

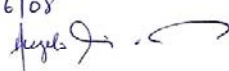
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

TATYANA SACCHI CARMONA RODRIGUEIRO

"Distribuição espacial, bioensaios com nematóides entomopatogênicos e inseticidas em população de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), de aviário de corte do Estado de São Paulo: subsídios para programas de manejo integrado e controle biológico"

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) TATYANA SACCHI CARMONA
RODRIGUEIRO
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Tese apresentada ao Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas, SP, para obtenção do título de Doutor em Parasitologia.

27/06/08


Orientador: Prof. Dr. Angelo Pires do Prado

Campinas, SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

R618d	Rodrigueiro, Tatyana Sacchi Carmona Distribuição espacial, bioensaios com nematóides entomopatogênicos e inseticidas em população de <i>Alphitobius diaperinus</i> (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), de aviário de corte do Estado de São Paulo: subsídios para programas de manejo integrado e controle biológico / Tatyana Sacchi Carmona Rodrigueiro. – Campinas, SP: [s.n.], 2008. Orientador: Angelo Pires do Prado. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 1. Frango de corte. 2. Controle biológico. 3. Nematóides de inseto. 4. Inseticidas. I. Prado, Angelo Pires do. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.
--------------	---

Título em inglês: Spatial distribution, entomopathogenic nematodes and insecticide bioassays on *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), from poultry farm of State of São Paulo: subsidies for integrated pest management and biological control programs.

Palavras-chave em inglês: Poultry; Biological control; Entomopathogenic nematodes; Insecticides.

Área de concentração: Parasitologia.

Titulação: Doutora em Parasitologia.

Banca examinadora: Angelo Pires do Prado, Arício Xavier Linhares, Edna Clara Tucci, Luís Garrigós Leite, Newton Goulart Madeira.

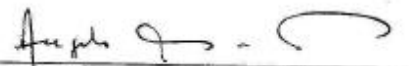
Data da defesa: 27/06/2008.

Programa de Pós-Graduação: Parasitologia.

BANCA EXAMINADORA

Campinas, 27 de junho de 2008.

Prof. Dr. Angelo Pires do Prado (Orientador)


(Assinatura)

Prof. Dr. Arício Xavier Linhares


(Assinatura)

Profa. Dra. Edna Clara Tucci


(Assinatura)

Prof. Dr. Luís Garrigós Leite


(Assinatura)

Prof. Dr. Newton Goulart Madeira


(Assinatura)

Prof. Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade

(Assinatura)

Prof. Dr. Valmir Antonio Costa

(Assinatura)

Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta

(Assinatura)

“Ele é como a árvore plantada
na margem das águas correntes:
dá fruto na época própria,
sua folhagem não murchará jamais.
Tudo o que empreende, prosperará”.

Ó Deus, como são insondáveis para mim vossos desígnios!
Ainda que eu atravessasse o vale escuro, nada temerei, pois estais comigo.
O Senhor é minha força, meu rochedo, minha fortaleza, meu libertador.
Restaura as forças de minha alma.
Pelos caminhos retos Ele me leva, por amor ao seu nome. A vossa misericórdia
hão de seguir-me por todos os dias da minha vida.
Senhor, meu Deus, eu vos bendirei eternamente”.

Salmos 1, 17, 22, 29 e 138.

Presidente Prudente, 03 de junho de 2003.

"Legatus"

(O Legado)

Talvez os meus conselhos nem entendas
Em face ao mundo frio e indiferente,
Porém, reflete-os - pura e simplesmente
Ainda que não trilhes minhas sendas.

Observa que, nas mentes mais colendas
No próprio lampejar que vem da mente,
Teu pai, doutrina como bom docente
Mil preleções que tiram tuas vendas

Do meu legado a ti, querida filha,
Minh'alma nesta vida apenas brilha
Desde o momento em que minh'alma abriste,

Que meu comportamento não preciso,
Jamais empane o brilho do teu riso,
Mesmo enxergando o meu semblante triste.

Saíde Carmona Rodrigues
(1941-2007)

"Eu levo o seu coração comigo (eu o levo no meu coração), eu nunca estou sem ele..." E. E. Cummings (1958)

Meus pais, **Saíde e Neusa**, que sempre priorizaram minha educação, com muito amor, determinação e humildade. Aprendi que as maiores riquezas são o conhecimento e a integridade em nossas atitudes.

Ao meu **PAI**, cuja lembrança sempre será uma benção... Agradeço-lhe pelos melhores conselhos e por suas sábias palavras, agora, guardados em meu coração... Por definir com plenitude a palavra VERDADE desde a minha infância. Por sua coragem, força e serenidade...

À minha querida **MÃE**, a melhor amiga e eterna vencedora... A minha admiração e amor por tudo que faz por mim. Você é meu exemplo de perseverança e sinceridade.

Ao lado de **Ariel** há um passado, presente e futuro. Com você divido meus sonhos, minhas dores, minha VIDA...

Dedico este trabalho a vocês...

Por estarem ao meu lado, por acreditarem na importância de minhas conquistas profissionais, pela paciência e amor incondicional.



Por Fernando Gonzalez, extraído de Níquel Náusea (www.niquel.com.br).

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Angelo Pires do Prado**, que não só acompanha nosso desenvolvimento profissional, mas observa com respeito os rumos de nossas vidas pessoais. Agradeço por compartilhar seu conhecimento, não só científico, mas de VIDA... Muito obrigada pelos anos de convivência e exemplo à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Arício Xavier Linhares pelos conselhos, incentivo, oportunidades de trabalho, pela atenção nas análises estatísticas, exames de qualificação, pré-banca e defesa.

Aos docentes que participaram da pré-banca e defesa: Dra. Edna C. Tucci e Dr. Luís G. Leite, pelas sugestões e críticas que se somaram a este trabalho e ao meu conhecimento. Ao Prof. Dr. Newton G. Madeira, pela disponibilidade e contribuições durante a defesa.

Aos professores do Depto. de Parasitologia, pelos ensinamentos... À querida Prof. Dra. Marlene T. Ueta por sua coerência, ensinamentos e amizade que marcaram minha formação na Parasitologia. À Prof. Dra. Eliana M. Z. Magalhães, pela oportunidade de trabalho durante o PED e, por sua compreensão num momento tão difícil...

Ao Prof. Dr. Carlos Fernando S. Andrade pelas oportunidades, sugestões, incentivo profissional (“sem poesia...”) e a sua estagiária María Gutierrez na parceria com o trabalho desenvolvido com *Btt*.

À família Gamburgo, pelo carinho, hospitalidade, incentivo e compreensão nos momentos de ausência... À querida Lílían, por sua amizade e carinho...

As minhas queridas amigas Carmen M. G. Ambrós e à sua mãe María Caridad pelo carinho, companheirismo e incentivo em TODOS os momentos, que se tornaram tão únicos... Por compartilharem comigo sua alegria, família, cultura e paixão pela vida.

Aos amigos Edson Adriano, Ângela Mingozi, Pedro Strikis, Marisa Monteiro, Ângela Justus, Márcia Mendes, Alcione Vendramin e Débora Serrano (*in memoriam*). Guardo em meu coração os “altos papos.”..

Aos colegas da Protozoologia, Helminologia e Entomologia (L2B) pela convivência no departamento e por deixarem os congressos tão divertidos. Muito obrigada ao pessoal do L2B pelo

espaço no freezer e muito mais!!! Ao amigo Rubens Madi, pela paciência durante o PED, projeto de qualificação e sufocos com o foto-microscópio...

Aos que tornam a prática da Parasitologia possível e criativa, os queridos Ivo e João, meu respeito ao conhecimento e dedicação de vocês ao curso, à universidade... À Marina, Nilson e à secretaria do Depto. de Parasitologia pela agradável convivência.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia (L2A), em especial para Rita Polezzi e Fernanda Capuvilla, pela grande força na manutenção da minha criação nos meus períodos de ausência e ao David Villas-Boas em meu projeto de qualificação.

À amiga “ibirciana” Thelma H. Inazaki (ANVISA-Brasília) por enviar a legislação atualizada sobre organismos entomopatogênicos.

À Andréia C. M. Leffer e ao Odair Francisco pela paciência e pelas dicas na criação de *A. diaperinus* no início do meu projeto.

A todos pesquisadores, alunos e funcionários, do Laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental do Instituto Biológico, em Campinas. Ao Dr. Luís Garrigós Leite pela oportunidade de trabalho e incentivo nos experimentos com nematóides entomopatogênicos. Aos biólogos Roberto Goulart e Fernando Tavares pela manutenção do banco de nematóides; às amigas Inajá Wenzel e Érica Cintra pela amizade que tornaram a minha passagem pelo laboratório tão especial. Ao Dr. Valmir A. Costa por sua amizade, simpatia, por compartilhar suas alegrias pessoais e aventuras fotográficas!

À UNESP – São José de Rio Preto, minha eterna gratidão aos docentes do curso de Ciências Biológicas por serem os responsáveis pela minha iniciação profissional. Aos meus amigos de graduação, em especial Gisele, Carla, Alessandro, Gustavo, Patrícia (Paty Branca), “Dona” Odete e família que me fizeram tão feliz e agora, nos breves encontros.

Aos motoristas e aos funcionários do setor de Transportes da DGA/UNICAMP pela disponibilidade e boas conversas durante as coletas no período de 2005 a 2006. Aos funcionários da Biblioteca do IB/UNICAMP pela atenção, simpatia no atendimento e auxílio nas pesquisas bibliográficas todos estes anos.

Aos proprietários da Granja Cláudia, em Louveira, SP, por permitirem o desenvolvimento deste trabalho em seus estabelecimentos e aos funcionários Sinésio da Silva e Sandra Z. da Silva pela ajuda durante as coletas.

A Dra Elzbieta Pezowicz (Warsaw Agricultural University, Polônia) pela gentileza de ter enviado seus trabalhos sobre controle biológico com nematóides entomopatogênicos em *A. diaperinus*.

A Coordenação do curso de Pós-Graduação em Parasitologia, CAPES e ao projeto PIPE/FAPESP (Processo nº03/02137-1) pelos auxílios financeiros concedidos para realização de todas as etapas deste trabalho.

Ao Hospital do Câncer e a Santa Casa de Misericórdia de Presidente Prudente, SP, seus médicos, equipe de enfermagem e aos voluntários, pelo empenho aos pacientes e familiares...

ÍNDICE

RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências Bibliográficas	7
OBJETIVOS	13
CAPÍTULO I. Efeitos de nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae em larvas e adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)	14
Resumo	14
1. Introdução	15
2. Material e Métodos	18
2.1. Coleta e criação de <i>Alphitobius diaperinus</i> em laboratório	18
2.2. Produção “ <i>in vivo</i> ”, “ <i>in vitro</i> ” e formulação “pó-molhável” de nematóides entomopatogênicos	19
2.3. Avaliação do efeito de nematóides entomopatogênicos em larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> em laboratório	19
2.4. Aplicação do isolado <i>H. indica</i> em meio de criação contra larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i>	20
2.5. Aplicações de <i>H. indica</i> pela formulação “pó-molhável” em larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> em aviário de corte	21
2.6. Análises Estatísticas	24
3. Resultados	25
3.1. Patogenicidade de 3 espécies de nematóides entomopatogênicos em larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i>	25
3.2. Comparação dos bioensaios com aplicações do isolado <i>H. indica</i> em meio de criação e em papel-filtro contra larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i>	32
3.3. Determinação das concentrações letais de 3 nematóides entomopatogênicos para larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> e comparação entre os bioensaios em papel-filtro e em meio de criação com <i>H. indica</i>	34
3.4. Aplicações em aviário de corte contra larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> do isolado <i>H. indica</i> pela formulação “pó-molhável”	35
4. Discussão	38
5. Referências Bibliográficas	45

CAPÍTULO II. Avaliação do efeito inseticida em população de <i>A. diaperinus</i> exposta a piretróides e regulador de crescimento de insetos	51
Resumo	51
1. Introdução	51
2. Material e Métodos	54
2.1. Coleta e criação de <i>Alphitobius diaperinus</i> em laboratório	54
2.2. Manejo do aviário para controle de <i>A. diaperinus</i>	55
2.3. Bioensaios com piretróides	55
2.4. Bioensaios com inseticida regulador de crescimento	57
2.5. Análises Estatísticas	58
3. Resultados	58
3.1. Efeito adulticida de piretróides aplicados em população de <i>A. diaperinus</i>	58
3.2. Efeito larvicida de triflumuron aplicado em população de <i>A. diaperinus</i>	69
4. Discussão	72
5. Referências Bibliográficas	77
CAPÍTULO III. Estudos populacionais e distribuição espacial de <i>A. diaperinus</i> em galpões de aviário de corte no município de Louveira, SP: subsídios para o manejo integrado do inseto	82
Resumo	82
1. Introdução	82
2. Material e Métodos	86
2.1. Local de coleta e amostragem de <i>A. diaperinus</i>	86
2.2. Análises Estatísticas	88
3. Resultados	89
3.1. Avaliação de fatores climáticos e distribuição espacial de <i>A. diaperinus</i>	89
4. Discussão	97
5. Referências Bibliográficas	101
6. Anexos	106
CONCLUSÕES GERAIS	107
CONSIDERAÇÕES FINAIS	110
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Galpão em aviário de corte no município de Louveira, SP, onde foram realizados os bioensaios em campo com aplicação de <i>H. indica</i>	21
Figura 2. Desenho esquemático da aplicação de <i>H. indica</i> em galpão de aviário de corte	22
Figura 3. Método de aplicação de <i>H. indica</i> , formulação “pó-molhável” embaixo dos comedouros com uso de regador	23
Figura 4. Prancha com imagens do aspecto de larvas de <i>A. diaperinus</i> infectadas por <i>H. indica</i> (CB-n05) (A e B), <i>S. carpocapsae</i> (CB-n02) (C e D) e por <i>S. feltiae</i> (CB-n21) (E e F)	30
Figura 5. Prancha com imagens do aspecto de adultos de <i>A. diaperinus</i> infectadas por <i>H. indica</i> (CB-n05) (A e B), <i>S. carpocapsae</i> (CB-n02) (C e D) e por <i>S. feltiae</i> (CB-n21) (E e F)	31
Figura 6. Mortalidade de <i>A. diaperinus</i> para diferentes tratamentos por <i>H. indica</i> 20 dias após as aplicações em campo	37
Figura 7. Mortalidade de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> causada por <i>H. indica</i> observada em campo após as aplicações dos tratamentos	37

CAPÍTULO II

Figura 1. Mortalidade de adultos de <i>A. diaperinus</i> característica para os 3 piretróides testados: ciflutrina, cipermetrina e deltametrina	59
Figura 2. Aberrações morfológicas causadas por triflumuron em <i>A. diaperinus</i> , com larvas que não finalizam o processo de muda e ficam presas à exúvia (A) e adultos deformes (B)	71
Figura 3. Estádios de desenvolvimento normais em <i>A. diaperinus</i> : larvas (A), pupas (B) e adultos (C)	71

CAPÍTULO III

Figura 1. Disposição das armadilhas de Arends na cama dos galpões avaliados (A). Termômetro de imersão utilizado para determinar as temperaturas dos pontos amostrais (B)	87
Figura 2. Médias de temperaturas da cama, do galpão e médias do número de machos, fêmeas e larvas em galpão de aviário com piso solo nos lotes amostrados	92
Figura 3. Médias de temperaturas da cama, do galpão e médias do número de machos, fêmeas e larvas em galpão de aviário com piso pavimentado nos lotes amostrados	92
Figura 4. Prancha com seqüência de fotos caracteriza o desenvolvimento de lotes de frangos em aviários de corte da 1ª semana a 6ª semana (A até F)	93
Figura 5. Prancha com as médias de temperatura da cama e de larvas/armadilha nos tipos de galpões avaliados ao longo das semanas nos lotes amostrados	94-96
Figura 6. Apesar do descarte de aves mortas ser feito em fossas cobertas, em períodos com alta taxa de mortalidade, as carcaças poderiam ser incineradas ao ar livre nas proximidades dos galpões (A). Presença de ave morta no interior do galpão, na quarta semana de desenvolvimento do lote (B)	106
Figura 8. Frango durante a 2ª semana de desenvolvimento do lote se alimentando de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> (A). Reutilização da cama, já compactada pelo esterco, serragem e ração, durante a 3ª semana de desenvolvimento do lote: ambiente rico em insetos, com altas temperaturas, que favorece as mudas e pupação e reprodução dos adultos (B)	106

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela I. Mortalidade de larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> em relação às espécies de nematóides avaliados em bioensaio com papel-filtro	25
Tabela II. Mortalidade de larvas de <i>A. diaperinus</i> obtidas pela influência dos tratamentos aplicados (JI/inseto), durante as avaliações (em dias), para cada espécie de nematóide entomopatogênico	27
Tabela III. Mortalidade de adultos de <i>A. diaperinus</i> obtidas pela influência dos tratamentos aplicados (JI/inseto), durante as avaliações (em dias), para cada espécie de nematóide entomopatogênico	29
Tabela IV. Mortalidade (%) de larvas de <i>A. diaperinus</i> por <i>H. indica</i> em relação aos tipos de bioensaios para cada tratamento (JI/inseto), durante as avaliações (em dias)	32
Tabela V. Mortalidade (%) de adultos de <i>A. diaperinus</i> por <i>H. indica</i> em relação aos tipos de bioensaios para cada tratamento (JI/inseto), durante as avaliações (em dias)	33
Tabela VI. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear para larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> tratados com os nematóides entomopatogênicos <i>H. indica</i> , <i>S. carpocapsae</i> e <i>S. feltiae</i> , produzidos “ <i>in vivo</i> ”, para bioensaio em papel-filtro	34
Tabela VII. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear para larvas e adultos de <i>A. diaperinus</i> tratados com o nematóide entomopatogênico <i>Heterorhabditis indica</i> produzido “ <i>in vitro</i> ” para bioensaio em meio de criação	35
Tabela VIII. Média de adultos e larvas de <i>A. diaperinus</i> em contagem direta de amostras das áreas de aplicação para as diferentes dosagens de <i>H. indica</i> nas avaliações pré-tratamento, 6 dias e 12 dias após as aplicações	36

CAPÍTULO II

Quadro I. Diluições utilizadas nos bioensaios, em ppm, de ingrediente ativo	56
--	----

Tabela I. Mortalidade média de adultos de <i>A. diaperinus</i> em bioensaio por aplicação em meio de criação do inseticida ciflutrina	60
Tabela II. Mortalidade média de adultos de <i>A. diaperinus</i> em bioensaio por aplicação tópica do inseticida ciflutrina	62
Tabela III. Mortalidade média de adultos de <i>A. diaperinus</i> em bioensaio por aplicação em meio de criação do inseticida cipermetrina	63
Tabela IV. Mortalidade média de adultos de <i>A. diaperinus</i> em bioensaio por aplicação tópica do inseticida cipermetrina	65
Tabela V. Mortalidade média de adultos de <i>A. diaperinus</i> em bioensaio por aplicação em meio de criação do inseticida deltametrina	66
Tabela VI. Mortalidade média de adultos de <i>A. diaperinus</i> em bioensaio por aplicação tópica do inseticida deltametrina	67
Tabela VII. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear para adultos de <i>A. diaperinus</i> tratados com os piretróides ciflutrina, cipermetrina e deltametrina em bioensaios com aplicações em meio de criação e tópica	69
Tabela VIII. Mortalidade de larvas de <i>A. diaperinus</i> obtidas 20 dias após os tratamentos com triflumuron	70
Tabela IX. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear para larvas de <i>A. diaperinus</i> tratadas com triflumuron avaliadas 20 dias após as aplicações	70

CAPÍTULO III

Tabela I. Médias da frequência de <i>A. diaperinus</i> (larvas e adultos) por armadilha em relação aos parâmetros: lotes de frangos e semanas de desenvolvimento	89
Tabela II. Médias de temperaturas e frequência de <i>A. diaperinus</i> (larvas e adultos) por armadilha em relação aos parâmetros: tipo de galpão, regiões do galpão e fases do desenvolvimento do inseto	90
Tabela III. Frequência de <i>A. diaperinus</i> (larvas e adultos) por armadilha em relação aos parâmetros: tipo de comedouro, troca de cama e período de aplicação do inseticida	97

RESUMO

Alphitobius diaperinus (Panzer, 1797) é conhecido por abrigar diversos patógenos causadores de doenças aviárias e por seu potencial como praga, pelos danos causados aos materiais de isolamento térmico e estruturas de sustentação dos galpões. Estes coleópteros também representam problemas de saúde pública nos períodos de aumentos populacionais, quando os adultos deixam os galpões e se aproximam das áreas urbanas. Considerando os prejuízos que podem ser causados pela presença de *A. diaperinus*, o presente estudo abordou estratégias para aplicação programa de manejo integrado, pela distribuição populacional e discussão dos períodos favoráveis a aplicação de controle químico e as possibilidades de controle biológico.

Na avaliação da patogenicidade de diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos, observou-se que as maiores médias de mortalidade para larvas foram por *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955), enquanto que para adultos foi *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934). No entanto, *Heterorhabditis indica* (Poinar, Karunakar & David, 1992) apresentou resultados de controle promissores para larvas e adultos, considerando que trata-se de isolado nativo. A aplicação de *H. indica* em campo, não permitiu afirmar que houve controle da densidade populacional, devido ao comportamento e distribuição heterogênea dos insetos nos galpões, apesar das diferenças significativas na mortalidade média nas avaliações entre os tratamentos.

Em bioensaios com inseticidas em meio de criação e aplicação tópica houve diferença significativa na mortalidade de adultos. As CL_{50} indicaram que cipermetrina foi mais efetiva em aplicações em meio de criação, enquanto ciflutrina em tratamentos tópicos. Quanto ao triflumuron, houve diferença significativa na mortalidade de larvas e emergência de adultos, no entanto os altos valores das CL_{50} e CL_{90} , sugerem tolerância da população aos produtos avaliados.

Os resultados indicaram que os tipos de galpões, manejo das camas durante os lotes avaliados e aplicação de controle químico afetaram a densidade populacional, tanto quanto

as temperaturas da cama e do interior dos galpões. Tanto larvas quanto adultos encontravam-se agregados, principalmente embaixo dos comedouros, ao longo dos lotes e semanas amostradas. As distribuições espacial e temporal heterogêneas estão relacionadas aos movimentos migratórios da população que são afetados pelos fatores abióticos visando o estabelecimento em micro-habitats que garantam a permanência nos galpões.

A integração de métodos de controle de insetos praga compreende a utilização do monitoramento da população, conhecimento do comportamento, detalhes da construção dos galpões, manejo dos resíduos e práticas sanitárias que possam estabilizar a densidades moderadas *A. diaperinus* em aviários.

Palavras-chave: *Alphitobius diaperinus*, Manejo Integrado de Pragas, Controle Biológico, Nematóides Entomopatogênicos, Inseticidas, Dinâmica Populacional.

ABSTRACT

Alphitobius diaperinus (Panzer, 1797) is a known reservoir of several avian pathogens and is a potential structural pest, causing damage to the thermal insulation materials of poultry houses. In addition, it is potential of public health in the periods of population increases, becoming a nuisance in cases when adults move to nearby urban houses and businesses. Considering the damages that can be caused by the presence of *A. diaperinus*, the current study deals with the use of IPM strategies and investigates the spatial distribution of larvae and adults, discussing the favorable periods for the use of biological and/or chemical control in poultry houses.

The evaluation of the pathogenicity of strains of entomopathogenic nematodes revealed significant differences in mortality of larvae for *Steinernema carpocapsae* and of the adults for *Steinernema feltiae*. However, *Heterorhabditis indica* presented results of control promising for larvae and adults, considering that it is a native strain. The application of *H. indica* in the field, did not show that it had control of the population density, despite of the behavior and heterogeneous distribution of the insects in the bedding. However, there were significant differences in mortality for the evaluation periods and treatments.

The insecticide bioassays on rearing medium and by using topical dosing methods showed significant differences in the mortality of adults. The CL₅₀ for Cypermethrin indicated that was more effective in applications on rearing medium, while the CL₅₀ for cyfluthrin indicated that was more effective by topical bioassays. Triflumuron showed significant difference in the mortality of larvae and emergency of adults, and the high values of CL₅₀ and CL₉₀, suggest tolerance of the population to the insecticides evaluated.

The results indicated that the types of poultry house, management of the litter during the cleaning periods and chemical control affected the population density, and were favored by the temperatures of the litter and the poultry houses. Larvae and adults were aggregated under the feeders during the chicken's growth period.

The heterogeneous spatial and temporal distributions are related to the migratory movements of the population that are affected by the abiotics factors that provide suitable habitats for survival on this artificial environment.

Key-words: *Alphitobius diaperinus*, Integrated Pest Management, Biological Control, Entomopathogenic Nematodes, Insecticides, Population Dynamics.

INTRODUÇÃO GERAL

A criação de animais confinados em pequenos espaços favorece o estresse e acúmulo de excretas no ambiente, além de materiais utilizados durante o manejo que fornecem abrigo e recursos alimentares para o desenvolvimento e proliferação de artrópodes com potencial de praga. O estudo das espécies presentes em ecossistemas artificiais não tem apenas importância ecológica, mas também sanitária, pois há associação destes insetos com a veiculação de patógenos, dando base aos estudos na área de sanidade animal.

Entre as atividades que movem a economia brasileira, um dos setores que mais evoluiu nas últimas décadas foi o da produção de carnes, sendo a carne de frango representada por 42,64% do total da produção no Brasil. Com a exportação de 3,2 milhões de toneladas de carne de frango em 2007, se mantém como o maior exportador mundial. Para 2008, as expectativas do setor são para um crescimento de 6% a 8% sobre este volume. Para atender à demanda, a avicultura potencializa a produção, ocorrendo curtos intervalos entre lotes (5 a 10 dias) e trocas de cama a intervalos variáveis, podendo ser a cada seis ou sete lotes. Esse manejo acarreta, entretanto, problemas com relação ao aumento de insetos no interior dos galpões avícolas, visto que o conteúdo de matéria orgânica os favorece (AVICULTURA INDUSTRIAL 2008).

Nestes sistemas as heterogeneidades temporal e espacial ocorrem e resultam do modelo da criação e práticas de manejo. As adaptações fisiológicas, como dormência e diapausa, e , comportamentais, como o movimento e migração, acompanham as espécies praga que evitam condições desfavoráveis, tornando-as permanentemente estabelecidas no local (SALIN *et al.* 2000).

Das diversas Ordens de insetos que se desenvolvem em ambientes artificiais, está a Ordem Coleoptera na qual se destaca a espécie *Alphitobius diaperinus* (Panzer 1797), (Tenebrionidae), cosmopolita em substratos de produções avícolas, em grãos e em produtos farináceos armazenados. A espécie é originária da África e ocorre naturalmente associada a ninhos de aves e morcegos onde se alimentam de fragmentos de pele, penas e carcaças.

Com esta associação, tornou-se apto a se desenvolver nas condições de umidade que ocorrem nos sistemas intensivos de produção (SAFRIT & AXTELL 1984; CRAIG-TURNER 1986; AXTELL & ARENDS 1990, LAMBKIN 2001).

As características propícias para o desenvolvimento de *A. diaperinus* são a temperatura do esterco e a sua baixa umidade em relação a produção de aves poedeiras; já o acúmulo de ração, água e serragem que formam o substrato e as altas temperaturas em galpões de aves de corte favorece ainda mais o desenvolvimento do inseto (DESPINS *et al.* 1987, CHERNAKI & ALMEIDA 2001).

As grandes densidades do coleóptero em galpões de aves de corte ocorrem, pois novas camas podem ser adicionadas sobre as mais velhas, que são parcialmente removidas em camadas. A cama, misturada ao esterco, ração e água, fornecem ambiente ideal para o desenvolvimento e sobrevivência de diversas espécies de microorganismos. Assim, o aumento populacional da espécie desperta o interesse médico-veterinário (HARDING & BISSEL 1958; EIDSON *et al.* 1965).

As aves jovens são atraídas pelo movimento destes coleópteros e podem se alimentar de larvas e adultos do inseto que podem resultar em reações adversas quanto ao ganho de peso e a disseminação de doenças, pois são veiculadores de patógenos que podem estar na superfície do corpo como no seu interior. Enquanto se alimentam do inseto não comem a ração alterando a taxa de engorda e remexer o substrato a procura do inseto, pode trazer problemas respiratórios, pois entram em contato com patógenos (DESPINS *et al.* 1994, DESPINS & AXTELL 1995).

A heterogeneidade na distribuição dos indivíduos ao dos galpões e diferenças na abundância de estágios de desenvolvimento pode sugerir que há movimentação para locais adequados, relacionados à temperatura, umidade, períodos de remoção do substrato e de aplicação do inseticida.

Diversos micro-habitats podem ser significativos quanto à densidade de larvas e adultos, sendo que grandes densidades podem ser encontradas em áreas centrais, embaixo de comedouros, onde o substrato está menos compactado (SAFRIT & AXTELL 1984, SALIN *et al.* 2000).

A tolerância ao aumento de temperatura e dessecação do ambiente ocorre conforme o período de desenvolvimento das aves. A agregação é observada em períodos de baixas

temperaturas e suas causas podem estar associadas às condições abióticas favoráveis do local, proteção ou mudanças na taxa metabólica do inseto. A duração e intensidade do estresse podem afetar a sobrevivência do inseto e determinam a taxa de eclosão nos períodos suscetíveis, como o uso de áreas favoráveis ao desenvolvimento e dispersão para colonização das áreas vizinhas (SALIN *et al.* 2000).

Os estudos conduzidos, visando reproduzir o ciclo biológico e as exigências térmicas de *A. diaperinus*, apresentam resultados variados, principalmente pela metodologias aplicadas. Verificou-se que não há desenvolvimento larval a 17 °C, enquanto que a temperatura de 30 °C apresenta grande sobrevivência. Os ciclos variaram de 90 a 25 dias, e de 42 a 55 dias, à 27°C. As baixas temperaturas podem afetar o crescimento do inseto, reduzindo a largura da cápsula cefálica das larvas que necessitam de maior número de instares para completarem o desenvolvimento (WILSON & MINNER 1969, RUEDA & AXTELL 1996, CHERNAKI & ALMEIDA 2001, FRANCISCO & PRADO, 2001, SCHAFER *et al.* 2005).

Sob várias condições ambientais, os indivíduos podem exibir tempos de desenvolvimento diferentes, o que afetará a eficiência no controle. Entender a biologia do inseto é essencial para desenvolver estratégias no manejo de populações de *A. diaperinus* em aviários de corte. As grandes densidades afetam o período de aplicação do controle químico, o tipo de produto a ser utilizado e medidas de controle biológico viáveis. Atingir o equilíbrio populacional reduziria seu status como espécie praga e o potencial como vetor de patógenos.

O controle de *A. diaperinus* no Brasil está relacionado a sua importância médica e veterinária, devido seu potencial como reservatório de vírus e bactérias patogênicas. A competência e a capacidade na transmissão de organismos, com importância na saúde animal e humana foi avaliada por diversos estudos (DE LAS CASAS *et al.* 1968, 1972, 1973, BAGGESEN *et al.* 1992, MCALLISTER *et al.* 1996, GOODWIN & WALTMANN 1996, CHERNAKI-LEFFER *et al.* 2006).

Vários grupos de inseticidas são relatados como eficientes no controle de *A. diaperinus*, segundo uma breve revisão de LAMBKIN (2001). No entanto, o uso de determinadas moléculas em aviários é questionável, devido aos níveis significativos de resíduos que podem ser encontrados nos tecidos das aves (MILLER & REDFERN 1988).

Os efeitos do controle podem ter resultados variáveis no tamanho populacional, pela mobilidade de adultos e larvas que podem migrar para áreas não tratadas. As respostas de uma mesma população, avaliada em períodos diferentes, são variadas mesmo quando as técnicas de bioensaios estão padronizadas (REBERTSON *et al.* 1995, WEAVER 1996).

Os derivados das benzoilfeniluréias, inibidores da síntese de quitina, afetam o processo desenvolvimento de insetos. Estas moléculas interferem na secreção da cutícula resultando em morte de imaturos e adultos com aberrações morfológicas após a ecdise, pela reduzida camada de cutícula secretada devido aos tratamentos. O controle pelo uso destes reguladores de crescimento apresentam falhas quando os indivíduos sobreviventes resultam de ovos que foram colocados antes dos seus parietais terem sido expostos aos inseticidas, tanto por fatores comportamentais da espécie, como das características da molécula (COHEN 1987, SOLTANI *et al.* 1996).

Os inseticidas piretróides afetam os canais de sódio das células do sistema nervoso dos insetos, agindo para que permaneçam abertos por mais tempo, com influxo contínuo de íons, que desencadeiam repetitivos potenciais de ação, que levam a morte por excitabilidade. Estudos no Brasil evidenciaram populações resistentes a cipermetrina e diclorvós. Já suscetibilidade aos reguladores de crescimento mostrou que metoxifenoazide e diflubenzuron foram pouco eficazes na mortalidade de larvas de cascudinhos, comparados a clorfluazuron, lufenuron e triflumuron (CHERNAKI-LEFFER 2004).

Há poucos relatos sobre a ocorrência de inimigos naturais e os registros referem-se ao fungo entomopatogênico (*Beauveria bassiana*), neogregarinas (*Farinocystis tribolii*) e eugregarinas (*Gregarina alphitobii* e outras espécies de *Gregarina*), que infectavam populações de *A. diaperinus* em vários aviários nos EUA (STEINKRAUS *et al.* 1991 1992, APUYA *et al.* 1994). A ocorrência de ácaros *Acarophenax mahunkai* afetando *A. diaperinus* e outros coleópteros em aviários foi registrada por STEINKRAUS & CROSS (1993) que observaram 51% de parasitismo em ovos, sendo que a taxa de emergência foi reduzida de 72% para 23%.

O controle biológico atual tem como base o manejo integrado de pragas (MIP) sendo a principal alternativa ao uso de inseticidas químicos. As falhas observadas nestes modelos devem ser vistas como questões que afetam os parâmetros ecológicos. Na maioria dos casos o controle biológico é conduzido empiricamente, do que baseado nos aspectos ecológicos e

culturais para alcançarem os resultados satisfatórios (GAUGLER *et al.* 1997, BURNELL & STOCK 2000).

Grande parte dos estudos atuais envolvendo organismos entomopatogênicos no controle de cascudinhos avaliam a diversidade molecular de isolados e quais apresentam efetividade no controle do inseto. A sua utilização ainda necessita da viabilidade das formulações, sua associação com armadilhas em campo e a eficácia contra os diferentes estágios de desenvolvimento de *A. diaperinus*. Ainda assim, os estudos devem avaliar a manutenção da virulência dos entomopatogênicos ao longo do tempo contra a espécie.

Os nematóides entomopatogênicos também têm sido avaliados como possíveis agentes de controle de *A. diaperinus*. Esses compreendem-se em 2 famílias: Steinernematidae (Chitwood & Chitwood, 1937) e Heterorhabditidae (Poinar, 1976), que não são próximas filogeneticamente, mas apresentam similaridade devido a evolução convergente da biologia. Nestas famílias incluem-se os gêneros *Steinernema* (Travassos, 1927) e *Heterorhabditis* (Poinar, 1976). São parasitas letais de insetos, pois entre 24 e 48 horas causam a mortalidade, após a infecção. Sendo o inseto um hospedeiro suscetível, os nematóides infectivos juvenis penetram pelas aberturas naturais (oral, anal e espiráculos) e atingem a hemocele. Em *Heterorhabditis* apresentam espinho dorsal que auxilia na penetração pelas regiões inter-segmentares, apesar de ser raro este tipo de penetração (POINAR 1993).

Estes nematóides carregam bactérias simbiotes no trato digestivo e formam os complexos *Steinernema-Xenorhabdus* e *Heterorhabditis-Photorhabdus*. Estas bactérias abandonam o intestino dos nematóides e atingem a hemolinfa. Os nematóides alimentam-se das bactérias e tecidos liquefeitos, produzem 2 a 3 gerações e emergem como infectivos juvenis na procura de novos hospedeiros (GAUGLER *et al.* 1997).

Em habitat adequado, os estudos de campo podem oferecer informações sobre quais as espécies e/ou isolados de nematóides são efetivos no controle. Ainda é necessário esclarecer como localizam e identificam os hospedeiros suscetíveis. O processo de infecção deve estar associado a seleção do hospedeiro, principalmente nos comportamentos de reconhecimento, procura e penetração. Estes comportamentos influenciam na preferência

por hospedeiros localizados em superfície ou camadas do solo, bem como se os hospedeiros são sedentários ou móveis. Portanto, são determinadas as estratégias do tipo “ambusher”, no qual os nematóides podem ser nictitantes ou não e, são atraídos por hospedeiros móveis. Os nematóides do tipo “cruiser” são atraídos por hospedeiros sedentários e por influência de substâncias voláteis eliminadas pelos hospedeiros que favorecem a sua localização (KAYA & GAUGLER 1993, CAMPBELL & GAUGLER 1993, BURNELL & STOCK 2000).

No complexo nematóide-bactéria simbiote, discutem-se a co-evolução dos fatores bióticos que afetam a patogenicidade, a resposta imune dos hospedeiros e como a cooperação entre estes organismos permite reconhecer as barreiras de infecção e capacidade vetorial dos nematóides, diante da suscetibilidade dos insetos hospedeiros (SMART 1995, CAMPBELL & GAUGLER 1997, BOEMARE *et al.* 1997).

Estudos mostraram que o período de sobreposição de maiores densidades de coleópteros e nematóides é curto, promovendo um período de controle natural limitado. As altas temperaturas também podem ser fatores limitantes e podem favorecer o declínio populacional dos nematóides (GRAY & JOHNSON 1983, GEDEN *et al.* 1998).

Apesar de diversos estudos demonstrarem que organismos não alvo não são afetados pelos nematóides entomopatogênicos, ainda é prematuro concluir que são seguros na aplicação em todos os tipos de ambientes (GEORGIS & KAYA 1991).

A resistência (química ou biológica) e a resposta fenotípica resultam da seleção de alelos pré-existentes (genótipos específicos) que regulam ou favorecem determinados mecanismos de defesa. O comportamento de evitar o contato com estes agentes de controle seria estimulado por receptores tácteis ou olfatórios, que estão associados com outros mecanismos fisiológicos e genéticos que acarretam os variados níveis de resistência. Os genes de resistência, pela introdução de alelos ocorre por migração, que permite o deslocamento geográfico com fluxo gênico entre populações e, por seleção que determina os alelos melhores adaptados nos contextos geográfico e ecológico locais (AMBRÓS 2003).

Em relação ao uso de controle biológico em cascudinhos, é necessário determinar quais as condições abióticas para o seu estabelecimento. No Brasil, apesar de existirem diversos programas de controle biológico de pragas com destaque na aplicação de

entomopatogênicos, ainda são inexpressivos os estudos visando à exploração de nematóides, fungo e bactérias como bioinseticidas, não havendo muitos estudos que enfatizam a biodiversidade das espécies e da eficiência dos isolados. Tais fatores favorecem o desconhecimento sobre o tempo de permanência destes organismos em campo, quais seriam os períodos de reposição e quais fatores ambientais que afetam a sobrevivência. Além destes fatores, quais seriam os impactos da aplicação dos organismos entomopatogênicos para outras espécies que compõem a comunidade.

Deve-se manter nas propriedades um programa integrado de controle de pragas, utilizando técnicas e conceitos já existentes, mas desenvolvendo um programa próprio do estabelecimento, já que cada modelo de criação apresenta particularidades que devem ser observadas no início da aplicação do manejo. A integração de métodos compreende a utilização de medidas de controle cultural pelo monitoramento da população e do conhecimento do comportamento de *A. diaperinus*; o controle mecânico que envolve os detalhes da construção dos galpões, manejo dos resíduos e práticas sanitárias e o controle químico pelo conhecimento dos efeitos, quantidades e períodos de aplicação dos inseticidas, evitando gastos desnecessários ao produtor bem como a explosão da densidade de pragas e danos ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRÓS, C.M.G. 2003. **Efeito de extratos de plantas e inseticidas de segunda e terceira gerações em populações de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae).** Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP. 91-118 p.

APUYA, L.C., STRINGHAM, S.M., ARENDS, J.J. & BROOKS, W.M. 1994. Prevalence of protozoan infections in darkling beetles from poultry houses in North Carolina. **J. Invert. Pathol.** **63**, 255-259.

AVICULTURA INDUSTRIAL. 2008. Em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/home.asp>. Acesso em 23/02/2008.

AXTELL, R.C. & ARENDS, J.J. 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. **Ann. Rev. Entomol.** **35**, 101-126.

BAGGESEN, D.L., OLSEN, J.E. & BISGAARD, M. 1992. Plasmid profiles and phage types of *Salmonella typhimurium* isolated from successive flocks of chickens on three parent stock farms. **Avian Pathology** **21**, 569-579.

BOEMARE, N., GIVAUDAN, A., BREHELIN, M. & LAUMOND, L. 1997. Symbiosis and pathogenicity of nematode-bacterium complexes. **Symbiosis** **22**, 21-45.

BURNELL, A.N. & STOCK, S.P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts: lethal pathogens of insects. **Nematol.** **2** (1), 31-42.

CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Behaviour** **126** (3-4), 155-169.

CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R.R. 1997. Inter-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: dichotomy or variation along a continuum? **Fundam. Appl. Nematol.** **20** (4), 393-398.

CHERNAKI, A. M. & ALMEIDA, L. M. 2001. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotrop. Entomol.** **30**(3), 365-368.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. 2004. **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.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná. 128 p.

CHERNAKI-LEFFER, A. M., FERREIRA, C.S.A., FERREIRA, J.P., KUTTEL, J., PEDROSO, A.C. & MARTINS, L.M. 2006. **Competência vetorial de *Alphitobius diaperinus* na transmissão de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte.** Sessão: C & T, Saúde Animal. Disponível em: < <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/home.asp> >. Acesso em 23/02/2008.

COHEN, E. 1987. Chitin biochemistry: synthesis and inhibition. **Ann. Rev. Entomol.** **33**, 71-93.

CRAIG-TURNER, E. Jr. 1986. Structural and litter pests. **Poult. Sci.** **65**, 644-648.

DE LAS CASAS, E., HARIEN, P.K., DESHMUKH, D.R. & POMEROY, B.S. 1973. The relationship between the lesser mealworm and avian viruses. I. Reovirus 24. **Environ. Entomol.** **2**, 1043-1047.

DE LAS CASAS, E., HARIEN, P.K. & POMEROY, B.S. 1972. Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. **Environ. Entomol.** **1**, 27-30.

DE LAS CASAS, E., POMEROY, B.S. & HARIEN, P.K. 1968. Infection and quantitative recovery of *Salmonella thyphimurium* and *Escherichia coli* from within the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Poult. Sci.** **47**, 1871-1875.

DESPINS, J.L. & AXTELL, R.C. 1995. Feeding behavior and growth of turkey poult fed larvae of darkling beetle *Alphitobius diaperinus*. **Poult. Sci.** **74**, 331-336.

DESPINS, J.L., AXTELL, R.C., RIVES, D. V., GUY, J. S. & FICKEN, M. D. 1994. Transmission of enteric pathogens of turkey by darkling beetle larvae (*Alphitobius diaperinus*). **J. Appl. Poult. Res.** **3**, 61-65.

DESPINS, J.L., CRAIG-TURNER, E. Jr. & RUSZLER, P.L. 1987. Construction profiles of high rise caged layer houses in association with insulation damage caused by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) in Virginia. **Poult. Sci.** **66**, 243-250.

EIDSON, C.S., SCHMITTLE, S.C., GOODE, R.B. & LAL, J.B. 1965. The role of darkling beetle, *Alphitobius diaperinus* in transmission of acute leucosis in chickens. **Poult. Sci.** **44**, 1366-1367.

FRANCISCO, O. & PRADO, A.P. 2001. Characterization of larval stages of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) using head capsule width. **Rev. Brasil. Biol.** **6** (1), 125-131.

GAUGLER, R., LEWIS, E. & STUART, R.J. 1997. Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. **Oecologia** **109**, 483-489.

GEDEN, C.J., ARENDS, J.J., RUTZ, D.A. & STEINKRAUS, D.C. 1998. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. **Biol. Contr.** **13**, 71-77.

GEORGIS, R., KAYA, H.K. & GAUGLER, R. 1991. Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes on nontarget arthropods. **Environ. Entomol.** **20**, 815-822.

GOODWIN, M.A. & WALTMAN, W.D. 1996. Transmission of *Eimeria*, viroses and bacteria to chicks: darkling beetles *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) as vectors of pathogens. **J. Appl. Poult. Res.** **5**, 51-55.

GRAY, P.A. & JOHNSON, D.T. 1983. Survival of nematode *Neoplectana carpocapsae* in relation to soil temperature, moisture and time. **J. Ga. Entomol. Soc.** **18**, 454-460.

HARDING JR., W.C. & BISSEL, T.L. 1958. Lesser mealworm in a broiler house. **J. Econ. Entomol.** **51**, 112.

KAYA, H.K. & GAUGLER, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Ann. Rev. Entomol.** **38**, 181-206.

LAMBKIN, T. A. 2001. **Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation.** Disponível em : <www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf>. Acesso em setembro de 2003.

MCALLISTER, J.C., STEELMAN, C.D. SKEELES, J.K., NEWBERRY, L.A. & GBUR, E.E. 1996. Reservoir competence of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Escherichia coli* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). **J. Med. Entomol.** **33**, 983-987.

MILLER, R.W. & REDFERN, R.E. 1988. Feed additives for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry broiler houses. **J. Econ. Entomol.** **81** (4), 1137-1139.

- POINAR, G.O. 1993. origins and phylogenetic relationship of the entomophilic rhabditis, *Heterorhabditis* and *Steinernema*. **Fundam. Appl. Nematol.** **16 (4)**, 333-338.
- REBERSON, J.L., PREISLER, H.K., HICCKLE, L.A. & GELERNTER, W.D. 1995. Natural variation: a complicating factor in bioassays with chemical and microbial pesticides. **J. Econ. Entomol.** **88 (1)**, 1-10.
- RUEDA, L.M. & AXTELL, R.C. 1996. Temperature-deendent development and survival of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Med. Vet. Entomol.** **10**, 80-86.
- SAFRIT, R. D. & AXTELL, R. C. 1984. Evaluations of sampling methods for darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the litter of turkey and broiler houses. **Poult. Sci.** **63 (12)**, 2368-2375.
- SALIN, C., DELETTRE, Y. R., CANNAVACCIUOLO, M., VERNON, P. 2000. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **Eur. J. Soil. Biol.** **36**, 107-115.
- SCHAFER, A.S., HOFF, G., DOYLE, R.L., SANTURIO, J.M., & MONTEIRO, S.G. 2005. Ciclo biológico do cascudinho, *Alphitobius diaperinus*, em laboratório. **Acta Sci. Vet.** **33 (2)**, 177-181.
- SMART, C.G. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. **J. Nematol.** **27 (4S)**, 529-534.
- SOLTANI, N., MAZOUNI, N.S. & DELACHAMBRE, J. 1996. Evaluation of triflumuron, a benzoylphenylurea derivative, on *Tenebrio molitor* pupae (Coleoptera: Tenebrionidae): effects on cuticle. **J. Appl. Ent.** **120**, 627-629.
- STEINKRAUS, D.C., BROOKS, W.M. & GEDEN, C.G. 1992. Discovery of the neogregarine *Farinocystis triboli* and eugregarine in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **J. Invert. Pathol.** **59**, 203-205.

STEINKRAUS, D.C. & CROSS, E.A. 1993. Description and life history of *Acarophenax mahunkai*, n. sp. (Acari: Tarsonemina, Acarophenacidae), an egg parasite of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** **86** (3), 239-249.

STEINKRAUS, D.C., GEDEN, C. J. & RUTZ, D.A. 1991. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae): effects of host stage, substrate, formulation and host passage. **J. Med. Entomol.** **28**, 314-321.

WEAVER, J.E. 1996. The lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*: field trials and control in a broiler house with insect growth regulators and pyrethroids. **J. Agric. Entomol.** **13**, 93-97.

WILSON, T. A. & MINER, F. D. 1969. Influence of temperature on development of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Kansas Entomol. Soc.** **42** (3), 294-303.

OBJETIVOS

Sabe-se que no Brasil os estudos nos diferentes tipos de sistemas de produção avícola, quanto à eficiência de programas de manejo integrado e de controle biológico são recentes. Devido aos danos causados por *A. diaperinus* pelo manejo ineficiente e fatores ambientais que podem favorecer o desenvolvimento deste coleóptero, visa-se a sugestão de método de manejo integrado para o controle populacional em aviários.

Com o aumento dos níveis de infestação, o presente trabalho pretende avaliar a dinâmica populacional do coleóptero em sistemas de produção de aves de corte pelo estudo dos seguintes aspectos:

- Bioensaios em laboratório para determinação das CL_{50} e CL_{90} com espécies de nematóides entomopatogênicos mantidas “*in vivo*” e “*in vitro*” de sua eficiência em larvas e adultos,
- Aplicação de nematóide entomopatogênico em campo com avaliação da aplicação pela observação das taxas de sobrevivência e mortalidade de *A. diaperinus*,
- Bioensaios para avaliar a taxa de mortalidade em diferentes concentrações de produtos químicos que são utilizados no controle de *A. diaperinus* no aviário em estudo,
- Monitoramento de dois tipos de galpões, com pisos de solo e pavimentado, pela observação da distribuição de larvas e adultos nestes galpões, avaliando como as temperaturas internas e dos pontos de amostragem afetaram os períodos e micro-habitats favoráveis ao aumento da densidade populacional.

CAPÍTULO I

Efeito de nematóides entomopatogênicos das famílias Steinernematidae (Chitwood & Chitwood, 1937) e Heterorhabditidae (Poinar, 1976) em larvas e adultos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Resumo: Apesar de existirem diversos programas de controle biológico de pragas com destaque na aplicação de entomopatogênicos, ainda são inexpressivos os estudos visando à exploração de nematóides como bioinseticidas no Brasil. Em consequência disso, são insuficientes as informações sobre o tempo de permanência de nematóides em campo, sobre períodos de reposição e fatores ambientais que afetam a sua sobrevivência. Diante destas questões, o presente trabalho avaliou a patogenicidade de diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos em larvas e adultos de *A. diaperinus*, sendo que a importância de testes em laboratório e em campo é analisada e discutida. Verificou-se que as maiores médias de mortalidade para larvas foram por *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) enquanto que para adultos foi *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934). As dosagens e tempo de contato teriam mais efeito que a virulência das espécies nos diferentes tratamentos. A comparação entre bioensaios com papel-filtro e meio de criação apresentou diferença significativa na mortalidade por *Heterorhabditis indica* (Poinar, Karunakar & David, 1992). Os resultados obtidos nos experimentos com *H. indica* em campo indicam que houve diferença significativa na mortalidade para as avaliações e tratamentos, no entanto, não permitem afirmar que houve controle da densidade populacional de insetos. A padronização de procedimentos de aplicações nematóides entomopatogênicos em campo foi discutida com abordagem ecológica e comportamental, permitindo a comparação entre os bioensaios, para identificar quais os obstáculos para a implementação de controle biológico em aviários de corte.

1. INTRODUÇÃO

Das diversas ordens de insetos que estão associadas aos sistemas de produção animal, a Ordem Coleoptera tem como destaque a espécie *Alphitobius diaperinus*, conhecida como “cascudinho” ou “besouro-da-cama”. São insetos cosmopolitas em substratos de produções avícolas e em produtos farináceos armazenados. (PFEIFFER & AXTELL 1980, FRANCISCO 1996).

As características propícias para o desenvolvimento de *A. diaperinus* são a temperatura e a baixa umidade de esterco acumulado, em criação de aves poedeiras (DESPINS *et al.* 1987). Em galpões para aves de corte, o acúmulo de ração, água e a serragem que compõem a cama, além das altas temperaturas intensificam o desenvolvimento (CHERNAKI & ALMEIDA 2001).

O uso de inseticidas químicos, em particular os piretróides e reguladores de crescimento, tem sido um dos métodos empregados para o controle deste inseto. Em relação a aviários, as aplicações de inseticidas sobre a cama apresentam falhas por não atingirem parte das larvas, pupas e adultos que estão abrigados no solo. O interesse no desenvolvimento de estratégias alternativas no manejo de *A. diaperinus* vem aumentando, devido a falta de eficácia por longos períodos após a aplicação, o custo elevado desses produtos e os danos que causam ao meio ambiente. Os nematóides entomopatogênicos pertencem à ordem Rhabditida e incluem as famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, com gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* que têm sido aplicados efetivamente no controle de diversas espécies de insetos que habitam ou empupam no solo (POINAR 1979, GEDEN & AXTELL 1987, *et al.* 1992).

Os nematóides juvenis infectivos contêm bactérias simbiontes no intestino e formam os complexos *Heterorhabditis-Photorhabdus* e *Steinernema-Xenorhabdus*. Estas bactérias fornecem não apenas nutrientes, mas atuam na depressão do sistema imune do hospedeiro, pois são capazes de secretar enzimas hidrolíticas, que destroem as proteases antibacterianas, evitando a resposta imune dos hospedeiros suscetíveis (WANG *et al.* 1994).

No Brasil, apesar de existirem diversos programas de controle biológico de pragas com destaque na aplicação de entomopatogênicos, ainda são inexpressivos os estudos visando a biodiversidade das espécies, eficiência dos isolados e a exploração de nematóides como bioinseticidas no controle de *A. diaperinus*.

GEDEN *et al.* (1985) avaliaram a infectividade de *S. feltiae*, *S. glaseri* (Steiner, 1929) e *H. heliothidis* (Khan, Brooks & Hirschmann, 1976) contra larvas e adultos desse inseto, sendo que *S. feltiae* (= *S. carpocapsae*) resultou ser o nematóide mais infectivo.

SZALANSKI *et al.* (2004) avaliaram a infectividade de doze isolados das espécies *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. scapterisci* contra adultos de *A. diaperinus* e as espécies mais promissoras foram *S. carpocapsae* e *S. feltiae*, no entanto os isolados dessas espécies variaram em sua infectividade.

Na Polônia, 19 espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos foram avaliados em estádios larvais iniciais e finais, pupas e adultos de *A. diaperinus*. Os estádios finais foram mais sensíveis que os iniciais, seguidos por pupas e adultos. Os esteinernematódeos foram mais efetivos em larvas e adultos, enquanto os heterorhabditódeos foram mais efetivos em pupas. Os isolados de *S. feltiae* foram os mais efetivos, tanto os mantidos em laboratório, quanto as formulações comerciais (PEZOWICZ 2005).

Nos EUA, notou-se que o tratamento do solo com *S. feltiae* ofereceu controle moderado da população de *A. diaperinus*, isto é, o período de controle foi reduzido, pois o aumento da população de inseto esteve associado às altas temperaturas nos galpões e declínio *S. feltiae* no solo tratado. Portanto, o período de sobreposição de maiores densidades de coleópteros e nematóides permite um período de controle natural limitado (GEDEN & AXTELL 1988, GRAY & JONHSON 1983).

As falhas no controle biológico com uso de nematóides entomopatogênicos estão associadas a escolha das espécies ou isolados. Os testes em laboratório são importantes componentes para o desenvolvimento de programas de controle biológico, mas deve-se estar atento as adversidades que afetam os resultados nas aplicações em campo.

Os fatores do solo que afetam a eficácia dos nematóides entomopatogênicos são pouco conhecidos, mas estariam relacionados com o pH e concentração de oxigênio, tal como observado em estudos com *S. carpocapsae* em relação a patogenicidade e persistência após a aplicação (KUNG *et al.* 1990). A avaliação da ocorrência de nematóides

entomopatogênicos em solo indica que há variabilidade na patogenicidade ao longo de estações, habitats e regiões geográficas que afetam a distribuição das espécies (STUART & GAUGLER 1994).

A temperatura tem efeito direto no tempo de mortalidade, taxa de penetração e emergência de juvenis infectivos, portanto, estas diferenças indicam que o isolamento geográfico resulta na adaptação de espécies ou isolados para diferentes regiões (HAZIR *et al.* 2001). As diferenças nas adaptações térmicas resultam na especialização por hospedeiros, isto é, espécies de nematóides entomopatogênicos são adaptadas a temperaturas mais baixas no inverno, enquanto outras espécies são adaptadas a temperaturas mais altas no verão e são capazes de parasitar os insetos prevalentes em diferentes estações. Tais diferenças em nichos térmicos reduziriam a competição entre nematóides entomopatogênicos de mesma distribuição geográfica (GREWAL *et al.* 1994).

Em relação aos nematóides entomopatogênicos como agentes de controle há necessidade de integrar as informações empíricas e teóricas para determinar as espécies e métodos mais efetivos, a partir dos resultados obtidos em laboratório e em campo. Geralmente, o controle biológico é aplicado visando um rápido declínio populacional, tal como observado em inseticidas químicos. Com isso, os trabalhos aplicados tornam-se pouco efetivos, pois resultados a curto prazo não permitem a estabilidade da interação parasita-inseto e a determinação de estratégias de aplicação que conduzam a sua eficiência.

Considerando a importância do reconhecimento de espécies que possam ser efetivas no controle de pragas de sistemas de produção animal e almejando alternativas para controle biológico e sua possível utilização em aviários de corte, o presente trabalho pretende estudar a patogenicidade de diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, a eficiência de *H. indica* produzido “*in vitro*” aplicado em meio de criação (simulando o substrato de granja) e do formulado “pó-molhável” de *H. indica* contra larvas e adultos de *A. diaperinus* em campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta e criação de *Alphitobius diaperinus* em laboratório

A população de *A. diaperinus* utilizada nos experimentos foi obtida a partir de coletas em galpão de criação em aviários de corte, no município de Louveira, SP (23°05'11" S – 46°57'02" O) e foi mantida no Laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental do Instituto Biológico em Campinas, SP, no período de setembro de 2003 a dezembro de 2004.

Em laboratório, os adultos foram separados e colocados em recipientes plásticos de 3 litros contendo serragem e ração para frangos na proporção de 1:2, simulando o habitat natural de desenvolvimento deste coleóptero em aviários de corte. Este meio era umedecido 3 vezes por semana com água borrifada na sua superfície. Os potes de criação tinham tampas com abertura central, cobertas com organza que permitiam a aeração e eram mantidos em câmara climatizada, com temperatura ($26^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($60\pm 1\%$) e fotoperíodo (12L:12E) controlados.

Para a oviposição dos adultos eram mantidos pedaços de papelão corrugado (20 x 20 cm) no interior de canos de PVC com 4 cm de diâmetro (armadilhas de Arends), colocados na superfície do meio, atraindo os adultos para suas frestas. A umidade retida no papelão estimulava a oviposição para obtenção de geração de larvas (F_1). As larvas eram separadas dos adultos e colocadas em potes de criação nas mesmas condições que os adultos até atingirem o tamanho mediano (1 a 1,2 cm de comprimento) necessário para a realização dos bioensaios (GEDEN *et al.* 1985, FRANCISCO 1996, CHERNAKI-LEFFER 2004). Houve a tentativa de se obter geração de adultos (F_1) em laboratório, mas não foi possível por não atingir o número de adultos suficiente para realização dos bioensaios, devido a grande mortalidade ao longo do desenvolvimento e variação no tempo de emergência dos indivíduos. Portanto, para a realização dos bioensaios foram utilizados adultos provenientes de campo, bem esclerotizados, de tamanhos similares, sem a determinação do sexo e idade dos indivíduos (CHERNAKI-LEFFER 2004). No entanto, antes dos bioensaios, para evitar o estresse do deslocamento do campo para laboratório, foram mantidos nas mesmas condições já citadas por 7 dias (LAMBKIN 2001).

2.2. Produção “*in vivo*”, “*in vitro*” e formulação “pó-molhável” de nematóides entomopatogênicos

Os isolados das três espécies de nematóides entomopatogênicos *S. feltiae* (CB-n21) (produto comercial, NEMASYS®), *S. carpocapsae* (CB-n02) (CCA/UFSCar, Araras/SP) e *H. indica* (CB-n05) (proveniente de solo da região de Itapetininga/SP) estão depositados na coleção de culturas de entomopatogênicos “Oldemar Cardim Abreu”, do Laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental do Instituto Biológico em Campinas, SP. As espécies estudadas são mantidas em culturas “*in vivo*” tendo como hospedeiros larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), tal como descrito por BEDDING & ARKHURST (1975). Os isolados de nematóides da coleção são mantidos em potes com uma pequena película de água em câmara climatizada à 15°C e essa suspensão aquosa é a utilizada para a realização dos bioensaios.

O isolado *H. indica* (CB-n05) já vem sendo produzido “*in vitro*”, pelo Laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental do Instituto Biológico em Campinas/SP, utilizando o meio à base de proteína animal pelo sistema de cultura em esponja sintética, adaptado de BEDDING (1984) e, sendo utilizados imediatamente após a sua extração (FOLEGATTI *et al.* 1988, LEITE *et al.* 1990).

A formulação “pó-molhável” de *H. indica* (CB-n05) foi desenvolvida na primeira fase do projeto PIPE/FAPESP (Processo nº03/02137-1), coordenado pela Dra. Carmen M. Ambrós Ginarte e, ainda esta sendo aperfeiçoada visando prolongar a sobrevivência do nematóide e permitir melhor molhabilidade dos produtos quando misturados em água.

2.3. Avaliação de efeito de nematóides entomopatogênicos em larvas e adultos de *A. diaperinus* em laboratório

Os bioensaios de patogenicidade por nematóides entomopatogênicos de cultura “*in vivo*” foram realizados no Laboratório de Controle Biológico, do Centro Experimental do Instituto Biológico em Campinas, SP, no período de julho a dezembro de 2004. Foram realizados 9 tratamentos contra larvas para os isolados *S. feltiae* (CB-n21), *S. carpocapsae* (CB-n02) e *H. indica* (CB-n05), representados pelas dosagens de 6, 25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400; 800 juvenis infectivos (JI)/ inseto e pelo grupo Controle, tratado apenas com água destilada. Nos bioensaios com adultos, foram realizados 7 tratamentos para os isolados *S.*

feltiae (CB-n21), *S. carpocapsae* (CB-n02) e *H. indica* (CB-n05), representados pelas dosagens de 50; 100; 200; 400; 800; 1600 juvenis infectivos (JI)/ inseto e pelo grupo Controle, tratado apenas com água destilada. Em cada tratamento, foram utilizadas 4 repetições com 20 indivíduos por réplica, totalizando 80 indivíduos para cada tratamento. Os bioensaios foram mantidos em placas de Petri descartáveis, com 9 cm de diâmetro, contendo 2 papéis-filtro umedecidos com 2 mL de água destilada.

O número de nematóides a ser aplicado foi determinado pela contagem direta dos infectivos juvenis em lâmina de Peters em microscópio estereoscópico. Posteriormente, os nematóides foram concentrados em papel-filtro de 3 cm de diâmetro, com auxílio de bomba de vácuo e colocados nas placas contendo os insetos. As placas não foram seladas para permitir as trocas gasosas dos insetos e os bioensaios foram mantidos em câmaras climatizadas, com temperatura ($25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($60\pm 1\%$) e fotoperíodo controlados (12L:12E) controlados.

As avaliações foram realizadas 2, 4 e 6 dias (= 48, 96 e 144 horas) após a aplicação dos tratamentos. Os indivíduos mortos foram quantificados, eram examinados em microscópio estereoscópico e dissecados para observar a presença de nematóides, caracterizando a infecção.

2.4. Aplicação do isolado *H. indica* em meio de criação contra larvas e adultos de *A. diaperinus*

O substrato para os bioensaios foi constituído de serragem e ração para aves, na proporção de 1:2, respectivamente. A água foi adicionada na proporção de 1 parte de substrato para 2,5 partes de água destilada e foram mantidos em potes plásticos transparentes de 250 mL, contendo 50 g do meio preparado. O isolado *H. indica* (CB-n05) proveniente de cultura “*in vitro*” (cultura em esponja sintética) foi empregado neste teste. O número de nematóides a ser aplicado foi determinado pela contagem direta dos infectivos juvenis em lâmina de Peters e, posteriormente, foram concentrados em papel-filtro de 3 cm de diâmetro, com auxílio de bomba de vácuo e colocados sobre o substrato com a face contendo os nematóides voltada para baixo. Em seguida, 1 mL de água destilada era aplicada sobre este papel-filtro para umedecer e auxiliar a migração dos nematóides para o meio contendo os insetos. Os potes continham orifício central e cobertos por organza para

permitir a areação. Foram realizados para os bioensaios com larvas e adultos 6 tratamentos: 50; 100, 200; 400; 800 JI/inseto e pelo grupo controle tratado apenas com água destilada. Foram utilizadas 4 réplicas, contendo 30 larvas e 20 adultos, totalizando 120 larvas e 80 adultos para cada tratamento. Os experimentos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura ($25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($60\pm 1\%$) e fotoperíodo (12L:12E) controlados.

As avaliações foram feitas 2 e 4 dias (= 48 e 96 horas) após os tratamentos para evitar que o aparecimento de fungos no meio que afetasse o experimento. A eficiência foi avaliada pela contagem de indivíduos mortos, que eram examinados em microscópio estereoscópico, tal como no item anterior.

2.5. Avaliação de *H. indica* pela formulação “pó-molhável” em larvas e adultos de *A. diaperinus* aplicado em aviário de corte

Os experimentos foram realizados em aviário de corte localizada no município de Louveira, SP e conduzidos em galpão com piso de solo com 1000 m^2 (10 x 100 m). Visou-se a avaliação de dois métodos de aplicação do formulado, isto é, sobre a cama e sobre o solo (Figura 1).



Figura 1. Galpão em aviário de corte no município de Louveira, SP, onde foram realizados os bioensaios em campo com aplicação de *H. indica*.

Experimento I: Foram selecionadas 4 áreas, distantes 10 metros uma da outra ao longo do galpão, nas quais os tratamentos foram aplicados de forma a abranger toda faixa da largura do galpão, abrangendo os pontos de lateral e centro do galpão (Figura 2).

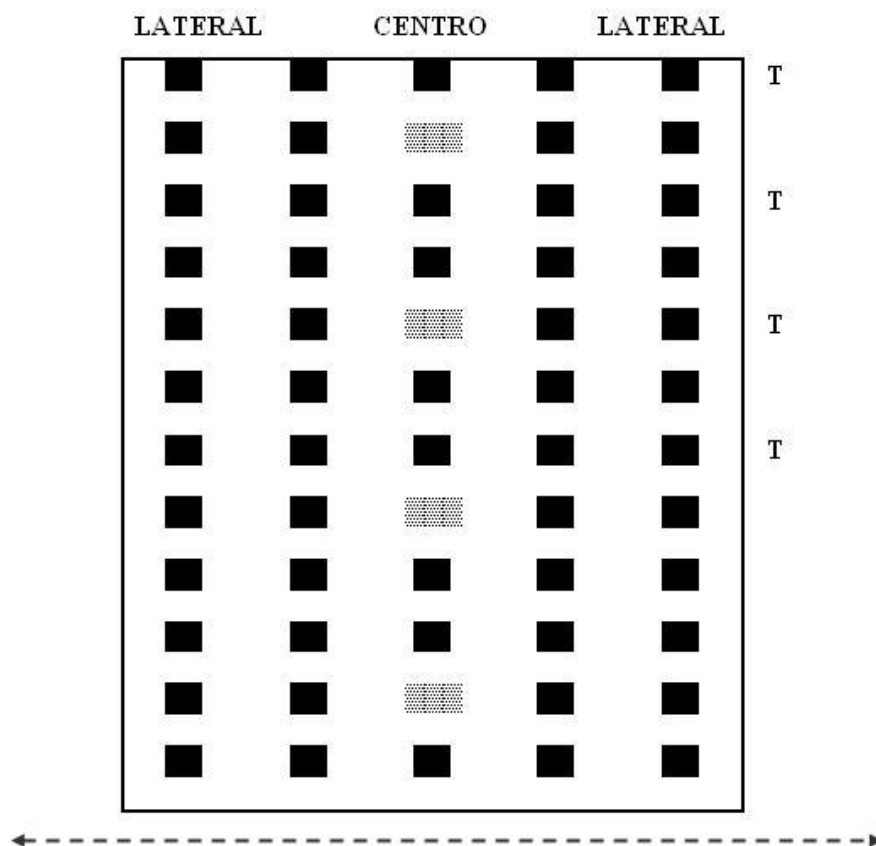


Figura 2. Desenho esquemático da aplicação de *H. indica* em galpão de aviário de corte. T= representa os tratamentos, incluindo o grupo controle, ■ = indica as fileira de comedouros e bebedouros ao longo do galpão, ▨ = indica a localização dos aquecedores e a seta tracejada representa o sentido da aplicação (transversal), abrangendo as laterais e centro do galpão.

Os 4 tratamentos foram representados nas dosagens de 0,4; 4 e 40 JI/cm² (equivalentes a 4×10^7 ; 4×10^8 e 4×10^9 JI/hectare). O grupo controle foi tratado apenas com água. Para cada tratamento houveram 6 repetições , representadas por parcela de 28 cm de diâmetro sendo que a área de 615, 4 cm² estava sob os comedouros pequenos. A aplicação do formulado foi sobre o substrato (camada serragem, esterco e ração de até 10

cm de espessura que cobre o piso do galpão). A formulação “pó-molhável” era mantida em câmara climatizada à 15°C e foi transportada em caixa térmica em temperatura equivalente até o campo. A dosagem da formulação foi determinada em laboratório com auxílio de lâmina de Peters e em seguida pesada para determinar cada tratamento. As repetições foram individualizados em sacos plásticos selados que foram diluídos somente no momento da aplicação. O volume total aplicado em cada área sob os comedouros foi de 2 L de água para cada repetição, de cada tratamento e a aplicação foi feita com auxílio de regadores utilizados em jardinagem. A aplicação dos tratamentos foi 15 dias após a entrada do lote de frangos e os comedouros grandes já estavam distribuídos dentro do galpão. Neste galpão não houve tratamento químico já que seria avaliada a eficácia de controle biológico (Figura 3).



Figura 3. Método de aplicação de *H. indica*, formulação “pó-molhável” embaixo dos comedouros com uso de regador.

As avaliações foram realizadas no pré-tratamento (4 dias antes da aplicação), 6 e 12 dias após as aplicações, com a contagem de adultos e larvas vivos encontrados nas áreas de tratamento. Durante as contagens foram utilizados recipientes de 200 mL, retirando parcelas do substrato e colocadas em bandejas plásticas para avaliação posterior.

Experimento II: Foram considerados tratamentos com as mesmas dosagens empregadas no Experimento I. A formulação “pó-molhável” com cada dosagem foi diluída em 6 L de água e aplicada sobre o piso do galpão com auxílio de regadores em áreas de 1 m². No grupo controle foi aplicado apenas água sobre o solo. As áreas para as aplicações foram aleatórias e distantes 10 metros entre si, a formulação e tratamentos foram mantidos nas mesmas condições que do bioensaio I. A aplicação foi feita 15 dias após a entrada do lote no galpão e não houve tratamento químico prévio do galpão em estudo. Foram realizadas 10 repetições para cada área tratada, cada uma representada por tubos de PVC de 10 x 15 cm que foram fixados atravessando a serragem e o piso de solo. Dentro de cada tubo foram colocadas 15 larvas de tamanho mediano a grande (1 a 1,3 cm de comprimento) e as avaliações foram feitas 20 dias após as aplicações pela contagem de adultos emergidos dentro de cada tubo nos diferentes tratamentos. Para impedir a fuga dos insetos e interferência das aves, telas de plásticos foram colocadas sobre os tubos para mantê-los e também permitir a aeração.

2.6. Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico S.A.S. System for Windows, versão 9.13 (S.A.S. Institute Inc., 2003). Na análise de variância (ANOVA) utilizou-se o procedimento PROC GLM (Modelos Lineares Gerais), com a comparação múltipla das médias feita pelo teste de Duncan, para $\alpha=0,05$. Foi avaliada a mortalidade média de larvas e adultos em relação aos parâmetros: Espécie de nematóide, Tratamento, Avaliação (= dias após as aplicações dos tratamentos) e as interações: Espécie/Tratamento, Espécie/Avaliação e Tratamento/Avaliação. Nas comparações entre os bioensaios com papel-filtro e meio de criação utilizou-se o Teste T ($\alpha=0,05$). Os parâmetros avaliados em relação à mortalidade média de larvas e adultos foram: Tipo de bioensaio, Estágio de desenvolvimento, Tratamento, Avaliação e as interações: Bioensaio/Estágio, Bioensaio/Tratamento, Bioensaio/Avaliação, Estágio/Tratamento, Estágio/Avaliação e Tratamento/Avaliação. Para os testes de campo foi avaliada no Experimento I, a presença de larvas e adultos vivos em relação aos fatores tratamentos, avaliações e para a interação tratamentos/avaliações; no Experimento II avaliou-se a emergência de adultos após as aplicações em relação aos tratamentos.

As concentrações letais para 50 e 90 % dos insetos tratados com as 3 espécies de nematóides entomopatogênicos e nos bioensaios com papel-filtro x meio de criação foram determinadas no 6º e 4º dias após os tratamentos, respectivamente, pela análise de PROBITS proposta por FINNEY (1972) pelo programa estatístico POLO PC (LEORA SOFTWARE 1987).

3. RESULTADOS

3.1. Patogenicidade de 3 espécies de nematóides entomopatogênicos em larvas e adultos de *A. diaperinus*

A mortalidade de larvas apresentou diferença significativa em relação aos parâmetros avaliados ($F=62,43$; $p<0,0001$). Observamos que houve diferença significativa para a mortalidade em relação as espécies de nematóides ($F=11,08$; $p<0,0001$), tratamentos ($F=283,58$; $p<0,0001$) e avaliações ($F=263,29$; $p<0,0001$). Quanto às análises comparativas, a mortalidade de larvas foi significativa para as interações espécies/tratamentos ($F=4,16$; $p<0,0001$) e tratamento/tempo ($F=6,78$; $p<0,0001$). Não houve diferença significativa para a interação espécies/avaliações ($F=0,98$; $p<0,416$).

Os resultados indicam que *S. carpocapsae* proporcionou maior mortalidade de larvas e não houve diferença significativa para *H. indica* e *S. feltiae*. Em adultos a maior mortalidade foi observada para *S. feltiae* (Tabela I).

Tabela I. Mortalidade de larvas e adultos de *A. diaperinus* em relação às espécies de nematóides avaliados em bioensaio com papel-filtro (N= 20).

		Larvas ($\bar{x} \pm DP$)	Adultos ($\bar{x} \pm DP$)
Espécies	<i>Hi</i> (CB-n05)	11,45±7,49b	11,80±5,67b
	<i>Sc</i> (CB-n02)	12,33±7,05a	12,43±6,19a
	<i>Sf</i> (CB-n21)	10,99±5,72b	12,79±6,45a

Hi (CB-n05)= *H. indica*; *Sc* (CB-n02)= *S. carpocapsae* e *Sf* (CB-n21)= *S. feltiae*.

As médias com a mesmas letras em cada coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se a média do número de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

Na análise entre as interações, observa-se que houve diferença significativa na mortalidade de larvas em relação aos tratamentos após 2 dias das aplicações ($F=28,24$; $p<0,0001$). Apesar de não haver diferença significativa entre as espécies de nematóides, a maior média de mortalidade foi obtida em *S. carpocapsae* (Tabela II).

Após 4 dias das aplicações, houve diferença significativa quanto a virulência das espécies, sendo que *S. carpocapsae* é seguido por *S. feltiae* e *H. indica*. Também observa-se que as dosagens mais efetivas foram de 100 a 800 JI/inseto ($F=37,56$; $p<0,0001$). A avaliação em 6 dias após as aplicações apresentou diferença significativa para interações ($F=31,90$; $p<0,0001$). As espécies mais virulentas foram *S. carpocapsae* e *H. indica*, sendo que esta última já é estudada pelo Instituto Biológico para produção em larga escala, justificando os testes em laboratório e em campo.

Em relação aos tratamentos, houve diferença significativa na mortalidade com o aumento das dosagens nos tratamentos, sendo que de 800 a 400 JI/inseto não houve diferença significativa com até 90% de mortalidade de indivíduos. O grupo controle diferiu de todos os tratamentos.

Tabela II. Mortalidade de larvas de *A. diaperinus* obtidas pela influência dos tratamentos aplicados, durante as avaliações, para cada espécie de nematóide entomopatogênico (N=20).

Tratamentos	Avaliações	<i>H. indica</i>	<i>S. carpocapsae</i>	<i>S. feltiae</i>
		$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$
Controle	2 dias	0,25±0,50 e	0,50±0,58 e	0,25±0,50 e
	4 dias	0,25±0,50 d	0,50±0,58e	1,75±1,50 e
	6 dias	0,85±0,50 d	1,25±0,82 e	1,75±1,50 e
6,25 JI/inseto	2 dias	1,50±1,29 ed	2,25±1,89 bc	3,00±1,41 d
	4 dias	6,25±2,75 c	7,00±3,55 d	6,75±1,25 d
	6 dias	9,25±3,86 c	9,00±4,00 d	8,75±1,25 d
12,5 JI/inseto	2 dias	3,25±1,25 cd	2,75±2,21 bc	5,75±2,62 cd
	4 dias	9,50±4,50 c	10,50±2,08 c	9,75±0,95 c
	6 dias	11,50±5,80 bc	13,50±1,91 c	11,25±0,95 c
25 JI/inseto	2 dias	1,50±0,57 ed	5,00±2,70 b	5,25±1,70 cd
	4 dias	8,25±3,50 c	14,25±2,21 b	11,00±2,94 c
	6 dias	12,00±3,91 bc	17,50±1,00 ab	12,75±2,50 c
50 JI/inseto	2 dias	5,00±0,81 bc	5,25±1,70 b	7,00±2,16 b
	4 dias	14,50±1,91 b	13,75±2,88 b	11,50±1,29 c
	6 dias	15,75±2,36 ab	16,25±2,21 b	13,00±0,81 c
100 JI/inseto	2 dias	6,50±2,08 b	13,25±2,87 a	10,00±0,81 b
	4 dias	16,25±2,62 ab	19,00±0,81 a	15,50±1,91 b
	6 dias	18,50±2,38 a	19,25±0,50 a	16,50±2,08 b
200 JI/inseto	2 dias	16,00±3,55 a	13,25±4,99 a	11,50±0,58 ab
	4 dias	19,75±0,50 a	18,75±1,25 a	16,00±1,63 ab
	6 dias	20,00±0,00 a	19,50±0,57 a	17,25±1,70 b
400 JI/inseto	2 dias	16,50±2,08 a	16,50±3,87 a	13,50±1,29 a
	4 dias	20,00±0,00 a	20,00±0,00 a	18,00±0,81 a
	6 dias	20,00±0,00 a	20,00±0,00 a	19,50±0,57 ab
800 JI/inseto	2 dias	16,75±1,89 a	16,25±2,21 a	13,50±3,32 a
	4 dias	20,00±0,00 a	19,00±1,89 a	18,00±0,81 a
	6 dias	20,00±0,00 a	19,50±1,00 a	19,50±0,58 a

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações em cada espécie de nematóide entomopatogênico. Médias com as mesmas letras em cada coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se a média do número de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

A mortalidade de adultos apresentou diferença significativa para todos os parâmetros avaliados ($F=67,09$; $p<0,0001$). Houve diferença significativa na média de mortalidade em relação às espécies de nematóides ($F=5,61$; $p<0,0042$), tratamentos ($F=323,06$; $p<0,0001$) e avaliações ($F=102,66$; $p<0,0001$). Quanto as análises comparativas, a média de mortalidade apresentou diferença significativa para as interações espécies/tratamentos ($F=6,70$; $p<0,0001$) e para tratamentos/avaliações ($F=3,02$; $p<0,0001$). Nos tratamentos, a mortalidade para 800 JI/inseto chegou a mais de 80% para todas as espécies de nematóides avaliados. Nota-se que a mortalidade de adultos foi menor que em larvas para as mesmas dosagens. Quanto as avaliações, a mortalidade foi maior que em larvas para 2 e 4 dias após os tratamentos. Em adultos a mortalidade apresentou diferença significativa para as interações em relação as espécies sendo que a maior média foi para *S. feltiae* 2 dias após as aplicações ($F=9,22$; $p<0,0003$). Para os tratamentos houve diferença significativa sendo que nas maiores dosagens atingiu de 70 a 80% de mortalidade ($F=76,54$; $p<0,0001$). Neste período, a interação espécie/tratamento teve diferença significativa ($F=4,02$; $p<0,0001$) indicando efeito da virulência das espécies na mortalidade. Após 4 dias das aplicações, observamos que não há diferença significativa em relação as espécies de nematóides na mortalidade de adultos ($F=0,57$; $p<0,5506$) enquanto que os tratamentos apresentaram diferença significativa ($F=110,81$; $p<0,0001$) nas dosagens de 200 a 1600 JI/inseto, com 70 a 90% de mortalidade. Não houve diferença significativa entre a interação espécie/tratamento neste período ($F=1,83$; $p<0,061$), portanto a virulência das espécies de nematóides teria efeito 2 dias após as aplicações, enquanto que as dosagens seriam favorecidas pelo tempo de contato dos nematóides com os insetos. Assim como em larvas, as maiores dosagens facilitam a infecção dos insetos de acordo com o tempo de contato. Após 6 dias, mantém-se a diferença significativa na mortalidade em relação aos tratamentos sendo que as dosagens com maiores médias são de 100 a 1600 JI/inseto ($F=171,10$; $p<0,0001$) (Tabela III).

Tabela III. Mortalidade de adultos de *A. diaperinus* obtidas pela influência dos tratamentos aplicados durante as avaliações, para cada espécie de nematóide entomopatogênico (N= 20).

Tratamentos	Avaliações	<i>H. indica</i> $\bar{x} \pm DP$	<i>S. carpocapsae</i> $\bar{x} \pm DP$	<i>S. feltiae</i> $\bar{x} \pm DP$
Controle	2 dias	0,75±0,25 c	0,75±1,50 e	0,25±0,50 d
	4 dias	1,00±0,50 d	1,25±1,25 d	0,75±0,50 e
	6 dias	2,25±0,50 d	2,25±1,25 f	0,75±0,50 e
50	2 dias	9,75±1,70 ab	5,25±1,70 d	6,25±2,21 c
Jl/inseto	4 dias	13,00±2,16 bc	11,00±1,41 c	10,00±3,16 d
	6 dias	13,50±1,73 c	11,50±1,00 e	10,50±2,64 d
100	2 dias	8,50±2,38 b	7,25±2,21 cd	8,25±0,50 c
Jl/inseto	4 dias	15,00±1,57 bc	13,25±3,30 c	13,50±0,97 c
	6 dias	15,25±1,50 bc	13,75±3,30 d	14,00±1,63 c
200	2 dias	9,25±1,89 b	11,25±2,06 b	12,50±0,95 b
Jl/inseto	4 dias	14,50±1,29 bc	15,75±0,50 b	14,75±3,86 c
	6 dias	15,25±1,25 bc	17,00±0,81 bc	15,75±3,30 bc
400	2 dias	8,25±4,03 b	10,00±3,65 bc	14,50±1,73 b
Jl/inseto	4 dias	12,50±4,43 bc	15,75±0,95 b	16,25±2,06 bc
	6 dias	16,00±2,16 b	16,50±0,61 c	16,75±2,06 bc
800	2 dias	11,50±3,00 ab	17,25±1,50 a	17,50±2,64 a
Jl/inseto	4 dias	16,25±0,95 ab	18,75±1,50 a	18,75±1,25 ab
	6 dias	16,50±1,26 a	19,50±1,00 a	18,75±1,25 ab
1.600	2 dias	13,50±3,00 a	16,75±1,89 a	19,25±0,95 a
Jl/inseto	4 dias	18,25±1,50 a	18,25±0,50 a	20,00±0,00 a
	6 dias	18,75±0,50 a	19,00±0,81 ab	20,00±0,00 a

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações em cada espécie de nematóide entomopatogênico. Médias com as mesmas letras em cada coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se a média do número de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

Nas figuras 4 e 5 são evidenciados os aspectos do processo de infecção de larvas e adultos por *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. feltiae*. Observa-se que indivíduos infectados por *H. indica* apresentam coloração avermelhada, enquanto que para *S. carpocapsae* e *S. feltiae* a coloração é amarelo-leitosa, que caracterizam as diferenças entre as bactérias simbiotes presentes nestes nematóides.

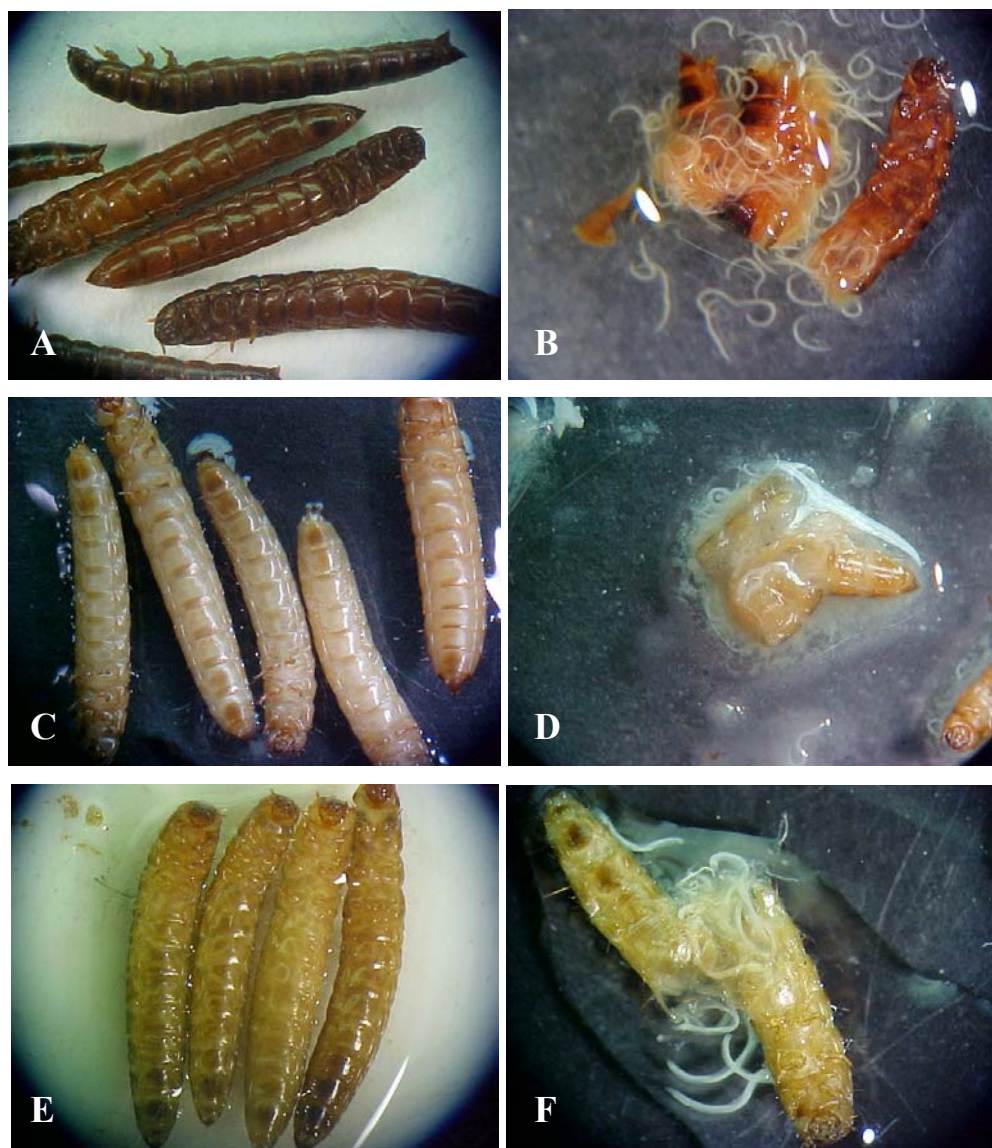


Figura 4. Prancha com imagens do aspecto de larvas de *A. diaperinus* infectadas por *H. indica* (CB-n05) (A e B), *S. carpocapsae* (CB-n02) (C e D) e por *S. feltiae* (CB-n21) (E e F).

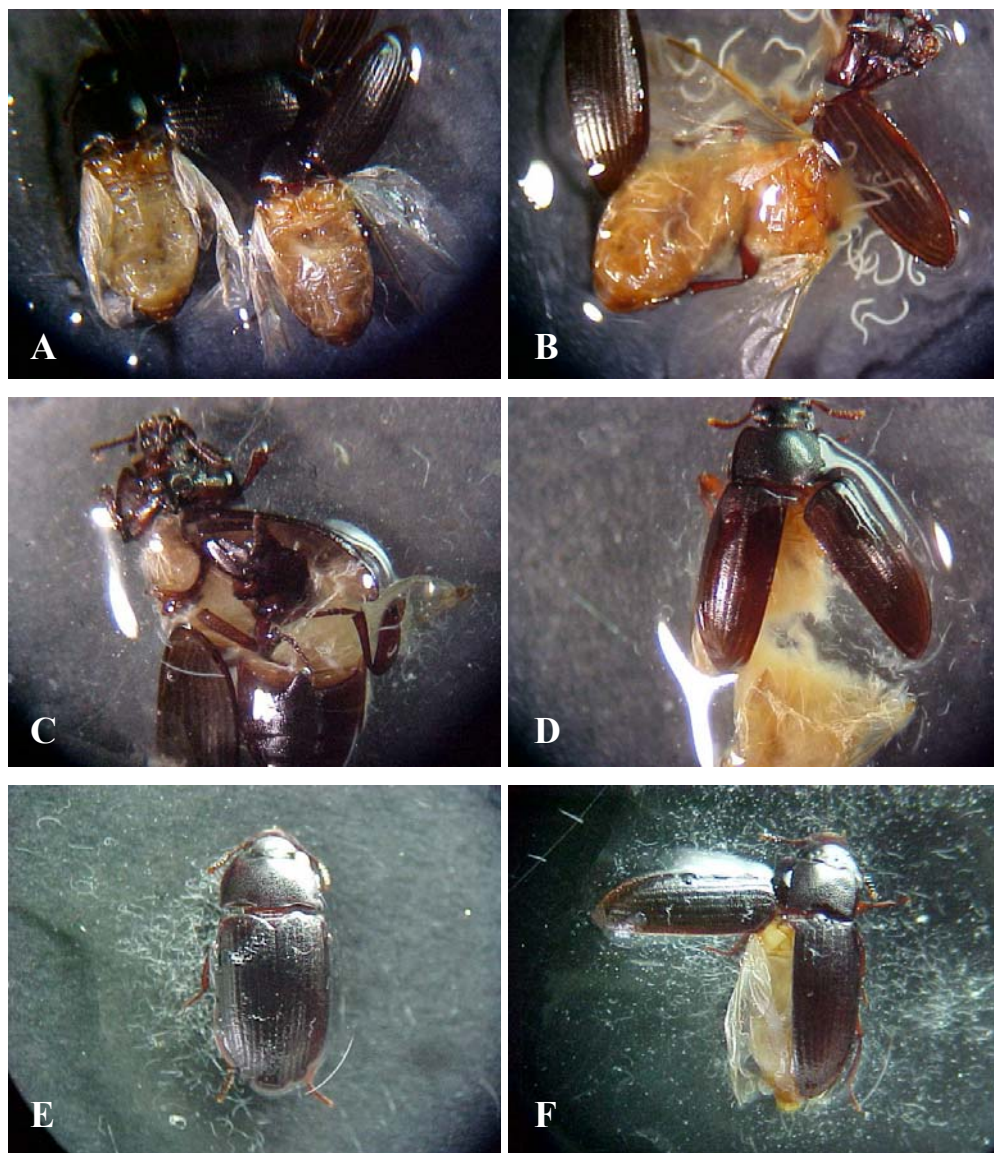


Figura 5. Prancha com imagens do aspecto de adultos de *A. diaperinus* infectadas por *H. indica* (CB-n05) (A e B), *S. carpocapsae* (CB-n02) (C e D) e por *S. feltiae* (CB-n21) (E e F).

3.2. Comparação dos bioensaios com aplicações do isolado *H. indica* em meio de criação e em papel-filtro contra larvas e adultos de *A. diaperinus*

A comparação entre os dois bioensaios, até 4 dias, apresentou diferença significativa para mortalidade de larvas e adultos nos diferentes tratamentos ($F=40,39$; $p<0,0001$). Quanto aos parâmetros avaliados, as médias de mortalidade para larvas e adultos foram significativas para o tipo de bioensaio ($F=57,42$; $p<0,0001$), tratamentos ($F=153,90$; $p<0,0001$) e avaliações ($F=126,93$; $p<0,0001$).

As análises comparativas para a mortalidade de larvas e adultos demonstraram que a mortalidade apresentou diferença significativa para as interações bioensaio/estágio ($F=20,25$; $p<0,0001$), bioensaio/tratamentos ($F=5,21$; $p<0,0002$), estágio/tratamento ($F=3,82$; $p<0,0026$) e tratamento/avaliações ($F=3,96$; $p<0,002$). Não houve diferença significativa para estágio ($F=3,68$; $p<0,065$), nas interações bioensaio/avaliações ($F=7,63$; $p<0,063$) e estágio/avaliações ($F=0,05$; $p<0,882$) (Tabelas IV e V).

Tabela IV. Mortalidade de larvas de *A. diaperinus* tratados por *H. indica* em relação aos tipos de bioensaios para cada tratamento (JI/inseto), durante as avaliações (N=20).

Tratamentos	Avaliações	Papel-Filtro		Meio de criação	
		$\bar{x} \pm DP$	T; p	$\bar{x} \pm DP$	T; p
Controle	2 dias	1,25 $\pm$ 2,25	1,00; 0,39 *	0,00 $\pm$ 0,00	#
	4 dias	1,25 $\pm$ 2,25	1,00; 0,39 *	0,00 $\pm$ 0,00	#
50 JI/inseto	2 dias	25,00 $\pm$ 4,08	12,24; <0,001	18,35 $\pm$ 6,42	5,71; <0,016
	4 dias	71,25 $\pm$ 8,53	16,68; <0,0005	35,02 $\pm$ 8,82	7,96; <0,0046
100 JI/inseto	2 dias	32,50 $\pm$ 10,48	6,24; <0,0008	39,17 $\pm$ 12,85	6,09; <0,009
	4 dias	81,25 $\pm$ 13,14	12,35; <0,001	55,00 $\pm$ 11,71	9,39; <0,003
200 JI/inseto	2 dias	80,00 $\pm$ 17,90	8,99; <0,003	38,32 $\pm$ 11,39	6,27; <0,007
	4 dias	98,75 $\pm$ 2,50	79,00; <0,0001	51,65 $\pm$ 12,63	8,17; <0,004
400 JI/inseto	2 dias	82,50 $\pm$ 10,40	15,85; <0,0005	54,15 $\pm$ 11,35	9,53; <0,0024
	4 dias	100,00 $\pm$ 0,00	#	69,15 $\pm$ 12,28	11,25; <0,0015
800 JI/inseto	2 dias	83,75 $\pm$ 9,46	17,69; <0,0004	58,32 $\pm$ 12,34	9,44; <0,0025
	4 dias	100,00 $\pm$ 0,00	#	83,32 $\pm$ 7,22	23,07; <0,0002

* As médias em cada coluna não apresentam diferença significativa para os parâmetros avaliados segundo o teste T ($\alpha<0,05$). # Indica que não houve análise estatística para o parâmetro avaliado.

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média (% de mortalidade) e seus desvios-padrão.

Para os diferentes tratamentos, a mortalidade de larvas foi crescente em relação ao aumento das dosagens e não houve diferença entre as dosagens de 200 a 800 JI/inseto.

Tabela V. Mortalidade de adultos de *A. diaperinus* tratados por *H. indica* em relação aos tipos de bioensaios para cada tratamento (JI/inseto), durante as avaliações (N=20).

Tratamentos	Avaliações	Papel-Filtro		Meio de criação	
		$\bar{x} \pm DP$	T; p	$\bar{x} \pm DP$	T; p
Controle	2 dias	1,25 $\pm$ 2,50	1,00; <0,39 *	0,00 $\pm$ 0,00	#
	4 dias	5,00 $\pm$ 0,00	#	4,00 $\pm$ 12,50	8,66; <0,003
50 JI/inseto	2 dias	48,75 $\pm$ 8,53	11,41; <0,001	20,00 $\pm$ 9,12	4,48; <0,022
	4 dias	66,25 $\pm$ 9,46	13,99; <0,0008	47,50 $\pm$ 13,22	7,18; <0,006
100 JI/inseto	2 dias	42,50 $\pm$ 11,90	7,14; <0,006	37,50 $\pm$ 8,66	8,66; <0,003
	4 dias	72,25 $\pm$ 7,50	20,33; <0,003	51,25 $\pm$ 9,46	10,82; <0,002
200 JI/inseto	2 dias	46,25 $\pm$ 9,46	9,77; <0,002	45,00 $\pm$ 5,77	15,58; <0,0006
	4 dias	76,25 $\pm$ 6,29	24,23; <0,0002	61,25 $\pm$ 18,42	6,64; <0,007
400 JI/inseto	2 dias	41,25 $\pm$ 20,15	4,09; <0,005	68,75 $\pm$ 14,36	9,57; <0,0024
	4 dias	80,00 $\pm$ 10,80	14,81; <0,001	76,25 $\pm$ 11,08	13,75; <0,0008
800 JI/inseto	2 dias	57,50 $\pm$ 15,00	7,66; <0,004	61,25 $\pm$ 19,31	6,34; <0,0079
	4 dias	82,50 $\pm$ 6,45	25,56; <0,0001	77,50 $\pm$ 28,72	5,39; <0,01

* As médias em cada coluna não apresentam diferença significativa para os parâmetros avaliados segundo o teste T ($\alpha=0,05$). # Indica que não houve análise estatística para o parâmetro avaliado.

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média (% de mortalidade) e seus desvios-padrão.

Há diferença significativa entre os dois tipos de bioensaios, com maior mortalidade de insetos em papel-filtro que em meio de criação, sendo que as larvas foram mais suscetíveis que os adultos. No bioensaio em meio de criação, não houve diferença significativa na mortalidade em relação ao estágio de desenvolvimento, pois larvas e adultos exibem o mesmo comportamento agregado e de com grande dispersão ao longo dos galpões. O comportamento de atração do nematóide é similar para ambos os estágios do inseto.

3.3. Determinação das concentrações letais de 3 nematóides entomopatogênicos para larvas e adultos de *A. diaperinus* e comparação entre os bioensaios em papel-filtro e em meio de criação com *H. indica*

Os resultados sobre o efeito da patogenicidade das 3 espécies de nematóides entomopatogênicos testados são apresentados na Tabela VI. De acordo com a CL₅₀, *S. carpocapsae* foi a espécie mais virulenta para larvas, seguida por *H. indica* e *S. feltiae*.

A CL₅₀ em adultos demonstra que a espécie mais virulenta foi *H. indica*, que apresentou maior mortalidade para todas as dosagens avaliadas, sugerindo maior virulência. Foi seguida por *S. carpocapsae* e *S. feltiae* que apresentaram mortalidade gradativa com picos após o 6º dia de tratamentos, tal como observado na Tabela III.

Tabela VI. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear obtidas pela análise de PROBIT para larvas e adultos de *A. diaperinus* tratados com os nematóides entomopatogênicos *H. indica*, *S. carpocapsae* e *S. feltiae*, produzidos “*in vivo*”, para bioensaio em papel-filtro.

Estágio do Inseto	Nematóides	CL ₅₀ (IC a 95%, JI/inseto)	CL ₉₀ (IC a 95%, JI/inseto)	Equação de Regressão
Larvas	<i>Hi</i> (CB-n05)	19,1 (13,3 - 25,8)	132,4 (91,6 - 223,3)	$y=3,753+0,894*\log x$
	<i>Sc</i> (CB-n02)	11,8 (5,7 - 19,2)	141,4 (84,3 - 321,1)	$y=3,725+1,189*\log x$
	<i>Sf</i> (CB-n21)	24,8 (15,4 - 36,2)	670,9 (407,9 - 1.343,1)	$y=3,044+1,526*\log x$
	<i>Hi</i> (CB-n05)	12,2 (0,4 - 46,7)	1.960,1 (972,2 - 5.858,9)	$y=4,497+0,462*\log x$
	<i>Sc</i> (CB-n02)	40,1 (16,9 - 67,1)	1.049,7 (645,7 - 2.340,8)	$y=3,550+0,904*\log x$
	<i>Sf</i> (CB-n21)	46,3 (3,2 - 107,8)	1.170,3 (493,9 - 18.391,2)	$y=3,478+0,913*\log x$

CL₅₀= dose letal para 50% dos insetos tratados; CL₉₀= dose letal para 90% dos insetos tratados.

As 3 espécies foram virulentas para larvas e adultos nos ensaios com papel-filtro, no entanto, a suscetibilidade varia em relação ao bioensaio realizado em meio de criação para *H. indica*. Em bioensaio em meio de criação, tanto larvas como adultos apresentam suscetibilidade similar ao nematóide *H. indica* em relação a CL₅₀, mas baseando-se na CL₉₀, as larvas de *A. diaperinus* apresentaram-se mais suscetíveis que os adultos. Os resultados demonstraram que os estágios imaturos foram mais suscetíveis que os adultos, no entanto, não se avaliou se a diferença na suscetibilidade entre estágios larvais iniciais, intermediários e finais. Portanto, seriam necessárias altas dosagens de *H. indica* para o controle de larvas e adultos em campo, o que difere dos resultados obtidos em bioensaio com papel-filtro (Tabela VII).

Tabela VII. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear obtidas pela análise de PROBIT para larvas e adultos de *A. diaperinus* tratados com o nematóide entomopatogênico *Heterorhabditis indica* (CB-n05) produzido “*in vitro*” para bioensaio em meio de criação.

Estágio do Inseto	CL ₅₀ (IC a 95%, JI/inseto)	CL ₉₀ (IC a 95%, JI/inseto)	Equação de Regressão
Larvas	186,4 (134,8 – 254,5)	1.488,1 (852,4 – 4.128,8)	$y=1,775+1,420*\log x$
Adultos	105,3 (17,2 – 207,1)	25.392,9 (3.257,3 – 141.201.157,6)	$y=3,912+0,538*\log x$

CL₅₀= dose letal para 50% dos insetos tratados; CL₉₀= dose letal para 90% dos insetos tratados.

3.4. Aplicações em aviário de corte contra larvas e adultos de *A. diaperinus* do isolado *H. indica* pela formulação “pó-molhável”

No Experimento I, houve diferença significativa na ocorrência de larvas (F=17,52; p<0,0001) e adultos (F=3,56; p<0,0019) para os parâmetros avaliados. Em larvas, observamos que houve diferença significativa na ocorrência para as avaliações (F=19,90; p<0,0001), tratamentos (F=17,03; p<0,0001) e para interação avaliações/tratamentos (F=16,97; p<0,0001). A maior ocorrência foi observada 12 dias após os tratamentos, principalmente no grupo controle. Para adultos, apenas as avaliações foram significativas

($F=11,78$; $p<0,0001$). As diferentes dosagens aplicadas não afetaram a densidade de adultos nas áreas com aplicação de nematóides. A maior média foi observada no pré-tratamento, enquanto que em 6 e 12 dias e entre os tratamentos não houve diferença significativa na ocorrência (Tabela VIII).

Tabela VIII. Média de adultos e larvas de *A. diaperinus* amostrados em contagem direta de amostras das áreas de aplicação para as diferentes dosagens de *H. indica* nas avaliações pré-tratamento, 6 dias e 12 dias após as aplicações.

	Adultos ($\bar{x} \pm DP$)			Larvas ($\bar{x} \pm DP$)		
	Pré-tratamento	6 dias	12 dias	Pré-tratamento	6 dias	12 dias
Controle	9,83a $\pm$ 6,27	6,00a $\pm$ 9,76	9,33a $\pm$ 16,22	1,67b $\pm$ 1,75	5,17a $\pm$ 4,02	325,01b $\pm$ 172,11
4 x 10⁷	28,83a $\pm$ 20,31	5,33a $\pm$ 5,85	2,83a $\pm$ 2,56	7,83b $\pm$ 10,83	1,67b $\pm$ 1,86	19,50a $\pm$ 37,64
4 x 10⁸	42,17a $\pm$ 44,14	4,17a $\pm$ 3,66	2,17a $\pm$ 2,86	2,00b $\pm$ 1,55	1,33b $\pm$ 1,75	10,00a $\pm$ 14,95
4 x 10⁹	27,33a $\pm$ 26,30	3,83a $\pm$ 4,96	1,00a $\pm$ 1,10	4,33b $\pm$ 5,09	0,50ab $\pm$ 0,84	0,00a $\pm$ 0,00

Médias com as mesmas letras em cada coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de insetos vivos coletados e seus desvios-padrão.

No experimento II, observa-se que quase não houve diferença significativa para mortalidade de insetos após os tratamentos ($F=2,53$; $p<0,052$). Apesar da maior mortalidade na dosagem mais alta (4×10^9 JI/hectare), não houve diferença significativa entre o grupo controle e as demais dosagens aplicadas (Figura 6).

Em ambos bioensaios de campo sugere-se que as avaliações podem ter sido afetadas pelas oscilações na densidade de insetos que ocorrem naturalmente nos galpões ao longo do lote. Nosso resultados não permitem sugerir que houve controle na densidade de insetos no galpão devido aplicação de *H. indica*, mesmo com a aplicação de altas dosagens. Portanto, as aplicações não afetaram as migrações, bem como a população de insetos remanescente no galpão, apesar de termos observado mortalidade causada pelo nematóide, sugere-se que os fatores abióticos tenham afetado a persistência do agente entomopatogênico (Figura 7).

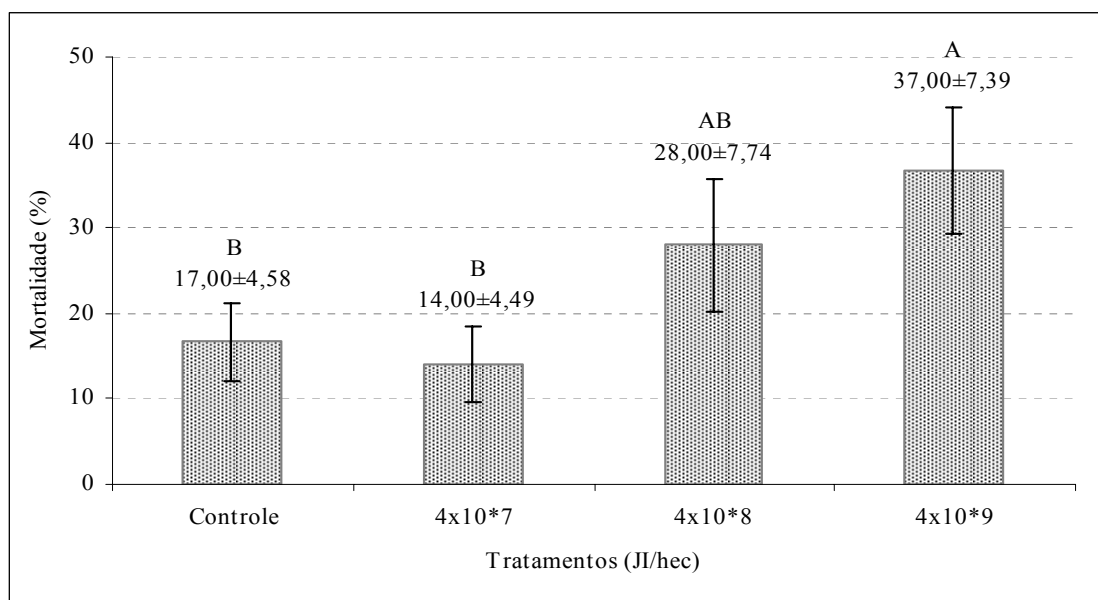


Figura 6. Mortalidade de *A. diaperinus* para diferentes tratamentos por *H. indica* 20 dias após as aplicações em campo. Médias com as mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$). Barras= Desvio Padrão.

* Mortalidade= Média de adultos não emergidos ou não encontrados durante a avaliação do experimento II (N=15 larvas).



Figura 7. Mortalidade de larvas e adultos de *A. diaperinus* causada por *H. indica* observada em campo após as aplicações dos tratamentos.

4. DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que os nematóides entomopatogênicos aplicados podem ser efetivos no controle de *A. diaperinus*, sendo que as larvas foram mais suscetíveis que os adultos aos tratamentos. As médias de mortalidade em larvas estariam mais associadas aos tratamentos e tempo de contato com os nematóides enquanto que em adultos seria virulência das espécies e o tempo de contato. A dificuldade de penetração em adultos poderia ter afetado esta relação tratamentos e tempo de contato. Nos tratamentos a mortalidade foi crescente, seguindo o aumento das dosagens de JI/inseto, portanto, podemos sugerir que a densidade tem influência na mortalidade de larvas, tanto quanto a virulência das espécies de nematóides aplicados.

As diferenças bioquímicas na reserva de energia dos nematóides entomopatogênicos de regiões de clima temperados e tropicais afetam sua virulência e patogenicidade por influenciarem a produção de antibiótico às bactérias simbiontes. Já o acúmulo de lipídios é um importante fator de tolerância e adaptação as temperaturas extremas em juvenis infectivos. As espécies do gênero *Steinernema* são mais ativas que em menores temperaturas que as espécies do gênero *Heterorhabditis*, mas as faixas de temperatura com atividades são menores que as faixas em espécies de *Heterorhabditis*, devido a relação entre as origens geográficas das famílias a que pertencem (MOLYNEUX 1986; GAUGLER & KAYA 1990, SELVAN *et al.* 1993a).

Considerando os efeitos de *S. feltiae* em adultos de *A. diaperinus*, os resultados obtidos por GEDEN & AXTELL (1988) e PEZOWICZ (2005) foram confirmados neste estudo. Sendo que o isolado de *S. feltiae*, obtido de solo em áreas próximas aos aviários avaliados na Polônia, foram mais efetivos na mortalidade que os mantidos em laboratório ou provenientes de produtos comerciais PEZOWICZ (2005), os isolados nativos apresentariam maior infectividade devido aos fatores climáticos que favorecem a sua permanência na região, bem como interação com a espécie alvo do local. Neste contexto, *H. indica* é uma espécie nativa, enquanto na maioria dos estudos foram observados nematóides nativos de climas temperados.

As diferenças em relação às avaliações sugerem que o período de contato com os nematóides entomopatogênicos favorece a mortalidade nos diferentes tratamentos. De

acordo com o manejo empregado e o tipo de infestação deve haver um estudo da dosagem a ser aplicada em campo para o controle de *A. diaperinus*, sendo que a virulência pode ser intensificada pelo tempo de contato entre insetos e nematóides entomopatogênicos. No caso de adultos, há o efeito inicial de virulência das espécies, seguido pelo efeito das dosagens. Tanto larvas quanto adultos foram suscetíveis a *H. indica*, com efeito posterior das dosagens e tempo de contato, que fornece controle eficiente em aviários de corte, no entanto, os estudos sobre esta espécie devem ser aprofundados.

Estudos em laboratório demonstraram que *S. feltiae* (= *S. carpocapsae*) foi mais virulento que *S. glaseri* e *H. heliothidis* em ensaios com *A. diaperinus*. Apenas os adultos foram suscetíveis ao *S. glaseri*. Os últimos instares foram mais suscetíveis a *S. feltiae* (= *S. carpocapsae*) que a *H. heliothidis* em ensaios com diferentes meios que reproduziam o ambiente de granjas. Já comparando a adultos e larvas, nestes mesmos substratos, observamos que os adultos foram menos suscetíveis aos nematóides. A virulência de *B. bassiana* a *A. diaperinus*, assim como os nematóides entomopatogênicos, indicou que os adultos são menos suscetíveis que as larvas, o que estaria associado a espessura do tegumento como forma de resistência a germinação e penetração do fungo. No caso de nematóides também poderia ser o tamanho das aberturas naturais que poderiam dificultar a penetração. Em comparações entre diferentes bioensaios, verificou-se que *S. feltiae* e *S. carpocapsae* foram virulentos a larvas e adultos de *A. diaperinus* e que ambos os estágios do inseto foram mais suscetíveis para aplicações em papel-filtro que para outros substratos testados (GEDEN *et al.* 1985, STEINKRAUS *et al.* 1991, GEDEN *et al.* 1998, SZALANSKI *et al.* 2004).

O aumento da dosagem de nematóide parece proporcionar uma maior resposta na mortalidade do inseto para o estágio de larva do que para o estágio de adulto. A suscetibilidade do inseto aos agentes de controle declina, com aumento no tamanho do corpo do inseto, bem como há estádios de imaturos mais suscetíveis. O 2º ínstar de *Bemisia tabaci* foi mais suscetível a *S. feltiae* que os estádios larvais finais, enquanto que o 1º estágio larval apresenta aberturas corporais muito reduzidas para a penetração do nematóide. No entanto, a taxa de infecção dos hospedeiros por nematóides pode diferir entre as espécies e estágios de desenvolvimento (CUTHBERTSON *et al.* 2003).

Em ensaios de infectividade com *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* contra larvas de *Aedes aegypti*, observou-se que a mortalidade teve correlação positiva com o aumento da dosagem e tempo de exposição aos tratamentos (MOLTA & HOMINICK 1989). Já larvas de *G. mellonella* tratadas com *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora* não apresentaram diferença significativa para as CL₅₀ em relação aos tratamentos e tamanhos de larvas. Em relação a TL₅₀ houve a variação de 2 a 3 horas para o tamanho das larvas (GLAZER 1992).

A principal causa que prejudica a permanência de nematóides entomopatogênicos em campo e seu maior potencial no controle biológico seria a sensibilidade às variáveis ambientais extremas. As estratégias para atingir os estágios mais suscetíveis ao nematóides e quais os pontos de aplicação que promoveriam o controle do inseto ainda não foram elucidadas.

Os organismos patógenos têm seu próprio nicho que pode ser compreendido pelo desenvolvimento epizootico caracterizado pela rápida mudança na prevalência da infecção. Tais mudanças dependem da reprodução massiva do patógeno que interajam, ou, são reforçadas pelas características do hospedeiro ou fatores ambientais. A transmissão eficiente inicial é necessária, pois a população hospedeira deve ser suscetível ao microorganismo; posteriormente, a proporção de hospedeiros suscetíveis declina e, o aumento do número de unidades de patógenos torna-se menos importante (FUXA 1987).

O habitat natural dos nematóides juvenis infectivos é o solo que compõe um ambiente complexo e dinâmico. Os organismos adaptados a estes habitats apresentam tolerância limitada as características extremas ao longo dos gradientes, sendo que o conhecimento dos fatores bióticos e abióticos limitantes favorecem o sucesso do uso dos nematóides como agentes de controle biológico (POPIEL & HOMINICK 1992).

Sugere-se que *Heterorhabditis indica*, em diferentes doses e ao longo do tempo, seria um bom agente de controle para *A. diaperinus*. Isto pode estar relacionado com sua habilidade pela busca ao hospedeiro coleóptero, localizando suas larvas que são muito ativas, que tendem a se agregar e são subterrâneas favorecendo a infecção dos indivíduos no pontos de aplicação. Outro fator que deve ser considerado é a patogenicidade causada por esta espécie de nematóide que está relacionada com a associação nematóide-bactéria.

A relação parasita-hospedeiro, com distribuição binomial negativa, por ser não aleatória, em ensaios com múltiplos hospedeiros e parasitas, não são adequados como

forma de avaliar a proporção da população de parasitas que é infectivo aos hospedeiros testados. Nos ensaios por contato direto, a influência do comportamento ecológico do hospedeiro, a interferência de outros patógenos, composição do solo, temperatura e umidade são fatores que são excluídos e afetam a infectividade. Além disso, não avaliam a influência da infectividade no princípio da invasão, efeitos de agregação e da distribuição binomial negativa na mortalidade do hospedeiro. Muitos ensaios podem não ser indicativos da eficiência de nematóides entomopatogênicos em campo e nem como forma de avaliar a persistência em campo (CONVERSE & MILLER 1999).

O contato inseto-nematóide, associado ao comportamento de busca pelo hospedeiro, é favorecido pelo tipo de bioensaio que facilita a penetração e encontro do hospedeiro. Em meio de criação, os insetos podem migrar para diferentes profundidades, apresentando distribuição agregada ou fracionada, sugerindo o que pode ocorrer em campo quando não há controle satisfatório, pois nematóides entomopatogênicos respondem a estímulos químicos ou táteis durante as interações bióticas e abióticas. Na aplicação de controle biológico e manejo do inseto-alvo, é necessário entender como tais interações afetam o agente de controle.

As extinções e reintroduções locais seriam consequência da dispersão forética dentro e entre os hospedeiros, com importância na distribuição das espécies de nematóides entomopatogênicos e de populações transitórias no espaço e no tempo. A distribuição fragmentada de nematóides entomopatogênicos explicaria a aparente raridade de polimorfismos, que favorece o fluxo gênico entre as populações, prevenindo a extensiva diferenciação gênica intra-específica. Esta aparente falta de diferenciação gênica dentro das espécies consiste com a falta de radiação adaptativa dentro dos grupos de nematóides entomopatogênicos é evidenciado pelo pequeno número de espécies descritas (STUART & GAUGLER 1994, COSTA *et al.* 2007).

A imunidade do hospedeiro e a competição intra-específica são os principais fatores extrínsecos a densidade-dependente que afetam a relação parasita-hospedeiro. O complexo nematóide-bactéria deprime o sistema imune do hospedeiro como parte do processo de infecção inicial. A resposta imune do hospedeiro resistente afeta o estabelecimento em relação a densidade-dependente pela inadequada nutrição, que afeta a sobrevivência e fecundidade pela competição por nutrientes e espaço, com efeitos diretos (pelo número de

JI/hospedeiro infectado) e indiretos (longevidade do JI) (SELVAN *et al.* 1993b, COSTA *et al.* 2007).

Há evidências de que o tempo de penetração favorece a maior virulência de *S. carpocapsae*, sendo que os insetos parasitados nas maiores dosagens demoram mais para morrer. Para *G. mellonella*, o reconhecimento e eliminação dos nematóides durante a resposta imune não elimina o mais virulento, mas as menores dosagens aplicadas por inseto. Os JI necessitam de um tempo mínimo para iniciar o desenvolvimento e conduzir os produtos de virulência para a hemolinfa do hospedeiro (SIMÕES *et al.* 2000).

O principal fator que pode prejudicar os nematóides entomopatogênicos de alcançarem o potencial máximo no controle biológico é a sua sensibilidade as variáveis ambientais extremas (KAYA & GAUGLER 1993). Assim, os nematóides podem ser afetados em substrato composto por esterco em sistemas de animais confinados devido a possível toxicidade dos componentes do esterco aos juvenis infectivos, além da ausência de vegetação e solo (GEORGIS *et al.* 1987).

Além da temperatura, outros fatores favorecem a agregação dos hospedeiros, como a oferta de recursos, composição do solo, umidade, densidade populacional e presença de patógenos no ambiente. A infecção por nematóides resulta não só na mortalidade, mas na determinação da concentração letal. Quando a concentração letal é alta, na população há indivíduos não infectados e infectados que sobrevivem e a agregação dos hospedeiros poderia favorecer a infecção por nematóides, pois os processos nos hospedeiros são do tipo densidade-dependente. A agregação da população hospedeira favorece a manutenção da população natural de nematóides durante os processos inoculativos de controle biológico (WESTERMAN 1999).

Em estudos sobre a distribuição de nematóides entomopatogênicos nos pontos de aplicação na presença de hospedeiros, notou-se que houve heterogeneidade espacial na distribuição nos pontos e ao longo dos pontos de aplicação. A distribuição fragmentada é afetada pela distribuição de recursos e as interações inter e intra-específicas das populações com a influência do fluxo gênico, competição, predação e parasitismo. A distribuição de juvenis infectivos nos pontos de aplicação pela variabilidade espacial e temporal estão associadas a abundância de espécies de hospedeiros suscetíveis e número de juvenis infectivos/hospedeiro que se relacionam com a capacidade de dispersão, encontro e

penetração nos hospedeiros e, sua habilidade de persistirem no ambiente (STUART & GAUGLER 1994).

As diferenças nas estratégias de localização favorecem a especialização pelo tipo de comportamento dos hospedeiros, já que a entomofauna de solo é espacial e temporalmente variável e estas estratégias limitam as espécies suscetíveis. Portanto, limita a infecção de espécies móveis, sedentárias ou subterrâneas, bem como reduz a competição entre as espécies de nematóides que ocorrem no mesmo habitat (CAMPBELL & GAUGLER 1993).

Deve-se atentar para as condições de baixa umidade do substrato em aviários, tipo de piso (pavimentado ou solo) e locais onde há focos de agregação dos estágios de desenvolvimento. Sendo este nematóide produzido em larga escala e por ser uma espécie nativa, favorece o entendimento das características bióticas e abióticas da espécie alvo e do seu agente de controle que pertencem à mesma região geográfica.

O presente estudo não avaliou quais as condições ambientais envolvidas no tempo de permanência deste nematóide em campo. Seriam necessárias observações das condições ambientais que interferem a taxa de infecção do nematóide e que poderiam ser significativos para o controle do coleóptero. As diferenças na ocorrência de larvas e adultos nas avaliações em campo não podem ser apenas consideradas como controle da população, já que trata-se de inseto altamente móvel e que poderia ter migrado para outros pontos do galpão.

A necessidade de altas dosagens do nematóide para o controle de larvas e adultos de *A. diaperinus* em granjas seria viabilizada aplicando o nematóide somente embaixo dos comedouros, onde há altas densidades e agregação do coleóptero. Isto pode ser comparado com o método de associação com iscas atrativas ao inseto.

O uso de nematóides entomopatogênicos no controle de uma das principais pragas do cultivo de bananas, o coleóptero *Cosmopolites sordidus* (Germar), parece ser efetivo com o uso de iscas de feromônio para atração, que contêm nematóides entomopatogênicos, que infectam insetos tem bons resultados quando comparado com tratamentos à base de inseticidas (CHABRIER *et al.* 2003).

TREVERROW & BEDDING (1993) observaram que o uso de armadilhas contendo nematóides entomopatogênicos poderia ser efetivo em campo. Observaram que mesmo

havendo a necessidade de altas densidades de infectivos juvenis nas armadilhas, obtiveram o controle de adultos, tornando este método economicamente viável.

A baixa eficiência de *H. indica* no controle, quando aplicado no solo batido estaria associada a extrema compactação do solo no piso dos galpões, reduzindo a absorção da calda de nematóide aplicada, além de dificultar a locomoção do organismo e reduzir a aeração do ambiente.

A aplicação de *S. feltiae* contra *A. diaperinus* em ensaios com solo, apresentou 94% de mortalidade já no primeiro dia de tratamento para larvas de último ínstar. Não houve diferença entre os galpões tratados e não-tratados, o que teria relação com o comportamento do inseto, já que as larvas tendem a migrar para o solo durante a pupação. As toxinas provenientes do esterco, aumento da temperatura, que coincide com a redução na densidade de nematóides e, patógenos no ambiente teriam afetado a permanência no ambiente (GEDEN & AXTELL 1988). ISHIBASHI & KONDO (1986) em ensaios com similares com *G. mellonella* em areia observaram que houve queda de 100 a 13% na densidade de *S. feltiae* em 4 a 6 semanas a temperatura de 25°C.

O controle moderado da população de *A. diaperinus* por *S. feltiae*, seria afetado pela emergência de novas gerações remanescentes, sendo que a média de controle para as diferentes dosagens chegou a 15%. O período de declínio da população de nematóides, a partir da 5ª a 9ª semana após as aplicações, coincidiu com o aumento das temperaturas diárias no interior dos galpões (GEDEN & AXTELL 1988).

Sugere-se que os resultados obtidos em campo no controle de *A. diaperinus* foram afetados pelas altas temperaturas no interior do galpão, influenciando a permanência e infecção pelos nematóides. Além disso, o tipo de piso, composto por solo compactado com pedras e, o substrato que retém umidade e amônia, favorecem a mortalidade após as aplicações. Não só a metodologia de aplicação, mas os fatores bióticos e abióticos tiveram influência na eficiência de *H. indica* no controle em campo. O presente estudo mostra que a aplicação do nematóide embaixo dos comedouros, visando equilibrar os focos de criação do inseto poderia contribuir para o controle de *A. diaperinus* em aviários, minimizando os impactos causados pelos inseticidas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEDDING, R.A. 1984. Large scale production, storage and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. **Ann. Appl. Biol.** **104**, 117-120.

BEDDING, R.A. & AKHURST, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. **Nematologica** **21**, 109-110.

BEDDING, R.A. & MILLER, L.A. 1981. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*, in potted plants. **Ann. Appl. Biol.** **99**, 211-216.

CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Behaviour** **126** (3-4), 155-169.

CHABRIER, C., MAULEON, H. & QUÉNÉHERVÉ, P. 2003. Use of entomopathogenic for banana back weevil control in Martinique. **XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia**, Livro de Resumos, p. 46.

CHERNAKI, A.M. & ALMEIDA, L.M. 2001. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotrop. Entomol.** **30** (3), 365-368.

CHERNAKI-LEFFER, A.M. 2004. **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.** Tese de Doutorado, UFPR, Curitiba-PR. 128 p.

CHERNAKI-LEFFER, A.M., BIESDORF, S.M., ALMEIDA, L.M., LEFFER, E.V.B. & VIGNE, F. 2002. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e em cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Avícola** **4**, 1-9.

CONVERSE, V. & MILLER, R.W. 1999. Development of the one-on-one quality assessment assay for entomopathogenic nematodes. **J. Invertebr. Pathol.** **74**, 143-148.

COSTA, J.C.R., DIAS, R.J.P. & MORENZ, M.J.F. 2007. Determining the adaptation of entomopathogenic nematode multiplication of *Heterorhabditis riobravus* and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) in larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Parasitol. Res.** **102**, 139-144.

CUTHBERTSON, A.G.S., HEAD, J., WALTERS, K.F.A. & GREGORY, S.A. 2003. The efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against the immature stages of *Bemisia tabaci*. **J. Invertebr. Pathol.** **83**, 267-269.

DESPINS, J.L., CRAIG-TURNER, E. JR. & RUSZLER, P.L. 1987. Construction profiles of high rise caged layer houses in association with insulation damage caused by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) in Virginia. **Poult. Sci.** **66**, 243-250.

FINNEY, D.J. 1972. **Probit Analysis**. Cambridge University Press, Cambridge. 255 p.

FOLEGATTI, M.E.G., ALVES, S.B., KAWAI, P.R.C. & BOTELHO, P.S.M. 1988. Nova metodologia para produção “in vivo” de *Neoplectana carpocapsae* Weiser. **Nematol. Bras.** **12**, 76-83.

FRANCISCO, O. 1996. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) associado ao esterco em granjas de aves poedeiras: fenologia, estrutura etária e parasitismo. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 116 p.

FUXA, J.R. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. **Ann. Rev. Entomol.** **32**, 225-251.

GAUGLER, R., GALZER, I., CAMPBELL, J.F. & LIRAN, N. 1994. Laboratory and field evaluation of an entomopathogenic nematode genetically selected for improved host-finding. **J. Invertebr. Pathol.** **63**, 68-73.

GAUGLER, R. & KAYA, H.K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press: Boca Raton, Boston, USA. 365 p.

GEDEN, C.J., ARENDS, J.J., RUTZ, D.A. & STEINKRAUS, D.C. 1998. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. **Biol. Contr.** **13**, 71-77.

GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. 1987. Factors affecting climbing and tunneling behaviour of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Econ. Entomol.** **80**, 1197-2004.

GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. 1988. Effect of temperature on nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) treatment of soil for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in turkey houses. **J. Econ. Entomol.** **81** (3), 800-803.

GEDEN, C.J., AXTELL, R.C. & BROOKS, W.M. 1985. Susceptibility of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *Steinernema glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **J. Entomol. Sci.** **20**, 331-339.

GEORGIS, R. KAYA, H.K. & GAUGLER, R. 1991. Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) on nontarget arthropods. **Environ. Entomol.** **20** (3), 815-822.

GEORGIS, B.; MULLENS, A. & MEYER, J.A. 1987. Survival and movement of insect parasitic nematodes in poultry manure and their infectivity against *Musca domestica*. **J. Nematol.** **19**, 292-295.

GEORGIS, R. & POINAR, G.O. JR.,. 1983. Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana glaseri* (Nematoda: Steinernematidae). **J. Nematol.** **15**, 329-332.

GLAZER, I. 1992. Invasion rate as a measure of infectivity of steinernematid and heterorhabditid nematodes to insects. **J. Invertebr. Pathol.** **59**, 90-94.

GRAY, P. A. & JOHNSON, D. T. 1983. Survival of the nematode *Neoplectana carpocapsae* in relation to soil temperature, moisture and time. **J. Ga. Entomol. Soc.** **18**, 454-460.

GREWAL, P.S., SELVAN, S. & GAUGLER, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment and reproduction. **J. Therm. Biol.** **19** (4), 245-253.

HAZIR, S., STOCK, P., KAYA, H.K., KOPPENHOFER, A.M. & KESKIN, N. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). **J. Invertebr. Pathol.** **77**, 243-250.

ISHIBASHI, N. & KONDO, E. 1986. *Steinernema feltiae* (DD136) and *S. glaseri*: persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes . **J. Nematol.** **18**, 310-316.

KAYA, H.K. & GAUGLER, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Ann. Rev. Entomol.** **38**, 181-206.

KUNG, S.P., GAUGLER, R. & KAYA, H.K. 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. **J. Nematol.** **22** (4), 440-445.

LAMBKIN, T. A. 2001. **Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation.** Disponível em : < www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf >. Acesso em setembro de 2003.

LEITE, L.G., BATISTA-FILHO, A. & PRADA, W.L.A. 1990. Produção de *Neoplectana glaseri* (Steiner) em lagartas vivas e mortas de *Galleria mellonella* L. **Rev. Agric.** **65**, 225-231.

LEORA SOFTWARE. 1987. **POLO-PC: A user's guide to probit analysis or logit analysis.** Leora Software, Berkeley, California, USA.

MOLTA, N.B. & HOMINICK, W.H. 1989. Dose- and time-response assessment of *Heterorhabditis* and *Steinernema feltiae* (Nematoda: Rhabditida) against *Aedes aegypti* larvae. **Entomophaga** **34**, 485-493.

MOLYNEUX, A.S. 1986. *Hereterorhabditis* spp. and *Steinernema* (= *Neoaplectana*) spp.: temperature, and aspects of behavior and infectivity. **Exp. Parasitol.** **62**, 169-180.

PEZOWICZ, E. 2005. **Entomopatogenic nematodes as a factor reducing the population density of the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus* Panzer) in chicken broilers.** Publications of Warsaw Agricultural University. Ciszewskiego, Warsaw, Polonia. 92 p.

PFEIFFER, D.G. & AXTELL, R.C. 1980. Coleoptera of poultry manure in caged-layer houses in North Carolina. **Environ. Entomol.** **9**, 21-28.

POINAR, G.O. JR. 1979. **Nematodes for biological control of insects.** CRC Press: Boca Raton, Florida, USA, 277 p.

POPIEL, I. & HOMINICK, W.M. 1992. Nematodes as biological control agents: Part II. **Adv. Parasitol.** **31**, 381-433.

SALIN, C., DELETTRE, Y.R., CANNAVACCIUOLO, M. & VERNON, P. 2000. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **Eur. J. Soil. Biol.** **36**, 107-115.

S.A.S. Institute Inc. 2003. **S.A.S. User's guide: Statistic.** Versão 9.13. Cary, North Caroline, USA.

SEGAL, D. & GLAZER, I. 2000. Genetics for improving biological control agents: the case of entomopathogenic nematodes. **Crop Prot.** **19**, 685-689.

SELVAN, S., CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R. 1993a. Density-density effects on entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) within an insect host. **J. Invertebr. Pathol.** **62**, 278-284.

SELVAN, S., GAUGLER, R. & LEWIS, E.E. 1993b. Biochemical energy reserves of entomopathogenic nematodes. **J. Parasitol.** **79** (2), 167-172.

SIMÕES, N., CALDAS, C. ROSA, J.S., BONIFASSI, E. & LAUMOND, L. 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernema carpocapsae* to *Galleria mellonella*. **J. Invertebr. Pathol.** **75**, 47-54.

SIMS, S.R., DOWNING, A.M. & PERSHING, J.C. 1992. Comparison of assays for the determination of entomogenous nematode infectivity. **J. Nematol.** **24 (2)**, 271-274.

STEINKRAUS, D.C., GEDEN, C.J. & RUTZ, D.A. 1991. Suscetibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana* (Moniales: Moniliaceae): effects of host stage, substrate, formulation and host passage. **J. Med. Entomol.** **28 (3)**, 314-321.

STUART, R.J. & GAUGLER, R. 1994. Patchiness in populations of entomopathogenic nematodes. **J. Invertebr. Pathol.** **64**, 39-45.

SZALANSKI, A.L., PALMER, T.B., MCKAY, T. & STEELMAN, C.D. 2004. Infectivity of *Steinernema* spp. (Nematoda: Steinernematidae) to adults litter beetles, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. **Biocontrol Sci. Technol.** **14 (1)**, 81-85.

TREVERROW, N.L. & BEDDING, R.A. 1993. Development of a system for the control of Banana Weevil Borer, *Cosmopolites sordidus* with entomopathogenic nematodes. In: BEDDIND, R., AKHURST, R., KAYA, H., (Ed.) **Nematodes and the biological control of insect pests**. CSIRO, Melbourne, Australia, 41-47 p.

WANG, Y., GAUGLER, R. & CUI, L. 1994. Variations in immune response of *Popillia japonica* and *Acheta domesticus* to *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema* species. **J. Nematol.** **26 (1)**, 11-18.

WESTERMAN, P.R. 1999. Agregation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., among host insects at 9 and 20°C and effects on efficacy. **J. Invertebr. Pathol.** **73**, 206-213.

CAPÍTULO II

Avaliação do efeito inseticida em população de *A. diaperinus* exposta a piretróides e regulador de crescimento de insetos

Resumo: Bioensaios foram conduzidos em população de *A. diaperinus*, proveniente de aviário de corte no município de Louveira, SP, com histórico de período prolongado e contínuo de aplicação de controle químico, que refletiam falhas no controle populacional e altos níveis de infestação do inseto. As metodologias empregadas foram por aplicações dos inseticidas em meio de criação e tópicos que apresentaram diferenças significativas na mortalidade de adultos, com as maiores médias para o bioensaio por aplicação tópica. As CL_{50} indicaram que cipermetrina foi mais efetiva em aplicações em meio de criação, enquanto ciflutrina em tratamentos tópicos. A deltametrina não afetou a mortalidade de adultos em ambos os bioensaios. Quanto ao triflumuron, houve diferença significativa na mortalidade de larvas e emergência de adultos, no entanto os altos valores das CL_{50} e CL_{90} sugerem tolerância da população aos produtos avaliados.

1. INTRODUÇÃO

A. diaperinus é um inseto praga, cosmopolita, comum em sistemas de criação avícola, no qual ocorrem em grandes densidades no esterco e materiais que servem de cama para as aves. Devido sua capacidade de abrigar e transmitir diversos patógenos e/ou parasitas, bem como causarem prejuízos econômicos pelos danos aos materiais de isolamento térmico estruturas dos galpões, seus estudos são voltados, principalmente, ao controle nestes sistemas de produção animal. As falhas no controle deste inseto, bem como a detecção de resistência, têm sido relatadas em diversos estudos (PFEIFFER & AXTELL 1980, GEDEN & AXTELL 1987, AXTELL & ARENDS 1990, GOODWIN & WALTMAN 1996, RUEDA & AXTELL 1996, AXTELL 1999).

Os inseticidas não são considerados agentes mutagênicos, as mudanças conduzidas nas populações expostas seriam resultado de mutações que ocorrem por outras razões, devido as características genéticas presentes numa parcela da população original (HOSKINS & GORDON 1956). Quando uma população de insetos é exposta a inseticidas

que matam independente da densidade populacional, o tamanho e a taxa de crescimento são reduzidos neste contato inicial, sendo que aumentam quando a frequência dos genótipos resistentes aumenta na população de inseto-alvo (FUTUYMA 1997).

A. diaperinus tem sido controlado com piretróides e reguladores de crescimento no Brasil, sendo que os custos com controle químico são variáveis, podendo chegar a US\$ 1.250,00 mensais por galpão, considerando um aviário com produção de 600.000 aves (CHERNAKI-LEFFER 2004).

A proliferação de *A. diaperinus* em aviários estão associadas ao período de eficácia dos produtos, que seria menor que o período de desenvolvimento dos lotes, a estrutura dos galpões, que favorece as migrações entre aviários e entre galpões e a adição de cama não tratada que fornece ambiente favorável para a reprodução e desenvolvimento do inseto (SALIN *et al.* 2003).

VAUGHAN & TURNER (1984) avaliaram a toxicidade de diversos produtos em populações de *A. diaperinus* dos EUA e observaram que para a maioria dos inseticidas, as larvas foram mais suscetíveis que os adultos. WAKEFIELD & COGAN (1990) observaram que cerca de 50% dos adultos de populações de *A. diaperinus* na Inglaterra foram resistentes aos organofosforados avaliados (iodofenóis e malation).

Comparações entre populações de *A. diaperinus* na Austrália nos períodos de 2000-2001 e 2004-2005, indicam que houve aumento nas CL₅₀ e sugerem que o grau de resistência seria diretamente afetado pelo número de aplicações de ciflutrina nas áreas avaliadas. Já as populações sensíveis tiveram menor exposição ao princípio ativo e certa distancia geográfica das áreas com as populações mais resistentes. Portanto, o uso contínuo de ciflutrina, associado às migrações entre populações e o tipo de manejo das camas nos aviários favorecem o aumento dos níveis de resistência (LAMBKIN 2005).

Os efeitos das benzoilfeniluréias em larvas de *A. diaperinus* indicaram que as CL₅₀ e CL₉₀ foram variadas para cerca de 22 moléculas avaliadas, sugerindo que os efeitos variam quanto ao veículo do produto, tipo de molécula e a suscetibilidade do estágio e espécie do inseto-alvo (DEMILO *et al.* 1995).

Considera-se que os tratamentos por triflumuron em ovos de *A. diaperinus* afetam principalmente a fertilidade, sendo que fêmeas emergidas de ovos tratados pelo inseticida

apresentaram até 70% de esterilidade, comparadas às fêmeas oriundas de ovos não tratados (BEGUN *et al.* 2003).

CHERNAKI-LEFFER *et al.* (2006) avaliaram os efeitos de clorfluazuron, triflumuron e diflubenzuron em de *A. diaperinus* e notaram que não houve diferença significativa da mortalidade em relação ao tamanho das larvas, bem como os resultados obtidos em relação à efetividade dos produtos avaliados corroboram ELEK & LONGSTAFF (1994). No entanto, contrasta com os resultados de MILLER & REDFERN (1988) que obtiveram mortalidade de 90% para larvas tratadas com triflumuron, em dosagem maior. Tais diferenças seriam justificadas pelas metodologias adotadas nos bioensaios.

A heterogeneidade das respostas pela exposição aos inseticidas apresenta níveis que variam de acordo com a espécie-alvo, tipo de molécula e método de aplicação durante os bioensaios. Portanto, a definição destas questões explicaria a resistência ou tolerância ao controle empregado (HOSKINS & GORDON 1956).

Os resultados por aplicação tópica devem ser avaliados cuidadosamente, já que em campo o contato com inseticida seria mais oral que cuticular. Portanto, os tipos de bioensaios têm efeitos nas avaliações de resistência e nas decisões de manejo a serem empregadas (DARBRO & MULLENS 2004).

HAMM *et al.* (2006) indicaram um impacto negativo no sucesso de aplicação de manejo das populações de *A. diaperinus* por inseticidas, sendo necessários estudos de monitoramento dos níveis de resistência, relacionando os resultados obtidos em laboratório e identificando o nível de controle das populações observado em campo.

A resistência aos piretróides e reguladores de crescimento é afetada pela periodicidade da aplicação, na qual se observam as falhas devido ao uso indiscriminado e prolongado de inseticidas, principalmente pelo aumento da dose recomendada com o aparecimento de resistência.

A avaliação da suscetibilidade aos piretróides e reguladores de crescimento de insetos permite traçar estratégias para retardar ou diminuir a resistência em populações de campo. O presente estudo visou avaliar os efeitos dos inseticidas que foram aplicados por períodos prolongados em aviário de corte no município de Louveira, SP contra larvas e adultos de *A. diaperinus*, mediante a bioensaios em meio de criação e tópicos, com

considerações sobre como esta população se comporta após os tratamentos, dando subsídios para o controle e manejo adequados que justificam as taxas de infestação neste modelo de criação de aves.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta e criação de *Alphitobius diaperinus* em laboratório

A população de *A. diaperinus* utilizada nos experimentos foi obtida a partir de coletas em galpão de criação em aviários de corte, no município de Louveira, SP (23°05'11" S - 46°57'02" O) e foi mantida no Laboratório de Entomologia, no Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas. Os bioensaios foram conduzidos no período de março de 2006 a junho de 2007.

Em laboratório, os adultos foram separados e colocados em recipientes plásticos de 4 litros contendo serragem e quirera (ração para camundongos, farelo de milho e fubá), na proporção de 1:2, simulando o habitat natural de desenvolvimento deste coleóptero em aviários de corte. Este meio era umedecido 3 vezes por semana com água borrifada na sua superfície. Os potes de criação tinham tampas com abertura central, cobertas com organza que permitiam a aeração e eram mantidos em câmara climatizada, com temperatura ($26^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($60\pm 1\%$) e fotoperíodo (12L:12E) controlados.

Para a oviposição dos adultos eram mantidos pedaços de papelão corrugado (20 x 20 cm) no interior de canos de PVC com 4 cm de diâmetro (armadilhas de Arends), colocados na superfície do meio, atraindo os adultos para suas frestas, que associados a umidade retida no papelão estimulava a oviposição na obtenção de geração de larvas (F_1). As larvas obtidas eram separadas dos adultos e colocadas em potes de criação de nas mesmas condições que os adultos até atingirem o tamanho mediano (1 a 1,2 cm de comprimento) necessário para a realização dos bioensaios (GEDEN *et al.* 1985, FRANCISCO 1996, CHERNAKI-LEFFER 2004). Houve a tentativa de obtenção de geração de adultos (F_1) em laboratório, mas não foi possível por não atingir o número de adultos suficiente para realização dos bioensaios, devido a grande mortalidade ao longo do desenvolvimento e variação no tempo de emergência destes indivíduos.

2.2. Manejo do aviário para controle de *A. diaperinus*

As aplicações dos inseticidas triflumuron e ciflutrina eram realizadas a cada lote até o final de 2005, sendo que estes produtos já estavam sendo aplicados há 3 anos. Os produtos eram aplicados de 3 a 5 dias antes da entrada dos lotes e as camas, geralmente, eram trocadas a cada 2 ciclos de frangos. Quando havia a troca das camas, os galpões eram lavados e desinfetados, com a pulverização dos produtos sobre o piso e frestas. Em lotes que não havia as trocas de camas, estas eram revolvidas para evitar a compactação e o lança-chamas era passado em toda sua extensão para queimar as penas. Posteriormente, eram pulverizados os tratamentos químicos sobre a cama. No início de 2006, para o controle de *A. diaperinus* foi adotada a aplicação de produto químico a base de cipermetrina em pó, que era aplicada seguindo os mesmos procedimentos descritos acima.

2.3. Bioensaios com piretróides

Após o estabelecimento da população de *A. diaperinus* em laboratório, foram avaliados os efeitos de 3 inseticidas piretróides em indivíduos adultos, com a aplicação de 2 tipos de bioensaios: em meio de criação, simulando o substrato encontrado em aviários de corte e, aplicação tópica, que é uma das metodologias tradicionais segundo a FAO (1975).

Os inseticidas Ciflutrina (formulação comercial 5% de ingrediente ativo, Solfac® CE 5, Bayer), Cipermetrina (formulação comercial 15% de ingrediente ativo, Cyperpour 15®, Purina) e Deltametrina (formulação comercial 25% de ingrediente ativo, K-Othrine® SC 25, Bayer) foram testados, segundo as recomendações dos fabricantes, para a realização das diluições. A partir da solução inicial foram obtidas as diluições seriadas, em ppm. Os produtos foram diluídos diretamente em água decolorada, utilizada para a preparação dos bioensaios, enquanto que os grupos controle foram tratados apenas com água decolorada (Quadro I).

Quadro I. Diluições utilizadas nos bioensaios, em ppm, de ingrediente ativo.

Ciflutrina	Cipermetrina	Deltametrina	Triflumuron
0,78	0,87	0,78	1,875
1,56	1,75	1,56	3,75
3,12	3,5	3,12	7,50
6,25	7	6,25	15
12,5	14	12,5	30
25	28,12	25	60
50	56,25	50	120
100	112,5	100	240
200 *	225	200 *	480
400	450 *		960 *
	900		

* Dose indicada pelo fabricante.

O bioensaio com ciflutrina em meio de criação foi realizado em 2 etapas e as avaliações foram 1, 3, 5, 6, 7, 8, 10 30 e 40 dias após os tratamentos. Para os bioensaios com cipermetrina e deltametrina em meio de criação, as avaliações foram 7, 14, 21 e 30 dias após os tratamentos. Os períodos longos de avaliação em meio de criação foram determinados para obtenção de situação de contato com inseticida similar ao desenvolvimento dos lotes em aviários (como será detalhado nos resultados deste capítulo). Em aplicação tópica dos 3 piretróides, as avaliações foram realizadas 24 e 48 horas após os tratamentos. Avaliações utilizadas para determinar as DL_{50} e DL_{90} dos bioensaios foram 30 dias, para o bioensaio em meio de criação, e, 48 horas para bioensaio por aplicação tópica.

O substrato para os bioensaios foi constituído de serragem e meio, à base de ração para camundongos, farelo de milho e fubá, na proporção de 1:2, respectivamente. A água foi adicionada na proporção de 1 parte de substrato para 2,5 partes de água declorada. Foram feitas de 4 a 5 réplicas para cada tratamento, totalizando 100 indivíduos por bioensaio com ciflutrina e cipermentrina e, 3 réplicas, totalizando 90 indivíduos nos bioensaios com deltametrina.

Previamente a realização dos bioensaios por aplicação tópica, os adultos foram anestesiados ao serem colocados em geladeira, por até 3 minutos; posteriormente, foram colocados sobre bandeja com gelo, coberta por papel alumínio. Os insetos foram separados em grupos de 25 a 30 indivíduos e a solução de 1µL para cada tratamento e grupos controle foram aplicados na parte dorsal do tórax dos insetos com auxílio de micropipeta previamente calibrada (AMBRÓS 2003).

Para a realização dos bioensaios foram utilizados adultos provenientes de campo, bem esclerotizados, de tamanhos similares, sem a determinação do sexo e idade dos indivíduos (CHERNAKI-LEFFER 2004). Anteriormente, para evitar o estresse do deslocamento do campo para laboratório, os adultos foram mantidos em condições de criação por 7 dias antes dos experimentos (LAMBKIN 2001).

Os bioensaios foram conduzidos em potes plásticos transparentes de 250 mL, com tampas com abertura central e cobertos por organza e, mantidos em câmaras climatizadas com temperatura ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($60\pm 1\%$) e fotoperíodo (12L:12E) controlado. Nos bioensaios em meio de criação, os potes plásticos continham 20 g de preparado e os insetos permaneceram por até 30 dias, durante todo o período de experimento em meio tratado, possibilitando o contato e ingestão constante do ingrediente ativo. Nos bioensaios por aplicação tópica, os tratamentos foram mantidos por até 48 horas, com papel filtro umedecido com água dechlorada e impregnado com pequena quantidade de meio de criação. Os insetos utilizados neste bioensaio foram mantidos até a preparação em condições *ad libitum*. Os indivíduos mortos foram definidos como aqueles com ausência e dificuldade de movimentos. Devido ao comportamento de *tanatose*, os insetos eram expostos à fonte de luz e calor por alguns minutos para verificar sua agilidade e capacidade motora, tal como sugerido por VAUGHAN & TURNER (1984).

2.4. Bioensaios com inseticida regulador de crescimento

Os tratamentos foram conduzidos nas mesmas condições descritas no bioensaio anterior. Do inseticida Triflumuron (formulação comercial 48% i.a., StarycideSC 480®, Bayer) foi obtida a solução inicial recomendada pelo fabricante (Quadro I), diluído em água dechlorada. Foram feitas 5 réplicas, totalizando 100 larvas por tratamento. As larvas

utilizadas neste bioensaio eram provenientes de criação de laboratório, sendo que foram utilizados indivíduos da geração F₁, devido as dificuldades já descritas no item 2.1 deste capítulo. As larvas apresentavam tamanho mediano, com 1 cm de comprimento e eram selecionadas as larvas mais ativas da criação. As avaliações, baseadas em metodologia aplicada por AMBRÓS (2003), foram realizadas no 20º dia após os tratamentos, com a emergência dos adultos e/ou pupas, pela contagem de indivíduos normais, os quais emergiram completamente das pupas.

2.5. Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico S.A.S. System for Windows, versão 9.13 (S.A.S. Institute Inc. 2003). Na análise de variância (ANOVA) utilizou-se o procedimento PROC GLM (Modelos Lineares Gerais) com a comparação múltipla das médias feita pelo teste de Duncan, para $\alpha=0,05$. Foi observada a mortalidade média de adultos em relação aos parâmetros: inseticidas, tipos de bioensaios, tratamentos, avaliações (= “dias/horas após aplicações”) e a interação tratamentos/avaliações. Em relação a mortalidade de larvas, apenas os tratamentos foram considerados.

A concentração letal para 50 e 90 % dos insetos tratados pelos inseticidas (piretróides e regulador de crescimento de insetos) foram determinados 30 dias e 20 dias após os tratamentos em meio com ração e, 48 horas após os tratamentos por aplicação tópica, pela análise de PROBITS proposta por FINNEY (1972) pelo programa estatístico POLO PC, para $\alpha=0,05$ (LEORA SOFTWARE 1987).

3. RESULTADOS

3.1. Efeito adúltica de piretróides

Os resultados indicam que houve diferença significativa na mortalidade de adultos para os parâmetros avaliados ($F= 85,01$; $p<0,0001$): inseticidas ($F= 80,11$; $p<0,0001$), tipo de bioensaio ($F= 22,76$; $p< 0,0001$), tratamentos ($F= 62,55$; $p< 0,0001$) e avaliações ($F= 148,82$; $p< 0,0001$).

Os adultos de *A. diaperinus* apresentaram respostas semelhantes em contato com os 3 piretróides avaliados sendo observado o efeito *knock-down*, característico do grupo. Quando houve intoxicação dos insetos, seguida de mortalidade, o comportamento era de exposição das genitálias deslocamento irregular e deficiência na mobilidade e articulação das pernas (Figura 1).



Figura 1. Mortalidade de adultos de *A. diaperinus* característica para os 3 piretróides testados: ciflutrina, cipermetrina e deltametrina.

A mortalidade média de adultos apresentou diferença significativa para o inseticida ciflutrina ($F= 104,98$; $p< 0,0001$). Os parâmetros tipo de bioensaio ($F= 10,27$; $p< 0,0015$), tratamentos ($F= 264,55$; $p< 0,0001$) e avaliações ($F= 499,86$; $p< 0,0001$) foram significativos. As interações tipo de bioensaio/avaliações ($F= 64,84$; $p< 0,0001$) e tratamentos/avaliações ($F= 24,05$; $p< 0,0001$) também apresentaram diferença significativa.

A aplicação em meio de criação apresentou diferença significativa para os tratamentos por ciflutrina ($F= 109,80$; $p< 0,0001$) e para as avaliações ($F= 543,59$; $p<0,0001$).

As mortalidades médias de adultos por em meio de criação não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos até 30 e 40 dias após as aplicações e observa-se a tolerância desta população ao princípio ativo, bem como a ocorrência de larvas no meio tratado (observação pessoal). Não houve diferença significativa entre as concentrações de 25 a 100 ppm, 3,12 a 12,5 ppm e do grupo controle a 1,60 ppm. Após 10 dias, a mortalidade máxima entre 12,5 a 400 ppm variou entre 17 a 65%, portanto sugere-se que em aviários há o contato com estas doses subletais, devido a falta de homogeneidade na aplicação, bem como o comportamento de refúgio e dispersão diante do tratamento dos galpões. Estes resultados sugerem como poderia haver a sobreposição de população remanescente em aviários de corte, já que a heterogeneidade de contato poderia apresentar estímulo à reprodução, devido a pressão seletiva do inseticida (Tabela I).

Tabela I. Mortalidade média de adultos de *A. diaperinus* em bioensaio por aplicação em meio de criação do inseticida ciflutrina (N= 20).

Tratamentos	Avaliações (em dias)	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade	Valores de F; p
Controle	1	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	5	0,00a $\pm$ 0,00	0,00	1,85; 0,1418
	6	0,80d $\pm$ 0,84	4,00	5,78; 0,0005
	7	0,60b $\pm$ 0,55	3,00	6,38; 0,0007
	8	0,80d $\pm$ 0,84	4,00	8,40; <0,0001
	10	1,00d $\pm$ 0,71	5,00	29,06; <0,0001
	30	1,40b $\pm$ 0,55	7,00	21,23; <0,0001
	40	1,20c $\pm$ 0,84	6,00	239,15; <0,0001
0,78 ppm	1	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	5	0,00a $\pm$ 0,00	0,00	1,85; 0,1418
	7	0,20b $\pm$ 1,58	1,00	6,38; 0,0007
	30	3,00b $\pm$ 1,58	15,00	21,23; <0,0001
1,56 ppm	1	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	5	0,00a $\pm$ 0,00	0,00	1,85; 0,1418
	7	0,40b $\pm$ 2,55	2,00	6,38; 0,0007
	30	4,00b $\pm$ 2,55	20,00	21,23; <0,0001
3,12 ppm	1	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	5	1,00a $\pm$ 0,71	5,00	1,85; 0,1418

	7	1,40b ± 1,14	7,00	6,38; 0,0007
	30	10,20a ± 1,92	51,00	21,23; <0,0001
6,25 ppm	1	0,00b ± 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b ± 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	5	1,60a ± 2,30	8,00	1,85; 0,1418
	7	3,40a ± 3,27	17,00	6,38; 0,0007
	30	12,80a ± 3,27	64,00	21,23; <0,0001
12,5 ppm	1	0,00b ± 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b ± 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	5	1,00a ± 1,41	5,00	1,85; 0,1418
	6	1,60cd ± 1,14	8,00	5,78; 0,0005
	7	3,20a ± 3,65	16,00	6,38; 0,0007
	8	3,00cd ± 1,22	15,00	8,40; <0,0001
	10	3,40d ± 1,82	17,00	29,06; <0,0001
	30	12,60a ± 3,65	63,00	21,23; <0,0001
	40	13,20b ± 2,39	66,00	239,15; <0,0001
25 ppm	1	0,00b ± 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b ± 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	6	1,80cd ± 2,17	9,00	5,78; 0,0005
	8	5,20bc ± 1,79	26,00	8,40; <0,0001
	10	6,20c ± 2,28	31,00	29,06; <0,0001
	40	19,20a ± 0,84	96,00	239,15; <0,0001
50 ppm	1	0,00b ± 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,60b ± 0,55	3,00	6,46; <0,0001
	6	2,60bc ± 0,89	13,00	5,78; 0,0005
	8	5,40abc ± 1,67	27,00	8,40; <0,0001
	10	8,40cb ± 1,52	42,00	29,06; <0,0001
	40	19,80a ± 0,00	99,00	239,15; <0,0001
100 ppm	1	0,00b ± 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,40 ± 0,89	2,00	6,46; <0,0001
	6	2,60bc ± 1,14	13,00	5,78; 0,0005
	8	6,40ab ± 2,30	32,00	8,40; <0,0001
	10	9,20b ± 2,17	46,00	29,06; <0,0001
	40	20,00a ± 0,00	100,00	239,15; <0,0001
200 ppm	1	0,00b ± 0,00	0,00	9,18; <0,0001
	3	0,00b ± 0,00	0,00	6,46; <0,0001
	6	3,60ab ± 0,89	18,00	5,78; 0,0005
	8	8,00a ± 1,58	40,00	8,40; <0,0001
	10	13,00a ± 1,58	65,00	29,06; <0,0001
	40	20,00a ± 0,00	100,00	239,15; <0,0001
400 ppm	1	1,80a ± 1,48	9,00	9,18; <0,0001
	3	1,80a ± 1,48	9,00	6,46; <0,0001
	6	4,80a ± 1,10	24,00	5,78; 0,0005
	8	7,00ab ± 3,08	35,00	8,40; <0,0001
	10	13,00a ± 2,55	65,00	29,06; <0,0001
	40	20,00a ± 0,00	100,00	239,15; <0,0001

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações de ciflutrina. Médias com as mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

As maiores mortalidades médias em adultos foram observadas para o piretróide ciflutrina e no bioensaio com aplicação tópica que evidenciou a diferença significativa na mortalidade para os tratamentos e para as avaliações. A interação tratamentos/avaliações para aplicação tópica também foi significativa para a mortalidade ($F= 43,39$; $p< 0,0001$).

Quanto aos tratamentos, a mortalidade foi crescente em relação ao aumento das concentrações. O grupo controle não apresentou diferença significativa até o tratamento de 3,52 ppm após 24 horas. A mortalidade média foi crescente em relação ao aumento das concentrações dos tratamentos e o grupo controle não diferiu dos tratamentos até 1,56 ppm após 48 horas (Tabela II).

Tabela II. Mortalidade média de adultos de *A. diaperinus* em bioensaio por aplicação tópica do inseticida ciflutrina (N= 20).

Tratamentos	Avaliações	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade	Valores de F; p
Controle	24 horas	0,00e $\pm$ 0,00	0,00	42,77; <0,0001
	48 horas	0,40f $\pm$ 0,55	2,00	221,82; <0,0001
0,78 ppm	24 horas	0,00e $\pm$ 0,00	0,00	42,77; <0,0001
	48 horas	0,00f $\pm$ 0,00	0,00	221,82; <0,0001
1,56 ppm	24 horas	0,20e $\pm$ 0,45	2,00	42,77; <0,0001
	48 horas	0,60f $\pm$ 0,55	3,00	221,82; <0,0001
3,12 ppm	24 horas	0,20e $\pm$ 0,45	2,00	42,77; <0,0001
	48 horas	0,60f $\pm$ 0,89	3,00	221,82; <0,0001
6,25 ppm	24 horas	1,00de $\pm$ 0,71	5,00	42,77; <0,0001
	48 horas	1,20f $\pm$ 0,45	6,00	221,82; <0,0001
12,5 ppm	24 horas	2,00d $\pm$ 1,41	10,00	42,77; <0,0001
	48 horas	3,40e $\pm$ 1,34	17,00	221,82; <0,0001
25 ppm	24 horas	3,60c $\pm$ 0,55	18,00	42,77; <0,0001
	48 horas	7,00d $\pm$ 1,58	35,00	221,82; <0,0001
50 ppm	24 horas	4,00c $\pm$ 1,00	20,00	42,77; <0,0001
	48 horas	9,60c $\pm$ 1,67	48,00	221,82; <0,0001
100 ppm	24 horas	6,20b $\pm$ 1,30	31,00	42,77; <0,0001
	48 horas	18,40b $\pm$ 2,07	92,00	221,82; <0,0001
200 ppm	24 horas	9,40a $\pm$ 2,41	47,00	42,77; <0,0001
	48 horas	20,00a $\pm$ 0,00	100,00	221,82; <0,0001

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações de ciflutrina. Médias com as mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

A mortalidade média de adultos com cipermetrina apresentou diferença significativa para os parâmetros tipo de bioensaio ($F= 789,16$; $p< 0,0001$), tratamentos ($F= 187,55$; $p< 0,0001$) e avaliações ($F= 93,97$; $p< 0,0001$). As interações que apresentaram diferença significativa foram tipo de bioensaio/tratamentos ($F= 201,79$; $p< 0,0001$) e tratamentos/avaliações ($F= 13,67$; $p<0,0001$).

A aplicação de cipermetrina em meio de criação foi significativa para os tratamentos ($F= 148, 89$; $p< 0,0001$), avaliações ($F= 173,31$; $p< 0,0001$) e para a interação tratamentos/avaliações ($F= 21,60$; $p< 0,0001$). A mortalidade de adultos por cipermetrina em meio de criação foi menor que em ciflutrina, apesar de haver diferença significativa entre os tratamentos nas maiores concentrações. Não houve diferença significativa para mortalidade no grupo controle até 14 ppm. A mortalidade após as aplicações apresentou diferença significativa, indicando que poderia haver efeito gradual devido heterogeneidade de contato e a pressão seletiva do inseticida, como o observado no experimento com ciflutrina em meio de criação (Tabela III).

Tabela III. Mortalidade média de adultos de *A. diaperinus* em bioensaio por aplicação em meio de criação do inseticida cipermetrina (N= 20).

Tratamentos	Avaliações (em dias)	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade	Valores de F; p
Controle	7	0,28b $\pm$ 0,49	1,40	8,97; <0,0001
	14	0,71c $\pm$ 1,11	3,55	14,03; <0,0001
	21	0,71c $\pm$ 1,11	3,55	32,72; <0,0001
	30	1,28e $\pm$ 1,11	6,40	80,71; <0,0001
0,85 ppm	7	0,15b $\pm$ 0,38	0,75	8,97; <0,0001
	14	0,42c $\pm$ 0,53	2,10	14,03; <0,0001
	21	0,71d $\pm$ 1,11	3,55	32,72; <0,0001
	30	0,85e $\pm$ 1,07	4,25	80,71; <0,0001
1,75 ppm	7	0,15b $\pm$ 0,38	0,75	8,97; <0,0001
	14	0,15c $\pm$ 0,38	0,75	14,03; <0,0001
	21	1,00cd $\pm$ 1,15	5,00	32,72; <0,0001
	30	1,00e $\pm$ 1,15	5,00	80,71; <0,0001
3,50 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	8,97; <0,0001
	14	0,71c $\pm$ 0,49	3,55	14,03; <0,0001
	21	1,00cd $\pm$ 1,00	5,00	32,72; <0,0001
	30	1,14e $\pm$ 1,07	5,57	80,71; <0,0001
7 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	8,97; <0,0001
	14	0,28c $\pm$ 0,49	1,40	14,03; <0,0001

	21	0,42d ± 0,79	2,10	32,72; <0,0001
	30	1,40e ± 1,40	7,00	80,71; <0,0001
14 ppm	7	0,38b ± 0,49	1,90	8,97; <0,0001
	14	0,42c ± 0,53	2,10	14,03; <0,0001
	21	1,00cd ± 0,58	5,00	32,72; <0,0001
	30	1,58e ± 0,79	7,90	80,71; <0,0001
28 ppm	7	0,00b ± 0,00	0,00	8,97; <0,0001
	14	0,15c ± 0,53	0,75	14,03; <0,0001
	21	1,42cd ± 0,53	7,10	32,72; <0,0001
	30	1,85e ± 0,90	9,25	80,71; <0,0001
56,25 ppm	7	0,00b ± 0,00	0,00	8,97; <0,0001
	14	0,42c ± 0,53	2,10	14,03; <0,0001
	21	1,28cd ± 0,95	6,40	32,72; <0,0001
	30	1,72e ± 1,11	8,60	80,71; <0,0001
112,5 ppm	7	0,58b ± 0,53	2,90	8,97; <0,0001
	14	1,00c ± 1,41	5,00	14,03; <0,0001
	21	2,85bc ± 2,75	14,25	32,72; <0,0001
	30	4,42d ± 1,64	22,10	80,71; <0,0001
225 ppm	7	0,57b ± 0,79	2,85	8,97; <0,0001
	14	1,28c ± 1,80	6,40	14,03; <0,0001
	21	4,28b ± 2,75	21,40	32,72; <0,0001
	30	6,22c ± 3,04	31,10	80,71; <0,0001
450 ppm	7	1,85a ± 1,21	9,25	8,97; <0,0001
	14	3,75b ± 1,50	18,75	14,03; <0,0001
	21	9,14a ± 2,67	45,70	32,72; <0,0001
	30	12,42b ± 1,90	62,10	80,71; <0,0001
900 ppm	7	1,85a ± 1,07	9,25	8,97; <0,0001
	14	5,14a ± 2,19	25,70	14,03; <0,0001
	21	10,85a ± 2,91	54,25	32,72; <0,0001
	30	17,43a ± 2,15	87,15	80,71; <0,0001

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações de cipermetrina. Médias com as mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm \text{DP}$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

A aplicação tópica de cipermetrina em adultos apresentou diferença significativa para os parâmetros avaliados ($F= 23,18$; $p< 0,0001$): tratamentos ($F= 26,22$; $p< 0,0001$), avaliações ($F= 48,79$; $p< 0,0001$) e para a interação tratamentos/avaliações ($F= 17,30$; $p< 0,0001$). Observa-se que houve diferença significativa para a mortalidade em relação aos tratamentos e a maior média foi obtida 24 horas após as aplicações. Não houve diferença entre o grupo controle até 7 ppm. Apesar da aplicação recente do produto no aviário estudado, na ocasião do bioensaio, a mortalidade foi inferior a ciflutrina (Tabela IV).

Tabela IV. Mortalidade média de adultos de *A. diaperinus* em bioensaio por aplicação tópica do inseticida cipermetrina (N= 25).

Tratamentos	Avaliações	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade	Valores de F; p
Controle	24 horas	0,25e $\pm$ 0,50	1,00	42,71; <0,0001
	48 horas	0,25e $\pm$ 0,50	1,00	171,02; <0,0001
0,85 ppm	24 horas	0,50e $\pm$ 1,00	2,00	42,71; <0,0001
	48 horas	0,50e $\pm$ 1,00	2,00	171,02; <0,0001
1,75 ppm	24 horas	0,50e $\pm$ 1,00	2,00	42,71; <0,0001
	48 horas	0,50e $\pm$ 1,00	2,00	171,02; <0,0001
3,50 ppm	24 horas	0,75e $\pm$ 0,50	3,00	42,71; <0,0001
	48 horas	0,75e $\pm$ 0,50	3,00	171,02; <0,0001
7 ppm	24 horas	2,25de $\pm$ 0,96	9,00	42,71; <0,0001
	48 horas	2,25de $\pm$ 0,96	9,00	171,02; <0,0001
14 ppm	24 horas	3,75d $\pm$ 0,96	15,00	42,71; <0,0001
	48 horas	3,75d $\pm$ 0,96	15,00	171,02; <0,0001
28 ppm	24 horas	5,75cd $\pm$ 0,50	23,00	42,71; <0,0001
	48 horas	8,25c $\pm$ 0,96	33,00	171,02; <0,0001
56,25 ppm	24 horas	7,25c $\pm$ 0,96	29,00	42,71; <0,0001
	48 horas	17,75b $\pm$ 4,35	71,00	171,02; <0,0001
112,5 ppm	24 horas	18,25b $\pm$ 7,89	91,25	42,71; <0,0001
	48 horas	24,75a $\pm$ 0,50	99,00	171,02; <0,0001
225 ppm	24 horas	25,00a $\pm$ 0,00	100,00	42,71; <0,0001
	48 horas	25,00a $\pm$ 0,00	100,00	171,02; <0,0001

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações de cipermetrina. Médias com as mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

Quanto à aplicação de deltametrina, houve diferença significativa para mortalidade de adultos em relação ao tipo de bioensaio ($F= 11,33$; $p< 0,001$), aos tratamentos ($F= 27,01$; $p< 0,0001$), sendo que foi crescente com o aumento das concentrações, e, para avaliações ($F= 9,55$; $p< 0,0001$). Não houve diferença entre o grupo controle e a maioria dos tratamentos.

As menores médias de mortalidade foram obtidas nos bioensaios pela aplicação de deltametrina em adultos de *A. diaperinus*. Apenas os tratamentos ($F= 6,10$; $p< 0,0001$) e avaliações ($F= 4,05$; $p< 0,009$) apresentaram diferença significativa na mortalidade em meio de criação. A interação tratamentos/avaliações não apresentou diferença significativa ($F= 1,48$; $p< 0,092$) (Tabela V).

Tabela V. Mortalidade média de adultos de *A. diaperinus* em bioensaio por aplicação em meio de criação do inseticida deltametrina (N= 30).

Tratamentos	Avaliações (em dias)	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade	Valores de F; p
Controle	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	3,41; 0,0107
	14	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,14; 0,0004
	21	0,67b $\pm$ 0,58	2,23	3,88; 0,0055
	30	1,33b $\pm$ 0,58	4,43	10,15; <0,0001
0,78 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	3,41; 0,0107
	14	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,14; 0,0004
	21	0,67b $\pm$ 0,58	2,23	3,88; 0,0055
	30	0,67b $\pm$ 0,58	2,23	10,15; <0,0001
1,56 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	3,41; 0,0107
	14	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,14; 0,0004
	21	0,33b $\pm$ 0,58	1,11	3,88; 0,0055
	30	0,67b $\pm$ 0,58	2,23	10,15; <0,0001
3,12 ppm	7	1,00ab $\pm$ 1,00	3,33	3,41; 0,0107
	14	1,67b $\pm$ 0,58	5,56	6,14; 0,0004
	21	2,00b $\pm$ 1,00	6,66	3,88; 0,0055
	30	2,33b $\pm$ 0,58	7,43	10,15; <0,0001
6,25 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	3,41; 0,0107
	14	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,14; 0,0004
	21	0,67b $\pm$ 1,15	2,23	3,88; 0,0055
	30	0,67b $\pm$ 1,15	2,23	10,15; <0,0001
12,5 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	3,41; 0,0107
	14	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	6,14; 0,0004
	21	0,33b $\pm$ 0,58	1,11	3,88; 0,0055
	30	0,33b $\pm$ 0,58	1,11	10,15; <0,0001
25 ppm	7	0,67ab $\pm$ 0,58	2,23	3,41; 0,0107
	14	0,67bc $\pm$ 0,58	2,23	6,14; 0,0004
	21	1,00b $\pm$ 1,00	3,33	3,88; 0,0055
	30	1,33b $\pm$ 0,58	4,43	10,15; <0,0001
50 ppm	7	0,67ab $\pm$ 0,58	2,23	3,41; 0,0107
	14	0,67ab $\pm$ 0,58	2,23	6,14; 0,0004
	21	1,33b $\pm$ 0,58	4,43	3,88; 0,0055
	30	1,67b $\pm$ 1,50	5,56	10,15; <0,0001
100 ppm	7	0,00b $\pm$ 0,00	0,00	3,41; 0,0107
	14	0,33bc $\pm$ 0,58	1,11	6,14; 0,0004
	21	0,33b $\pm$ 0,58	1,11	3,88; 0,0055
	30	1,00b $\pm$ 1,00	3,33	10,15; <0,0001
200 ppm	7	1,67a $\pm$ 1,15	5,56	3,41; 0,0107
	14	3,33a $\pm$ 2,08	11,10	6,14; 0,0004
	21	6,33a $\pm$ 4,51	21,10	3,88; 0,0055
	30	10,67a $\pm$ 4,73	35,56	10,15; <0,0001

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações de deltametrina. Médias com as mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

A média de mortalidade foi maior para aplicação tópica de deltametrina e apresentaram diferença significativa os tratamentos ($F= 9,24$; $p< 0,0001$) e avaliações ($F= 7,51$; $p< 0,008$). A interação tratamentos/avaliações não apresentou diferença significativa ($F= 1,57$; $p< 0,114$), tal como os efeitos observados em aplicação em meio de criação. Devido à baixa mortalidade observada em relação aos tratamentos e avaliações tanto em meio de criação com em aplicações tópicas, sugere-se que os adultos de *A. diaperinus* não foram suscetíveis ao produto ou que devido ao contato contínuo com piretróide poderia haver a resistência cruzada (Tabela VI).

Tabela VI. Mortalidade média de adultos de *A. diaperinus* em bioensaio por aplicação tópica do inseticida deltametrina (N= 25).

Tratamentos	Avaliações	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade	Valores de F; p
Controle	24 horas	1,50bc $\pm$ 1,73	6,00	6,07; <0,0001
	48 horas	1,75bcd $\pm$ 1,50	7,00	7,08; <0,0001
0,78 ppm	24 horas	0,50d $\pm$ 0,58	2,00	6,07; <0,0001
	48 horas	0,25c $\pm$ 0,58	1,00	7,08; <0,0001
1,56 ppm	24 horas	0,00d $\pm$ 0,00	0,00	6,07; <0,0001
	48 horas	0,00c $\pm$ 0,00	0,00	7,08; <0,0001
3,12 ppm	24 horas	0,00d $\pm$ 0,00	0,00	6,07; <0,0001
	48 horas	0,00c $\pm$ 0,00	0,00	7,08; <0,0001
6,25 ppm	24 horas	0,75bc $\pm$ 0,96	3,00	6,07; <0,0001
	48 horas	1,20cd $\pm$ 1,41	4,80	7,08; <0,0001
12,5 ppm	24 horas	0,50c $\pm$ 0,58	2,00	6,07; <0,0001
	48 horas	2,25bcd $\pm$ 1,50	9,00	7,08; <0,0001
25 ppm	24 horas	1,50bc $\pm$ 1,00	6,00	6,07; <0,0001
	48 horas	2,00bcd $\pm$ 2,00	8,00	7,08; <0,0001
50 ppm	24 horas	2,25ab $\pm$ 1,50	9,00	6,07; <0,0001
	48 horas	3,25bc $\pm$ 2,36	13,00	7,08; <0,0001
100 ppm	24 horas	3,25a $\pm$ 1,26	13,00	6,07; <0,0001
	48 horas	4,00b $\pm$ 2,00	16,00	7,08; <0,0001
200 ppm	24 horas	3,50a $\pm$ 1,29	14,00	6,07; <0,0001
	48 horas	6,75a $\pm$ 2,06	27,00	7,08; <0,0001

As médias em cada coluna representam as mortalidades para cada avaliação nas diferentes concentrações de deltametrina. Médias com as mesmas letras na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

Os resultados sobre o efeito dos 3 piretróides em bioensaios com aplicação em ração indicam, de acordo com a CL_{50} , que o inseticida mais efetivo foi cipermetrina, seguido por ciflutrina. No entanto, as concentrações a serem aplicadas, considerando as condições de campo, são altas. Estes resultados em meio de criação indicam o que pode haver em galpões, isto é, a heterogeneidade da área de aplicação atingida, frequência das aplicações e as doses subletais ao longo do tempo, seleciona populações de cascudinhos tolerantes aos piretróides. No bioensaio por aplicação tópica, observa-se o efeito adulticida mais efetivo foi obtido por ciflutrina, seguido por cipermetrina. Em ambos os bioensaios, a CL_{50} para deltametrina foram altas, indicando que as concentrações a serem aplicadas para o controle da população estudada deve ser alta, portanto, inviáveis para as condições dos aviários, já que não há suscetibilidade ao princípio ativo.

A amplitude dos intervalos de confiança das CL_{90} , principalmente para deltametrina, poderiam estar relacionados a população testada ser proveniente de campo, com grande heterogeneidade entre os indivíduos, devido aos fatores variados que exercem pressão seletiva, bem como o estresse na transição entre campo e laboratório (Tabela VII).

Tabela VII. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear obtidas pela análise de PROBIT para adultos de *A. diaperinus* tratados com os piretróides ciflutrina, cipermetrina e deltametrina em bioensaios com aplicações em meio de criação (30 dias) e tópica (48 horas).

Tipo de Bioensaio	Inseticidas	CL ₅₀ (IC a 95%, ppm)	CL ₉₀ (IC a 95%, ppm)	Equação de Regressão
Meio	ciflutrina	502,1	4.708,5	$y = 1,439 + 1,318 \cdot \log x$
		(368,4 – 735,4)	(2.390,9 – 16.708,7)	
	cipermetrina	333,74	1.002,61	$y = 1,799 + 2,682 \cdot \log x$
		(292,5 – 337,1)	(828,1 – 1.303,7)	
	deltametrina	2.859,7	53.752,6	$y = 1,427 + 2,411 \cdot \log x$
		(587,4 – 22.763,4)	(8.037,4 – 891.420,1)	
Tópico	ciflutrina	33,4	138,5	$y = 1,836 + 2,075 \cdot \log x$
		(27,4 – 41,3)	(102,4 – 207,5)	
	cipermetrina	37,2	112,3	$y = 0,807 + 2,669 \cdot \log x$
		(29,4 – 45,1)	(87,8 – 162,4)	
	deltametrina	849,7	13.661,9	$y = 1,887 + 1,062 \cdot \log x$
		(367,1 – 6.648,8)	(2.629,6 – 106.991,1)	

CL₅₀= dose letal para 50% dos insetos tratados; CL₉₀= dose letal para 90% dos insetos tratados.

3.2. Efeito larvícida de triflumuron aplicado em população de *A. diaperinus*

Em relação aos tratamentos por triflumuron, houve diferença significativa na mortalidade de larvas ($F = 13,01$; $p < 0,0001$). Observa-se que não houve diferença entre as concentrações de 60 a 960 ppm e de 30 a 1,85 ppm. O grupo controle diferiu de todos os tratamentos. De acordo com a CL₅₀, a dose letal para 50% dos insetos tratados varia de 9,3 a 58,7 ppm, portanto é alta, considerando a dosagem indicada pelo fabricante (Tabelas VIII e IX).

Tabela VIII. Mortalidade de larvas de *A. diaperinus* obtidas 20 dias após os tratamentos com triflumuron (N=20).

Tratamentos (ppm)	Mortalidade $\bar{x} \pm DP$	% Mortalidade
1,875	7,80±2,49 b	39,00
3,75	9,60±2,88 b	48,00
7,5	10,40±3,21 b	52,00
15	10,60±2,97 b	53,00
30	10,80±2,77 b	54,00
60	14,40±1,48 a	72,00
120	14,80±3,11 a	74,00
240	15,20±2,17 a	76,00
480	17,00±2,24 a	85,00
960	17,20±2,68 a	86,00
Controle	3,80±1,10 c	19,00

As médias com as mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média de indivíduos mortos e seus desvios-padrão.

Tabela IX. Concentrações letais, intervalos de confiança (IC) e equações de regressão linear obtidas pela análise de PROBIT para larvas de *A. diaperinus* tratadas com triflumuron avaliadas 20 dias após as aplicações.

CL ₅₀ (IC a 95%, ppm)	CL ₉₀ (IC a 95%, ppm)	Equação de Regressão
27,1 (9,3 – 58,7)	3186,9 (1.185,6 – 15.897,4)	$y = 4,112 + 0,619 \cdot \log x$

CL₅₀= dose letal para 50% dos insetos tratados; CL₉₀= dose letal para 90% dos insetos tratados.

Como resultado da ação do triflumuron pode-se observar algumas aberrações morfológicas durante as mudanças de estágios larvais e de pupas para adultos. Observa-se que as larvas e adultos são mal-formados, devido ao efeito do produto na síntese de quitina. As larvas ficam presas na exúvia e adultos ficam em estágio intermediário entre pupa e adulto (Figuras 2 e 3).



Figura 2. Aberrações morfológicas causadas em larvas de *A. diaperinus* tratadas com triflumuron, com larvas que não finalizam o processo de muda e ficam presas à exúvia (A) e adultos deformes (B).



Figura 3. Estádios de desenvolvimento normais em *A. diaperinus*: larvas (A), pupas (B) e adultos (C).

4. DISCUSSÃO

Os testes com adultos são feitos para monitorar o possível desenvolvimento de resistência aos aduictidas usados no controle químico de insetos. As respostas ao tipo de contato e aos tratamentos por diferentes inseticidas empregados são distintas na mesma população de *A. diaperinus*, sugerindo que a pressão seletiva imposta pelos produtos químicos afeta a mortalidade, bem como indivíduos comportamentalmente adaptados à seleção gerada pelo manejo neste sistema de produção.

A seleção atua quando populações são reguladas por fatores relacionados à densidade-dependente para que se atinja equilíbrio, sendo que os genótipos que possuem maior fecundidade ou resistência aos eventos que afetam a mortalidade no ambiente, serão desproporcionalmente representados entre os indivíduos resistentes nestas populações. Assim, as diferenças nas frequências alélicas, de forma que haja variação entre populações, indicam que tais adaptações nestes habitats com condições similares seriam fenotipicamente indistinguíveis, mas evidenciam diferenças genéticas (FUTUYMA 1997).

O aumento da densidade populacional em aviários, nos quais os fatores ambientais são controlados, refletem-se na capacidade reprodutiva de poucas colônias pioneiras, pois as variadas formas de manejo empregadas durante o controle químico e o nível de toxicidade afetam as pressões seletivas impostas às populações de *A. diaperinus* (VAUGHAN & TURNER 1984).

O comportamento migratório da espécie, principalmente quando há uso de cama para adubação em áreas próximas aos aviários, pode agravar o processo de resistência e/ou tolerância das populações de *A. diaperinus* aos inseticidas. No caso do aviário em estudo, há áreas agrícolas, outros aviários de corte e conjuntos residenciais com distância de 20 km. Portanto, a suscetibilidade de *A. diaperinus* poderia ser afetada pela migração que influência o fluxo gênico nestas populações próximas.

Em estudos sobre o efeito dos organofosforados em *Culex pipiens* ocorre intenso fluxo gênico entre populações que afeta o equilíbrio seleção-migração estabelecido durante a estação favorável ao desenvolvimento destes insetos. A redução da frequência de alelos resistentes nas populações seria afetada por efeitos ambientais (distribuição espacial durante o período suscetível) e demográficos (períodos de migração), que somente pela

influência da pressão seletiva. Portanto, há contribuição da seleção e da migração na mudança da frequência de alelos no tempo e espaço, sendo que os efeitos pleiotrópicos dos alelos de resistência seriam deletérios na ausência de contato com o inseticida (LENORMAND & RAYMOND 2000).

O grau de dominância do gene resistente é afetado para taxa de aumento populacional sob pressão seletiva. Quando há limitadas áreas de refúgio, onde os insetos não são afetados pelo inseticida, a recessividade do alelo R atua retardando a evolução da resistência. Aparentemente ocorre porque alguns indivíduos escapam dos tratamentos, o que possibilita que os alelos S mantenham-se na população por mais tempo. O atraso na evolução da resistência resulta de constante fluxo gênico entre indivíduos suscetíveis que auxiliam a diminuir a evolução que poderia ser atingida pela pressão seletiva dos inseticidas (GEORGHIOU & TAYLOR 1977).

A habilidade de *A. diaperinus* evitar o contato com inseticidas, associado ao tipo de piso e manejo das camas, contribuem a dificuldade do controle do inseto, pois não tem contato com a dose letal, principalmente nos períodos de limpeza entre lotes. A resistência seria o principal fator que determina o tamanho populacional nos refúgios em aviários. Não há relação entre o número de refúgios e os níveis de resistência nos aviários a ciflutrina, pois o tamanho populacional varia mesmo em aviários com o mesmo nível de resistência (TREVOR *et al.* 2006).

Em estudos por aplicação tópica e em superfícies, para avaliar o poder residual dos inseticidas, tem-se que a toxicidade pode ser afetada pelo estágio do desenvolvimento de *A. diaperinus*, pois larvas e adultos distinguem-se na capacidade de metabolizar os componentes de inseticidas organofosforados e carbamatos. Observou-se que os adultos foram mais sensíveis a longo prazo, aos piretróides e carbamatos, que as larvas, em relação aos efeitos residuais. Esta irregularidade na resposta seria atribuída ao comportamento das larvas ao perfurarem a superfície tratada, evitando a prolongada exposição aos inseticidas (VAUGHAN & TURNER 1984).

Portanto, as metodologias de aplicação e avaliações devem ser contínuas, pois o inseto apresenta comportamento com formas de evitar os efeitos do controle químico, principalmente diante a pressão seletiva imposta pelos inseticidas nos aviários. Sugere-se

que algo semelhante aos efeitos da deltametrina em adultos de *A. diaperinus*, pois poderiam ser capazes de metabolizar o princípio ativo, apesar dos outros piretróides terem afetado esta população. Assim, o fato deste aviário ser tratado há muitos anos por piretróides e com aplicações contínuas, pode ter favorecido a seleção de indivíduos resistentes, tanto pelo metabolismo de moléculas quanto pela seleção comportamental de indivíduos.

Em população resistente a ciflutrina foi relatado o uso de outros piretróides que não este, sendo que a aplicação contínua neste aviário poderia ter resultado na resistência cruzada, afetando a dose-resposta alta. Apesar da CL_{90} ser alta, a heterogeneidade indicaria que há indivíduos suscetíveis e também alelos resistentes inseridos na população (HAMM *et al.* 2006).

Quanto as diferenças nas CL_{50} observadas nos tratamentos tópicos e de ingestão em *A. diaperinus*, devem ser consideradas as estratégias comportamentais e ecológicas adotadas em campo, que afetam o contato com o produto e que poderiam expressar quais os indivíduos adaptados a evitar o contato, por migrarem para áreas de refúgio, bem como aqueles que ingerem e tem capacidade de metabolizar o princípio ativo. Em bioensaios, nas populações mantidas em laboratório há seleção de linhagens resistentes ou suscetíveis atípicas em relação às populações encontradas em campo, o que poderia explicar porque, apesar da mortalidade em laboratório, em campo a seleção de indivíduos suscetíveis é menor que a taxa de crescimento de indivíduos resistentes e mesmo com aplicação de inseticida, que causa pressão seletiva, há altas infestações nos galpões do aviário em estudo.

Em relação aos efeitos do triflumuron na população estudada, observou-se que a mortalidade máxima obtida à 960 ppm foi de 85%. Em estudo anterior em população de *A. diaperinus*, TUCCI *et al.* (2002) obtiveram 100% de mortalidade de larvas na mesma concentração, sendo que não houve diferença entre 240 ppm e o grupo controle.

Enquanto GEORGHIOU & TAYLOR (1977) sugerem que a migração retarda a evolução do processo de resistência, devido ao fluxo gênico entre indivíduos suscetíveis nestas populações migrantes, CHERNAKI-LEFFER (2004) sugere que a migração pode ter efeitos contrários, isto é, indivíduos resistentes que se dispersam podem acelerar o processo de resistência em aviários que sofrem intensa pressão seletiva pela aplicação contínua de inseticidas durante o manejo.

No monitoramento das populações de *A. diaperinus* em aviários após uso combinado de ciflutrina e triflumuron, observou-se que houve redução de larvas e adultos até o final do 2º tratamento, com o restabelecimento da população durante o verão, o que estaria associado aos habitats protegidos nos galpões, principalmente em áreas próximas as paredes e frestas no piso, onde a aplicação de inseticida não foi efetiva (SALIN *et al.* 2003).

A pré-exposição de adultos aos inibidores da síntese de quitina, afeta os ovos, causando a mortalidade dos estágios larvais iniciais, enquanto que o tratamento de meio de criação com larvas, causa a mortalidade os estágios finais. Os efeitos destes inseticidas a prole tem caráter cumulativo, pois os adultos expostos ingerem e passam os componentes do inseticida aos ovos durante a vitelogênese. Se a dosagem é sub-letal, os primeiros instares podem se desenvolver normalmente, mas se as larvas ingerem o inseticida durante o desenvolvimento, os danos são observados nos estágios finais (ELEK 1998a, 1998b).

WEAVER & KONDO (1987) haviam verificado que o tratamento com triflumuron inibe a reprodução de adultos em até 4 semanas, causando grande mortalidade em larvas de 1º a 3º estágio de *A. diaperinus*. WEAVER (1996) havia observado que em combinações entre os piretróides ciflutrina e permetrina, e, os reguladores de crescimento hexafluron e triflumuron, reduziram em até 42 dias as larvas de *A. diaperinus* em campo. No entanto, nos estudos recentes realizados por HAMM *et al.* (2006) nos EUA, várias populações consideradas resistentes a ciflutrina devido ao uso contínuo nestes aviários.

A suscetibilidade de populações ao triflumuron seria atribuída a forma de aplicação do produto, pois este é pulverizado sobre as camas dos aviários durante o manejo e pode se misturar ao piretróide ciflutrina. O desperdício destes produtos também pode estar associado a fontes alimentares alternativas (ração, excrementos, carcaças de aves) e áreas de refúgio nos galpões, devido à heterogeneidade da aplicação, que diminuem as chances de contato e ingestão destes inseticidas CHERNAKI-LEFFER (2004).

SHEPPARD *et al.* (1989) já haviam relatado em seus estudos que a aplicação de triflumuron em esterco é heterogênea e permitia a sobrevivência de indivíduos suscetíveis, o que retardaria o processo de resistência nas populações.

O uso de armadilhas contendo inibidores de síntese de quitina (benzoilfeniluréias) não seria a mais efetiva das formulações para controle, pois a ingestão direta como resultado do contato com armadilhas, ocorre casualmente, principalmente em ambientes com altas infestações e abundância de recursos alimentares, portanto tais armadilhas podem não atingir os estágios de desenvolvimento mais sensíveis ao produto (DEMARK & BENNETT 1989).

DARBRO & MULLENS (2004) alertam que as principais armadilhas para controle de *Musca domestica* contêm feromônio feminino de atração e devido a grande pressão seletiva exercida continuamente pelo seu uso, os indivíduos resistentes nestas populações reagem adversamente na presença/contato com este feromônio. Neste caso, a rotação de inseticidas, que seria uma alternativa eficiente ao manejo da resistência de populações, poderia ser ineficiente se todos os produtos químicos estão associados com armadilhas com este mesmo feromônio.

O controle de *A. diaperinus* deve estar em conjunto com as práticas de manejo estrutural, cultural biológico e químico, associado com o monitoramento das populações em aviários. O uso de armadilhas com uso de feromônios, seria uma alternativa, já que são desconhecidos estudos de como seriam favorecidos pelo comportamento de agregação. No entanto, as avaliações a longo prazo fornecerão resultados da real eficiência desta metodologia, que deve ser implementada durante o manejo, principalmente para viabilizar o controle biológico que é mais suscetível as adversidades deste sistema de produção.

Diante dos danos causados pela resistência, é necessário que os aviários sejam avaliados isoladamente, de acordo com o histórico do manejo das instalações que incluem a periodicidade e tipos de tratamento químico empregado, pelo monitoramento da densidade populacional de *A.diaperinus*. Estas medidas permitem o estabelecimento de estratégias para manejo da resistência e de controle biológico, por entomopatogênicos, principalmente diante de altas infestações durante o desenvolvimento dos lotes de aves. O uso de armadilhas de Arends com iscas atrativas (feromônios) seja para o controle químico ou biológico deve ser estimulado, mas estas alternativas devem estar associadas aos parâmetros comportamentais do inseto, sem que se acelere as pressões seletivas nestas populações. O manejo inadequado das camas ou esterco, bem como o tipo de piso,

favorecem as altas infestações e criam áreas de refúgio nestes galpões. Os fatores abióticos destas instalações, que são padronizados para o desenvolvimento de aves de corte, devem ser avaliados em relação à influência e viabilidade do manejo integrado, seja no controle biológico ou químico, pelo uso de armadilhas com iscas atrativas ou aplicações diretas nos galpões.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRÓS, C.M.G. 2003. **Efeito de extratos de plantas e inseticidas de segunda e treceira gerações em populações de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae).** Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP. 91-118 p.

AXTELL, R.C. 1999. Poultry integrated pest management: status and future. **Integrat. Pest Manag. Rev.** **4**, 53-63.

AXTELL, R.C. & ARENDS, J.J. 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. **Ann. Rev. Entomol.** **35**, 101-126.

BEGUN, M., MONDAL, K.A.M.S.H., PARWEEN, S., ISLAM, W., FARUKI, S.I., & HUSSAIN, M.M. 2003. Effect of treatment of eggs with triflumuron on oviposition and fertility in *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Int. Pest Contr.** **45 (3)**, 145-147.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. 2004. **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.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná. 128 p.

CHERNAKI-LEFFER, A.M., SOSA-GOMEZ, D.R., ALMEIDA, L.M. 2006. Suscetibilidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) a reguladores de crescimento de insetos (RCI). **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, **73 (1)**, 51-55.

DARBRO, J.M. & MULLENS, B.A. 2004. Assessing insecticide resistance and aversion to methomyl-treated toxic baits in *musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) populations in southern California. **Pest Manag. Sci.** **60**, 901-908.

DEMARK, J.J. & BENNETT, G.W. 1989. Efficacy of chitin synthesis inhibitors on nymphal German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). **J. Econ. Entomol.** **82** (6), 1633-1637.

DEMILO, A.B., MILLER, R.W., BORDAS, B., REDFERN, E.E. & MILLS, G., Jr. 1995. Larvicidal effects of benzoylphenylureas against the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae): quantitative-structure-activity relationships. **J. Entomol. Sci.** **30** (3), 324-332.

ELEK, J.A. 1998a. Treatment of adult Coleoptera with a chitin synthesis inhibitor affects mortality and development time of their progeny. **Entomol. Exp. Appl.** **88**, 31-39.

ELEK, J.A. 1998b. Interaction of treatment of both adult and immature Coleoptera with a chitin mortality and development time of their progeny. **Entomol. Exp. Appl.** **89**, 125-136.

ELEK, J.A. & LONGSTAFF, B.C. 1994. Effect of chitin synthesis inhibitors on stored product beetles. **Pestic. Sci.** **40**, 225-230.

FAO (Food and Agriculture Organization). 1975. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. FAO Plant Protection Bulletin 23, 12-35. In T. A. Lambkin (2001). **Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation**. RIRDC. Publicação disponível em: <www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf>.

FINNEY, D.J. 1972. **Probit Analysis**. Cambridge University Press, Cambridge. 255 p.

FRANCISCO, O. 1996. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) associado ao esterco em granjas de aves poedeiras: fenologia, estrutura etária e parasitismo. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas. 116 p.

FUTUYMA, D.J. 1997. **Biologia Evolutiva**. 2ª Edição. Sociedade Brasileira de Genética/CNPq. Ribeirão Preto, SP. 646 p.

GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. 1987. Factors affecting climbing and tunneling behaviour of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Econ. Entomol.** **80**, 1197-2004.

GEDEN, C.J., AXTELL, R.C. & BROOKS, W.M. 1985. Susceptibility of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *Steinernema glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **J. Entomol. Sci.** **20**, 331-339.

GEORGHIOU, G.P. & TAYLOR, C.E. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **J. Econ. Entomol.** **70** (3), 319-323.

GOODWIN, M.A. & WALTMAN, W.D. 1996. Transmission of *Eimeria*, viroses and bacteria to chicks: darkling beetles *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) as vectors of pathogens. **J. Appl. Poult. Res.** **5**, 51-55.

HAMM, R., KAUFMAN, P.E., REASOR, C.A.; RUTZ, D.A. & SCOTT, J.G. 2006. Resistance to cyflthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. **Pest. Manag. Sci.** **62**, 673-677.

HOSKINS, W.M. & GORDON, H.T. 1956. Arthropod resistance to chemicals. **Ann. Rev. Entomol.** **1**, 89-122.

LAMBKIN, T. A. 2001. **Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation.** Disponível em : < www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf >. Acesso em setembro de 2003.

LAMBKIN, T. 2005. Baselines of adults *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales, Australia. **J. Econ. Entomol.** **98** (3), 938-942.

LENORMAND, T. & RAYMOND, M. 2000. Analysis of clines with variable selection and variable migration. **Am. Nat.** **155** (1), 70-82.

LEORA SOFTWARE. 1987. **POLO-PC: A user's guide to probit analysis or logit analysis.** Leora Software, Berkeley, California, USA.

MILLER, R.W. & REDFERN, R.E. 1988. Feed additives for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry broiler houses. **J. Econ. Entomol.** **81** (4), 1137-1139.

PFEIFFER, D. G. & AXTELL, R. C. 1980. Coleoptera of poultry manure in caged-layer houses in North Carolina. **Environ. Entomol.** **9**, 21-28.

ROUSH, R.T. 1993. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. **Parasitol. Today** **9** (5), 174-179.

RUEDA, L.M. & AXTELL, R.C. 1996. Temperature-dependent development and survival of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Med. Vet. Entomol.** **10**, 80-86.

SALIN, C., DELETTRE, Y. R., VERNON, P. 2003. Controlling the mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: field trials with a combined insecticide treatment insect growth regulator and pyrethroid. **J. Econ. Entomol.** **96**, 126-130.

S.A.S. Institute Inc. 2003. **S.A.S. User's guide: Statistic**. Versão 9.13. Cary, North Caroline, USA.

SHEPPARD, D.C., GAYDON, D.M. & MILLER, R.W. 1989. Resistance in house flies (Diptera: Muscidae) selected with 5 ppm feed-through cyromazine. **J. Econ. Entomol.** **9**, 257-260.

TREVOR, A., LAMBKIN, T. A. & RICE, S.J. 2006. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to cyfluthrin and detection of strong resistance in field populations in eastern Australia. **J. Econon. Entomol.** **99**, 908-913.

TUCCI, E.C., GOMES, J.P.C. & SANTOS, J.M.F. 2002. Avaliação da eficácia de triflumuron Starycide SC480 no controle de *A. diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Anais do XIX Congresso Brasileiro de Entomologia. Manaus, AM. Resumo, p. 128.

VAUGHAN, J.A. & TURNER, E.C. Jr. 1984. Residual and topical toxicity of various insecticides to the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Econ. Entomol.** **77**, 216-220.

WAKEFIELD, M.E. & COGAN, P.M. 1990. Resistance to iodenfenphos and malathion in the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus*. In CHERNAKI-LEFFER, A. M. (2004). **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**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná. 128 p.

WEAVER, J.E. 1996. The lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*: field trails and control in a broiler house with insect growth regulators and pyrethroids. **J. Agric. Entomol.** **13**, 93-97.

WEAVER, J.E. & KONDO, V.A. 1987. Laboratory evaluations of insect growth regulators in producing lesser mealworm mortality and egg fertility. **J. Agric. Entomol.** **4**, 233-245.

CAPÍTULO III

Estudos populacionais e distribuição espacial de *A. diaperinus* em galpões de aviário de corte no município de Louveira, SP: subsídios para o manejo integrado do inseto

Resumo: Neste estudo pretendeu-se dar subsídios aos programas de manejo integrado em aviários de corte, com estudo da distribuição espacial de *Alphitobius diaperinus*, discutindo os períodos favoráveis a aplicação de controle químico e biológico e porque tais fatores podem interferir no sucesso do manejo. Os resultados indicaram que os tipos de galpões, manejo das camas durante os lotes avaliados e aplicação de controle químico afetaram a densidade populacional, bem como as temperaturas da cama e no interior dos galpões. Tanto larvas quanto adultos encontravam-se agregados, principalmente sob os comedouros, ao longo dos lotes e semanas amostradas. As distribuições espacial e temporal heterogêneas estão relacionadas aos movimentos migratórios da população que são afetados pelos fatores abióticos e visam o estabelecimento em micro-habitats que garantam a permanência nos galpões.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade da criação intensiva de animais em confinamento favorece o estresse e acúmulo de excretas nestes ecossistemas artificiais, que são propícios ao desenvolvimento de artrópodes com potencial sinantrópico. O estudo destas espécies, principalmente insetos, nestes ambientes não tem apenas importância ecológica, mas sanitária, devido a sua associação com a transmissão de patógenos de importância médica e veterinária. Estes insetos associados à produção avícola são altamente dependentes do ambiente artificial no qual vivem (AXTELL & ARENDS 1990).

Das diversas ordens de insetos que estão associadas aos sistemas de produção animal, a Ordem Coleoptera tem como destaque a espécie *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797), conhecida como “casquinho” ou “besouro-da-cama”. São insetos cosmopolitas, comuns em substratos de produções avícolas e em produtos farináceos armazenados. A espécie é originária da África e ocorre naturalmente associada a ninhos de aves e morcegos onde se

alimentam de fragmentos de pele, penas e carcaças.(PFEIFFER & AXTELL 1980, FRANCISCO 1996, CHERNAKI-LEFFER 2004). São adaptados as baixas condições de umidade, sendo que as condições ambientais fornecidas pelos aviários são uma extensão do seu habitat primário e sobrevivem a prolongados períodos de seca e tolerância térmica e já estariam pré-adaptados aos sistemas de produção de aves (SALIN *et al.* 1999).

Nestes sistemas de produção, devido à heterogeneidade temporal e espacial, as adaptações fisiológicas e comportamentais são resultados dos modelos de criação e práticas de manejo. Assim, estes insetos evitam as condições desfavoráveis e tornam-se permanentemente estabelecidos (SALIN *et al.* 2000, RUEDA & AXTELL 1996, SOUTHWOOD 1977).

As principais características propícias para o desenvolvimento de *A. diaperinus* em criação de aves poedeiras são a temperatura e a baixa umidade de esterco acumulado (DESPINS *et al.* 1987). O acúmulo de ração, água, serragem e as altas temperaturas que compõem a cama em galpões de aves de corte intensificam o desenvolvimento do inseto (CHERNAKI & ALMEIDA 2001). Portanto, a densidade de cascudinhos nos diferentes sistemas de produção avícola, estimula os estudos na elaboração de programas de controle.

As grandes infestações deste coleóptero em galpões de aves de corte são acentuadas, quando novas camas são adicionadas sobre as mais velhas, que são parcialmente removidas, ou, as camas são reutilizadas para os novos lotes de frangos, o que desperta o interesse médico e veterinário, devido o potencial dos cascudinhos em abrigar patógenos causadores de doenças aviárias (HARDING & BISSEL 1958, SAFRIT & AXTELL 1984). A dispersão de *A. diaperinus* ocorre quando as camas são removidas ou empilhadas nas proximidades dos aviários, sendo que em certas áreas foi constatada a migração de centenas de insetos para o interior das residências (GALL 1980).

O controle de *A. diaperinus* no Brasil estaria relacionado à sua importância médica e veterinária, no entanto os prejuízos associados aos danos às instalações são relatados. A competência e a capacidade veiculadora de organismos, com importância na saúde animal e humana, bem como alergias ocupacionais, foram avaliadas em diversos estudos (DE LAS CASAS *et al.* 1972; 1973, SCHROECKENSTEIN *et al.* 1988, BAGGESEN *et al.* 1992, MCALLISTER *et al.* 1995).

REYNA *et al.* (1983) observou que a transmissão de protozoários do gênero *Eimeria* ocorre principalmente quando oocistos são ingeridos por adultos de *A. diaperinus* que eventualmente são ingeridos pelas aves.

Outros experimentos demonstraram que *A. diaperinus* podem adquirir e abrigar *Campylobacter jejuni* do ambiente e foram capazes de transmitir bactérias viáveis as aves (STROTHER *et al.* 2005). Em amostras obtidas de aviários com problemas de manejo de *A. diaperinus* de diversas regiões do México, os testes bacteriológicos indicaram que 21% dos isolados foram positivos para *Salmonella* sp. e 28% para *Escherichia coli* (DAVILA *et al.* 1996).

EIDSON *et al.* (1965; 1966) observaram que aves mortas pelo vírus da leucose (doença de Marek) continham larvas e adultos que se alimentavam da carcaça e que poderiam se contaminar e transmitir o patógeno as aves saudáveis que se alimentassem dos insetos infectados. Sendo que em aviários com alta incidência de leucose, houve correlação positiva com a abundância de insetos.

Diversos estudos demonstram que *A. diaperinus* pode atuar como hospedeiro intermediário de cestódeos e nematódeos. ELOWI & ELBIHARI (1979) observaram que 14% de adultos e menos de 1% das larvas de cascudinhos eram positivas para larvas cisticercóides de *Choanotaenia infundibulum*. Já em estudo conduzido em granja de aves poedeiras da região de Campinas, SP, estes insetos foram negativos para a mesma espécie de cestódeo, apesar da ocorrência de aves infectadas (AVANCINI & UETA 1990)

Em Cuba, frangos alimentados com cascudinhos por 3 dias consecutivos, apresentaram infecção por *Subulura suctoria* (Nematoda) (MOYA *et al.* 1977). Já em granjas de aves poedeiras na Índia, cascudinhos foram observados como vetores naturais de *Subulura brumpti* sendo que foram encontradas larvas do parasita em 40% dos adultos dissecados (KARUNAMOOTHY *et al.* 1994).

Em estudo recente, avaliou-se a presença de bactérias gram-negativas da Família Enterobacteriaceae nas superfícies externa e interna de *A. diaperinus*, coletados em aviários de frangos de corte de perus nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Estas bactérias seriam patogênicas às aves sendo que o contato direto com os insetos, que atuam como vetores mecânicos em aviários, favorecem a possibilidade de transmiti-las aos humanos (SEGABINAZI 2004).

Sob várias condições ambientais os indivíduos podem exibir tempos de desenvolvimento diferentes o que afetará a eficiência no controle que está sendo aplicado no local. Para as populações de *A. diaperinus*, as grandes densidades afetam o período de aplicação do controle químico, o tipo do produto a ser utilizado e medidas de controle biológico viáveis, atuando no seu potencial como vetor de patógenos. Em países temperados, são considerados uma das principais pragas estruturais e os danos causados pelo inseto são pelo hábito de empuparem perfurando os materiais utilizados nas paredes dos galpões para isolamento térmico.

Deve-se manter nas propriedades um programa integrado de controle de pragas, utilizando técnicas e conceitos já existentes, mas desenvolvendo um programa próprio do estabelecimento, já que cada modelo de criação apresenta particularidades que devem ser observadas no início da aplicação do manejo. A integração de métodos compreende a utilização de medidas de controle cultural pelo monitoramento da população e do conhecimento do comportamento de *A. diaperinus*; o controle mecânico que envolve os detalhes da construção dos galpões, manejo dos resíduos e práticas sanitárias e o controle químico pelo conhecimento dos efeitos, quantidades e períodos de aplicação dos inseticidas, evitando gastos desnecessários ao produtor, bem como a explosão da densidade de pragas e danos ambientais.

Considerando os prejuízos que podem ser causados na presença de *A. diaperinus*, pretende-se dar subsídios a programas de manejo integrado em aviários de corte, com estudo da distribuição populacional deste inseto, discutindo os períodos favoráveis a aplicação de controle químico e biológico e porque tais fatores podem interferir no sucesso do manejo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de coleta e amostragem de *A. diaperinus*

As coletas foram realizadas em galpões de criação em aviários de corte, no município de Louveira, SP (23°05'11" S - 46°57'02" O), no período de março de 2005 a março de 2006. Foram avaliados dois tipos de galpões, um com piso de solo batido e um galpão com piso pavimentado (cimento), ambos com área de 1000 m², com substrato (=“cama”) composto por serragem grossa, com até 10 cm de espessura, antes de atingir o piso. As amostragens foram conduzidas durante o período de permanência dos lotes de frangos nos galpões, que era de 40 a 45 dias, até a retirada para o abate.

Os bebedouros e comedouros permaneciam durante o ciclo distribuídos por toda extensão do galpão, formando 4 fileiras, 2 fileiras para comedouros e 2 fileiras para bebedouros. Conforme o tempo de desenvolvimento dos frangos, os comedouros passavam de pequenos e apoiados sobre a cama, para maiores e que eram suspensos conforme o crescimento das aves. Os bebedouros permaneciam durante todo o lote suspensos e não eram apoiados sobre a cama. O aquecimento era mantido até a 2ª semana de desenvolvimento do lote, com o uso de aquecedores a lenha e gás, localizados no centro dos galpões, sendo que haviam 4 no galpão com piso-solo e 5 no galpão com piso-cimento.

No início do desenvolvimento dos lotes as aves são mantidas em áreas circulares, próximas aos aquecedores e conforme há o crescimento das aves, estas áreas eram aumentadas até tomarem toda a extensão dos galpões, o que ocorria até a 3ª semana de desenvolvimento do lote, com a substituição total dos comedouros pequenos pelos grandes.

As coletas eram iniciadas na semana de entrada dos lotes com a determinação de 5 pontos amostrais em cada galpão que foram determinados aleatoriamente, que eram marcados de acordo com os comedouros, cada comedouro representava um número. A distribuição aleatória das armadilhas era realizada no centro ou nas laterais (lado esquerdo ou direito) dos galpões, próximos às paredes e entre as fileiras de bebedouros, que se alternavam com as fileiras de comedouros. As armadilhas foram colocadas no nível da cama, embaixo dos comedouros. Esta metodologia foi estabelecida, pois em coletas anteriores a disposição das armadilhas era afetada pela interferência das aves que as desenterravam, prejudicando a identificação dos pontos amostrais, bem como pelos

trabalhadores da granja. Portanto, visando evitar as perdas, optou-se em coloca-los embaixo dos comedouros onde ficavam mais protegidas das interferências humanas e dos animais.

Os insetos foram capturados em armadilhas de Arends, tal como sugerido por SAFRIT & AXTELL (1984), FRANCISCO (1996) e CHERNAKI-LEFFER (2004). As armadilhas consistem de tubo de PVC de 4 cm de diâmetro, por 20 cm de comprimento, contendo no seu interior papel corrugado (20 x 20 cm), de forma que as ondulações permanecessem dispostas longitudinalmente no interior dos tubos. Em campo foram determinadas as temperaturas dos pontos amostrais com uso de termômetro digital de imersão, por até 3 minutos até estabilizar a temperatura do ponto amostral (Figura 1). As temperaturas no interior dos galpões eram controladas pela presença de termômetro na região central. As coletas foram semanais até a saída dos lotes e nos intervalos entre lotes não foram realizadas coletas devido ao manejo aplicado no aviário.



Figura 1. Disposição das armadilhas de Arends na cama dos galpões avaliados (A). Termômetro de imersão utilizado para determinar as temperaturas dos pontos amostrais (B).

As armadilhas eram retiradas semanalmente, com a retirada do papelão corrugado, que era acondicionado em sacos plásticos, individualizadas e identificadas. Em laboratório, as armadilhas foram congeladas e os coleópteros foram separados em machos, fêmeas e larvas. A população foi agrupada em níveis de ocorrência nas amostras seguindo os

parâmetros: tipo de piso dos galpões, semana de desenvolvimento dos lotes e troca de cama. Esta análise espacial forneceu informações sobre quais os períodos e regiões dos galpões que apresentavam infestações altas, médias e baixas, para o possível estabelecimento de estratégias de manejo integrado em áreas e períodos com os maiores picos populacionais. Estes parâmetros ambientais e estruturais poderiam evidenciar porque há pontos favoráveis para o desenvolvimento de *A. diaperinus* de acordo com o modelo dos galpões e a interferência do manejo.

Durante o experimento seguiu-se o manejo do aviário com o objetivo de se avaliar se a densidade populacional de *A. diaperinus* estava sendo afetada pelos métodos já estabelecidos. A descrição dos procedimentos de manejo adotados no aviário foi apresentada no capítulo II, página 55.

2.2. Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico S.A.S. System for Windows, versão 9.13 (S.A.S. Institute Inc. 2003). Na análise de variância (ANOVA) utilizou-se o procedimento PROC GLM (Modelos Lineares Gerais) com a comparação múltipla das médias pelo teste de Duncan, para $\alpha=0,05$. A distribuição espacial de *A. diaperinus* nos tipos de galpões ao longo dos lotes de frangos avaliados foi pela influência dos fatores abióticos (temperaturas dos galpões e dos pontos amostrais na cama) na frequência de insetos (machos, fêmeas e larvas). Foram observados a influência das temperaturas dos galpões e dos pontos amostrais em relação aos parâmetros: Lotes de frangos, Semana de desenvolvimento, Tipo de galpão (piso-solo ou piso-cimento) e Região dos galpões (centro, lateral esquerda e lateral direita). A frequência de insetos foi avaliada em relação aos Lotes de frangos, Semana de desenvolvimento, Tipo de galpão, Região dos galpões, Estágio de desenvolvimento dos insetos, Tamanho dos comedouros, Troca de cama e Período de aplicação dos inseticidas.

3. RESULTADOS

3.1. Avaliação de fatores climáticos e distribuição espacial de *A. diaperinus*

As Tabelas I e II apresentam os diversos parâmetros que afetam a distribuição de *A. diaperinus* em aviários de corte. Observa-se que a média de *A. diaperinus* apresentou diferença significativa para os parâmetros avaliados ($F= 28,82$; $p< 0,0001$): lotes de frangos ($F= 20,56$; $p< 0,0001$) e semanas de desenvolvimento ($F= 28,80$; $p< 0,0001$). A Tabela I indica que em ambos galpões avaliados a maior média de insetos foi observada no 2º Lote, no qual houve aplicação de inseticida e troca de cama, enquanto que a menor foi obtida no 4º Lote, no qual não houve troca de cama e aplicação de inseticida sobre a cama. Sugere-se que a abundância de *A. diaperinus* esteja relacionada as temperaturas no interior destes galpões que se mantém altas ao longo do ano, bem como a aplicação de inseticida e manejo da cama não estejam adequados. A frequência de insetos também aumenta durante as semanas de desenvolvimento dos lotes para ambos os tipos de galpões.

Tabela I. Média de *A. diaperinus* (larvas e adultos) para galpões com piso-solo e piso-pavimento em relação aos parâmetros lotes de frangos e semanas de desenvolvimento dos lotes.

		Número de insetos/armadilha
		$\bar{x} \pm DP$
Lotes de frangos	1º	224,77±333,81 b
	2º	311,23±479,45 a
	3º	104,17±204,29 d
	4º	93,98±124,81 d
	5º	167,67±222,96 c
	6º	141,22±164,13 c
Coletas (em semanas de desenvolvimento)	1ª	49,62±70,62 d
	2ª	89,81±185,77 d
	3ª	215,93±290,73 c
	4ª	188,93±266,98 c
	5ª	269,41±412,79 b
	6ª	354,41±381,73 a

As médias com as mesmas letras para cada coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média e seus desvios-padrão.

Na Tabela II houve diferença significativa quanto à frequência de insetos para os tipos de galpões ($F= 49,95$; $p< 0,0001$) e estágio de desenvolvimento dos insetos ($F= 175,34$; $p< 0,0001$), enquanto que para regiões dos galpões ($F= 1,17$; $p< 0,3098$) não houve diferença significativa, no entanto, com maiores médias observadas no centro dos galpões. Além disso, as regiões dos galpões não apresentaram diferença significativa em relação à média de temperatura dos pontos amostrais ($F= 2,31$; $p< 0,0998$). As temperaturas no interior dos galpões não apresentaram diferenças significativas quanto aos tipos de tipos de galpões ($F= 2,83$; $p< 0,0928$). Observa-se que apesar de haver diferenças significativas entre as temperaturas em relação ao tipo de piso e regiões dos galpões houve homogeneidade quanto à variação da temperatura nos pontos amostrais ao longo das semanas de desenvolvimento dos lotes de frangos.

Tabela II. Médias de de *A. diaperinus* (larvas e adultos) em relação aos parâmetros: tipo de galpão, regiões do galpão e fases do desenvolvimento do inseto.

		Temperatura da cama (°C)	Temperatura do galpão (°C)	Número de insetos/armadilha $\bar{x} \pm DP$
Tipo de galpão (piso)	Solo	28,6 a	25,6 a	232,09±337,70 a
	Pavimento	27,6 b	25,1 a	128,05±224,83 b
Região do galpão	Centro	28,3 a	25,6 a	181,83±305,16 a
	Laterais	27,9 b	24,8 c	178,66±293,60 a
Sexo/Estágio	♂	27,9 b	25,3 b	81,85±32,60 b
	♀	#	#	83,42±40,48 b
	Larvas	#	#	374,95±219,72 a

Indica que não houve análise estatística para este parâmetro. As médias com as mesmas letras para cada coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média e seus desvios-padrão.

Em relação à frequência de insetos e as temperaturas da cama nos pontos amostrais, as maiores médias foram observadas no galpão com piso-solo nas regiões centrais dos galpões, confirmando a relação densidade-dependente com a temperatura. A média de larvas foi maior que de adultos, que apresentou razão sexual 1:1, sendo que a densidade de fêmeas foi maior que de machos.

As médias de temperaturas da cama foram maiores nos lotes 5 e 6, que coincidem com as estações quentes e úmidas (primavera e verão), enquanto que as médias de temperaturas da cama nos lotes 3 e 4 correspondem as estações frias e secas (outono e inverno). Os lotes 1 e 2 referem-se aos períodos de transição entre verão e outono. Observa-se que grupos semelhantes se formaram em relação às médias de temperaturas dos galpões para os mesmos lotes avaliados. A frequência de insetos apresentou maior média no lote 2, no qual a média de temperatura da cama foi de 27,3°C e a temperatura do galpão foi de 25°C. Nos lotes 3 e 4, a média de temperatura da cama foi de 25,4°C e a temperatura do galpão foi de 23,2°C, nos quais observamos as menores frequências de insetos. A temperatura da cama não seria principal fator que afetou a frequência de insetos durante os lotes avaliados, já que o manejo empregado para os lotes 1, 2 e 3 foi a troca de cama e aplicação de inseticida (ciflutrina e triflumuron). No lote 4, houve aplicação de inseticida (ciflutrina e triflumuron), sem troca de cama. No lote 5, não houveram troca de cama e aplicação de inseticida. Já no lote 6, houve um pequeno declínio na densidade populacional, que poderia estar associado a troca de inseticida (cipermetrina) (Figuras 2 e 3).

A frequência de insetos apresentou diferença significativa em relação às semanas, sendo que as maiores densidades foram nas duas primeiras semanas, como declínio até a 4ª semana e na 5ª e 6ª semanas voltou a aumentar. Sugere-se que as semanas indicadas para aplicação de controle biológico seriam entre a 2ª e 4ª semanas dos lotes, já que a aplicação deste tipo de controle não oferece risco às aves ((Figuras 2 e 3).

As médias de temperaturas da cama entre 1ª a 5ª semana de desenvolvimento dos lotes não apresentaram diferença significativa, sendo que a maior média foi observada na 6ª semana. O aumento da temperatura do substrato (=cama) estaria associado ao acúmulo de esterco que favorece a compactação, bem como o crescimento dos frangos que tendem a ficar em repouso sobre a cama. Quanto as médias de temperaturas no interior dos galpões ao longos das semanas de coleta, houveram diferenças significativas, com as maiores médias nas 1ª e 2ª semanas. Estas médias de temperaturas correspondem ao período em que as laterais dos galpões permanecem fechadas e os aquecedores ligados. A partir da 3ª semana até o final de desenvolvimento dos lotes as laterais são abertas e os ventiladores são ligados, reduzindo a média de temperatura no interior dos galpões (Figura 4).

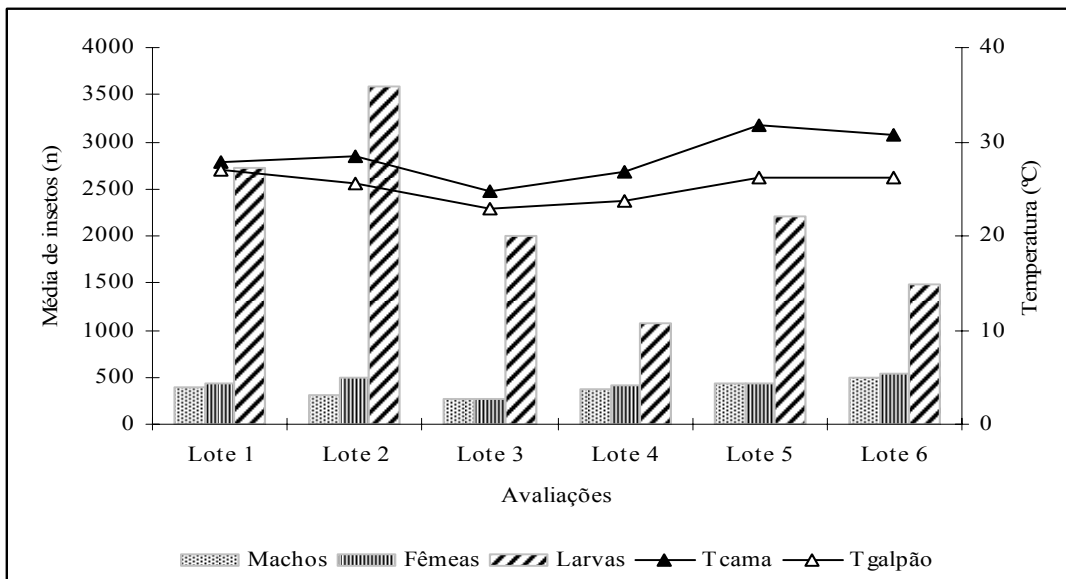


Figura 2. Médias de temperaturas da cama, do galpão e médias do número de machos, fêmeas e larvas em galpão de aviário com piso solo nos lotes amostrados.

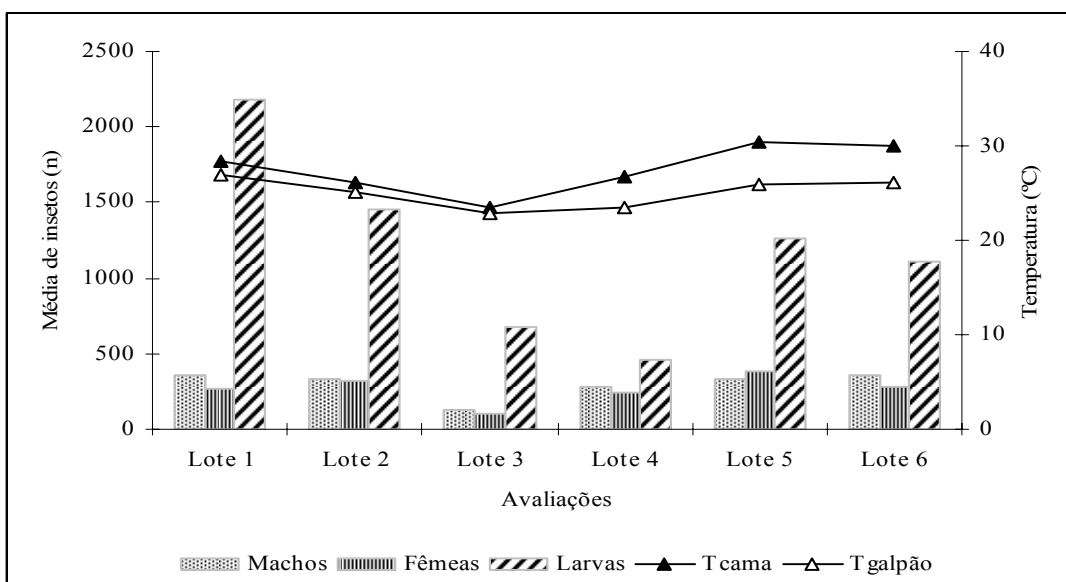
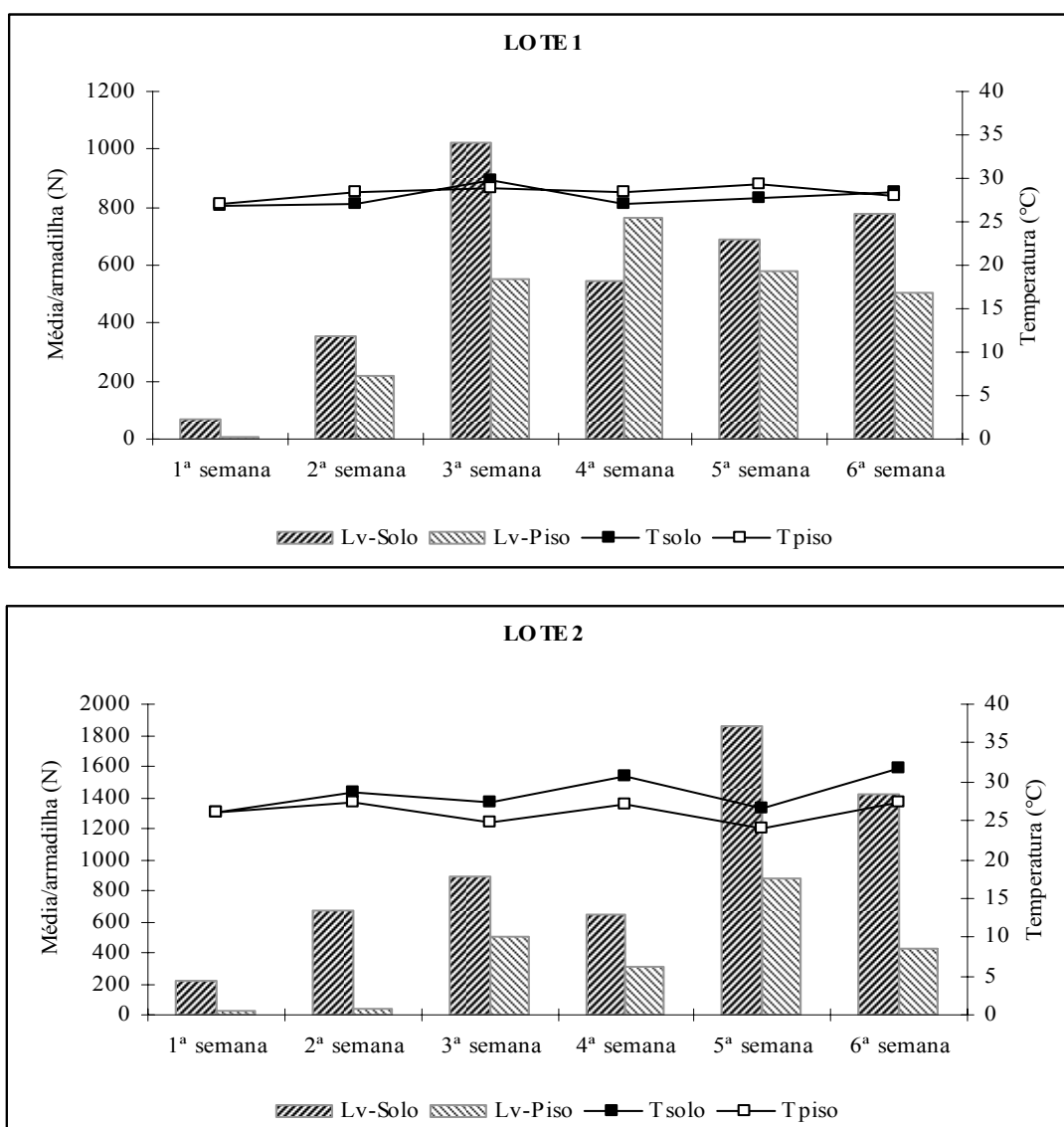


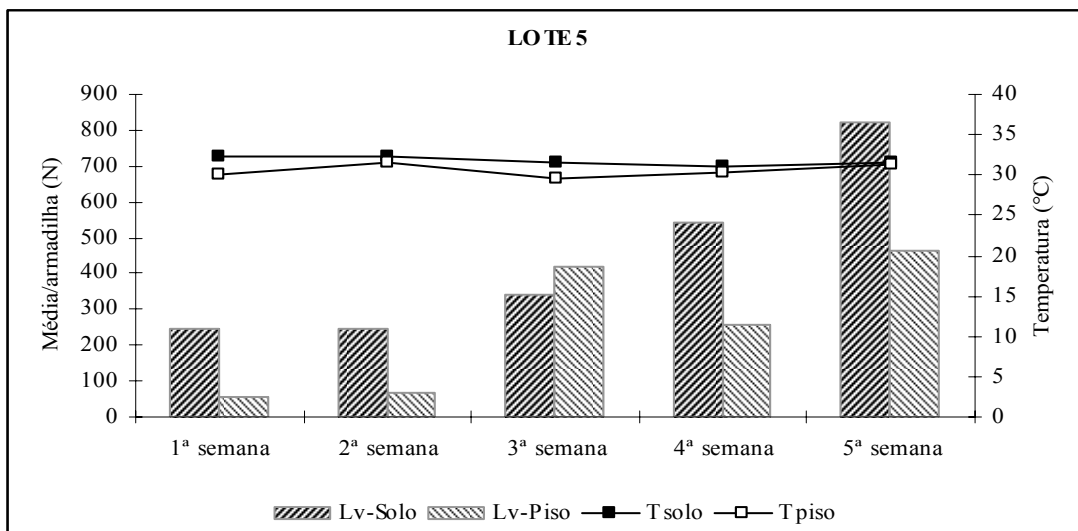
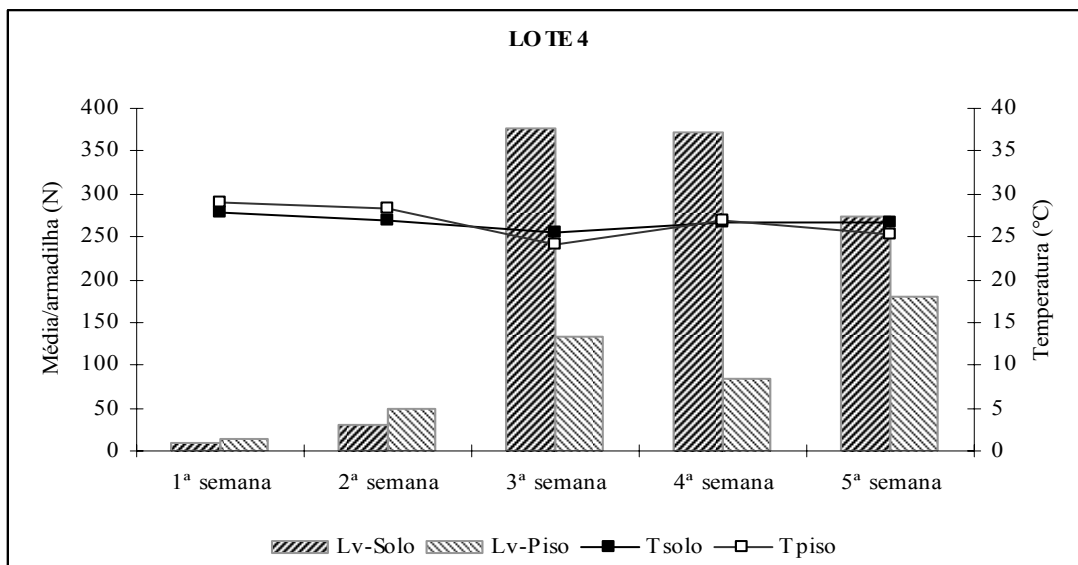
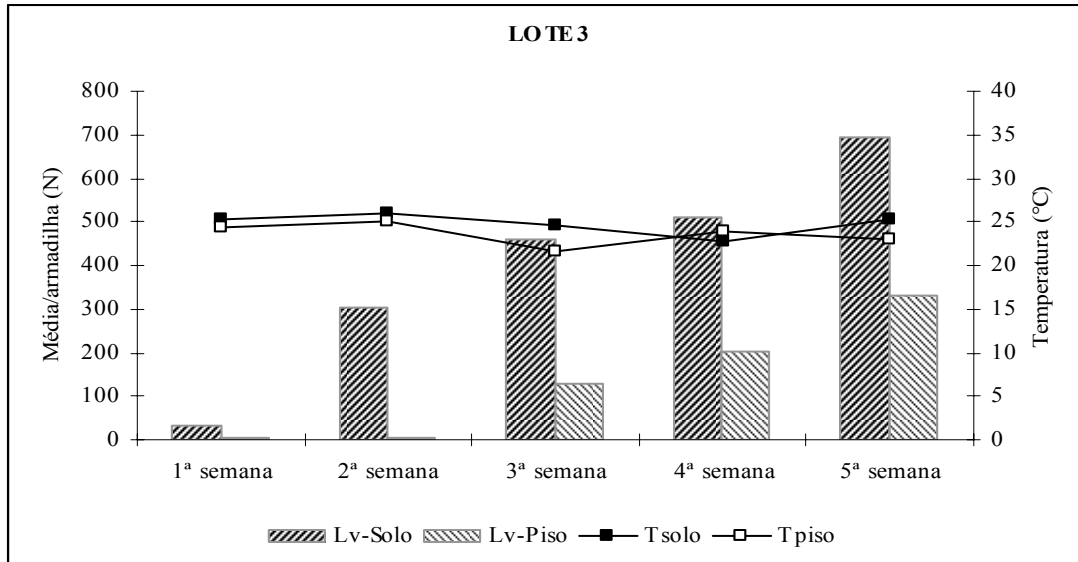
Figura 3. Médias de temperaturas da cama, do galpão e médias do número de machos, fêmeas e larvas em galpão de aviário com piso pavimentado nos lotes amostrados.



Figura 4. Prancha com seqüência de fotos caracteriza o desenvolvimento de lotes de frangos em aviários de corte da 1ª semana a 6ª semana (A até F).

A densidade de adultos foi menor e com poucas variações ao longo dos lotes que a densidade de larvas, portanto, sugere-se que as larvas atuam como um bom parâmetro indicativo à implantação de programas de controle, já que são responsáveis pela permanência de populações remanescentes nos galpões, devido ao seu comportamento no solo e cama durante o ciclo de desenvolvimento do inseto. A média de larvas/armadilha ao longo das semanas em galpões com piso-solo é maior que em galpões com piso-cimento ao longo dos lotes avaliados, bem como a densidade de larvas aumenta durante as semanas de desenvolvimento do ciclo (Figura 5).





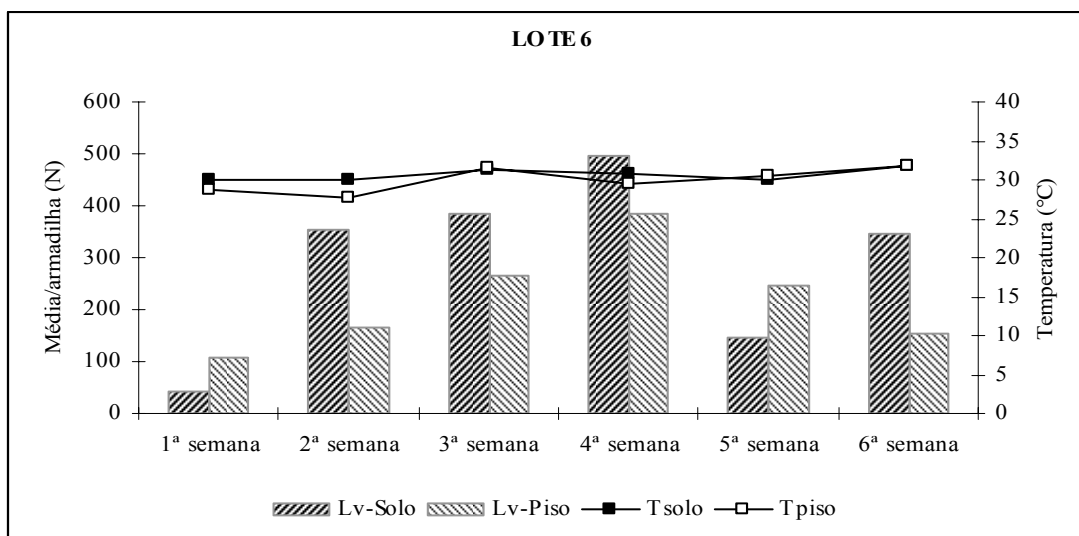


Figura 5. Prancha com as médias de temperatura da cama e de larvas/armadilha nos tipos de galpões avaliados ao longo das semanas nos lotes amostrados.

Outros fatores apresentaram diferença significativa quanto à frequência de insetos ($F= 33,55$; $p< 0,0001$) tais como o tipo de comedouro ($F= 85,69$; $p< 0,0001$) e troca de cama ($F= 9,19$; $p< 0,0001$). Já aplicação de inseticida não apresentou diferença significativa em relação a frequência de insetos ($F= 2,63$; $p< 0,0826$) (Tabela III).

A diferença significativa em relação aos comedouros estaria relacionada ao tempo de permanência e a menor área ocupada pelos comedouros pequenos ao longo do lote de frangos, bem como estarem nos galpões nas fases quando a densidade populacional ainda está reduzida. A maior área ocupada pelos comedouros grandes também favorece a agregação do coleóptero. Quando houve troca de cama, observou-se que a densidade de insetos foi maior que em lotes que com camas reutilizadas. Estes resultados podem ter sido afetados pelas trocas de camas terem sido em períodos das estações quentes e úmidas que favoreceram ao aumento populacional de *A. diaperinus*.

Tabela III. Frequência de *A. diaperinus* (larvas e adultos) por armadilha em relação aos parâmetros: tipo de comedouro, troca de cama e período de aplicação do inseticida.

		Número de insetos/armadilha
		$\bar{x} \pm DP$
Troca de cama nos lotes	Sim	201,48±332,55 a
	Não	130,83±184,11 b
Tamanho dos comedouros	Pequeno	69,71±141,47 b
	Grande	243,13±341,30 a
Aplicação de inseticida nos lotes	Sim	182,29±308,67 a
	Não	167,67±222,96 a

As médias com a mesmas letras não apresentam diferença significativa pelo teste de comparações múltiplas de Duncan ($\alpha=0,05$).

$\bar{x} \pm DP$: refere-se aos valores de média e seus desvios-padrão.

4. DISCUSSÃO

As dificuldades em atingir o clímax em um ambiente estocástico e as consequências do movimento das populações teriam efeitos na distribuição espacial e temporal. Consistem em fatores comportamentais distintos que são ajustados pela seleção natural de indivíduos (STINNER *et al.* 1983).

A maior densidade populacional de *A. diaperinus* em galpão de piso-solo seria por ser um habitat que favorece a migração das larvas durante as mudas e pupação, enquanto que para adultos seriam áreas de reprodução e oviposição, além da proteção aos efeitos da aplicação de inseticidas. Portanto, seriam constantemente repostos neste tipo de galpão devido a presença de indivíduos em desenvolvimento destas populações remanescentes.

O principal efeito do fluxo gênico em uma população local seria garantir a adaptação as características específicas do ambiente enquanto que entre populações seria parte do sistema adaptativo, atuando em função da estrutura do habitat. Portanto, permite que as populações respondam às alterações regionais do ambiente, devido as modificações locais e temporárias, evidenciando a importância dos ambientes heterogêneos no movimento e persistência das espécies (STINNER *et al.* 1983).

As diferenças entre populações de *A. diaperinus* seriam atribuídas as diferentes linhagens de populações avaliadas, bem como o manejo dos locais e temperaturas utilizadas em experimentos. A temperatura seria a principal influência no desenvolvimento deste inseto e, afetada pela oferta e qualidade de recursos alimentares, apresentam variados períodos de desenvolvimento, quando comparados as condições ambientais ideais em campo (RUEDA & AXTELL 1996, HOZEN *et al.* 2004).

Sugere-se que há tendência de agregação de *A. diaperinus* em regiões dos galpões nas quais as maiores médias de temperaturas da cama concentravam-se no centro dos galpões, comparados as médias determinadas nas laterais, apesar de não haver diferença significativa entre estas regiões e a frequência de insetos.

Em estudos conduzidos em granjas de aves poedeiras, *A. diaperinus* ocorreu durante todo ano sendo que as maiores densidades de larvas e adultos foram observadas durante as estações com temperaturas mais elevadas (BRUNO *et al.* 1993, FERNANDES *et al.* 1995, PINTO *et al.* 2005).

A ausência de controle da população de *A. diaperinus* com a aplicação de inseticida no aviário poderia estar associado ao manejo da cama e aos períodos de aplicação do inseticida. Quando não houve troca de cama, a população remanescente foi favorecida, mesmo com a aplicação do produto, pois este tipo de tratamento não foi uniforme em todo galpão, considerando a espessura da cama e o tipo de piso. Portanto, haveriam áreas que oferecem refúgio e proteção, devido ao pouco contato com o produto, favorecendo ao aumento populacional nos lotes posteriores.

VORIS *et al.* (1994) observaram que *A. diaperinus* em aviários nos EUA retornam à níveis de pré-tratamento após a aplicação de controle químico e manejo dos galpões, pois a flutuação populacional seria afetada pela temperatura, com diferenças quanto a período de desenvolvimento, sendo que a população da Califórnia apresentou faixa de tolerância térmica mais limitada que a população do Arkansas. Este conjunto de fatores associados a oferta de recursos alimentares atuam na seleção de linhagens populacionais em várias regiões. Portanto, a heterogeneidade espacial e temporal nestes sistemas de produção são afetadas pelo tipo de criação, estrutura e manejo das instalações.

O manejo também inclui as medidas sanitárias, como o descarte das aves mortas, pois os insetos se alimentam de carcaças que também são áreas de refúgio de reprodução.

Com o aumento da densidade populacional, os riscos da transmissão de patógenos às aves poderiam aumentar e são favorecidos pelo comportamento das aves no início do desenvolvimento, que se alimentam de larvas e adultos de *A. diaperinus* que são facilmente encontrados nos galpões em altas infestações. A compactação da superfície da cama pela presença de esterco, serragem e ração fornecem o ambiente favorável ao desenvolvimento do inseto, devido ao aumento da temperatura e umidade, sendo que estas condições podem prejudicar a introdução de medidas de controle biológico, principalmente pela aplicação de entomopatogênicos (Figuras 6 e 7).

Sugere-se que a aplicação de métodos de controle sejam intensificados nos períodos entre verão e outono para que haja gradativa redução da densidade populacional de *A. diaperinus*. Havendo manejo adequado, principalmente com o uso de controle biológico, associado as menores temperaturas que favorecem a sua eficácia, bem como controle químico moderado, poderá haver declínio e equilíbrio populacional que devem ser mantidos no aviário.

A reinfestação é observada quando o descarte das camas ficam armazenados próximos aos galpões, durante o manejo, no período entre lotes. Os adultos tendem a migrar de volta aos galpões, enquanto as larvas migram para o solo para completarem o desenvolvimento (SAVAGE 1992, VORIS *et al.* 1994, CALIBEO-HAYES *et al.* 2005).

A seleção dos indivíduos nas populações está voltada à sobrevivência e reprodução e afeta a sua distribuição espacial e temporal, isto é, o período em que é favorável ao desenvolvimento e a necessidade de proteção (diapausa e/ou migração), de acordo com a origem estocástica do habitat no tempo e no espaço. O movimento das espécies seria direcional, pois a proporção de indivíduos que migram está em função da qualidade do ambiente e estas populações emigrantes movem-se agregadas e se estabelecem juntas em áreas não refratárias em relação a sua localização original, bem como o estabelecimento de populações seria contínuo no espaço, devido aos fatores bióticos e abióticos (STINNER *et al.* 1983).

LAMBKIN *et al.* (2007) observaram que a localização dos comedouros não afeta a densidade de *A. diaperinus*, no entanto, os insetos estão mais concentrados embaixo de comedouros em áreas centrais, quando comparados às áreas embaixo de bebedouros e áreas livres amostradas. As infestações embaixo dos comedouros seriam o principal refúgio e

origem de novos adultos e larvas que infestam os galpões. Não é definida a origem de grandes densidades, mas sendo temporal e visando a reprodução, abrigo e emigração para novos pontos nos galpões, supõem-se que as armadilhas de Arends expressem amostras transitórias, pois os insetos estão eventualmente em movimento embaixo de comedouros por estarem mais protegidos. Portanto, as amostragens refletem a intensidade de atividade (emigração, imigração e movimento) dos insetos nos galpões e não seriam formas definitivas de medida de abundância, já que não são localizações específicas ao longo do tempo nos galpões, pois larvas e adultos deslocam-se para o solo e frestas para continuarem seu desenvolvimento. Tais evidências justificam a escolha da metodologia de amostragem de *A. diaperinus* e confirmam os resultados obtidos em nossa avaliação no aviário de corte em estudo.

STROTHER & STEELMAN (2001) verificaram por análise espacial que *A. diaperinus* apresentam distribuição agregada nos locais indicados pelo modelo e que tendem a aumentar nas últimas semanas de desenvolvimento dos lote. No entanto, indicam que nas primeiras semanas de desenvolvimento dos lotes, as larvas, devido a densidade e tamanho reduzidos, não se deslocam para as áreas mais adequadas a sua sobrevivência e que nas semanas finais, a grande densidade facilita a agregação, encaixando-se nas áreas diagnosticadas pelo modelo matemático.

CHERNAKI-LEFFER *et al.* (2007) também verificaram a heterogeneidade espacial na distribuição de *A. diaperinus* em relação aos lotes e semanas avaliadas, sendo que a densidade seria afetada tanto pela reutilização da cama quanto pela temperatura, fazendo com que a população se recomponha rapidamente, mesmo com a aplicação de controle químico.

O entendimento dos efeitos do estresse fisiológico em *A. diaperinus* seria um dos fatores para entender as adaptações ecológicas de espécies introduzidas e diagnosticar sua capacidade de colonizar novos habitats, bem como suas estratégias adaptativas. *A. diaperinus* mantém-se em regiões temperadas devido a migração em períodos quentes, retomando sua atividade metabólica, já que sua sobrevivência varia de acordo com a diminuição da temperatura, permanecendo inativos e, quando há redução da oferta de recursos alimentares, reduzindo o metabolismo e consumo de oxigênio (RENAULT *et al.* 2003).

Portanto, nossos resultados confirmam que a heterogeneidade da densidade e altas infestações por *A. diaperinus* são afetadas pela temperatura da cama e pelo manejo empregado no aviário. Os galpões com piso-solo favorecem as populações remanescentes e mantêm as altas infestações nos aviários, enquanto que os galpões com piso-cimento devem ser avaliados nos períodos entre lotes para verificar a presença de frestas no piso que favoreçam a manutenção do ciclo no solo. Considerando as adaptações eco-fisiológicas observadas em populações de *A. diaperinus* que colonizam aviários de corte, seria necessário avaliar quais os limites térmicos nas diferentes regiões para o estabelecimento de medidas de controle eficientes, bem como o monitoramento da densidade populacional em relação ao manejo empregado e as medidas de controle químico e/ou biológico, com a definição do período de suscetibilidade para intensificação das medidas de controle.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVANCINI, R.M.P. & UETA, M.T. 1990. Manure breeding insects (Diptera and Coleoptera) responsible for cestoidosis in caged layer hens. **J. Appl. Entomol.** **110**, 307-312.

AXTELL, R.C. & ARENDS, J.J. 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. **Ann. Rev. Entomol.** **35**, 101-136.

BAGGESEN, D.L., OLSEN, J.E. & BISGAARD, M. 1992. Plasmid profiles and phage types of *Salmonella typhimurium* isolated from successive flocks of chickens on three parent stock farms. **Avian Pathology** **21**, 569-579.

BRUNO, T.V., GUIMARÃES, J.H., SANTOS, A.M.M. & TUCCI, E.C.. 1993. Moscas sinantrópicas e seus predadores que se criam em esterco de aves poedeiras confinadas, no Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Entomol.** **37** (3), 577-590.

CALIBEO-HAYES, D., DENNING, S.S. STRINGHAN, M. & WATSON, D.W. 2005. Lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) emergence after mechanical incorporation of poultry litter into field soils. **J. Econ. Entomol.** **98** (1), 229-235.

CHERNAKI, A. M. & ALMEIDA, L. M. 2001. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotrop. Entomol.** **30(3)**, 365-368.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. 2004. **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.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná. 128 p.

CHERNAKI-LEFFER, A.M., ALMEIDA, L.M., SOSA-GOMEZ, D.R., ANJOS, D.R. & VOGADO, K.M. 2007. Populational fluctuaation and spacial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleopera: Tenebrionidae) in poultry house, Cascavel, Parana State, Brazil. **Braz. J. Biol.** **67 (2)**, 209-213.

DAVILA, M., REBOLLO, M. & TÉLLEZ, G. 1996. **The importance of the beetle *Alphitobius diaperinus* in poyltry litter as a vector of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* in poultry farms in Mexico.** In T.A. LAMBKIN (1990). Investigations into the management of the darking beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC. 99 p. Publicação disponível em: <www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf>.

DE LAS CASAS, E., HARIEN, P. K. & POMEROY, B. S. 1972. Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. **Environ. Entomol.** **1**, 27-30.

DE LAS CASAS, E., HARIEN, P. K., DESHMUKH, D. R. & POMEROY, B. S. 1973. The relationship between the lesser mealworm and avian viruses. I. Reovirus 24. **Environ. Entomol.** **2**, 1043-1047.

DESPINS, J.L., CRAIG-TURNER, E. JR. & RUSZLER, P.L. 1987. Construction profiles of high rise caged layer houses in association with insulation damage caused by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) in Virginia. **Poult. Sci.** **66**, 243-250.

EIDSON, C.S., SCHMITTLE, S.C., GOODE, R. B. & LAL, J. B. 1965. The role of darking beetle, *Alphitobius diaperinus* in transmission of acute leucosis in chickens. **Poult. Sci.** **44**, 1366-1367.

EIDSON, C.S., SCHMITTLE, S.C., GOODE, R. B. & LAL, J. B. 1966. Induction of leukosis tumors with the beetle *Alphitobius diaperinus*. **Amer. J. Vet. Res.** **27**, 1053-1057.

ELOWNI, E.E. & ELBIHARI, S. 1979. Natural and experimental infection on the beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Choanotaenia infundibulum* and others chickens tapeworms. **Vet. Sci. Commun.** **3**, 171-173.

FERNANDES, M.A., SANTOS, AM.M. & LOMÔNACO, C. 1995. Ocorrência de artrópodes no esterco acumulado de galinhas poedeiras. **An. Soc. Entomol. Bras.** **24 (3)**, 649-654.

FRANCISCO, O. 1996. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) associado ao esterco em granjas de aves poedeiras: fenologia, estrutura etária e parasitismo. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas. 116 p.

GALL, A. 1980. Are lesser mealworms worth the trouble they may cause? **Poult. Dig.** **39**, 76-77.

GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. 1987. Factors affecting climbing and tunneling behaviour of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Econ. Entomol.** **80**, 1197-2004.

HARDING JR., W.C. & BISSEL, T.L. 1958. Lesser mealworm in a broiler house. **J. Econ. Entomol.** **51**, 112.

HOZEN, M., KHAN, A.R. & HOSSAIN, M.. 2004. Growth and development of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) on cereal flours. **Pak. J. Biol. Sci.** **7 (9)**, 1505-1508.

KARUNAMOOTHY, G., CHELLAPPA, D.J. & ANADAN, R. 1994. The life history of *Subulura brumpti* in the *Alphitobius diaperinus*. **Indian Vet. J.** **71**, 12-15.

LAMBKIN, T.A. KOPITAKE, R.A. RICE, S.J. BARTLETT, J.S. & ZALUCKI, M.P. 2007. Distributions of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in the litter of a compacted earth floor broiler house in Subtropical Queensland, Australia. **J. Econ. Entomol.** **100 (4)**, 1136-1146.

MCALLISTER, J. C., STEELMAN, C. D. & CARLTON, C. E. 1995. Histomorfology of the larval and adult digestive systems of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Kansas. Entomol. Soc.** **68** (2), 195-205.

MOYA, A., FLORES, R., & OVIES, D. 1977. On epizootiology of heteroxenous helminthes of hen (*Gallus gallus*) in Cuba. **Rev. Cub. Cienc. Vet.** **8**, 25-29.

PFEIFFER, D. G. & AXTELL, R. C. 1980. Coleoptera of poultry manure in caged-layer houses in North Carolina. **Environ. Entomol.** **9**, 21-28.

PINTO, D.M., RIBEIRO, P.B. & BERNARDI, E. 2005. Flutuação populacional de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), capturados por armadilhas do tipo sanduiche em granja avícola, no município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol. São Paulo** **72** **92**), 199-203.

RENAULT, D., HERVANT, F. & VERNON, P. 2003. Effect of food shortage and temperature on oxygen consumption in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Physiol. Entomol.** **28**, 261-267.

REYNA, P.S., MCDOUGALD, L.R. & MATHIS, G.F. 1983. Survival of coccidian in poultry litter and reservoirs of infection. **Avian Diseases** **27**, 464-473.

RUEDA, L.M. & AXTELL, R.C. 1996. temperature-deendent development and survival of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Med. Vet. Entomol.** **10**, 80-86.

SAFRIT, R. D. & AXTELL, R. C. 1984. Evaluations of sampling methods for darking beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the litter of turkey and broiler houses. **Poult. Sci.** **63** (12), 2368-2375.

SALIN, C. VERNON, P. & VANNIER, G. 1999. Effects of temperature and humidity on transpiration in adults of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Insect Physiol.** **45**, 907-914.

SALIN, C., DELETTRE, Y. R., CANNAVACCIUOLO, M., VERNON, P. 2000. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **Eur. J. Soil. Biol.** **36**, 107-115.

- SAVAGE, S. 1992. Reducing lesser mealworms. **Poult. Dig.** **51**, 34-36.
- S.A.S. Institute Inc. 2003. **S.A.S. User's guide: Statistic**. Versão 9.13. Cary, North Caroline, USA.
- SCHROECKENSTEIN, D.C., DAVIS, S.M., GRAZIANO, F.M. ALOMO, A., & BUSH, R.K. 1988. Occupational sensitivity to *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Allergy Clin. Immunol.** **82** (6), 1081-1088.
- SEGABINAZI, S.D. 2004. **Presença de bactérias da Família Enterobacteriaceae nas superfícies externa e interna de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, RS. 105 p.
- SOUTHWOOD, T. 1977. Habitat, the templet for ecological strategies? **J. Anim. Ecol.** **46**, 337-365.
- STINNER, R.E., BORFIELD, C.S., STIMAC, J.L. & DHOSE, L. 1983. Dispersal and movements of insect pests. **Ann. Rev. Entomol.** **28**, 319-335.
- STROTHER, K. O. & STEELMAN, C. D. 2001. Spatial analysis of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler production facilities. **Environ. Entomol.** **30** (3), 556-561.
- STROTHER, K.O., STEELMAN, C.D. & GBUR, E.E. 2005. Reservoir competence of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Campylobacter jejuni* (Campylobacterales: Campylobacteraceae). **J. Med. Entomol.** **42** (1), 42-47.
- VORIS, J.C., MEYER, J.A. PFOST, R. & WOODBURY, R.. 1994. Temperature affects lesser mealworm populations in turkey brooder houses. **Cal. Agric.** **48** (2), 18-21.

6. ANEXOS



Figura 6. Apesar do descarte de aves mortas ser feito em fossas cobertas, em períodos com alta taxa de mortalidade, as carcaças poderiam ser incineradas ao ar livre nas proximidades dos galpões (A). Presença de ave morta no interior do galpão, na quarta semana de desenvolvimento do lote (B).

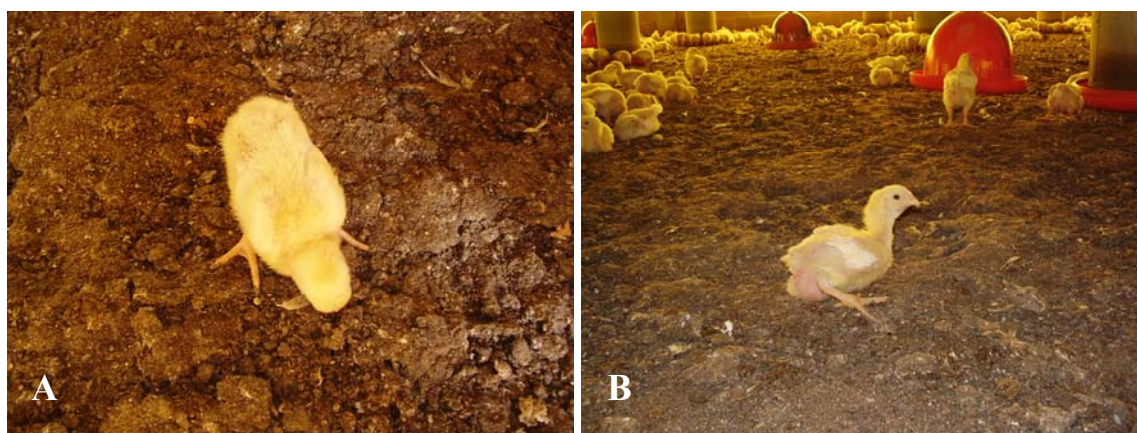


Figura 7. Frango durante a 2ª semana de desenvolvimento do lote se alimentando de larvas e adultos de *A. diaperinus* (A). Reutilização da cama, já compactada pelo esterco, serragem e ração, durante a 3ª semana de desenvolvimento do lote: ambiente rico em insetos, com altas temperaturas, que favorece as mudas e pupação e reprodução dos adultos (B).

CONCLUSÕES GERAIS

- ✓ Larvas e adultos de *A. diaperinus* apresentaram distribuição agregada com principais focos sob os comedouros. A distribuição espacial e temporal heterogênea em ambos os galpões é afetada por fatores abióticos como a umidade da cama, temperatura e áreas de refúgio, principalmente para reprodução e manejo dos galpões nos períodos entre lotes.
- ✓ O manejo empregado na granja em estudo, que incluem os períodos de troca de cama e aplicação de controle químico, favoreceu a reposição e os altos índices de infestação de *A. diaperinus*.
- ✓ As espécies mais promissoras a mortalidade de *A. diaperinus* foram *S. carpocapsae* e *H. indica*. No entanto, sendo *H. indica* uma espécie nativa e que já é produzida “*in vitro*”, estes estudos deveriam ser mais aprofundados, visando sua efetividade e fatores que afetam sua permanência em campo.
- ✓ Os tratamentos com *S. carpocapsae* apresentaram maiores mortalidades média e a estratégia do tipo “ambusher” (nictitante) poderia favorecer a infecção de *A. diaperinus*, devido a grande dispersão deste inseto nos galpões.
- ✓ *S. feltiae* seria mais efetivo em adultos devido sua estratégia intermediária entre “cruiser” e “ambusher”, que também é favorecido pelo comportamento agregado e móvel da espécie de coleóptero.

- ✓ A estratégia do tipo “cruiser” de *H. indica* em campo seria efetiva, devido ao comportamento agregado e migração vertical de *A. diaperinus*.
- ✓ A suscetibilidade de larvas e adultos de *A. diaperinus* nos tratamentos em meio de criação e em papel filtro para *H. indica* apresentaram diferenças que refletem o comportamento migratório e de agregação e podem ser relacionados com os resultados de controle obtidos em campo.
- ✓ A aplicação do nematóide *H. indica*, em focos com altos índices de infestação, poderia favorecer a infecção de maior número de indivíduos, bem como as pupas em solo. A forésia do nematóide seria favorável ao controle biológico, pois a mortalidade do inseto não é imediata e por curto período galpões haveria a dispersão e distribuição do nematóide em outros locais do galpão.
- ✓ Os bioensaios químicos indicam que a heterogeneidade das respostas pode refletir a seleção de indivíduos com comportamento de refúgio, para evitar o contato com os produtos aplicados durante o período entre lotes no manejo, bem como a tolerância da população devido a pressão seletiva dos inseticidas aplicados continuamente neste aviário.
- ✓ As deformações em larvas e adultos de *A. diaperinus* emergidos após os tratamentos com triflumuron confirmam os efeitos das benzoilfeniluréias na síntese de quitina dos insetos.
- ✓ Não foi possível indicar a sensibilidade ou resistência nestes bioensaios, sendo que a suscetibilidade variou em relação aos inseticidas e as formas de aplicação, devido a fatores genéticos e comportamentais da população.

- ✓ Os galpões com pisos pavimentados podem oferecer estabilidade populacional de *A. diaperinus* quando o manejo é adequado, que inclui as trocas de cama e os períodos de aplicação de controle e limpeza dos galpões. Também oferecem focos constantes de reposição da população remanescente, devido a falhas na estrutura destes galpões que oferecem áreas de refúgio, principalmente em frestas nas paredes e pisos que facilitam o contato com o solo, favorecendo a pupação e reposição de adultos.
 - ✓ A atenção e periodicidade na remoção de aves mortas no interior dos galpões, as formas adequadas de descarte e armazenamento de ração são fatores que devem ser considerados no manejo, já que fornecem recursos alimentares e abrigo para reprodução de *A. diaperinus* que favorecem as altas infestações e agravar a veiculação de patógenos.
 - ✓ Não há oscilação ou sazonalidade de *A. diaperinus* no aviário de corte avaliado, sendo que a dominância desta espécie é completa neste ambiente, favorecida pelos fatores ambientais controlados ao longo do ano.
 - ✓ O monitoramento de larvas do coleóptero nestes aviários é importante para avaliar os níveis de infestação e para determinar as medidas de controle e manejo a serem aplicadas de acordo com a sua distribuição e densidade (devido a indivíduos remanescentes que repõem a população nos próximos lotes).
-

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No período entre lotes e durante a aplicação de controle (químico ou biológico), há a redução da população local nos galpões, sendo que a fixação de alelos resistentes pode ser afetada pela necessidade de sobrevivência e permanência nestes aviários. A manutenção destas populações heterogêneas com indivíduos suscetíveis ou resistentes, seria afetada pela capacidade de sobrevivência neste ambiente hostil, que poderia estar associada aos processos migratórios, bem como a áreas refúgios que podem ser estimuladas durante a limpeza, remoção da cama e contato com inseticidas.

A adaptação a um ambiente local afetará a produtividade da população no habitat e a dinâmica de fixação seria alterada. Os habitats fragmentados contribuem para sobrevivência de *A. diaperinus* e mantêm sua diversidade genética. A habilidade em manter esta diversidade genética aumenta a habilidade da população em responder adaptavelmente às mudanças ambientais.

O entendimento do fluxo gênico que determina a resistência e os custos biológicos a *A. diaperinus* tem importância na determinação de programas de controle da espécie e a elucidação destes parâmetros poderá auxiliar na determinação de programas de manejo integrado mais efetivos e novas metodologias de aplicação.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A LEGISLAÇÃO DE APLICAÇÃO DE CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO NO BRASIL (DOLINSKI 2006, OLIVEIRA & CASTRO 2006)

O controle biológico apresenta grande importância devido ao interesse por métodos de controle por programas de manejo integrado, no entanto o mercado atual ainda é dominado pelos inseticidas orgânicos sintéticos (89% do mercado mundial) que ainda é estimulado por razões econômicas. A utilização de produtos considerados eficazes e com menos poluentes vem crescendo, com o aumento da comercialização de produtos a base de organismos entomopatogênicos e de feromônios (semioquímicos) para o controle de insetos, o que estimula as pesquisas na área. Nos EUA, foi elaborada uma legislação sobre a introdução e aplicação de controle por entomopatogênicos, principalmente espécies exóticas, no qual faz-se levantamentos da entomofauna e testes de patogenicidade com as espécies locais. Na Europa, não há a necessidade de registro, mas a introdução de nematóides entomopatogênicos é regulada.

Os produtos biológicos utilizados no controle de pragas agrícolas eram regulados pela Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que estabelecia a “Lei dos Agrotóxicos e Afins”, definida como:

“Os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos ou naturais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos.”

Em função do enquadramento dos produtos biológicos e semioquímicos, o registro de produtos vem sendo encaminhado pelas regras estabelecidas na regulamentação desta lei, pelo Decreto nº 4.074, de 08 de janeiro de 2002, no qual ressalta-se que neste contexto não são classificados pela sua origem, mas sim a finalidade a qual se destinam. Neste decreto estabelece-se o registro como condição para produção, manipulação, importação, exportação, comercialização e utilização destes agentes de controle em território nacional.

Considerando a necessidade de estabelecer norma específica para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins, segundo definições estabelecidas no Decreto nº 4.074, instituiu-se a Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 10 de março de 2006, que estabelece quais os parâmetros de utilização de agentes microbiológicos no Brasil.



mento da execução orçamentária dos Ministérios nas políticas da área da criança e do adolescente. As reuniões foram previstas para os meses de junho e novembro do presente exercício; **d)** Convidar o INESC para debater a questão do orçamento do FNCA, na reunião do próximo mês de abril; **e)** Elaborar critérios para aplicação dos recursos do Fundo Nacional do exercício de dois mil e seis; **e)** Dar continuidade ao acompanhamento do Projeto de Lei da Unafisco (doações ao Fia) no Congresso Nacional; **f)** Apresentação do relatório de avaliação sobre os Projetos financiados com recursos da Petrobrás, pela coordenação da equipe de avaliação da Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ na plenária do mês de março; **g)** Elaborar mapa dos Projetos financiados com recursos da SPDCA e FNCA, desde o exercício de mil novecentos e noventa e oito. **Interface entre as Comissões de Orçamento e Finanças, Legislação e Regulamentação e Articulação e Comunicação:** **a)** Fundos para a Infância e Adolescência (Nacional, Distrital, Estadual e Municipal). Será feita a compatibilização das agendas para a elaboração dos parâmetros para a criação e funcionamento dos fundos e a regulamentação para transferência de fundo a fundo; **b).** A Secretaria Executiva do Conanda deverá fazer contatos com o Consultor Maurício Vian para saber de sua disponibilidade para realização de oficina interna do Conselho a fim de iniciar o debate e a definição de uma agenda política para elaboração da Resolução sobre o tema. **Outros Encaminhamentos:** A Secretaria Executiva deverá encaminhar ao Ministério Público Federal ofício de apoio do Conanda ao Relatório do GT/CDDPH sobre o Grupo de Extermínio do Ceará. **Avaliação da VI Conferência Nacional:** **a) Pontos positivos:** empenho da Comissão Organizadora, sociedade civil ter se posicionado na questão do descontingenciamento dos recursos, atendimento médico, participação do Fórum de Saúde Mental, participação dos adolescentes, crescimento e aprimoramento, temas positivos alimentação e local; **b) Pontos negativos:** mesa de abertura com problemas no som, nas falas e na composição, logística, (o material entregue fora do credenciamento causou tumulto e descontentamento), baixo comprometimento de alguns participantes do evento, falta de clareza das competências da Empresa Aplauso que executou o evento, e, também, falta de profissionalismo da mesma perdendo-se na qualidade do evento, ausência da Mídia, necessidade de estabelecer melhor o perfil dos coordenadores de mesa, devolução de recursos destinados a Conferência, grupos lotados, esvaziamento das plenárias desmotivação e descompromisso dos participantes, constrangimento dos facilitadores, decisões do Conanda que não foram encaminhadas, ausência dos conselheiros governamentais, ausência do Secretário Executivo do Conanda, (foi feito reflexão se era positivo para o desenvolvimento das ações do Conanda o acúmulo de funções exercidas pelo Secretário Executivo do Conselho), ausência do Presidente da República, sem justificativa e nem representação, falta das pastas, problemas com o cerimonial, programação muito extensa, não houve avanços em relação as demais Conferências, o tema Orientação Sexual foi mal trabalhado pelos Estados, marcação de passagens, demora na definição do orçamento da Conferência acarretando uma série de problemas na estrutura do evento, questões estratégicas (muitos responsáveis no comando do evento gerou uma série de confusões e informações desencontradas), estande governamental (perdeu-se o controle porque muitos Ministérios não informaram os materiais que seriam distribuídos com antecedência, chegando material a toda hora e com isto os participantes não ficavam no auditório ou nos grupos, mas sim pegando os materiais que estavam sendo distribuídos aleatoriamente), facilitadores voluntários deram problemas porque desistiam na última hora, necessidade de se discutir qual o significado das conferências.. **Sugestões Apresentadas:** aproveitar os espaços de intersetorialidade, redesenhar a metodologia das Conferências nacional, distrital, estadual e municipal e apresentar o resultado no Encontro de Articulação do Conanda com os Conselhos e envolver mais os adolescentes na organização da Conferência Nacional. Após a avaliação fora criado um Grupo de Trabalho composto pelos conselheiros José Fernando, Tereza, Joisiane, Marta e Amarildo para apresentar na Assembléia do mês de abril proposta de encaminhamentos das deliberações da VI Conferência Nacional e outro Grupo de Trabalho para produzir documento com novo desenho da metodologia para a VII Conferência Nacional, abordando os sentidos e os significados da realização das Conferências. O GT será formado pelos conselheiros Renato, José Eduardo e Maria das Graças (esta última deverá ser consultada visto que a mesma já havia se retirado do plenário) **Aprovação do Manifesto do Conanda:** A conselheira Elisabete fez a leitura do documento contendo o manifesto que levou o título: **Cuidado, proteção e justiça para as crianças brasileiras** o qual foi aprovado por unanimidade. Foi aprovado também que o referido documento deverá ser colocado no site do Conanda www.presidencia.gov.br/sedh/conanda, bem como enviá-lo à Andi e aos Conselhos Estaduais dos Direitos. O Senhor Tarcizio aproveitou para informar que havia feito um dossiê contendo matérias jornalísticas sobre violências contra crianças e adolescentes acontecidas depois do caso “Letícia”, de Belo Horizonte, e que, o mesmo, ficaria a disposição do Conanda. Não tendo mais nada a ser tratado, o Senhor Presidente agradeceu a presença de todos dando por encerrada a Assembléia. Para constar, esta ata após lida e aprovada será assinada pelo Senhor Presidente.

JOSÉ FERNANDO DA SILVA
Presidente do Conselho

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

SECRETARIA EXECUTIVA
DIRETORIA DE PROGRAMA

PORTARIA Nº 121, DE 14 DE MARÇO DE 2006

O DIRETOR DE PROGRAMA DA SECRETARIA-EXECUTIVA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, no uso das atribuições que lhe confere a Portaria nº 10, de 04 de fevereiro de 2005, publicada no Diário Oficial da União de 09 de fevereiro de 2005, estabelece que:

Art. 1º O pagamento de despesas, até o mês de março do corrente exercício, das Unidades Orçamentárias do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, inclusive dos Restos a Pagar, Processados e Não Processados, de exercícios anteriores, observadas as exclusões constantes do § 1º do art. 3º do Decreto nº 5.698, de 8 de fevereiro de 2006, fica limitado aos valores constantes do Anexo I desta Portaria.

Art. 2º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

ANEXO I

R\$ Mil

Unidade Orçamentária	Até Mar
Administração Direta	109.211
Embrapa	42.100
Conab	17.800
FUNCAFE	7.500
Total Geral	176.611

GUSTAVO PEREIRA DA SILVA FILHO

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

INSTRUÇÃO NORMATIVA CONJUNTA Nº 3,
DE 10 DE MARÇO DE 2006

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA, O DIRETOR PRESIDENTE DA AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA e O PRESIDENTE DO INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA, no uso de suas atribuições legais, e tendo em vista o disposto na Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1.989 e no Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2.002,

Considerando a necessidade de estabelecer norma específica para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins, segundo definições estabelecidas no Decreto 4.074, incisos IV e XXXVII, resolvem:

Art. 1º- Estabelecer procedimentos a serem adotados para efeito de registro de agentes microbiológicos, empregados no controle de uma população ou de atividades biológicas de um outro organismo vivo considerado nocivo.

§ 1º - Para os efeitos desta Instrução Normativa entende-se por:

I - agentes microbiológicos de controle: os microrganismos vivos de ocorrência natural, bem como aqueles resultantes de técnicas que impliquem na introdução natural de material hereditário, excetuando-se os organismos cujo material genético (ADN/ARN) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética (OGM).

II - infectividade: habilidade do microrganismo para atravessar ou escapar das barreiras naturais, colonizando o hospedeiro.

III - patogenicidade: habilidade do microrganismo para causar doença ao hospedeiro após a infecção.

IV - toxicidade: lesão ou dano causado ao hospedeiro, por um veneno ou toxina, independentemente da infecção, da replicação ou da viabilidade do microrganismo.

V - toxina: substância tóxica, gerada por um microrganismo, planta ou animal, capaz de causar lesão ou dano ao interagir com as células do hospedeiro.

§ 2º - Os produtos abrangidos pelas presentes disposições, quando provenientes de outros países, estarão também sujeitos à legislação específica relativa a requisitos quarentenários.

Art. 2º - Para efeito de registro de agentes microbiológicos referidos no artigo 1º, o requerente deverá apresentar aos órgãos federais de agricultura, saúde e meio ambiente, duas vias do requerimento previsto no Anexo II, itens 1 a 12 e item 14, do Decreto 4.074, de 04 de janeiro de 2002, e os dados e estudos constantes dos Anexos I e II da presente Instrução Normativa.

§ 1º - Além dos dados comuns aos três órgãos federais, deverão ser apresentados à ANVISA e ao IBAMA, respectivamente, os seguintes dados e informações:

I - à ANVISA:
Item 19 do Anexo II, do Decreto 4.074, de 04 janeiro de 2002;

Comprovante de Recolhimento da Taxa de Fiscalização de Vigilância Sanitária - TFVS, conforme regulamentação da ANVISA;

Anexo III da presente Instrução Normativa.

II - ao IBAMA:

Item 20 do Anexo II, do Decreto 4.074, de 04 de janeiro de 2002;

Comprovante de pagamento do Documento de Recolhimento de Receitas - DR, realizado em qualquer agência da rede bancária autorizada, segundo códigos da receita e valores definidos pela tabela de preços do IBAMA;

Anexos III e IV da presente Instrução Normativa.

§ 2º - Na marca comercial dos produtos formulados de uso não agrícola, deverão constar junto aos nomes as iniciais “N.A.”

§ 3º - Os produtos microbiológicos destinados ao uso em ambientes hídricos deverão atender ao estabelecido nesta Instrução Normativa e em norma específica.

§ 4º - A obrigatoriedade de apresentação do certificado de registro do produto técnico, para fins de registro de agrotóxicos e afins, será analisada caso a caso levando-se em conta o processo de produção e a caracterização da composição qualitativa e quantitativa da formulação a ser registrada.

Art. 4º - Os testes para avaliação de produtos microbiológicos somente serão aceitos pelo MAPA, ANVISA e IBAMA quando procedentes de laboratórios credenciados, acreditados, ou habilitados pelo MAPA, Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde - REBLAS e Instituto de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO.

Parágrafo único - Os testes para avaliação de eficiência de produtos microbiológicos, destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento ou beneficiamento de produtos agrícolas, em florestas plantadas ou em pastagens, deverão ser procedentes de estações experimentais credenciadas junto ao MAPA, conforme disposto em legislação específica daquele Órgão.

Art 5º - Os testes a serem desenvolvidos para a avaliação toxicológica, ecotoxicológica e da patogenicidade, relacionados no Anexo III, deverão seguir metodologias internacionalmente reconhecidas ou aquelas constantes em protocolos de avaliação de agentes microbiológicos recomendados pela ANVISA ou IBAMA.

§ 1o - Metodologias distintas das anteriores, desde que descritas detalhadamente em português e acompanhadas de referências científicas poderão ser aceitas, a critério dos órgãos avaliadores.

§ 2o - Cópia de estudos científicos publicados poderão ser aceitas para efeito de análise a critério dos órgãos avaliadores.

§ 3o _ Os testes condicionalmente requeridos constantes no referido anexo, bem como quaisquer outros documentos ou informações adicionais pertinentes, poderão ser solicitados à empresa requerente, na forma e prazo estabelecidos na legislação em vigor.

Art. 6º - Para a elaboração de testes de avaliação da toxicidade, ecotoxicidade e patogenicidade, as amostras de agentes microbiológicos de controle ou formulações encaminhadas a laboratórios deverão ser acompanhadas de declaração da concentração do agente microbiológico emitida pela empresa contratante.

Parágrafo único - O laboratório executor deverá providenciar a determinação da concentração e viabilidade do agente microbiológico na amostra a ser testada, a qual será parte integrante do relatório de cada teste.

Art. 7º - Os produtos que apresentarem infectividade ou patogenicidade a organismos não-alvo serão avaliados conforme a Fase III descrita no Anexo III desta Instrução Normativa e serão analisados caso a caso.

Art. 8º - Na impossibilidade de apresentação de algum teste ou informação, bem como no caso de pedido de isenção da apresentação, o requerente deverá apresentar justificativa técnica aos órgãos federais da agricultura, saúde e meio ambiente.

§ 1o - Os testes, informações e justificativas deverão ser identificados e ordenados segundo os Anexos desta Instrução Normativa.

§ 2o - A não apresentação de justificativa ou não aceitação da mesma poderá implicar, respectivamente, em arquivamento ou indeferimento do pleito.

Art. 9º - Os testes e informações condicionalmente requeridos constantes nos Anexos III e IV, bem como quaisquer outros documentos ou testes adicionais poderão ser solicitados à empresa a qualquer tempo, na forma e prazo estabelecidos na legislação em vigor.

Art. 10 - Os modelos de rótulo e bula deverão obedecer às normas estabelecidas na regulamentação vigente.

Art. 11 - Os casos omissos serão decididos pelos órgãos federais dos setores de agricultura, saúde e meio ambiente.

Art. 12 - Esta Instrução Normativa entra em vigor na data de sua publicação e revoga a Resolução RDC N.º 194, de 08 de julho de 2002, da ANVISA/MS.

GABRIEL ALVES MACIEL
Secretário de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

DIRCEU RAPOSO DE MELLO
Diretor-Presidente da Agência Nacional de Vigilância Sanitária

MARCUS LUIZ BARROSO BARROS
Presidente do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ANEXO I

RELATÓRIO TÉCNICO DE EFICIÊNCIA E PRATICABILIDADE

O Relatório Técnico de Eficiência e Praticabilidade deverá ser composto por:

- I - Testes sobre a eficiência e praticabilidade da formulação, que deverão conter no mínimo:
- Título, autor(es), instituição(ões).

Introdução.

Materiais e métodos:

local e data (de início e término) do ensaio sendo obrigatória a realização no Brasil;

espécie e variedade da cultura utilizada no teste e procedimentos fitotécnicos adotados (preparo de solo e tratos culturais);

identificação do alvo biológico;

descrição dos produtos usados: marca comercial, tipo de formulação, concentração e identificação do(s) ingrediente(s) ativo(s);

tratamento:

dose(s) utilizada(s);

tamanho da parcela especificando, espaço utilizado, densidade populacional, idade e estágio de desenvolvimento da cultura;

número e intervalo de aplicações;

modo e tecnologia de aplicação;

época de aplicação, citando a densidade populacional e o estágio de desenvolvimento do alvo biológico;

delineamento estatístico: utilizar a metodologia e delineamento experimental adequados, para alcançar os objetivos propostos.

métodos de avaliação: deverá ser utilizado o método adequado para cada situação, além de dados de produção quando pertinentes;

- informações a respeito da ressurgência da praga.
- Resultados e discussão.
- Conclusões.
- Bibliografias consultadas.
- Responsabilidade técnica: Assinatura do profissional responsável pela condução do trabalho, com nome, número do registro no Conselho Profissional da Categoria, região, instituição na qual está vinculado. O documento deverá ser apresentado em papel timbrado do órgão oficial ou entidade privada. O trabalho técnico deverá ser visado ou encaminhado pelo chefe imediato do pesquisador.

CONDICIONANTES:

- os testes deverão ser conduzidos em condições de campo, sendo que as exceções, desde que tecnicamente justificadas, serão analisadas pelo órgão competente;
- as informações conclusivas sobre os testes devem ser relatadas de maneira a não deixar dúvidas sobre a eficiência e praticabilidade do produto testado;
- qualquer desconformidade frente às instruções acima descritas deverá ser devidamente justificada pelo pesquisador.

II - Testes e informações disponíveis referentes à compatibilidade ou incompatibilidade do produto.

Os requisitos incluem dados e informações necessárias para identificar o agente microbioso de controle e qualquer outra substância que tenha sido adicionada ou formada durante a produção ou formulação e também para detectar contaminações químicas ou biológicas.

A - INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO		
INFORMAÇÕES	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1. Descrição do aspecto físico, aspecto e cor	PT ou PF	
2. Toxicidade para organismo alvo	IA ou PT	CL50 para o organismo alvo
3. Especificidade e efeitos sobre não-alvos	IA ou PT	Especificidade hospedeira
4. Susceptibilidade a agrotóxicos	IA ou PT	
5. Procedimentos para limitar contaminações	PT ou PF	Procedimentos para garantir a integridade dos materiais e limitar contaminações químicas ou biológicas em níveis aceitáveis..
6. Pureza da cultura estoque	PT	Identificação e quantificação
7. Métodos analíticos usados para caracterização dos ingredientes não intencionais	PT	Para assegurar a pureza do agente microbiológico não formulado
B - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS		
3. Miscibilidade (T)	PT ou PF	
4. pH (T)	PT ou PF	
5. Densidade (T)	PT ou PF	
6. Estabilidade (T)	PT ou PF	A luz solar, pH 5, 7,9; ar, temperatura, metais e seus íons
Estabilidade durante armazenagem (T)	PT ou PF	Condições para manutenção do produto
8. Viscosidade (T)	PT ou PF	Apenas para líquidos a temperatura ambiente
9. Características corrosivas (T)	PT ou PF	Em relação a materiais de acondicionamento
Legenda: IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico; PF = produto formulado; T = teste;		

1.2 - AVALIAÇÃO TÓXICOLÓGICA E DA PATOGENICIDADE

O objetivo é avaliar efeitos adversos do produto técnico e/ou formulado sobre mamíferos. Os principais aspectos a serem considerados são:

- (1) patogenicidade do agente microbiológico de controle e de contaminantes microbianos;
- (2) infectividade / persistência do agente microbiológico de controle e de contaminantes microbianos;
- (3) toxicidade do agente microbiológico de controle, de contaminantes microbianos e de seus subprodutos.

As avaliações toxicológicas e da patogenicidade são feitas através de uma série de testes, divididas em três fases distintas:

A Fase I consiste em uma bateria de testes de curta duração, onde o organismo teste (mamífero) recebe uma dose máxima única do agente de controle com o objetivo de se obter a máxima chance do agente de controle causar toxicidade, infectividade e patogenicidade. Se nenhum efeito adverso for observado na Fase I, não há necessidade de se realizar nenhum dos testes da Fase II e Fase III.

A Fase II foi elaborada para avaliar uma situação particular, quando se observa toxicidade ou infectividade na Fase I, sem evidências de patogenicidade. Quando for observada a patogenicidade na Fase I, devem ser realizados os estudos da Fase III.

Nas fases II e III, estudos adicionais para avaliar efeito de toxicidade de preparações do agente microbiológico de controle deverão ser realizados de acordo com protocolos apropriados. Os testes exigidos nas Fases I, II e III para avaliação da toxicidade e da patogenicidade estão relacionados nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente.

ANEXO II

Estratégia de uso, por exemplo: Introdução inoculativa, inundativa, etc;

Organismo(s) alvo(s), modo de ação, incluindo a dose infectiva, transmissão e informações epizootiológicas;

Certificado da classificação taxonômica do organismo e nome comum, obtido junto a instituição de ensino ou pesquisa;

Cópia do(s) certificado(s) de registro Especial Temporário (RET) do produto.

ANEXO III

INFORMAÇÕES E TESTES PARA AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA, ECOTOXICOLÓGICA E DA PATOGENICIDADE

- 1 - CONTEÚDO DAS TABELAS
- As tabelas 1, 2, 3 e 4 apresentadas a seguir contemplam os testes e informações necessárias para avaliação Toxicológica, Ecotoxicológica e da Patogenicidade.
- Os testes e informações das TABELAS 1 e 2 são de apresentação obrigatória para qualquer produto.
- As exigências constantes das TABELAS 3 e 4 terão suas aplicações definidas a critério dos órgãos avaliadores, a partir da pré-análise do produto, assim como pela avaliação dos testes apresentados.

1.1.CARACTERIZAÇÃO DO PRODUTO

FASE I

TABELA 2

PARÂMETROS	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1.Toxicidade/patogenicidade oral aguda	R	IA ou PT e PF	
2.Toxicidade/patogenicidade pulmonar aguda	R	IA ou PT e PF	
3.Toxicidade/patogenicidade intravenosa aguda	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando o IA for bactéria ou vírus
4. Toxicidade/patogenicidade intraperitoneal	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando o IA for fungo ou protozoário
5. Sensibilização dérmica	R	PT e PF	
6. Cultura de células	CR	IA ou PT	Requerido quando o IA for vírus.
7.Toxicidade cutânea aguda	R	IA ou PT e PF	
8.Irritação/infecção ocular primária	R	IA ou PT e PF	
9.Irritação cutânea primária	CR		Requerido quando o microrganismo for taxonomicamente
		IA ou PT e PF	relacionado com outro sabidamente irritante. Dispensado para pH < 2 ou pH > 11
Legenda: EE = especificação da exigência; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico; PF = produto formulado.			

FASE II

TABELA 3

PARÂMETROS	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1.Toxicidade oral aguda - DL50	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando toxicidade oral, mas não patogenicidade ou infectividade for observada nos estudos agudos da Fase I.
2. Toxicidade inalatória aguda - CL50	CR	IA ou PT e PF	Requerido quando toxicidade pulmonar, mas não patogenicidade ou
			infectividade for observada nos estudos agudos da Fase I.
			Requerido quando infectividade e/ou persistência anormal forem observados, na ausência de patogenicidade e/ou
			toxicidade dos estudos da Fase I; as vias de exposição devem corresponder àquelas em que efeitos
			Requerido quando infectividade e/ou persistência anormal forem observados, na ausência de patogenicidade e/ou
			toxicidade dos estudos da Fase I; as vias de exposição devem corresponder àquelas em que efeitos
			toxicidade dos estudos da Fase I; as vias de exposição devem corresponder àquelas em que efeitos
3.Toxicidade/patogenicidade subcrônica	CR	IA ou PT	adversos foram observados. Também pode ser exigido para avaliar efeitos adversos devido a contaminantes
			microbianos ou subprodutos tóxicos, independente de qualquer efeito na Fase I.
Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA= ingrediente ativo; PT = produto técnico; PF = produto formulado.			

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA= ingrediente ativo; PT = produto técnico; PF = produto formulado.



FASE III

TABELA 4

PARÂMETROS	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
			Requerido quando quaisquer das situações seguintes forem observadas: infectividade do agente de controle em animais no estudo subcrônico da Fase II, porém nenhum sinal de patogenicidade ou toxicidade; se o agente de controle for vírus que possa persistir ou replicar
			mamíferos; o agente microbiológico não é totalmente
1. Efeitos sobre reprodução/fertilidade e teratogenicidade	CR	IA ou PT	patogenicidade ou toxicidade; se o conhecido taxonomicamente e é relacionado a organismos parasíticos a células de mamíferos; quando existam indicações de que possam conter
2. Carcinogenicidade	CR	IA ou PT	contaminantes que são parasitos de animais.Requerido para produtos que contenham ou sejam suspeitos de conter vírus carcinogênicos.
.3 Resposta de imunidade celular	CR	IA ou PT	Requerido para produtos que contenham ou sejam suspeitos de conter vírus que possam interagir adversamente sobre componentes do sistema imunológico de mamíferos.

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

1.3. ESTUDOS DE RESÍDUOS ENCAMINHADOS À ANVISA

O objetivo é descrever quantidades do agente microbiológico ou de suas toxinas remanescentes em produtos utilizados na alimentação. Os resultados de análises de resíduos serão exigidos sempre que os produtos forem avaliados nas Fases II ou III, e quando uma das seguintes situações ocorrer: 1 - quando o produto for indicado para uso em culturas para fins de alimentação humana ou animal, 2 - quando o uso do produto puder resultar na presença de resíduos em alimento humano ou animal.

ANEXO IV

AVALIAÇÃO DE DANOS SOBRE ORGANISMOS NÃO-ALVO E COMPORTAMENTO AMBIENTAL DO AGENTE MICROBIOLÓGICO DE CONTROLE QUE DEVERÁ SER ENCAMINHADA AO IBAMA

O objetivo é avaliar danos potenciais do agente a organismos indicadores que representam os principais grupos de organismos não - alvo. Esta avaliação também é feita através de testes estabelecidos em Fases. Na Fase I os organismos indicadores são submetidos a uma dose única máxima do produto microbiológico, estabelecendo-se um sistema em que a chance de expressão dos efeitos indesejáveis é máxima. A ausência de danos aos organismos indicadores nesta fase implica um alto grau de confiança de que nenhum efeito adverso ocorrerá no uso real do agente de controle.

Se efeitos adversos forem observados na Fase I, então, os testes da Fase II são realizados, onde a exposição potencial dos organismos não - alvo ao agente microbiológico de controle é estimada. Os testes desta Fase contemplam estudos de sobrevivência, persistência, multiplicação e dispersão do agente microbiológico de controle, em diferentes ambientes.

Se os testes da Fase II mostrarem que pode haver exposição dos organismos não-alvo ao agente de controle, então a Fase III torna-se necessária. Os testes da Fase III servem para determinar efeitos dose-resposta ou certos efeitos crônicos.

Os testes da Fase IV avaliam qualquer problema específico não resolvido nas Fases anteriores, e são realizados sob condições ambientais simuladas ou reais de campo, elaboradas caso-a-caso. Os testes requeridos em cada Fase são indicados nas Tabelas 1, 2, 3 e 4.

FASE I

TABELA 1

TESTES	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1. Oral para aves	R	IA ou PT	
2. Inalatório para aves	CR	IA ou PT	Requerido quando a natureza do agente microbiológico e/ou suas toxinas indicarem patogenicidade potencial p/ aves.
3. Mamíferos silvestres	CR	IA ou PT	
4. Peixes de água doce	R	IA ou PT	
5. Invertebrados de água doce	R	IA ou PT	
6. Animais de estuários e marinhos	CR	IA ou PT	Quando o uso for direto em estuário e ambientes marinhos, ou com expectativa de atingir tais ambientes em concentrações significativas (padrão de uso, mobilidade do agente).
I.7.Plantas não alvo	CR	IA ou PT	
I.8.Insetos não alvo	R	IA ou PT	
I.9.Abelhas	R	IA ou PT	
I.10.Minhocas	CR	IA ou PT	

Legenda: EE = especificação da exigência; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

FASE II

TABELA 2

TESTES	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1. Comportamento no ambiente terrestre	CR	IA ou PT	Requerido quando efeitos patogênicos ou tóxicos forem observados nos testes da Fase I com organismos terrestres.
Requerido quando efeitos patogênicos ou tóxicos forem observados nos	CR	IA ou PT	
			Requerido quando efeitos patogênicos ou tóxicos forem observados nos testes da Fase I com organismos aquáticos de água doce.

3. Comportamento em ambiente estuarino e marinho	CR	IA ou PT	Requerido quando o produto for para aplicação terrestre ou em água doce, e forem observados efeitos tóxicos ou patogênicos em qualquer dos estudos da Fase I com organismos de estuário e marinhos; ou quando o produto for recomendado para ambientes marinhos ou de estuários, ou forem observados efeitos tóxicos ou patogênicos em qualquer dos seguintes testes da Fase I: oral agudo em aves; inalação com aves;
			toxicidade/patogenicidade em animais marinhos ou de estuários.

Legenda: EE = especificação da exigência; R = requerido; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

FASE III

TABELA 3

TESTES	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1. Organismos terrestres e aquáticos	CR	IA ou PT	Requerido quando efeitos tóxicos sobre organismos não - alvo selvagens, terrestres ou aquáticos forem observados em um ou mais testes da Fase I e os resultados da Fase II indicarem exposição de tais organismos ao agente microbiológico.
2 Patogenicidade crônica e reprodução de aves	CR	IA ou PT	Requerido quando efeitos patogênicos forem observados em aves na Fase I; efeitos crônicos carcinogênicos ou teratogênicos forem relatados em testes de avaliação (tóxico - patológica); testes de comportamento no ambiente da Fase II indicarem que a exposição de animais terrestres ao agente de controle for provável.
3 Especificidade a invertebrados aquáticos e Estudos do ciclo biológico de peixes	CR	IA ou PT	Requerido quando o produto for indicado para uso em água ou quando houver possibilidade do mesmo ser transportado local de uso, e quando para a água a partir do patogenicidade ou infectividade for observada nos testes aquáticos da Fase I.
4. Perturbação do ecossistema aquático	CR	IA ou PT	Se for determinado que o seu uso pode resultar em efeitos adversos (principalmente infectividade, patogenicidade ou viabilidade em água natural) a organismos não-alvo de coluna da água e de sedimentos, após análise das informações exigidas para os agentes microbiológicos e avaliação dos resultados das Fases I e II sobre organismos não - alvo e comportamento ambiental.
5. Plantas não-alvo	CR	IA ou PT	Se o produto é transportado do local de aplicação pelo solo, ar, água ou por animais, e quando se observar patogenicidade alvo. O grau de sobre plantas não movimentação será determinado pelos testes da Fase II.

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

FASE IV

TABELA 4

TESTES	EE	PRODUTO(S) A SER(EM) TESTADO(S)	OBSERVAÇÕES
1.Testes de campo simulados e reais (aves e mamíferos)	CR	IA ou	Quando forem observados na Fase III efeitos patogênicos nas doses efetivas, ou a níveis residuais de exposição, ou quando esses forem esperados no campo. Procedimentos para impedir que os agentes microbiológicos contaminem áreas adjacentes à área de teste deverão ser adotados.
2.Testes de campo simulados e reais (organismos aquáticos)			Estudos simulados de curta duração ou efeitos em campo; exigidos quando determinado que o produto pode causar efeitos adversos: agudos ou de curta duração, baseados nos dados de
3.Testes de campo simulados e reais (insetos predadores e parasitóides)			laboratório, padrão de uso e grau de exposição, efeitos de longa duração, cumulativos ou sobre o ciclo de vida, oriundos do uso previsto, baseados em testes de campo de longa duração
4.Testes de campo simulados e reais (insetos polinizadores)	CR	IA ou PT	simulado (onde se observa reprodução e crescimento de populações confinadas)
	CR		e/ou teste efetivo de campo (reprodução e crescimento de populações naturais).

Legenda: EE = especificação da exigência; CR = condicionalmente requerido; IA = ingrediente ativo; PT = produto técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBRÓS, C.M.G. 2003. Efeito de extratos de plantas e inseticidas de segunda e terceira gerações em populações de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, UNICAMP. 91-118 p.

ALATORRE-ROSAS, R. & KAYA, H.K. 1990. Interspecific competition between entomopathogenic nematodes in the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* for an insect host sand. **J. Invertebr. Pathol.** **55**, 179-188.

APUYA, L.C., STRINGHAM, S.M., ARENDS, J.J. & BROOKS, W.M. 1994. Prevalence of protozoan infections in darkling beetles from poultry houses in North Carolina. **J. Invert. Pathol.** **63**, 255-259.

AVANCINI, R.M.P. & UETA, M.T. 1990. Manure breeding insects (Diptera and Coleoptera) responsible for cestoidosis in caged layer hens. **J. Appl. Entomol.** **110**, 307-312.

AVICULTURA INDUSTRIAL. 2008: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/home.asp>. Acesso em 23/02/2008.

AXTELL, R.C. 1999. Poultry integrated pest management: status and future. **Integrat. Pest Manag. Rev.** **4**, 53-63.

AXTELL, R.C & ARENDS, J.J. 1990. Ecology and management of arthropod pest of poultry. **Ann. Rev. Entomol.** **35**, 101-126.

BAGGESEN, D.L., OLSEN, J.E. & BISGAARD, M. 1992. Plasmid profiles and phage types of *Salmonella typhimurium* isolated from successive flocks of chickens on three parent stock farms. **Avian Pathology** **21**, 569-579.

BARBERCHECK, M.E. & KAYA, H.K. 1991. Effect of host condition and soil texture on host finding by the entomogenous nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). **Environ. Entomol.** **20** (2), 582-589.

BEDDING, R.A. 1984. Large scale production, storage and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. **Ann. Appl. Biol.** **104**, 117-120.

BEDDING, R.A. & MILLER, L.A. 1981. Use of a nematode, *Heterorhabditis heliothidis*, to control black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus*, in potted plants. **Ann. Appl. Biol.** **99**, 211-216.

BEDDING, R.A. & AKHURST, R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. **Nematologica** **21**, 109-110.

BEGUN, M., MONDAL, K.A.M.S.H., PARWEEN, S., ISLAM, W., FARUKI, S.I., & HUSSAIN, M.M. 2003. Effect of treatment of eggs with triflumuron on oviposition and fertility in *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Int. Pest Contr.** **45** (3), 145-147.

BOEMARE, N., GIVAUDAN, A., BREHELIN, M. & LAUMOND, L. 1997. Symbiosis and pathogenicity of nematode-bacterium complexes. **Symbiosis** **22**, 21-45.

BRUNO, T.V., GUIMARÃES, J.H., SANTOS, A.M.M. & TUCCI, E.C.. 1993. Moscas sinantrópicas e seus predadores que se criam em esterco de aves poedeiras confinadas , no Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Entomol.** **37** (3), 577-590.

BURNELL, A.N. & STOCK, S.P. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts: lethal pathogens of insects. **Nematol.** **2** (1), 31-42.

CALIBEO-HAYES, D., DENNING, S.S. STRINGHAN, M. & WATSON, D.W. 2005. Lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) emergence after mechanical incorporation of poultry litter into field soils. **J. Econ. Entomol.** **98** (1), 229-235.

CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). **Behaviour** **126** (3-4), 155-169.

CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R.R. 1997. Inter-specific variation in entomopathogenic nematode foraging strategy: dichotomy or variation along a continuum? **Fundam. Appl. Nematol.** **20** (4), 393-398.

CHABRIER, C., MAULEON, H. & QUÉNÉHERVÉ, P. 2003. Use of entomopathogenic for banana back weevil control in Martinique. **XXIV Congresso Brasileiro de Nematologia**, Livro de Resumos, p. 46.

CHERNAKI, A.M. & ALMEIDA, L.M. 2001. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotrop. Entomol.** **30** (3), 365-368.

CHERNAKI-LEFFER, A.M. 2004. **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.** Tese de Doutorado, UFPR, Curitiba-PR. 128 p.

CHERNAKI-LEFFER, A.M., ALMEIDA, L.M., SOSA-GOMEZ, D.R., ANJOS, D.R. & VOGADO, K.M. 2007. Populational fluctuation and spacial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry house, Cascavel, Parana State, Brazil. **Braz. J. Biol.** **67** (2), 209-213.

CHERNAKI-LEFFER, A.M., BIESDORF, S.M., ALMEIDA, L.M., LEFFER, E.V.B. & VIGNE, F. 2002. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e em cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Avícola** **4**, 1-9.

CHERNAKI-LEFFER, A. M., FERREIRA, C.S.A., FERREIRA, J.P., KUTTEL, J., PEDROSO, A.C. & MARTINS, L.M. 2006. **Competência vetorial de *Alphitobius diaperinus* na transmissão de *Salmonella enteritidis* em frangos de corte.** Sessão: C & T, Saúde Animal. Disponível em: < <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/home.asp> >. Acesso em 23/02/2008.

CHERNAKI-LEFFER, A.M., SOSA-GOMEZ, D.R., ALMEIDA, L.M. 2006. Suscetibilidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) a reguladores de crescimento de insetos (RCI). **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, **73** (1), 51-55.

COHEN, E. 1987. Chitin biochemistry: synthesis and inhibition. **Ann. Rev. Entomol.** **33**, 71-93.

CONVERSE, V. & MILLER, R.W. 1999. Development of the one-on –one quality assessment assay for entomopathogenic nematodes. **J. Invertebr. Pathol.** **74**, 143-148.

COSTA, J.C.R., DIAS, R.J.P. & MORENZ, M.J.F. 2007. Determining the adptation of entomopathogenic nematode multiplication of *Heterorhabditis riobravus* and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) in larvae of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Parasitol. Res.** **102**, 139-144.

CRAIG-TURNER, E. Jr. 1986. Structural and litter pests. **Poult. Sci.** **65**, 644-648.

CUTHBERTSON, A.G.S., HEAD, J., WALTERS, K.F.A. & GREGORY, S.A. 2003. The efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae*, against the immature stages of *Bemisia tabaci*. **J. Invertebr. Pathol.** **83**, 267-269.

DARBRO, J.M. & MULLENS, B.A. 2004. Assessing insecticide resistance and aversion to methomyl-treated toxic baits in *musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) populations in southern California. **Pest Manag. Sci.** **60**, 901-908.

DAVILA, M., REBOLLO, M. & TÉLLEZ, G. 1996. **The importance of the beetle *Alphitobius diaperinus* in poultry litter as a vector of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* in poultry farms in Mexico.** In T.A. LAMBKIN (1990). Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC. 99 p. Publicação disponível em: <www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf>.

DE LAS CASAS, E., HARIEN, P.K., DESHMUKH, D.R. & POMEROY, B.S. 1973. The relationship between the lesser mealworm and avian viruses. I. Reovirus 24. **Environ. Entomol.** **2**, 1043-1047.

DE LAS CASAS, E., HARIEN, P.K. & POMEROY, B.S. 1972. Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. **Environ. Entomol.** **1**, 27-30.

DE LAS CASAS, E., POMEROY, B.S. & HARIEN, P.K. 1968. Infection and quantitative recovery of *Salmonella thyphimurium* and *Escherichia coli* from within the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Poult. Sci.** **47**, 1871-1875.

DEMILO, A.B., MILLER, R.W., BORDAS, B., REDFERN, E.E. & MILLS, G., Jr. 1995. Larvicidal effects of benzoylphenylureas against the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae): quantitative-structure-activity relationships. **J. Entomol. Sci.** **30** (3), 324-332.

DEMARK, J.J. & BENNETT, G.W. 1989. Efficacy of chitin synthesis inhibitors on nymphal German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). **J. Econ. Entomol.** **82** (6), 1633-1637.

DESPINS, J.L. & AXTELL, R.C. 1995. Feeding behavior and growth of turkey poult fed larvae of darkling beetle *Alphitobius diaperinus*. **Poult. Sci.** **74**, 331-336.

DESPINS, J.L., AXTELL, R.C., RIVES, D. V., GUY, J. S. & FICKEN, M. D. 1994. Transmission of enteric pathogens of turkey by darkling beetle larvae (*Alphitobius diaperinus*). **J. Appl. Poult. Res.** **3**, 61-65.

DESPINS, J.L., CRAIG-TURNER, E. Jr. & RUSZLER, P.L. 1987. Construction profiles of high rise caged layer houses in association with insulation damage caused by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) in Virginia. **Poult. Sci.** **66**, 243-250.

DOLINSKI, C. 2006. Nematóides como agentes de controle biológico de insetos. In E.C. OLIVEIRA-FILHO & R.G. MONNERAT (2006). **Fundamentos para regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas**. EMBRAPA, DF. 73-101 p.

EHLERS, R.U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** **56**, 623-633.

EIDSON, C.S., SCHMITTLE, S.C., GOODE, R.B. & LAL, J.B. 1965. The role of darkling beetle, *Alphitobius diaperinus* in transmission of acute leucosis in chickens. **Poult. Sci.** **44**, 1366-1367.

EIDSON, C.S., SCHMITTLE, S.C., GOODE, R. B. & LAL, J. B. 1966. Induction of leukosis tumors with the beetle *Alphitobius diaperinus*. **Amer. J. Vet. Res.** **27**, 1053-1057.

ELEK, J.A. 1998a. Treatment of adult Coleoptera with a chitin synthesis inhibitor affects mortality and development time of their progeny. **Entomol. Exp. Appl.** **88**, 31-39.

ELEK, J.A. 1998b. Interaction of treatment of both adult and immature Coleoptera with a chitin mortality and development time of their progeny. **Entomol. Exp. Appl.** **89**, 125-136.

ELEK, J.A. & LONGSTAFF, B.C. 1994. Effect of chitin synthesis inhibitors on stored product beetles. **Pestic. Sci.** **40**, 225-230.

ELOWNI, E.E. & ELBIHARI, S. 1979. Natural and experimental infection on the beetle *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Choanotaenia infundibulum* and others chickens tapeworms. **Vet. Sci. Commun.** **3**, 171-173.

FAO (Food and Agriculture Organization). 1975. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. FAO Plant Protection Bulletin 23, 12-35. In T. A. Lambkin (2001). **Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation**. RIRDC. Publicação disponível em: <www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf>.

FERNANDES, M.A., SANTOS, AM.M. & LOMÔNACO, C. 1995. Ocorrência de artrópodes no esterco acumulado de galinhas poedeiras. **An. Soc. Entomol. Bras.** **24 (3)**, 649-654.

- FINNEY, D.J. 1972. **Probit Analysis**. Cambridge University Press, Cambridge. 255 p.
- FOLEGATTI, M.E.G., ALVES, S.B., KAWAI, P.R.C. & BOTELHO, P.S.M. 1988. Nova metodologia para produção “in vivo” de *Neoplectana carpocapsae* Weiser. **Nematol. Bras.** **12**, 76-83.
- FRANCISCO, O. 1996. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) associado ao esterco em granjas de aves poedeiras: fenologia, estrutura etária e parasitismo. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 116 p.
- FRANCISCO, O. & PRADO, A.P. 2001. Characterization of larval stages of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) using head capsule width. **Rev. Brasil. Biol.** **6** (1), 125-131.
- FUTUYMA, D.J. 1997. **Biologia Evolutiva**. 2ª Edição. Sociedade Brasileira de Genética/CNPq. Ribeirão Preto, SP. 646 p.
- FUXA, J.R. 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. **Ann. Rev. Entomol.** **32**, 225-251.
- GALL, A. 1980. Are lesser mealworms worth the trouble they may cause? **Poult. Dig.** **39**, 76-77.
- GAUGLER, R., GLAZER, I., CAMPBELL, J.F. & LIRAN, N. 1994. Laboratory and field evaluation of an entomopathogenic nematode genetically selected for improved host-finding. **J. Invertebr. Pathol.** **63**, 68-73.
- GAUGLER, R. & KAYA, H.K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press: Boca Raton, Boston, USA. 365 p.
- GAUGLER, R., LEWIS, E. & STUART, R.J. 1997. Ecology in the service of biological control: the case of entomopathogenic nematodes. **Oecologia** **109**, 483-489.

GEDEN, C.J., ARENDS, J.J., RUTZ, D.A. & STEINKRAUS, D.C. 1998. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. **Biol. Contr.** **13**, 71-77.

GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. 1987. Factors affecting climbing and tunneling behaviour of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Econ. Entomol.** **80**, 1197-2004.

GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. 1988. Effect of temperature on nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) treatment of soil for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in turkey houses. **J. Econ. Entomol.** **81** (3), 800-803.

GEDEN, C.J., AXTELL, R.C. & BROOKS, W.M. 1985. Susceptibility of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *Steinernema glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **J. Entomol. Sci.** **20**, 331-339.

GEORGIS, R. KAYA, H.K. & GAUGLER, R. 1991. Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) on nontarget arthropods. **Environ. Entomol.** **20** (3), 815-822.

GEORGIS, B.; MULLENS, A. & MEYER, J.A. 1987. Survival and movement of insect parasitic nematodes in poultry manure and their infectivity against *Musca domestica*. **J. Nematol.** **19**, 292-295.

GEORGIS, R. & POINAR, G.O. JR.,. 1983. Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana glaseri* (Nematoda: Steinernematidae). **J. Nematol.** **15**, 329-332.

GEORGHIOU, G.P. & TAYLOR, C.E. 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **J. Econ. Entomol.** **70** (3), 319-323.

GLAZER, I. 1992. Invasion rate as a measure of infectivity of steinernematid and heterorhabditid nematodes to insects. **J. Invertebr. Pathol.** **59**, 90-94.

GOODWIN, M.A. & WALTMAN, W.D. 1996. Transmission of *Eimeria*, viroses and bacteria to chicks: darkling beetles *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) as vectors of pathogens. **J. Appl. Poult. Res.** **5**, 51-55.

GRAY, P. A. & JOHNSON, D. T. 1983. Survival of the nematode *Neoaplectana carpocapsae* in relation to soil temperature, moisture and time. **J. Ga. Entomol. Soc.** **18**, 454-460.

GREWAL, P.S., SELVAN, S. & GAUGLER, R. 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment and reproduction. **J. Therm. Biol.** **19** (4), 245-253.

HAMM, R., KAUFMAN, P.E., REASOR, C.A.; RUTZ, D.A. & SCOTT, J.G. 2006. Resistance to cyflthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. **Pest. Manag. Sci.** **62**, 673-677.

HARDING JR., W.C. & BISSEL, T.L. 1958. Lesser mealworm in a broiler house. **J. Econ. Entomol.** **51**, 112.

HAZIR, S., STOCK, P., KAYA, H.K., KOPPENHOFER, A.M. & KESKIN, N. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). **J. Invertebr. Pathol.** **77**, 243-250.

HOSKINS, W.M. & GORDON, H.T. 1956. Arthropod resistance to chemicals. **Ann. Rev. Entomol.** **1**, 89-122.

HOZEN, M., KHAN, A.R. & HOSSAIN, M.. 2004. Growth and development of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) on cereal flours. **Pak. J. Biol. Sci.** **7** (9), 1505-1508.

ISHIBASHI, N. & KONDO, E. 1986. *Steinernema feltiae* (DD136) and *S. glaseri*: persistence in soil and bark compost and their influence on native nematodes . **J. Nematol.** **18**, 310-316.

KAYA, H.K. & GAUGLER, R. 1993. Entomopathogenic nematodes. **Ann. Rev. Entomol.** **38**, 181-206.

KARUNAMOTHY, G., CHELLAPPA, D.J. & ANADAN, R. 1994. The life history of *Subulura brumpti* in the *Alphitobius diaperinus*. **Indian Vet. J.** **71**, 12-15.

KUNG, S.P., GAUGLER, R. & KAYA, H.K. 1990. Influence of soil pH and oxygen on persistence of *Steinernema* spp. **J. Nematol.** **22 (4)**, 440-445.

LAMBKIN, T. A. 2001. **Investigations into the management of the darkling beetle: A report for the Rural Industries Research and Development Corporation.** Disponível em : < www.rirdc.gov.au/reports/CME/01-151.pdf >. Acesso em setembro de 2003.

LAMBKIN, T. 2005. Baselines of adults *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales, Australia. **J. Econ. Entomol.** **98 (3)**, 938-942.

LAMBKIN, T.A. KOPITAKE, R.A. RICE, S.J. BARTLETT, J.S. & ZALUCKI, M.P. 2007. Distributions of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in the litter of a compacted earth floor broiler house in Subtropical Queensland, Australia. **J. Econ. Entomol.** **100 (4)**, 1136-1146.

LEITE, L.G., BATISTA-FILHO, A. & PRADA, W.L.A. 1990. Produção de *Neoplectana glaseri* (Steiner) em lagartas vivas e mortas de *Galleria mellonella* L. **Rev. Agric.** **65**, 225-231.

LENORMAND, T. & RAYMOND, M. 2000. Analysis of clines with variable selection and variable migration. **Am. Nat.** **155 (1)**, 70-82.

LEORA SOFTWARE. 1987. **POLO-PC: A user's guide to probit analysis or logit analysis.** Leora Software, Berkeley, California, USA.

LEWIS, E.E., GAUGLER, R. & HARRISON, R. 1992. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. **Parasitol.** **105**, 309-315.

MCALLISTER, J. C., STEELMAN, C. D. & CARLTON, C. E. 1995. Histomorfology of the larval and adult digestive systems of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Kansas. Entomol. Soc.** **68** (2), 195-205.

MCALLISTER, J.C., STEELMAN, D.D. & SKEELES, J.K. 1994. Reservoir competence of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Salmonella typhimurium* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). **J. Med. Entomol.** **31**, 369-372.

MCALLISTER, J.C., STEELMAN, C.D. SKEELES, J.K., NEWBERRY, L.A. & GBUR, E.E. 1996. Reservoir competence of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Escherichia coli* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). **J. Med. Entomol.** **33**, 983-987.

MILLER, R.W. & REDFERN, R.E. 1988. Feed additives for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry broiler houses. **J. Econ. Entomol.** **81** (4), 1137-1139.

MOLTA, N.B. & HOMINICK, W.H. 1989. Dose- and time-response assessment of *Heterorhabditis* and *Steinernema feltiae* (Nematoda: Rhabditida) against *Aedes aegypti* larvae. **Entomophaga** **34**, 485-493.

MOLYNEUX, AS. 1986. *Hereterorhabditis* spp. and *Steinernema* (= *Neoplectana*) spp.: temperature, and aspects of behavior and infectivity. **Exp. Parasitol.** **62**, 169-180.

MOYA, A., FLORES, R., & OVIES, D. 1977. On epizootiology of heteroxenous helminthes of hen (*Gallus gallus*) in Cuba. **Rev. Cub. Cienc. Vet.** **8**, 25-29.

OLIVEIRA-FILHO, E.C.& CASTRO, M.L.M.P. 2006. Por que regular produtos biológicos? In E.C. OLIVEIRA-FILHO & R.G. MONNERAT (2006). **Fundamentos para regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas.** EMBRAPA, DF. 27-30 p.

- PEZOWICZ, E. 2005. **Entomopatogenic nematodes as a factor reducing the population density of the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus* Panzer) in chicken broilers.** Publications of Warsaw Agricultural University. Ciszewskiego, Warsaw, Polonia. 92 p.
- PFEIFFER, D.G. & AXTELL, R.C. 1980. Coleoptera of poultry manure in caged-layer houses in North Carolina. **Environ. Entomol.** **9**, 21-28.
- PINTO, D.M., RIBEIRO, P.B. & BERNARDI, E. 2005. Flutuação populacional de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), capturados por armadilhas do tipo sanduiche em granja avícola, no município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol. São Paulo** **72** (92), 199-203.
- POINAR, G.O. Jr. 1979. **Nematodes for biological control of insects.** CRC Press: Boca Raton, Florida, USA, 277 p.
- POINAR, G.O. Jr. 1993. origins and phylogenetic relationship of the entomophilic rhabditis, *Heterorhabditis* and *Steinernema*. **Fundam. Appl. Nematol.** **16** (4), 333-338.
- POPIEL, I. & HOMINICK, W.M. 1992. Nematodes as biological control agents: Part II. **Adv. Parasitol.** **31**, 381-433.
- REBERSON, J.L., PREISLER, H.K., HICCKLE, L.A. & GELERNTER, W.D. 1995. Natural variation: a complicating factor in bioassays with chemical and microbial pesticides. **J. Econ. Entomol.** **88** (1), 1-10.
- RENAULT, D., HERVANT, F. & VERNON, P. 2003. Effect of food shortage and temperature on oxygen consumption in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Physiol. Entomol.** **28**, 261-267.
- REYNA, P.S., MCDUGALD, L.R. & MATHIS, G.F. 1983. Survival of coccidian in poultry litter and reservoirs of infection. **Avian Diseases** **27**, 464-473.
- ROUSH, R.T. 1993. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. **Parasitol. Today** **9** (5), 174-179.

RUEDA, L.M. & AXTELL, R.C. 1996. temperature-deendent development and survival of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Med. Vet. Entomol.** **10**, 80-86.

SAFRIT, R. D. & AXTELL, R. C. 1984. Evaluations of sampling methods for darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the litter of turkey and broiler houses. **Poult. Sci.** **63** (12), 2368-2375.

SALIN, C., DELETTRE, Y. R., CANNAVACCIUOLO, M., VERNON, P. 2000. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **Eur. J. Soil. Biol.** **36**,107-115.

SALIN, C., DELETTRE, Y. R., VERNON, P. 2003. Controlling the mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler and turkey houses: field trials with a combined insecticide treatment insect growth regulator and pyrethroid. **J. Econ. Entomol.** **96**, 126-130.

SALIN, C. VERNON, P. & VANNIER, G. 1999. Effects of temperature and humidity on transpiration in adults of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Insect Physiol.** **45**, 907-914.

S.A.S. Institute Inc. 2003. **S.A.S. User's guide: Statistic**. Versão 9.13. Cary, North Caroline, USA.

SAVAGE, S. 1992. Reducing lesser mealworms. **Poult. Dig.** **51**, 34-36.

SEGAL, D. & GLAZER, I. 2000. Genetics for improving biological control agents: the case of entomopathogenic nematodes. **Crop Prot.** **19**, 685-689.

SELVAN, S., CAMPBELL, J.F. & GAUGLER, R. 1993a. Density-density effects on entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) within an insect host. **J. Invertebr. Pathol.** **62**, 278-284.

SELVAN, S., GAUGLER, R. & LEWIS, E.E. 1993b. Biochemical energy reserves of entomopathogenic nematodes. **J. Parasitol.** **79** (2), 167-172.

SEGABINAZI, S.D. 2004. **Presença de bactérias da Família Enterobacteriaceae nas superfícies externa e interna de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, RS. 105 p.

SCHROECKENSTEIN, D.C., DAVIS, S.M., GRAZIANO, F.M. ALOMO, A., & BUSH, R.K. 1988. 1988. Occupational sensitivity to *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Allergy Clin. Immunol.** **82 (6)**, 1081-1088.

SCHAFER, A.S., HOFF, G., DOYLE, R.L., SANTURIO, J.M., & MONTEIRO, S.G. 2005. Ciclo biológico do cascudinho, *Alphitobius diaperinus*, em laboratório. **Acta Sci. Vet.** **33 (2)**, 177-181.

SHEPPARD, D.C., GAYDON, D.M. & MILLER, R.W. 1989. Resistance in house flies (Diptera: Muscidae) selected with 5 ppm feed-through cyromazine. **J. Econ. Entomol.** **9**, 257-260.

SIMÕES, N., CALDAS, C. ROSA, J.S., BONIFASSI, E. & LAUMOND, L. 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernema carpocapsae* to *Galleria mellonella*. **J. Invertebr. Pathol.** **75**, 47-54.

SIMS, S.R., DOWNING, A.M. & PERSHING, J.C. 1992. Comparison of assays for the determination of entomogenous nematode infectivity. **J. Nematol.** **24 (2)**, 271-274.

SMART, C.G. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. **J. Nematol.** **27 (4S)**, 529-534.

SOUTHWOOD, T. 1977. Habitat, the templet for ecological strategies? **J. Anim. Ecol.** **46**, 337-365.

SOLTANI, N., MAZOUNI, N.S. & DELACHAMBRE, J. 1996. Evaluation of triflumuron, a benzoylphenylurea derivative, on *Tenebrio molitor* pupae (Coleoptera: Tenebrionidae): effects on cuticle. **J. Appl. Ent.** **120**, 627-629.

STEINKRAUS, D.C., BROOKS, W.M. & GEDEN, C.G. 1992. Discovery of the neogregarine *Farinocystis triboli* and eugregarine in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **J. Invert. Pathol.** **59**, 203-205.

STEINKRAUS, D.C. & CROSS, E.A. 1993. Description and life history of *Acarophenax mahunkai*, n. sp. (Acari: Tarsonemina, Acarophenacidae), an egg parasite of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ann. Entomol. Soc. Am.** **86** (3), 239-249.

STEINKRAUS, D.C., GEDEN, C. J. & RUTZ, D.A. 1991. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae): effects of host stage, substrate, formulation and host passage. **J. Med. Entomol.** **28**, 314-321.

STINNER, R.E., BORFIELD, C.S., STIMAC, J.L. & DHOSE, L. 1983. Dispersal and movements of insect pests. **Ann. Rev. Entomol.** **28**, 319-335.

STROTHER, K. O. & STEELMAN, C. D. 2001. Spatial analysis of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler production facilities. **Environ. Entomol.** **30** (3), 556-561.

STROTHER, K.O., STEELMAN, C.D. & GBUR, E.E. 2005. Reservoir competence of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Campylobacter jejuni* (Campylobacterales: Campylobacteraceae). **J. Med. Entomol.** **42** (1), 42-47.

STUART, R.J. & GAUGLER, R. 1994. Patchiness in populations of entomopathogenic nematodes. **J. Invertebr. Pathol.** **64**, 39-45.

SZALANSKI, A.L., PALMER, T.B., MCKAY, T. & STEELMAN, C.D. 2004. Infectivity of *Steinernema* spp. (Nematoda: Steinernematidae) to adults litter beetles, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. **Biocontrol Sci. Technol.** **14** (1), 81-85.

TREVERROW, N.L. & BEDDING, R.A. 1993. Development of a system for the control of Banana Weevil Borer, *Cosmopolites sordidus* with entomopathogenic nematodes. In: BEDDING, R., AKHURST, R., KAYA, H., (Ed.) **Nematodes and the biological control of insect pests**. CSIRO, Melbourne, Australia, 41-47 p.

TREVOR, A., LAMBKIN, T. A. & RICE, S.J. 2006. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to cyfluthrin and detection of strong resistance in field populations in eastern Australia. **J. Econ. Entomol.** **99**, 908-913.

TUCCI, E.C., GOMES, J.P.C. & SANTOS, J.M.F. 2002. Avaliação da eficácia de triflumuron Starycide SC480 no controle de *A. diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Anais do XIX Congresso Brasileiro de Entomologia. Manaus, AM. Resumo, p. 128.

VAUGHAN, J.A. & TURNER, E.C. Jr. 1984. Residual and topical toxicity of various insecticides to the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Econ. Entomol.** **77**, 216-220.

VORIS, J.C., MEYER, J.A. PFOST, R. & WOODBURY, R.. 1994. Temperature affects lesser mealworm populations in turkey brooder houses. **Cal. Agric.** **48 (2)**, 18-21.

WANG, Y., GAUGLER, R. & CUI, L. 1994. Variations in immune response of *Popillia japonica* and *Acheta domesticus* to *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema* species. **J. Nematol.** **26 (1)**, 11-18.

WAKEFIELD, M.E. & COGAN, P.M. 1990. Resistance to iodenfenphos and malathion in the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus*. In CHERNAKI-LEFFER, A. M. (2004). **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.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná. 128 p.

WEAVER, J.E. 1996. The lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*: field trials and control in a broiler house with insect growth regulators and pyrethroids. **J. Agric. Entomol.** **13**, 93-97.

WEAVER, J.E. & KONDO, V.A. 1987. Laboratory evaluations of insect growth regulators in producing lesser mealworm mortality and egg fertility. **J. Agric. Entomol.** **4**, 233-245.

WESTERMAN, P.R. 1999. Agregation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., among host insects at 9 and 20°C and effects on efficacy. **J. Invertebr. Pathol.** **73**, 206-213.

WILSON, T. A. & MINER, F. D. 1969. Influence of temperature on development of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **J. Kansas Entomol. Soc.** **42 (3)**, 294-303.
