maiores percentuais de mortalidade, variando de 83% a 93%.

Segundo Monnerat et al. (2012) um isolado brasileiro de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), a qual é uma subespécie tóxica para a ordem Diptera,

provocou toxicidade também para larvas do bicudo-do-algodoeiro, *A. grandis*, em um nível equivalente ao do padrão para coleópteros (Btt). A toxicidade da estirpe S1804 contra o bicudo-do-algodoeiro foi determinada e comparada com a toxicidade de estirpes padrão: Bti T14001 (CL<sub>50</sub> de 0,74mg/mL, tóxico para Diptera) e Btt T08017 (CL<sub>50</sub> de 0,32mg/mL, tóxico para Coleoptera). Os resultados da estirpe S1804 apresentaram similaridade à estirpe padrão, na qual a CL<sub>50</sub> foi de 0,30mg/mL, mostrando-se equivalente a subespécie *tenebrionis*, que é específico para o controle da ordem COLEOPTERA (MONNERAT et al., 2012). Dessa maneira os autores concluem que as proteínas Bt são altamente específicas: matam apenas alguns grupos de insetos, o que ainda requer uma investigação mais aprofundada.

Pares et al. (2008), a fim de verificar a atividade inseticida de *B. thuringiensis* sobre larvas de *A. diaperinus*, incorporou na dieta 44 diferentes linhagens. Os resultados foram insignificantes para todas as linhagens avaliadas, sendo que o isolado BR 44 provocou a maior mortalidade de 11,7% apenas.

Sallet (2013), testando 187 estirpes nativas sobre larvas de *A. diaperinus*, verificou que apenas três (S907, S1122, S1806) provocaram os maiores percentuais de mortalidade, 30%, 50% e 60%, respectivamente, sendo que a estirpe S1806 que se destacou, trata-se da estirpe *B. thuringiensis israelensis* com atividade já descrita para dípteros e coleópteros.

Dessa maneira, Zorzetti (2015) trabalhou com 34 isolados que apontaram atividade tóxica para as ordens Diptera e Coleoptera, sobre larvas de *H. hampei*. Dos 34 isolados avaliados, 11 mostraram-se eficientes, causando mortalidade de *H. hampei* acima de 96%. O autor forneceu via alimentação 50 µL da mistura de esporos e cristais e após cinco dias fez a avaliação de mortalidade. Apenas três linhagens causaram 100% de mortalidade e as linhagens utilizadas nesse trabalho em questão (BR 137, BR 140, BR 146) que também foram utilizadas pelo autor, ficaram entre os 11 isolados efetivos, apresentando mortalidade de 98,75%, 98,80% e 97,50%, respectivamente.

O trabalho em questão e o trabalho de Zorzetti (2015), verificando o potencial inseticida das mesmas linhagens, sobre diferentes insetos da mesma ordem, apresentaram resultados diferentes quanto às percentagens de mortalidade. Os valores encontrados por Zorzetti (2015) para as linhagens BR 137, BR 140, BR 146 foram acima de 95% de mortalidade para larvas de *H. hampei*. Para larvas de *A. diaperinus*, a maior porcentagem de mortalidade observada foi de 51%. Comparando-se esses resultados, pode-se perceber que, apesar de causar mortalidade significativa para larvas

de *A. diaperinus*, esse inseto-praga apresenta resistência à atividade inseticida das linhagens de *B. thuringiensis* utilizadas. Para adultos, essa resistência é verificada facilmente nesse trabalho, quando de maneira geral, a maior porcentagem de mortalidade verificada foi de apenas 4,16%, reforçando que a ação de *B. thuringiensis* sobre os insetos varia conforme a linhagem da bactéria e concentração utilizada.

De maneira geral, os estudos abordados sobre a utilização *B. thuringiensis* para o controle de *A. diaperinus* trazem valores semelhantes aos obtidos para larvas neste trabalho. No entanto, são necessários mais estudos com essas linhagens, a fim de verificar diferentes concentrações que apresentem eficiência inseticida sobre diferentes idades das larvas, uma vez que não existem relatos da toxicidade de *B. thuringiensis* sobre os adultos. Encontrando resultados satisfatórios, o uso de *B. thuringiensis* para o controle dessa praga pode tornar-se cada vez mais eficiente e, conseqüentemente, diminuindo o impacto de resíduos no ambiente, diminuindo os riscos de contaminação química dos produtores que realizam os manejos da cama aviária. Pesquisas que apresentem resultados satisfatórios e a seletividade às aves quanto ao *B. thuringiensis* podem viabilizar a produção avícola, com menores custos de mão de obra para manejo de cama, intervalos entre lote e produtos com boa qualidade final.

#### 4.3 Associação do óleo essencial de *Eugenia uniflora* e *Bacillus thuringiensis* sobre larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus*

Para os testes de associação, a concentração utilizada do óleo essencial de *E. uniflora* foi de 1%, a qual causou 50% de mortalidade acumulada para larvas de *A. diaperinus*. Como as três linhagens de *B. thuringiensis* (BR137, BR140 E BR146) não diferiram quanto ao efeito inseticida sobre larvas de *A. diaperinus*, as três foram associadas ao óleo de *E. uniflora*.

Nos testes com larvas de *A. diaperinus*, verificou-se que a associação do óleo essencial de *E. uniflora* com as diferentes linhagens de *B. thuringiensis*, BR 137, BR 140 e BR 146, causou mortalidade acumulada, respectivamente de 80,55%, 62,50% e 81,94%, diferindo significativamente da testemunha (15,27%). De maneira geral, a associação do óleo essencial *E. uniflora* com as linhagens de *B. thuringiensis*, causou

mortalidade superiores quando comparados aos resultados obtidos com o óleo essencial (Tabela 1) e com as linhagens (Tabela 2), aplicados individualmente (Tabela 3).

Ao verificar os percentuais de mortalidade larval dentro dos tempos, observou-se que, no tempo 0-72 horas, nenhum dos tratamentos apresentou percentuais significativos de mortalidade, quando comparados à testemunha. Para o período de 96-144 horas, a associação do óleo essencial com a linhagem BR 137 e com a linhagem BR 146 apresentou mortalidade significativa de 43,05% e 34,72%, respectivamente, quando comparada à testemunha (5,55%). Já o período de 168-216 horas, o maior percentual de mortalidade foi verificado para o óleo essencial de pitanga (56,94%), o qual não diferiu da associação do óleo essencial com as linhagens BR 140 e BR 146, com mortalidades significativas de 45,83% e 44,44%, respectivamente (Tabela 3).

Comparando-se os percentuais de mortalidade larval entre os tempos, verifica-se que o comportamento dos modos de ação tanto do óleo, quanto das linhagens bacterianas e associação foram semelhantes, com os maiores percentuais de mortalidade no período de 168-216h, exceto para a BR 140+óleo, no qual o maior percentual de mortalidade foi verificado no tempo 168-216, diferindo dos demais tempos (Tabela3).

Nos testes com adultos, tanto na mortalidade acumulada, quanto nos intervalos dentro e entre os tempos, não observou-se efeito inseticida significativo em nenhum dos tratamentos avaliados (Tabela 4).

**Tabela 3:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada de larvas de *Alphitobius diaperinus* submetidos ao óleo de *E. uniflora* à 1%, *Bacillus thuringiensis* e a associação destes.

Mortalidade de larvas (%)						
Tratamento	0-72h	96-144h	168-216h	p	Acumulado	Eficiência (%)*
Testemunha	1,38 $\pm$ 1,09 aA	5,55 $\pm$ 2,77 bA	8,33 $\pm$ 2,40 bA	>0,05	15,27 $\pm$ 3,57 c	---
<i>E. Uniflora</i> 1%	0,00 $\pm$ 0,00 aB	12,50 $\pm$ 2,25 abAB	56,94 $\pm$ 6,45 aA	<0,05	69,44 $\pm$ 5,55 ab	63,93
BR 137	0,00 $\pm$ 0,00 aB	4,16 $\pm$ 2,25 bAB	11,11 $\pm$ 3,67 bA	<0,05	15,27 $\pm$ 3,14 c	0
BR 137+ <i>E. Uniflora</i> 1%	1,38 $\pm$ 1,09 aB	43,05 $\pm$ 6,45 aA	36,11 $\pm$ 4,04 abA	<0,05	80,55 $\pm$ 6,05 a	77,04
p	>0,05	<0,05	<0,05		<0,05	
Testemunha	1,38 $\pm$ 1,09abA	5,55 $\pm$ 2,77 aA	8,33 $\pm$ 2,40 bA	>0,05	15,27 $\pm$ 3,57 b	---
<i>E. Uniflora</i> 1%	0,00 $\pm$ 0,00 bB	12,50 $\pm$ 2,25 aAB	56,94 $\pm$ 6,45 aA	<0,05	69,44 $\pm$ 5,55 a	63,93
BR 140	1,38 $\pm$ 1,09 abB	9,72 $\pm$ 3,14 aAB	37,50 $\pm$ 5,57 abA	<0,05	48,61 $\pm$ 5,49 ab	39,34
BR 140+ <i>E. Uniflora</i> 1%	8,33 $\pm$ 2,40 aB	8,33 $\pm$ 3,40 aB	45,83 $\pm$ 4,07 aA	<0,05	62,50 $\pm$ 3,70 a	55,74
p	<0,05	>0,05	<0,05		<0,05	
Testemunha	1,38 $\pm$ 1,09 aA	5,55 $\pm$ 2,77 bA	8,33 $\pm$ 2,40 bA	>0,05	15,27 $\pm$ 3,57 b	---
<i>E. Uniflora</i> 1%	0,00 $\pm$ 0,00 aB	12,50 $\pm$ 2,25 abAB	56,94 $\pm$ 6,45 aA	<0,05	69,44 $\pm$ 5,55 ab	63,93
BR 146	2,77 $\pm$ 1,38 aB	25,00 $\pm$ 6,58 abAB	45,83 $\pm$ 8,79 abA	<0,05	73,61 $\pm$ 6,67 a	68,85
BR 146+ <i>E. Uniflora</i> 1%	2,77 $\pm$ 1,38 aB	34,72 $\pm$ 6,89 aA	44,44 $\pm$ 6,05 aA	<0,05	81,94 $\pm$ 4,63 a	78,68
p	>0,05	<0,05	<0,05		<0,05	

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).

\*Mortalidade corrigida determinada pela fórmula de Schneider-Orelli (1947), na qual:  $MC\% = \left( \frac{Mortal.(%)em T - Mortal.(%)em C}{100 - Mortal.(%)em C} \right) * 100$ , onde: MC(%) = mortalidade corrigida; C = mortalidade da testemunha e T = mortalidade nas concentrações. Para esse cálculo, foi utilizado como mortalidade no controle o maior valor entre as mortalidades constatada no grupo controle.

**Tabela 4:** Percentual médio ( $\pm$  EP) da mortalidade ao longo do tempo e acumulada de adultos de *Alphitobius diaperinus* submetidos ao óleo de *E. uniflora* à 1%, *Bacillus thuringiensis* e a associação destes.

Tratamento	Mortalidade de adultos (%)				Acumulada	Eficiência (%)*
	0-72h	96-144h	168-216h	p		
Água	0,00 $\pm$ 0,00 bA	1,38 $\pm$ 1,09 aA	2,77 $\pm$ 1,38 aA	>0,05	4,16 $\pm$ 1,47 a	---
<i>E. Uniflora</i> 1%	1,38 $\pm$ 1,09 abA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	4,16 $\pm$ 2,25 aA	>0,05	5,55 $\pm$ 2,19 a	1,45
BR 137	0,00 $\pm$ 0,00 bB	2,77 $\pm$ 1,38 aAB	6,94 $\pm$ 2,04 aA	<0,05	9,72 $\pm$ 2,02 a	5,80
BR 137+ <i>E. Uniflora</i> 1%	5,55 $\pm$ 1,38 aA	2,77 $\pm$ 1,38 aA	2,77 $\pm$ 2,19 aA	>0,05	11,11 $\pm$ 2,77a	7,25
p	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
Água	0,00 $\pm$ 0,00 aA	1,38 $\pm$ 1,09 aA	2,77 $\pm$ 1,38 aA	>0,05	4,16 $\pm$ 1,47 a	---
<i>E. Uniflora</i> 1%	1,38 $\pm$ 1,09 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	4,16 $\pm$ 2,25 aA	>0,05	5,55 $\pm$ 2,19 a	1,45
BR 140	0,00 $\pm$ 0,00 aA	2,77 $\pm$ 1,38a aA	1,38 $\pm$ 1,09 aA	>0,05	4,16 $\pm$ 1,47 a	0
BR 140+ <i>E. Uniflora</i> 1%	1,38 $\pm$ 1,09 aA	6,94 $\pm$ 2,64 aA	5,55 $\pm$ 2,19 aA	>0,05	13,88 $\pm$ 4,39a	10,14
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
Água	0,00 $\pm$ 0,00 aA	1,38 $\pm$ 1,09 aA	2,77 $\pm$ 1,38 aA	>0,05	4,16 $\pm$ 1,47 a	---
<i>E. Uniflora</i> 1%	1,38 $\pm$ 1,09 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	4,16 $\pm$ 2,25 aA	>0,05	5,55 $\pm$ 2,19 a	1,45
BR 146	1,38 $\pm$ 1,09 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	4,16 $\pm$ 2,25 aA	>0,05	5,55 $\pm$ 2,77 a	1,45
BR 146+ <i>E. Uniflora</i> 1%	2,77 $\pm$ 1,38 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	>0,05	2,77 $\pm$ 1,38 a	-1,45
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	

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).

\*Mortalidade corrigida determinada pela fórmula de Schneider-Orelli (1947), na qual:  $MC\% = \left( \frac{Mortal.(%)em T - Mortal.(%)em C}{100 - Mortal.(%)em C} \right) * 100$ , onde: MC(%) = mortalidade corrigida; C = mortalidade da testemunha e T = mortalidade nas concentrações. Para esse cálculo, foi utilizado como mortalidade no controle o maior valor entre as mortalidades constatada no grupo controle.

De maneira geral, na associação do óleo de *E. uniflora* com *B. thuringiensis*, sobre larvas de *A. diaperinus*, os agentes de controle não interferiram negativamente um sobre o outro, pois a mortalidade acumulada no tratamento de associação não diferiu dos percentuais de mortalidade observados para o óleo e linhagens da bactéria, individualmente.

Diversos estudos sobre a associação de óleos essenciais e *B. thuringiensis* têm sido desenvolvidos visando estabelecer estratégias de controle que sejam eficientes para o controle de diversas espécies de insetos. Em sua maioria, esses trabalhos são realizados para lepidópteros, carecendo informações desse gênero para outras espécies de insetos. Na literatura não são encontrados, para coleópteros, trabalhos que explorem a associação de métodos alternativos de controle, como *B. thuringiensis* e óleos essenciais de plantas.

Em estudo, avaliando-se a interação de *B. thuringiensis* var *aizawai* (Bta), com óleos essenciais de *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) e *Cymbopogon citratus* Stapf (Poaceae), constatou-se que Bta, *Z. officinale* e *C. citratus* causaram, respectivamente, mortalidade de 60%, 75% e 86%, sobre lagartas de *S. frugiperda*. Já na associação de Bta + *C. citratus* e de Bta + *Z. officinale*, as mortalidades causadas foram de 57% e 89% respectivamente. Essas interações mostram que Bta e óleo de *Z. officinale* possuem efeito sinérgico, enquanto que no tratamento Bta + *C. citratus*, a interação foi negativa (KNAAK; ANDREIS; FIUZA, 2008).

Knaak et al. (2010) avaliaram a histopatologia de *S. frugiperda* após ingestão de óleos essenciais de *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae), *Z. officinale*, *C. citratus*, *Malva sylvestris* L. (Malvaceae), *Baccharis genistelloides* Lam. (Asteraceae) e *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) e a associação dos mesmos com *B. thuringiensis* subespécie *aizawai*. Quando analisado o intestino médio dos insetos, os efeitos histopatológicos que *Z. officinale*, *R. graveolens* e *B. genistelloides* foram mais intensos quando comparados aos demais. Os óleos de *Z. officinale*, *R. graveolens* e *B. genistelloides* também apresentaram uma interação positiva com Bta, acelerando o processo de destruição das células intestinais, reduzindo o tempo letal da espécie alvo *S. frugiperda*. Em estudo semelhante, Knaak et al. (2011) também verificaram interação sinérgica entre Bta e os óleos essenciais de *R. graveolens* e *Mentha* sp., demonstrando que esses óleos estimularam a ação do entomopatógeno.

Cruz (2012) associou óleos essenciais de *Piper longum* (Piperaceae) e *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae), em diferentes concentrações, com Bta, e avaliou os

parâmetros biológicos, imunológicos, reprodutivos e impacto na fertilidade das lagartas de *S. frugiperda*. De acordo com o autor, o óleo de *P. longum* + Bta, reduziu a sobrevivência larval e, *S. aromaticum* + Bta, não causou efeito significativo na sobrevivência larval. Ambos os óleos, associados ou não, causaram interferência negativa na biologia dos insetos, afetando a reprodução e viabilidade dos ovos.

Torres et al. (2014), avaliaram a eficiência dos óleos essenciais de *A. indica*, *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) e *Carapa guianensis* (Meliaceae) associados a *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), sobre larvas de *Aedes aegypti*. A mortalidade verificada para o tratamento com Bti foi de 100% para as larvas. Quando associado Bti com os óleos, as mortalidades foram reduzidas, sendo estas, respectivamente de 65,0%, 50,0% e 78,0%.

Ao associar entomopatógenos com óleo essencial de plantas com potencial inseticida, o controle de pragas pode ser mais eficiente, uma vez que são dois agentes distintos agindo sobre o mesmo organismo-alvo. Dessa maneira, acredita-se que se um dos agentes causarem um estado de estresse sobre a praga, esta estará sujeita a doenças, fazendo com que esteja mais suscetível as toxinas de Bt, por exemplo, permitindo ação mais rápida do agente, e conseqüentemente, aumentando os índices de mortalidade (SAITO; LUCHINI, 1998).

Embora os resultados obtidos neste trabalho não tenham evidenciado diferenças significativas no percentual de mortalidade larval de *A. diaperinus* entre a associação do óleo essencial de *E. uniflora* e *B. thuringiensis* e os tratamentos isoladamente, é importante salientar que na associação da bactéria e o óleo, um agente não interferiu negativamente sobre o outro. Dessa forma, quando se trabalha com possíveis alternativas de controle de pragas, objetiva-se buscar o controle e a redução do desenvolvimento ou do crescimento populacional da praga, quer seja na fase larval ou adulta, por efeitos fisiológicos, alterações no comportamento sexual ou outros fatores correlacionados.

Uma vez que a associação do óleo essencial de *E. uniflora* com *B. thuringiensis* não tenham diferido significativamente sobre os insetos de *A. diaperinus*, principalmente sobre insetos na fase adulta, a integração dos métodos de controle pode ser aplicada de forma alternada com inseticidas químicos sintéticos. Integrando os métodos de controle para *A. diaperinus*, o controle biológico poderia ser utilizado para diminuir a proliferação dos insetos na fase larval e o controle químico, para a fase adulta, reduzindo assim a aplicação de inseticidas químicos sintéticos.

Nos aviários, durante o alojamento das aves, os insetos normalmente estão localizados nas áreas onde se encontram os comedouros, devido a disponibilidade de alimentação. Uma possibilidade de manejo para o controle desta praga seria a utilização de óleo essencial de *E. uniflora* + *B. thuringiensis*, nas áreas com maior concentração de insetos, como por exemplo, em baixo dos comedouros. Dessa forma, como os agentes são menos tóxicos às aves, o controle dos insetos poderia ser feito durante o próprio alojamento das mesmas, diminuindo assim as aplicações químicas nos períodos entre lotes. No entanto, para que tal possibilidade seja válida, são necessários estudos, principalmente a campo, para verificar a eficiência desses agentes e ainda, estudos sobre os efeitos desses quando ingeridos pelas aves, uma vez que, na literatura não há registros específicos sobre a segurança dos mesmos.

Também é necessário desenvolver estudos com possíveis formas de aplicação desses agentes. Uma das possibilidades que deve ser estudada como alternativa é a utilização do óleo essencial sobre a cama, pulverizando a mesma, e também, como forma de complementar essa estratégia, adicionar *B. thuringiensis* na ração ou até mesmo abaixo dos comedouros, onde há maior concentração de insetos. Essas alternativas poderiam ser utilizadas simultaneamente, uma vez que, conforme resultados obtidos nesse trabalho, um agente não iria interferir sobre o outro.

A associação de óleos essenciais com maior efeito inseticida às linhagens mais virulentas de *B. thuringiensis* pode ser vantajosa, pois de acordo com Gill (1995), o intestino dos insetos desempenha importante papel de escoamento de toxinas do organismo. Essa habilidade pode ser afetada pelas toxinas de *B. thuringiensis*, afetando a capacidade do inseto em metabolizar as mesmas, tornando-os suscetíveis a esses agentes de controle.

Vale ressaltar que os resultados aqui obtidos foram observados de forma significativa na fase larval. Para a fase adulta é preciso que mais estudos sejam desenvolvidos a fim de obter mais informações sobre a eficiência de agentes entomopatogênicos, dos óleos essenciais e da associação dos mesmos, para que seja possível eliminar, se não toda, mas grande parte dos insetos, pois é nessa fase que ocorre a postura e início de novas gerações. Por fim, há necessidade de pesquisas com linhagens de *B. thuringiensis* que apresentem maior virulência sobre os insetos-praga, bem como o estudo sobre plantas que apresentem maior potencial inseticida para que essas alternativas tragam maiores possibilidades de controle para *A. diaperinus*.

## 5. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Eugenia uniflora* causou efeito inseticida somente sobre larvas de *A. diaperinus*, com maior mortalidade observada na concentração 0,75%.

As três linhagens de *Bacillus thuringiensis* na concentração  $3 \times 10^8$  esporos/mL foram patogênicas somente para larvas de *A. diaperinus*.

Na associação das linhagens de *B. thuringiensis* e o óleo essencial de *E. uniflora*, os agentes não interferiram negativamente um sobre o outro, elevando as porcentagens de mortalidade observadas, evidenciando a possibilidade de utilização de tal associação.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. Avicultura, p.23, São Paulo, 2015.

ALEXANDRE, T. M.; ALVES, L. F. A.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. Efeito da Temperatura e Cama do Aviário na Virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) para o Controle do Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p. 075 – 082, 2006.

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, 2005.

ALVES, L. F. A.; ALVES, V. M.; OLIVEIRA, D. G. P.; NEVES, P. M. O. J. Controle Biológico Do Cascudinho dos Aviários (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptero: Tenebrionidae) em Aviários de Frango de Corte: Situação Atual E Perspectivas. **12º SICONBIOL, Simpósio de Controle Biológico**, São Paulo, 2011.

ALVES, S. B. Patologia e controle microbiano: Vantagens e desvantagens. In: ALVES S.B. (Ed.), **Controle microbiano de insetos**. 2ª ed. Piracicaba: FEALQ, p.383-427,1998.

ALVES, S. B.; PEREIRA, R. M. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatógenos. Cap. 2, v. 4, p. 39-52. In: **Controle Microbiano de Insetos**. FEALQ, Piracicaba, SP, 1998.

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

AVILA, V. S.; KUNZ, A.; BELLAVER, C.; PAIVA, D. P.; JAENISCH, F. R. F.; MAZZUCO, H.; TREVISOL, I. M.; PALHARES, J. C. P.; ABREU, P. G.; ROSA, P. S. Boas práticas de produção de frangos de corte. Concórdia, 2007. (Circular Técnica n.51). 2007.

AZEVEDO, A. I. B.; LIRA A. S.; CUNHA, L. C.; ALMEIDA, F. A. C.; ALMEIDA, R. P. Bioatividade do óleo de nim sobre *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.14, n.3, p.309–313, 2010.

BALBINOTTE, J. Desenvolvimento de sistemas de aquisição de *Bacillus thuringiensis* por *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) para estudos de patogenicidade. 2012. 18 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós Graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba, 2012.

BARBOSA, L. R.; QUEIROZ, D. L.; REIS FILHO, W. Pragas de importância econômica. **Embrapa Florestas**, v.4, n.2, 2012.

BARRETO, M. R. **Prospecção e caracterização de genes de *Bacillus thuringiensis* com potencial para o controle de insetos-praga da cultura da soja**. 2005. 105p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

BERGAMASCO, V. B. **Identificação de genes *cry1* em isolados de *Bacillus thuringiensis* e expressão do gene *cryIIa* em *Escherichia coli* visando o controle de pragas da cultura algodoeira**. 2009. 58f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP, 2009.

BERLITZ, D. L.; AZAMBUJA, A. O.; LUCHO, A. P. R.; KNAAK, N.; SCHÜNEMANN, R.; OLIVEIRA, J. V.; FIUZA, L. M. Toxicologia de *Bacillus thuringiensis* às pragas agrícolas. **Biociência**, n. 38, 2010.

BERLITZ, D. L.; FIUZA, L. M. *Bacillus thuringiensis* e *Melia azedarach*. **Biociência**, v. 8, n. 35, p. 66-72, 2005.

BIERMANN, A. C. S. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera:Pieridae)**. 2009. 73p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2009.

BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 843-850, 2003.

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

BRAVO, A.; SOBERON, M. How to cope with insect resistance to Bt toxins. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n.10, p. 573-579, 2008.

BRUN, G. R.; MOSSI, A. J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Perspectiva**, v.34, n.127, p. 135-142, Erechim, 2010.

CAMPANINI, E. B.; DAVOLOS, C. C.; ALVES, E. C. C.; LEMOS, M. V. F. Caracterização de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* para o controle de importantes insetos-praga da agricultura. **Bragantia**, v. 71, n. 3, p.362-369, 2012.

CHERNAKI, A. M.; ALMEIDA, L. M. Exigências Térmicas, Período de Desenvolvimento e Sobrevivência de Imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.3, p.365-368, Curitiba, 2001.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. et al. Controle do cascudinho. **Avicultura Industrial**, São Paulo, n. 1094, p. 22-25, 2001.

CHERNAKI-LEFFER, A. M.; SOSA-GOMEZ, D. R.; ALMEIDA, L. M. de. Suscetibilidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) a Reguladores de Crescimento de Insetos (RCI). **Arquivo do Instituto Biológico**, v.73, n.1, p.51-55, São Paulo, 2006.

CHERNAKI-LEFFER, A.M. Dinâmica populacional, estimativa da resistência a inseticidas e suscetibilidade do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) a inseticidas reguladores de crescimento e a fungos entomopatogênicos. 2004. 62 p. Tese (Doutorado) UFPR - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

CHERNALI-LEFFER, A. M.; BIESDORF, S. M.; ALMEIDA, L. M.; LEFFER, E. V. B.; VIGNE, F. Isolamento de Enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na Cama de Aviários no Oeste do Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 243-247, Campinas, 2002.

COITINHO, R. L. B. C.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C. A. G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência Agrotécnica**, v. 35, n. 1, p. 172-178, Lavras, 2011.

CORRÊA, J.C.R.; SALGADO, H.R.N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p. 500-506, Botucatu, 2011.

COSME, L. V.; CARVALHO, G. A.; MOURA, A. P. Efeitos de inseticidas botânicos e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 3, p. 251-258, 2007.

COSTA, D. P. Influência do biótipo de cor do fruto e da sazonalidade no óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora*. 2009. 78f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P. da.; FIUZA, L. M. Efeitos, Aplicações e Limitações de Extratos de Plantas Inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.

COSTA, O. S. Agricultura e sustentabilidade: problemas e alternativas. 2009. 34f. Dissertação (Mestrado em Manejo Integrado de Pragas), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; FEITELSON, J.; SCHNEPF, E.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; DEAN, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature, 2014. Disponível em: <[http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)>. Acesso em: 03 abr. 2016.

CRUZ, G. S. Efeitos subletais de óleos essenciais associados com *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidade).

2012. 81f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola), Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Suínos e Aves. A Avicultura no Brasil. Concórdia: EMBRAPA, 2013. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/cias/index.php?option=com\\_content&view=article&id=13&Itemid=15](http://www.cnpsa.embrapa.br/cias/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=15)>. Acesso em: 09 set. 2015.

ESQUIVEL, J. F.; CRIPPEN, T. L.; WARD, L. A. Improved Visualization of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Part I: Morphological Features for Sex Determination of Multiple Stadia. **Hindawi Publishing Corporation**, p. 1-7, 2012.

ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217-222, Brasília, 2006.

FIUZA, L. M. Mecanismos de ação de *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, n.38, p.32-36, 2010.

GAZONI, F.L.; FLORES, F.; BAMPI, R. A.; SILVEIRA, F.; BOUFLEUR, R. LOVATO, M. Avaliação da Resistência do Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) a Diferentes Temperaturas. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.79, n.1, p.69-74, São Paulo, 2012.

GILL, S. S. Mechanism of Action of *Bacillus thuringiensis* Toxins. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n.1, p. 69-74, 1995.

GIOLO, R.; SENÔ, K. C. A.; FREITAS, A. L.; COSTA, B. O. G.; PELOSI NETTO, F. J. Extrato aquoso de *Azadirachta indica* A. Juss no controle de *Alphitobius diaperinus* Panzer. **Nucleus**, v.10, n.2, 2013.

GONÇALVES, L. Fatos históricos do controle biológico. **Floresta e Ambiente**, Ano 3, p. 96-101, 1996.

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

HASSEMER, M. J.; SANT'ANA, J.; LAUMANN, R.; BORGES, M.; BLASSIOLI-MORAES, M.C. Semioquímicos: uma alternativa viável para o controle de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários comerciais. In: XXV Congresso Brasileiro de Entomologia, Goiânia, GO, 14-18 set, 2014.

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

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.51, n.1, p.45-66, 2006.

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.

JUNG, P. H.; SILVEIRA, A. C.; NIERI, E. M.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L.; REFATTI, M. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, v.20, n. 2, p.191-196, 2013.

JÚNIOR, I. D.; PAULI, G.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Cenário e perspectivas do mercado brasileiro de produtos microbianos para o controle de pragas. **13º Siconbiol, Simpósio de Controle Biológico**, Bonito, MS, 2013.

KNAAK, N.; ANDREIS, T. F.; FIUZA, L. M. Interações de óleos essenciais e *Bacillus thuringiensis* no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **XXII Congresso Brasileiro de Entomologia**, Uberlândia, MG, 2008.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, n.2, p. 120-132, 2010.

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). **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 83-89, 2010.

KNAAK, N.; WIEST, S. L. F.; ANDREIS, T. F.; OLIVEIRA, J. V.; FIUZA, L. M. Interações dos óleos essenciais com *Bacillus thuringiensis aizawai*, no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Embrapa**, p. 714-717, 2011.

LIMA, G. M. S. Proteínas Bioinseticidas Produzidas por *Bacillus thuringiensis*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**. Recife, vol. 7, p.119-137, 2010.

LOPES, M.M. Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk) G. M. Barroso & Sobral (Myrtaceae). 60 f. 2008. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, MG, 2008.

LUCHMANN, J. A. Potencial inseticida de extratos vegetais aquosos e o efeito da interação entre *Bacillus thuringiensis* Subesp *kurstaki* e o óleo essencial de *Origanum majorana* sobre *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebinæ). 2014. 74 p. Dissertação (Mestrado) UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, Pato Branco, 2014.

LUCHO, Andresa P. R.; BERLITZ, Diouneia L.; COSTA, Emerson L. N.; FIUZA, Lidia M. Toxicidade de *Bacillus thuringiensis* em Organismos não-alvo. **Biociência & Desenvolvimento**, n.38, p. 54-57, 2010.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Governo prioriza uso e registro de produtos biológicos. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/produtos-biologicos/2014>>. Acesso em: 15 de jun de 2016.

MARCOMINI, A. M.; ALVES, L. F. A.; BONINI, A. K.; MERTZ, N. R.; SANTOS, J. C. dos. Atividade Inseticida de Extratos Vegetais e do Óleo de Nim sobre Adultos de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera, Tenebrionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.3, p.409-416, 2009.

MARQUES, C. R. G.; MIKAMI, A. Y.; PISSINATI, A.; PIVA, L. B.; SANTOS, O. J. A. P.; VENTURA, M. U. Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) por óleos de nim e citronela. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2565-2574, 2013.

MEDEIROS, C. A. M.; JUNIOR, A. L. B.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da Traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 227-232, Campinas, 2005.

MELO, B. A. Associação de defensivos natural e sintético à polímero para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) em sementes de amendoim. 2013. 66 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Campina Grande, UFCG. Campina Grande, 2013.

MENEZES, E. L. A. Inseticidas Botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, 2005.

MONNERAT, R.; MARTINS, E.; PRAÇA, L. B.; DUMAS, V.; BERRY, C. Activity of a Brazilian Strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* Against the Cotton Boll Weevil *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, n.41, p. 62-67, Brasília, 2012.

MORAIS, L. M. F.; CONCEIÇÃO, G. M.; NASCIMENTO, J. M. Família Myrtaceae: análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer, v.1, n.01; p. 317-346, 2014.

OLIVEIRA, D. S. Interação medicamentosa: Parte II. **Caderno de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 97-110, 1986.

OUROFINO, Programa de Manejo Integrado para o Controle de Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) em aviários. Ribeirão Preto, 2011.

PARES, R. B.; UEMURA-LIMA, D. H.; ALVES, L. F. A.; NEVES, P.M.O.J. Avaliação de isolados de *Bacillus thuringiensis* para o controle do cascudinho de aviários (*Alphitobius diaperinus*). XXII Congresso Brasileiro De Entomologia, Uberlândia, MG, 2008.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. 2002. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. p. 125- 142. In: PARRA, J. R. P.;

BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.), Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. Editora Manole, São Paulo. 609p.

PAULIQUEVIS, C. F.; FAVERO, S. Atividade insetistática de óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* sobre *Sitophilus zeamais*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.12, p.1192-1196, Campina Grande, PB, 2015.

PEGORINI, C. S.; GOUVÊA, 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, 2009.

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. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.81, n.4, p.329-334, 2014.

PINTO JUNIOR, A. R.; CARVALHO, R. I. N.; NETTO, S. P.; WEBER, S. H.; SOUZA, E.; FURIATTI, R. S. Bioatividade de óleos essenciais de sassafrás e eucalipto em cascudinho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 637-643, Santa Maria, 2010.

PINTO, L. M. N.; FIUZA, L. M. Distribuição de genes *cry* de *Bacillus thuringiensis* isolados de solos do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 4, Santa Maria, 2003.

PINTO, L.M.N.; AZAMBUJA, A.O.; OLIVEIRA, J.V.; MENEZES, V.G.; FIUZA L.M. Toxicidade de isolados de *Bacillus thuringiensis* pré-selecionados por PCR, contra *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae). In: III Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado e XXV Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, Camboriú, SC, 2003.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. 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 Lepidóptera, Coleóptera e Díptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.1, p.11-16, 2004.

PRADO, G. P. Caracterização química e bioatividade do óleo essencial de *Cunila angustifolia* Benth (Lamiaceae) sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). 2007. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) Universidade Comunitária Regional de Chapecó, 2007.

PRADO, G. P.; STEFANI, L. M.; SILVA, A. S.; SMANIOTTO, L. F.; GARCIA, F. R. M.; MOURA, N. F. suscetibilidade do óleo essencial de *Cunila angustifolia* sobre *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 5, p. 1040-1045, 2013.

RABINOVITCH, L.; SILVA, C. M. B.; ALVES, R. S. A. Controle Biológico de vetores de doenças tropicais utilizando *Bacillus* entomopatogênicos. In: MELO, I. S.;

AZEVEDO, J. L. Controle Biológico, Embrapa Meio Ambiente, v. 2, p. 17-85, Jaguariúna, SP, 2000.

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

RIBEIRO, L.M. Revisão Bibliográfica: Controle biológico de pragas por meio de *Beauveria bassiana*. 2011. 18f. Monografia (Grau de Licenciado) Universidade de Brasília e Universidade Estadual de Goiás, Brasília, 2011.

RODRIGUEIRO, T. S. C.; GINARTE, C. M. A.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; GOULART, R. M.; GIOMETTI, F. H. C. Eficiência de *Heterorhabditis indica* IBCB-N05 (Rhabditida: Heterorhabditidae) no controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) sob comedouros de granja avícola. *Arq. Inst. Biol.*, v.75, n.3, p.279-284, São Paulo, 2008.

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

SAITO, M.L.; LUCCHINI, F. Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente. EMBRAPA, v. 12, p. 46, 1998.

SALLET, L. A. P. Seleção de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). 2013. 109 p. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular. Brasília, 2013.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; ALEXANDRE, T. M.; GAVAGUCHI, S. A.; ALVES, L. F. A. *Carcinops troglodytes* (Erichson) (Coleoptera: Histeridae) Predando Larvas de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em Aviários. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 5, p. 831-832, 2010.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; AMARO, J. T.; CONSTANSKI, K.; LÓPEZ, E. A. L.; ALVES, L. F. A. Associação de pós inertes com fungo entomopatogênico para o controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*). **Ciência Rural**, Santa Maria, 2010.

SANTOS, J. C.; ALVES, L. F. A.; OPAZO, M. A. U.; MERTZ, N. R.; MARCOMINI, A.M.; OLIVEIRA, D. G. P.; BONINI, A.K. Eficiência da Aplicação de Inseticida Químico no Solo para o Controle de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviário de Frango de Corte. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.3, p.417-425, 2009.

SANTOS, O. O.; MELO, E. A. S. F.; ROCHA, R. B.; OLIVEIRA, R. A.; BITTENCOURT, M. A. L. Atividade inseticida de produtos de origem vegetal sobre moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e broca-rajada (Coleoptera: Curculionidae). **Magistra**, v. 24, número especial, p. 26-31, 2012.

SANTOS, P. L.; PRANDO, M. B.; MORANDO, R.; PEREIRA, G. V. N.; KRONKA, A. Z. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17, p. 2562-2576, 2013.

SAVARIS, M.; LAMPERT, S.; GARCIA, F. R. M.; SABEDOT-BORDIN, S. M.; MOURA, N. F. Atividade inseticida de *Cunila angustifolia* sobre adultos de *Acanthoscelides obtectus* em laboratório. **Ciência e Tecnologia**, v. 5, n. 1, p. 1-5, 2012.

SCHNEIDER-ORELLI, O. **Entomologisches praktikum**. Aarau: Sauerlander, 1947. 149p.

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

SILVA, A. S.; VOLPATO, A.; BARETTA, D.; GLOMBOWSKY, P. Efeito inseticida e larvicida de óleos essenciais sobre cascudinho da cama dos aviários (*Alphitobius diaperinus*). **25º Seminário de Iniciação Científica**, UDESC, Santa Catarina, 2015.

SILVA, E. R. L. Efeito de produtos alternativos sobre *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki* e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). 2010. 118 p. Dissertação (Mestrado) UEL – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

SILVA, F. **Assistat 7.7. Software Estatístico**. A. S. Campina Grande. Paraíba. 2014.  
SINDIAVIPAR. Sindicato das Indústrias de Produtos Avícolas do Estado do Paraná. Líder mundial em exportação da carne de frango, Brasil embarca o produto para mais de 150 países. Curitiba, 2015. Disponível em: <<http://www.sindiavipar.com.br/index.php?modulo=5&acao=detalhe&cod=166325>>. Acesso em: 09 set. 2015.

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**, n. 97, p. 351-357, 2007.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. *Myrtaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 01 Fev. 2016.

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). In: VIII talento estudantil, p.125, 2003.

STEFFENS, C.; AZAMBUJA, A. O.; PINTO, L. M. N.; OLIVEIRA, J. V.; MENEZES, V. G.; FIUZA, L. M. Patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* às larvas de *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae) In: II Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado e XXIV Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, Porto Alegre, RS, 2000.

SZOLYGA, B.; GENILKA, R.; SZCZEPANIK, M.; SZUMNY, A. Chemical composition and insecticidal activity of *Thuja occidentalis* and *Tanacetum vulgare* essential oils against larvae of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 151, n. 1, p. 1-10, 2014.

TORRES, A. F.; LASMAR, O.; CARVALHO, G. A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; ZANETTI, R.; OLIVEIRA, D. Atividade inseticida de extratos de plantas no controle de formiga cortadeira, em cafeeiro. **Coffee Science**, v. 8, n. 3, p. 371-378, 2014.

TURNER E.C., Structural and litter pests. **Poultry Science**, n. 65, p. 644-648, 1986.

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. A saga da Avicultura Brasileira, p.120, São Paulo, 2011.

UBABEF. União Brasileira de Avicultura. Revista Avicultura Brasil, nº.1, 2012. São Paulo: UBABEF, 2012. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/files/publicacoes/938d713b69d9f25901b1d810f038272b.pdf>>. Acesso em: 08 set. 2015.

VEIGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VILANI, A. Atividade de produtos fitossanitários naturais sobre *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *Bacillus thuringiensis* subesp. *Kurstaki* e seletividade de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). 2013. 85 p. Dissertação (Mestrado) UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco, Pato Branco, 2013.

WANG, X.; LI, Q.; SHEN, L.; YANG, J.; CHENG, H.; JIANG, S.; JIANG, C.; WANG, H. Fumigant, contact, and repellent activities of essential oils against the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 75, p.1-11, 2014.

WEATHERSBEE, A. A.; TANG, Y. Q.; DOOSTDAR, H.; MAYER, R. T. Susceptibility of *Diapredes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) to a Commercial Preparation of *Bacillus thuringiensis* Subsp. *Tenebrionis*. **Florida Entomologist**, v.85, n.2, p.330-335, Fort Pierce, 2002.

WOLF, J. Associação de métodos físicos e químicos visando controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). 2013. 120 p. Dissertação (Mestrado) UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Dois Vizinhos, 2013.

WOLF, J.; GOUVEA, A.; SILVA, E. R. L.; POTRICH, M.; APPEL, A. Métodos físicos e cal hidratada para manejo do cascudinho dos aviários. **Ciência Rural**, v.44, n.1, Santa Maria, 2014.

ZORZETTI, J. Seleção e caracterização morfológica e molecular de isolados de *Bacillus thuringiensis* virulentos a *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera:

Curculionidae: Scolytinae). 2015. 97f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Estadual de Londrina, 2015.