

Concórdia, SC / Novembro, 2024

OBJETIVOS DE  
DESENVOLVIMENTO  
SUSTENTÁVEL



## Compostos orgânicos e biológicos associados para controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (cascudinho) na produção de frangos de corte



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Suínos e Aves  
Ministério da Agricultura e Pecuária**

e-ISSN 2965-8047

## **Documentos 253**

Novembro, 2024

Compostos orgânicos e biológicos associados para controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (cascudinho) na produção de frangos de corte

*Gilberto Silber Schmidt  
Paulo Giovanni de Abreu  
Anildo Cunha Junior  
Ana Paula Bastos  
Darlei Dequigiovani  
Lênin Resmini Heling*

**Embrapa Suínos e Aves**  
Concórdia, SC  
2024

**Embrapa Suínos e Aves**  
Rodovia BR 153 - KM 110  
89.715-899, Concórdia, SC  
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

*Franco Muller Martins*

Secretário-executivo

*Tâni Maria Biavatti Celant*

Membros

*Clarissa Silveira Luiz Vaz*

*Catia Silene Klein*

*Gerson Neudi Scheuermann*

*Jane de Oliveira Peixoto*

*Joel Antonio Boff*

Revisão de texto

*Jean Carlos Porto Vilas Boas Souza*

Projeto gráfico

*Leandro Sousa Fazio*

Diagramação

*Vivian Fracasso*

Foto da capa

*Paulo Giovanni de Abreu*

Publicação digital: PDF

#### **Todos os direitos reservados**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

#### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Suínos e Aves

---

Compostos orgânicos e biológicos associados para controle de *alphitobius diaperinus* (panzer) (cascudinho) na produção de frangos de corte / Gilberto Silber Schmidt. [et al.] – Concórdia : Embrapa Suínos e Aves, 2024.

PDF (23 p.) : il. color. – (Documentos / Embrapa Suínos e Aves, e-ISSN 2965-8047; 253)

1. Avicultura. 2. Produção de carne. 3. Frango de corte. I. Paulo Giovanni de Abreu. II. Anildo Cunha Junior. III. Ana Paula Bastos. IV. Darlei Dequigiovani. V. Lênin Resmini Heling. VI. Título. IV. Série.

---

CDD (21. ed.) 636.5

*Claudia Antunez Arrieche* (CRB-14/880)

© 2024 Embrapa

## Autores

---

### **Ana Paula Almeida Bastos**

Médica Veterinária, doutora em Ciência, pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

### **Anildo Cunha Junior**

Químico, mestre em Química, analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

### **Darlei Dequigiovani**

Graduando em Engenharia Agrônoma pelo Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia, bolsista CNPq/PIBIC, Concórdia, SC

### **Gilberto Silber Schmidt**

Zootecnista, doutor em Melhoramento Genético Animal, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

### **Lênin Resmini Heling<sup>5</sup>**

Graduando em Engenharia Agrônoma pelo Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia, bolsista CNPq/PIBIC, Concórdia, SC

### **Paulo Giovanni de Abreu**

Engenheiro agrícola, doutor em Zootecnia, pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC



## Apresentação

---

O controle do cascudinho tem sido desafiador devido ao conhecimento limitado sobre seus inimigos naturais e, à sua preferência por habitats específicos nos aviários. Embora o controle químico seja comum, sua eficácia pode ser comprometida pela complexidade dos ambientes onde os insetos se proliferam, além da ocorrência de resistência destes aos princípios ativos.

O desenvolvimento de bioinseticidas, para o controle de pragas na produção agropecuária a base de insumos orgânicos, biológicos e minerais, isolados ou associados têm sido incentivado, visando reduzir o uso de inseticidas químicos e, com o objetivo de reduzir problemas relacionados aos impactos sociais, ambientais, econômicos e de segurança alimentar, além de aumentar a competitividade no

mercado internacional, que define regras rígidas para o uso de produtos químicos para o controle de pragas. Diante dessas dificuldades e dos prejuízos associados ao cascudinho na produção avícola, torna-se imperativo explorar novas alternativas para o seu controle. Essa publicação traz resultados de pesquisa de compostos associados, biológicos e orgânicos para o controle de cascudinho em sistemas intensivos de produção de frangos de corte.

Os resultados do presente trabalho estão alinhados ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável, Consumo e Produção Responsáveis - ODS 12, Meta 12.a. Apoiar países em desenvolvimento a fortalecer suas capacidades científicas e tecnológicas para mudar para padrões mais sustentáveis de produção e consumo.

*Gilberto Silber Schmidt*

Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves



## Sumário

---

<b>Introdução</b>	9
<b>Biologia e ecologia de <i>Alphitobius diaperinus</i></b>	10
<b>Ciclo biológico</b>	10
<b>Impacto</b>	11
<b>Controle</b>	12
<b>Compostos associados para controle do <i>Alphitobius diaperinus</i></b>	12
Avaliação dos substratos candidatos	13
Avaliação da dosagem letal	15
Avaliação dos compostos biológicos	16
Avaliação dos compostos isolados e associados	17
Avaliação do composto BIOEMB-C	19
Avaliação do grau de toxidez	21
<b>Conclusões</b>	21
Agradecimentos	21
<b>Referências</b>	22



## Introdução

A avicultura é um dos setores do agronegócio brasileiro de maior desenvolvimento nas últimas décadas, sendo uma das principais fontes na produção de proteína animal no país. Os avanços nos índices técnicos, aliados à capacidade de produção e organização das agroindústrias e qualidade dos produtos, que atende tanto o mercado interno como externo, têm contribuído de maneira significativa para o Brasil ser um dos grandes responsáveis pelo fornecimento de proteína animal de qualidade, gerando divisas e empregos diretos e indiretos. A geração de emprego, que gira ao redor de 3,5 milhões, é um dos pontos fortes do setor avícola. Além disso, 70% da produção de frangos, acontece em pequenos municípios e em propriedades familiares (ABPA, 2023). Por outro lado, na produção de ovos, a maior parte está concentrada em grandes produtores. A ocorrência de infestações por pragas, tanto na avicultura de corte como de postura (Figura 1), tem sido uma das grandes preocupações do setor, devido às dificuldades de controle e à necessidade, na maioria dos casos, do uso de insumos químicos, que causam impacto negativo na sustentabilidade do setor.



Foto: Gilberto Silber Schmidt

Figura 1. Infestação de cascudinho em aviário.

Os insetos são as principais pragas na avicultura. Entre eles estão as moscas (*Musca doméstica* e *Stomoxys calcitrans*), os coleópteros, principalmente o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*), e os artrópodes, como os ácaros, sendo os principais hematófagos o *Dermanyssus gallinae* (ácaro vermelho), o *Ornithonyssus sylviarum* (ácaro da pena) e o *Ornithonyssus bursa* (piochos dos ninhos). Também podem ser citados os ácaros de traqueia e sacos aéreos (*Sternostoma tracheacolum*), o causador de sarna (*Knemidocoptes gallinae*), os carrapatos de galinheiro (*Argas miniatus*) e as pulgas (*Pulgas Sticktight*, *Menopon gallinae*, *Lipeurus caponis* e *Menacanthus stramineus*). Completam a lista de pragas na avicultura os roedores (camundongos e ratos) e pássaros (Paiva, 2000).

O sistema intensivo de produção de aves proporcionou um habitat adequado para o desenvolvimento, sobrevivência e proliferação do cascudinho, tornando-o uma das pragas de maior impacto na avicultura de corte. As condições ambientais de temperatura e umidade, o reaproveitamento da cama por diversos lotes e a disponibilidade de água, alimento e refúgios favorecem a permanência e a multiplicação acelerada do cascudinho. A maior concentração populacional ocorre na cama, laterais dos pilares, cortinas, orifícios ou rachaduras nas paredes, comedouros, bebedouros e outros equipamentos. A versatilidade de refúgios em locais de difícil acesso dificulta o controle, pois quando a cama nova é colocada, as larvas e adultos retornam rapidamente (Schmidt; Abreu, 2023).

O objetivo desta publicação é disponibilizar os resultados do projeto de desenvolvimento de compostos associados, biológicos e orgânicos, desenvolvido em parceria com a GDM Deiss & Marchesini e Ophicina Orgânica, com vistas ao controle de cascudinho em sistemas intensivos de produção de frango de corte.

## Biologia e ecologia de *Alphitobius diaperinus*

O *A. diaperinus* é um besouro (Coleoptera: Tenebrionidae) conhecido popularmente como cascudinho ou larva da farinha devido a sua morfologia externa e coloração escura. É originário da África Ocidental e foi disseminado para outros países dentro de cargas de grãos, onde encontra um ambiente propício para o seu desenvolvimento (Fogaça *et al.*, 2017), tornando-se um inseto cosmopolita.

É imperativo o desenvolvimento de programas efetivos de monitoramento, gestão e controle do cascudinho *A. diaperinus* (Mendes; Povaluk, 2017). O conhecimento da biologia e ecologia do inseto é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controle físico, químico, cultural, orgânico, biológico, mineral e associados. Informações sobre a morfologia, o ciclo biológico, os hábitos e a importância econômica do cascudinho no ambiente avícola ampliam a possibilidade de reduzir os níveis de infestação nos aviários. O inseto adulto possui o corpo ovalado, tegumento marrom escuro, cabeça prognata sub-quadrangular encaixada no protórax, quase até a altura dos olhos, e mesotorax curto. Já o seu comprimento pode variar de 6,00 a 6,83 mm e a largura de 2,75 a 3,17 mm. O aparelho bucal, tanto na larva quanto no adulto, é do tipo mastigador. Os adultos possuem olhos ventrais, três pares de pernas com esporões, que podem ser critério para diferenciação de machos e fêmeas, onde os espinhos da tíbia são curvos em machos e retos nas fêmeas (Vergara; Gazani, 1996).

A largura média da cápsula cefálica do *Alphitobius diaperinus* e os respectivos desvios padrões (DP), de acordo com seus estágios larvais, mostram que estas apresentam nove estágios, com média de 0,228 mm (DP +0,0192) para larvas recém eclodidas, até 1,339 mm (DP+0,0436) no oitavo estágio, com fator de crescimento correspondente à regra de Dyar-Hutchinson, apresentando a média de 1,29 mm de crescimento ao longo do desenvolvimento. A informação tem sido utilizada para estudos de fenologia e estruturação etária de populações do *A. diaperinus* a campo (Franciscoa; Prado, 2001).

A temperatura e umidade relativa para reprodução acelerada estão ao redor de 28 °C e 80%, respectivamente, sendo que temperaturas abaixo de 16,5 °C reduzem a população do inseto, pois afetam o desenvolvimento da fase larval. Segundo Fogaça *et al.* (2017) e Chernaki-leffer *et al.* (2002), o ciclo completo do cascudinho à temperatura constante

de 28 °C é de 42,5 dias, o que indica que cada lote introduzido na granja (50 – 60 dias) produz uma nova geração de insetos.

Estes insetos têm hábito noturno e durante o dia se abrigam geralmente em áreas com temperaturas mais altas, umidade adequada e restos de ração (Axtell; Arends, 1990; Kehler, 2020), podendo apresentar hábito alimentar saprófito, alimentando-se de material orgânico em decomposição. Na cama do aviário, os cascudinhos se alimentam de restos de ração misturados a excretas e penas, além da carne e órgãos internos de aves moribundas ou mortas (Kehler, 2020). As práticas de manejo e utilização dos resíduos da produção avícola favorecem a disseminação e multiplicação dos insetos (Marques, 2010).

A distribuição dos cascudinhos apresenta alta heterogeneidade, ou seja, ovos, larvas, pupas e adultos podem ser encontrados em qualquer parte do aviário, sendo observadas larvas de últimos estágios, pupas e adultos nas profundidades do solo (cerca de 10 cm), preferencialmente abaixo de comedouros, onde a cama apresenta-se mais densa e compactada com baixa umidade. Esses insetos não realizam diapausa, mas movimentam-se em direção ao solo e dentro dele dependendo das condições de temperatura e umidade (Salin *et al.*, 2000). Tanto a larva como o inseto adulto permanecem no solo, em rachaduras e frestas do piso para se protegerem, principalmente durante o período de limpeza do aviário, o que dificulta a sua eliminação (Back, 2004). Portanto, quando se retira a cama, larvas de inúmeros estágios e adultos ainda permanecem no aviário e, no momento que é colocada a cama nova, retornam para os locais que ocupavam antes (Matias, 1992).

## Ciclo biológico

*A. diaperinus* (Figura 2) é um inseto holometábolo, ou seja, apresenta metamorfose completa, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. Dependendo das condições ambientais, seu ciclo pode variar de 50 a 100 dias. As fêmeas iniciam o processo reprodutivo 10 dias após a emergência da pupa, podendo ter um período de vida de 90 a 400 dias (Paiva, 2000; Chernaki-Leffer *et al.*, 2002). Depois dos primeiros 15 dias após o acasalamento, as fêmeas depositam de 200 a 400 ovos a cada um a cinco dias, podendo atingir 2 mil ovos durante a vida adulta. A população dessa espécie pode

se multiplicar consideravelmente se não houver um controle eficaz (Aviagen, 2020).

## Ciclo de vida do Cascudinho

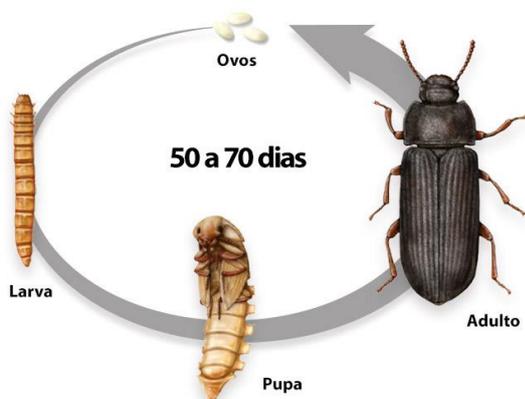


Ilustração: Autor

**Figura 2.** Ciclo de vida do *Alphitobius diaperinus* (Cascudinho).

Os ovos, de coloração esbranquiçada, são depositados na cama ou em frestas das instalações. Em ambientes adequados para reprodução, a eclosão das larvas ocorre entre três e 10 dias, passando por cinco a 10 estágios. A fase de pupa dura de quatro a 14 dias e os adultos podem viver de três meses a mais de um ano. Em média, as fases podem ser definidas como pré-oviposição (três dias), ovo (cinco dias), larvas (38 dias), pupa (cinco dias) e adultos quitinizados (quatro dias). As larvas recém-eclodidas apresentam a coloração esbranquiçada até o terceiro estágio larval e, a partir do quarto estágio, a coloração marrom vai se acentuando. As larvas apresentam, em média, 1,5 mm de comprimento ao eclodir e alcançam 13,8 mm após 38 dias de crescimento (Vergara; Gazani, 1996, Marques *et al.*, 2013; Fogaça *et al.*, 2017).

Devido à origem tropical, os cascudinhos adaptam-se facilmente a altas temperaturas e umidade, apresentando uma relação linear entre a temperatura e a taxa de proliferação. O tempo de desenvolvimento de larva a inseto adulto, com a umidade de 60% e um fotoperíodo claro/escuro de 16/8 horas, está ligado à temperatura ambiente. Em temperaturas de 20, 25, 30 e 35°C, o tempo de desenvolvimento de larva a adulto de *A. diaperinus* é de aproximadamente 129,0; 49,8; 40,5 e 31,9 dias, incluídos os períodos de pupa de 80,0; 100,0; 83,3 e 91,7%, respectivamente (Kim *et al.*, 2017).

## Impacto

O impacto técnico e econômico determinados pela infestação por cascudinho são difíceis de quantificar, porém as perdas econômicas são certas. Tanto os adultos como as larvas podem causar danos à estrutura do aviário. As larvas perfuram e empupam nos materiais de isolamento (poliuretano), causam danos nas paredes, no piso, vigas e sistemas elétricos e, quando os besouros adultos emergem, permanecem escondidos dentro do material isolante até o início de um novo ciclo do lote de frangos, saindo em massa para ovipositar na cama (Guy, 2016). Embora seja difícil estimar o nível de interferência e comprometimento em função do grau de infestação das instalações (Axtell; Arends, 1990), os danos na infraestrutura das instalações reduzem a sua vida útil e aumentam a necessidade de investimentos em reformas. Para o controle do cascudinho é necessário o desenvolvimento de estratégias direcionadas para reduzir a níveis aceitáveis o grau de infestação.

A infestação de cascudinho pode reduzir o desempenho zootécnico e influenciar diretamente a conversão alimentar, afetando o crescimento e o ganho de peso das aves, uma vez que larvas e adultos do inseto podem ser ingeridas no lugar da ração balanceada, além do potencial desses insetos como vetores de patógenos. O exoesqueleto rígido do inseto adulto pode causar lesões gastrointestinais nas aves, acarretando infecções secundárias e favorecendo a entrada de patógenos (Schmidt; Abreu, 2023).

A ingestão dos cascudinhos leva à condenação de carcaças e ao descarte de órgãos aproveitados como subprodutos, pois o organismo da ave libera a benzoquinina, uma secreção tóxica e carcinogênica que pode levar a lesões hepáticas, com risco inclusive para humanos. Neste contexto, além das questões econômicas, existe a preocupação com a biossegurança dos plantéis e dos produtos processados (Despins; Axtell, 1995).

O controle tem sido realizado através do uso de inseticidas químicos, como piretróides, organofosforados e cipermetrina (Japp *et al.*, 2010) Porém, o uso constante ocasiona o desenvolvimento de populações de insetos resistentes, podendo contaminar as aves, o ambiente e o avicultor. A cama do aviário, que normalmente é utilizada como adubo orgânico, ao ser contaminada por produtos químicos, torna-se mais impactante do ponto de vista ambiental devido à contaminação residual nos alimentos, solo e lençol freático. Este método de controle também afeta

a exportação de aves para muitas partes do mundo, como a União Europeia, que não permite o uso de vários produtos químicos devido ao acúmulo de resíduos de pesticidas na carne (Japp *et al.*, 2010).

Os efeitos negativos causados pelas infestações de cascudinho no desempenho técnico e econômico, devem também ser associados aos problemas sanitários. O contato direto com a cama, rica em excretas e restos de ração, associado ao hábito de se alimentar de carne e órgãos internos de aves mortas ou debilitadas, torna este coleóptero um possível vetor de diversos patógenos. Portanto, além de causar impacto negativo nos índices produtivos, afeta a sanidade do plantel, a saúde do produtor e a segurança dos alimentos, em função da possibilidade de contaminação por resíduos biológicos e químicos, quando do uso de inseticidas para o seu controle.

## Controle

O controle de infestação tem sido basicamente realizado por meio de ações mecânicas e inseticidas químicos, porém é necessário envolver diferentes métodos, integrando medidas de controle físico, mecânico e cultural. Conhecer o ciclo biológico, bem como a distribuição dos insetos no aviário, é fundamental para o estabelecimento de programas eficientes de controle. Os locais que concentram a maior densidade populacional são: cama, laterais de pilares, cortinas, slats, comedouros, bebedouros, outros equipamentos, vãos, orifícios e rachaduras na parede (Aviagen, 2020). As medidas de controle químico devem levar em consideração o conhecimento dos produtos e dosagem e o melhor momento para sua aplicação. Assim, é possível impedir uma explosão da população do inseto de forma economicamente eficiente e de baixo risco para o produtor e consumidor (Paiva, 2000).

O controle biológico tem sido considerado uma prática com alto potencial para o controle de diversas pragas que afetam a agropecuária. Este método de controle consiste na utilização de inimigos naturais que apresentem potencial para eliminar e (ou) reduzir o desenvolvimento de pragas e vetores, sendo uma alternativa promissora, sobretudo devido à seletividade e biossegurança das aves, aplicadores e consumidores. Vários estudos vêm sendo conduzidos visando substituir ou reduzir o uso de inseticidas químicos, que tem apresentado resistência

cruzada, reduzindo a capacidade de controlar a proliferação do cascudinho (Schmidt; Abreu, 2023).

Atualmente, existe uma tendência de estimular o mercado de bioinseticidas produzidos por meio de insumos orgânicos e biológicos como estratégia de controle deste inseto. Uma das dificuldades para o uso de insumos biológicos está associada a um ambiente com altas concentrações de amônia volátil, produto excretado como forma de urina pelas aves, no ambiente produtivo. É necessária a investigação de novas formas de implantação para este tipo de controle, de forma que o ambiente não prejudique os agentes entomopatogênicos, ampliando assim a efetividade no controle do cascudinho (Alves *et al.*, 2005).

A biodiversidade da flora brasileira tem um potencial inesgotável para ser explorada na formulação de bioinseticidas para o controle de pragas, tanto na agropecuária como em relação à saúde pública. Estes insumos, em diversas formas de processamento, vêm sendo estudados em laboratório, porém poucos trabalhos são validados em nível de campo em relação à eficiência como agente inseticida.

Os compostos presentes nos extratos vegetais atuam direta e (ou) indiretamente no controle de insetos. Os compostos bioativos produzidos por vegetais possuem diversos modos de ação, que em conjunto podem ser utilizados como estratégia para o manejo e controle de insetos de importância econômica. Metabólitos secundários, como compostos fenólicos, quinonas, cumarinas, terpenóides, alcaloides, polifenóis, flavonas, taninos, lecitina, polipeptídios, entre outros, cuja presença e composição varia entre as espécies, causam a inibição de ingestão de alimento, redução de consumo, retardo no desenvolvimento, deformações, menor taxa de oviposição, esterilidade de adultos e mortalidade (Cowan, 1999; Cavalcante *et al.*, 2006).

## Compostos associados para controle do *Alphitobius diaperinus*

Os resultados apresentados no presente documento são referentes ao projeto “Desenvolvimento de bioinseticidas através da associação de compostos biológicos e orgânicos para o controle do *Alphitobius diaperinus* (Cascudinho) na avicultura”, executado em parceria com as empresas GDM Deiss & Marchesini Ltda e Ophicina Orgânica Fertil – EEP.

O objetivo foi o desenvolvimento de compostos associados para o controle do cascudinho em sistemas intensivos de produção de frango de corte. Os substratos utilizados na formulação dos compostos foram extraídos, estabilizados e disponibilizados pela Ophicina Orgânica.

Os insetos adultos e larvas foram coletados a campo, no sistema produção de frangos de corte, e encaminhados para o Laboratório de Análises Físico-Químicas da Embrapa Suínos e Aves para a realização dos testes de letalidade em relação aos cascudinhos (Figura 3). Os bioensaios foram conduzidos em salas controladas, com a temperatura de 35o e umidade relativa do ar de 70%, na tentativa de manter as condições ambientais similares à situação de campo. Após sete dias de contato dos cascudinhos com os compostos em avaliação, a contagem dos indivíduos vivos e mortos foi realizada para determinação do grau de letalidade (GL%).



Foto: Gilberto Silber Schmidt

**Figura 3.** Coleta de insetos adultos e larvas em aviários.

Os dados de mortalidade, em todos os bioensaios realizados, foram corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli (Alves *et al.*, 2005) e transformados conforme a equação 1, antes da análise estatística. Os dados foram avaliados quanto à variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de significância de 5% no programa SAS versão 9.1. (SAS Institute SAS, 2012).

$$\text{Arcsen} \sqrt{\frac{x}{100}} \quad (1)$$

## Avaliação dos substratos candidatos

### Protocolo de execução

Os substratos avaliados, em relação ao potencial inseticida para o controle de cascudinho, foram: Coroa de Cristo (*Euphorbia milii*), Canela Líquida e em pó (*Cinnamomum verum*), Timbó (*Derris urucu*), Comigo Ninguém Pode (*Dieffenbachia seguine*), Spinosad (*Saccharopolyspora spinosa*), óleo, pó e torta de Neem (*Azadirachta indica*), mamona (*Ricinus communis*), Cromo, Streptomyces (*Streptomyces antibioticus*), Pironeen (Extrato pirolenhoso + Óleo de Neem) e, como testemunha negativa, utilizou-se água natural e, positiva, um inseticida químico comercial (Pankada). O substrato Torta de Fezes foi obtido por meio do fornecimento de Torta de Neem na dieta das aves e posterior coleta das fezes, que foi diluída em 5% na água.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado constituído de 16 tratamentos, sendo 14 substratos e os controles, negativo (água destilada) e positivo (inseticida comercial – Pankada), com 10 repetições/tratamento. Os insetos adultos e larvas, em média 30 por fase, foram acondicionados em placas de Petri forradas com papel toalha. Uma solução de cada produto na dosagem de 5% foi pulverizada no interior das placas 60 minutos após a inserção dos insetos.

### Resultados

Os resultados obtidos para o grau de letalidade (GL), médio e corrigido pelo efeito do tratamento controle (GL<sup>1</sup>), para todos os substratos testados são apresentados na Tabela 1. A maioria dos artigos descritos na literatura consideram que valores de GL acima de 50% são satisfatórios para a utilização como bioinseticida para o controle do cascudinho.

Os resultados obtidos em relação ao efeito inseticida (adultos) e larvicida (larvas) para o controle negativo (2,00 e 1,33%) e controle positivo (98,67 e 99,33%) indicam que os mesmos podem ser utilizados como base para avaliar o GL dos substratos avaliados.

Em relação ao controle de larvas, o timbó (99,34%) e a Canela Líquida (98,35%) apresentaram os melhores GL, com valores próximos ao controle positivo. Já o óleo de Neem (54,31%), embora tenha apresentado resultados inferiores, pode ser incluído na formulação de compostos associados, considerando a possibilidade de ocorrência de

efeitos aditivos e (ou) de sinergismo, potencializando o efeito inseticida do composto associado.

Resultados similares foram obtido em relação ao controle de insetos adultos, onde a canela líquida (99,67%) e o Timbó (99,34%) apresentaram resultados de letalidade similares ao do controle positivo (99,33%). Já o Óleo de Neem atingiu 59,0% de GL, superior ao valor de 50% citado na maioria dos resultados de literatura como satisfatório para utilização como bioinseticida. Portanto, da mesma forma, o Óleo de Neem poderá ser utilizado na formulação de compostos associados.

Em relação ao Timbó, os princípios ativos são a rotenona, os saponáceos, os glucosídeos cardíacos, os alcaloides, os taninos, os compostos Cianogênicos e o ictiotereol. Para a Canela, os princípios ativos são o eugenol, safrol, felandreno, ácido cinâmico e taninos. No Óleo de Neem, um dos extratos

mais utilizados no controle de insetos, os princípios ativos são a azadiractina e limonóides, compostos secundários que agem como supressores de apetite ou inibidor de crescimento. Importante relatar que estes extratos, segundo a literatura, não apresentam toxidez, tanto para a ave quanto para seres humanos e, portanto, podem ser utilizados de maneira ampla, sem restrições (Marcomini, *et al.*, 2009).

Os demais substratos avaliados, conforme pode ser observado na Tabela 1, apresentaram baixo potencial inseticida no controle do cascudinho para ambas as fases de desenvolvimento e, assim, não são indicados para formulação de compostos associados. Com relação ao substrato denominado "Torta de Fezes", novos estudos devem ser conduzidos, uma vez que a diluição em água pode ter mascarado o efeito inseticida dos metabólitos contidos nas fezes produzidas pelas aves.

**Tabela 1.** Efeito do Tratamento, em relação ao grau de letalidade para cascudinhos, média (GL+DP) e corrigido em relação ao tratamento controle (GL<sup>1</sup>).

Tratamento	GL (%)			GL <sup>1</sup> (%)		
	Larva	Adulto	Média	Larva	Adulto	Média
Timbó (óleo)	99,34+1,36 <sup>A</sup>	99,34+1,36 <sup>A</sup>	99,34	97,34	98,00	97,67
Canela líquida	98,35+1,72 <sup>A</sup>	99,67+1,02 <sup>A</sup>	99,01	96,35	98,33	97,34
Óleo de neem	54,31+3,03 <sup>B</sup>	59,00+3,06 <sup>B</sup>	56,66	52,31	57,67	54,99
Coroa de cristo	12,90+5,9 <sup>C</sup>	5,90+8,74 <sup>D</sup>	9,40	10,90	4,57	7,74
Canela pó	8,07+3,45 <sup>D</sup>	8,49+4,49 <sup>C</sup>	8,28	6,07	7,16	6,62
Pironeem	8,28+6,26 <sup>D</sup>	7,36+2,18 <sup>C</sup>	7,82	6,28	6,03	6,16
Torta fezes	8,13+8,97 <sup>D</sup>	4,11+6,13 <sup>D</sup>	6,12	6,13	2,78	4,45
Spinosad	1,33+1,7 <sup>E</sup>	4,00+10,39 <sup>DE</sup>	2,66	-0,67	2,67	1,00
Torta neem	3,78+4,53 <sup>E</sup>	0,99+2,13 <sup>FG</sup>	2,39	1,78	-0,34	0,72
Streptomyces	3,37+3,28 <sup>E</sup>	1,33+1,72 <sup>F</sup>	2,35	1,37	0,00	0,68
Comigo ninguém pode	2,78+3,91 <sup>E</sup>	0,66+1,36 <sup>G</sup>	1,72	0,78	-0,67	0,05
Pó neem	1,33+2,82 <sup>E</sup>	1,68+2,93 <sup>F</sup>	1,51	-0,67	0,34	-0,16
Mamona	1,33+1,72 <sup>v</sup>	1,00+1,61	1,17	-0,67	-0,33	-0,50
Cromo	1,00+1,63 <sup>v</sup>	1,33+3,21 <sup>F</sup>	1,17	-1,00	0,00	-0,50
Controle positivo	98,67+1,72 <sup>A</sup>	99,33+1,40 <sup>A</sup>	99,00	96,67	98,00	97,33
Controle negativo	2,00+1,72 <sup>E</sup>	1,33+1,71 <sup>F</sup>	1,67			

<sup>1</sup>Taxa de letalidade corrigida em relação ao controle negativo

## Avaliação da dosagem letal

### Protocolo de execução

Os extratos vegetais Timbó, Canela Líquida e Óleo de Neem, que apresentaram GL superiores a 50% (Tabela 1), foram avaliados em relação à dosagem letal para o controle de insetos adultos e larvas de cascudinho. Foi utilizado o delineamento fatorial, inteiramente casualizado, constituído pelos três substratos e quatro dosagens (2, 3, 4 e 5%), além dos controles, negativo (água) e positivo (Pankada – 0,3%), perfazendo 14 tratamentos, com 10 repetições, totalizando 140 unidades experimentais. Os insetos adultos e larvas, em média 30 por fase, foram acondicionados em placas de Petri, forradas com papel toalha. Uma solução de cada produto, considerando o insumo e dosagem, foi pulverizada no interior das placas, 60 minutos após a inserção dos insetos.

### Resultados

Os resultados obtidos para o grau de letalidade, em relação ao substrato e dosagem utilizada, média (GL) e corrigido pelo efeito do tratamento controle

(GL<sup>1</sup>), para todos os substratos testados, são apresentados na Tabela 2. A maioria dos artigos descritos na literatura considera que valores de GL acima de 50% são satisfatórios para a utilização como bioinseticida para o controle do cascudinho.

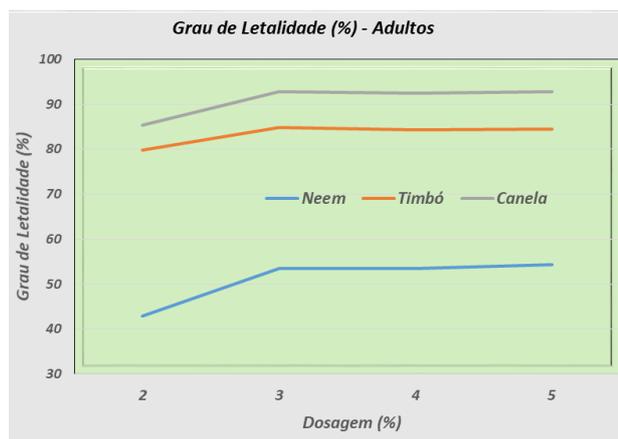
Os resultados médios obtidos para o GL para os insetos adultos (A) e larvas (L), independentemente da dosagem utilizada em relação aos substratos Canela Líquida (A – 90,86% e L – 90,08%), Timbó (A – 82,14% e L – 83,37%) e Óleo de Neem (A – 51,05% e L – 51,05%), ratificam os resultados obtidos no pré-teste, indicando que estes extratos apresentam grande potencial inseticida para o controle do cascudinho em todas as fases.

Os resultados obtidos para o GL dos insetos adultos e larvas, em função da dosagem, são apresentados, respectivamente, nas Figuras 4 e 5. Conforme pode ser observado, a dosagem de 3%, para ambos os estágios avaliados em relação ao GL, foi superior à dosagem de 2% e similar às dosagens de 4 e 5%. Portanto, considerando a relação custo x benefício, a dosagem de 3% é a indicada para todos os substratos avaliados. Esta dosagem será o ponto de partida para a avaliação dos compostos associados, em função de efeitos aditivos e/ou sinergismo. Estes valores serão revistos quando da realização dos bioensaios.

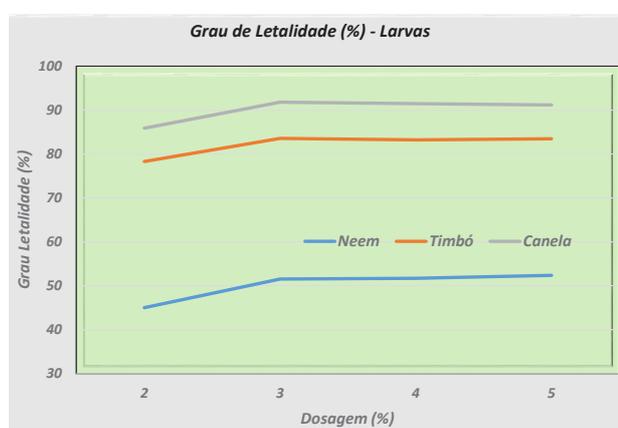
**Tabela 2.** Valores médios do grau de letalidade (GL) com os seus respectivos desvios padrão (DP) e, os corrigidos para o efeito do tratamento controle negativo (GL<sup>1</sup>), do grau de letalidade, em função do substrato e dosagem.

Composto	GL (%)			GL <sup>1</sup> (%)		
	Larva	Adulto	Média	Larva	Adulto	Média
Neem (5%)	52,35+3,90 <sup>E</sup>	54,34+3,75 <sup>e</sup>	53,35	50,70	53,03	51,87
Neem (4%)	51,72+3,78 <sup>E</sup>	53,46+2,40 <sup>e</sup>	52,59	50,06	52,15	51,11
Neem (3%)	51,52+4,13 <sup>E</sup>	53,43+3,42 <sup>e</sup>	52,47	49,86	52,12	50,99
Neem (2%)	45,00+4,58 <sup>F</sup>	42,95+3,00 <sup>f</sup>	43,97	43,34	41,63	42,49
Timbó (5%)	83,48+5,32 <sup>C</sup>	84,48+3,90 <sup>c</sup>	83,98	81,82	83,17	82,49
Timbó (4%)	83,23+2,82 <sup>C</sup>	84,26+3,74 <sup>c</sup>	83,75	81,58	82,95	82,26
Timbó (3%)	83,54+6,27 <sup>C</sup>	84,90+8,26 <sup>c</sup>	84,22	81,89	83,59	82,74
Timbó (2%)	78,31+5,34 <sup>D</sup>	79,84+5,43 <sup>d</sup>	79,07	76,65	78,53	77,59
Canela Líquida (5%)	91,16+4,12 <sup>B</sup>	92,84+6,00 <sup>b</sup>	92,00	89,50	91,52	90,51
Canela Líquida (4%)	91,48+4,63 <sup>B</sup>	92,49+4,65 <sup>b</sup>	91,99	89,83	91,18	90,50
Canela Líquida (3%)	91,81+4,10 <sup>B</sup>	92,83+3,68 <sup>b</sup>	92,32	90,16	91,52	90,84
Canela Líquida (2%)	85,88+5,06 <sup>C</sup>	85,27+4,36 <sup>c</sup>	85,57	84,22	83,95	84,09
Controle Positivo	98,06+2,23 <sup>A</sup>	97,85+3,89 <sup>a</sup>	97,96	96,41	96,54	96,47
Controle Negativo	1,66+1,25 <sup>G</sup>	1,31+1,46 <sup>g</sup>	1,48			

<sup>1</sup>Taxa de letalidade corrigida em relação ao controle negativo



**Figura 4.** Grau de letalidade para insetos adultos, em função da dosagem.



**Figura 5.** Grau de letalidade para larvas, em função da dosagem.

## Avaliação dos compostos biológicos

### Protocolo de execução

Os microrganismos *Bacillus thuringiensis* (Bt), *Beauveria bassiana* (Bb) e *Metarhizium anisopliae* (Ma) e os compostos (Bt/Bb, Bt/Ma, Bb/Ma e Bt/Bb/Ma), formulados em igual proporção, foram avaliados isoladamente e associados em relação ao grau de letalidade no controle de insetos adultos e larvas. Os insetos adultos e larvas, em média 30 por fase, foram acondicionados em placas de Petri, forradas com papel toalha. Uma solução de cada composto foi pulverizada no interior das placas, 60 minutos após a inclusão dos insetos.

Foi utilizado um delineamento fatorial, inteiramente casualizado, constituído de três compostos isolados e quatro compostos associados, diluídos em água a 3%. Além dos tratamentos, foram utilizados os controles negativo (água) e positivo (Pankada) diluído a 0,3%, conforme indicação do fabricante. Desta forma, o experimento foi constituído de nove tratamentos, com 10 repetições cada, totalizando 90 unidades experimentais.

### Resultados

Os resultados médios obtidos para o grau de letalidade em relação ao composto, isolado e associado (GL), e corrigidos pelo efeito do tratamento controle (GL<sup>1</sup>) para todos os compostos testados são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Efeito do tratamento, compostos isolados e associados em relação ao grau de letalidade média (GL) e corrigido em relação ao tratamento controle (GL<sup>1</sup>).

Composto	GL (%)		GL <sup>1</sup> (%)		LD (%)
	Larva	Adulto	Média	Larva	Média
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	71,67+4,23 <sup>B</sup>	54,42+3,56 <sup>d</sup>	70,00	52,79	63,04
<i>Beauveria bassiana</i> (Bb)	39,67+6,37 <sup>F</sup>	75,34+8,08 <sup>b</sup>	38,00	73,70	57,50
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Ma)	46,67+8,89 <sup>E</sup>	49,72+4,59 <sup>e</sup>	45,00	48,08	48,19
Bt/Bb	73,00+5,32 <sup>B</sup>	77,61+5,41 <sup>b</sup>	71,33	75,98	75,31
Bt/Ma	62,67+6,44 <sup>C</sup>	50,24+8,40 <sup>e</sup>	61,00	48,61	56,46
Bb/Ma	44,67+6,13 <sup>E</sup>	62,31+7,52 <sup>c</sup>	43,00	60,68	53,49
Bt/Bb/Ma	50,67+5,62 <sup>D</sup>	52,38+4,83 <sup>de</sup>	49,00	50,75	51,52
Controle positivo (Pankada)	98,09+3,03 <sup>A</sup>	98,47+4,10 <sup>a</sup>	96,43	96,84	98,28
Controle negativo (Água)	1,67+2,36 <sup>G</sup>	1,63+2,30 <sup>f</sup>			

<sup>1</sup>Valores corrigidos em função do tratamento controle negativo.

A bactéria *Bt* e *Bb* e o fungo *Ma* são considerados inimigos naturais de diversas pragas relacionadas à produção agropecuária e têm demonstrado potencial para o controle do cascudinho (Bravo *et al.*, 2011). A Tabela 4 apresenta os resultados médios da eficiência de letalidade compilados da literatura destes microrganismos em relação ao controle, para insetos adultos e larvas (Schmidt; Abreu, 2023).

**Tabela 4.** Eficiência da letalidade de *Bt*, *Bb* e *Ma* em larvas e adultos de cascudinho.

Composto	Eficiência (%)		
	Adulto	Larvas	Média
<i>Bacillus thuringiensis</i>	60,00	80,00	70,00
<i>Beauveria bassiana</i>	74,40	40,70	57,55
<i>Metarhizium anisopliae</i>	51,20	49,70	50,45

<sup>1</sup>Dados compilados da literatura (Schmidt; Abreu, 2023)

Considerando o efeito do composto em relação à fase de desenvolvimento do inseto, verifica-se que o *Bt* (71,67%) e a *Bb* (75,34%) são as mais eficazes para o controle, respectivamente, de adultos e larvas, quando comparados com o controle negativo (1,65%). Em relação ao produto comercial, os resultados do GL de 98,47% (Adulto) e 98,09% (Larva) demonstraram alta eficiência e, provavelmente, baixa resistência, indicando que este poderá ser utilizado como insumo na formulação de compostos associados para aplicação em situações onde as aves não entrem em contato com o produto, para evitar efeitos negativos, tanto na segurança do trabalhador como na segurança dos alimentos.

O teste de avaliação dos compostos associados teve como objetivo determinar possíveis efeitos aditivos e/ou de sinergismo. Na avaliação dos resultados, é necessário considerar que a composição dos compostos associados foi feita utilizando uma relação de 1:1. Portanto, espera-se uma redução do GL, quando comparado com a ação dos compostos isolados.

Os resultados obtidos nos compostos associados com a utilização de *Ma*, tanto para insetos adultos como larvas, respectivamente, estão dentro do estabelecido como potencial inseticida na literatura (Guarniere; Badia, 2021). Porém, não foi verificado um efeito aditivo nas combinações *Bt/Ma* (62,67% e 50,24%), *Bb/Ma* (44,67% e 62,31%) e *Bb/Ma/Bt*

(50,67% e 52,32%) que justificasse a inclusão do *Ma* na formulação de compostos associados.

O composto com maior potencial inseticida, em relação aos insetos adultos e larvas, respectivamente, foi a associação de *Bb* e *Bt* (73,00% e 77,61%), cuja média, considerando insetos adultos e larvas (60,27%), foi 24,94% superior ao resultado médio verificado para os insumos isolados (*Bb* – 57,50% e *Bt* – 63,04%). Esta superioridade, provavelmente, deve ser atribuída ao efeito aditivo decorrente do alto GL do *Bb* (75,34%) em relação às larvas e de *Bt* (71,67%) em relação aos insetos adultos. O GL obtido para *Bt/Bb* de 73,00% para larvas e 77,61% para insetos adultos foi superior em 31,14% (larvas) e 19,63% (adultos) quando comparado aos GLs médios verificados na avaliação dos compostos isolados.

## Avaliação dos compostos isolados e associados

### Protocolo de execução

Os extratos vegetais Óleo de Neem (*Azadirachta indica*), Timbó (*Derris urucu*) e Canela Líquida (*Cinnamomum verum*) foram incluídos nesta fase de avaliação em função dos resultados promissores destes no controle do cascudinho. A rotenona (Timbó) e a Andiroba (*Carapa guianensis*) foram incluídas em função do potencial no controle de diversos insetos.

O bioensaio foi realizado com o objetivo de avaliar o potencial inseticida somente em relação aos insetos adultos, utilizando-se dois protocolos diferentes, sendo o primeiro em placas de Petri e o segundo em potes de PVC de 500 g. Em ambos os experimentos utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado constituído de 20 tratamentos, distribuídos em compostos isolados (5), compostos associados (12), controle positivo (Nokaute e Pankada) e negativo (água destilada), com 10 repetições/tratamento, totalizando 200 unidades experimentais.

- **Protocolo 1:** 10 insetos adultos foram acondicionados em placas de Petri forradas com papel toalha. Uma solução de cada composto, diluída a 3% em água destilada, foi pulverizada sob o papel toalha 60 minutos após a inserção dos insetos.
- **Protocolo 2:** em média, 25 cascudinhos foram colocados em potes de PVC de 500g e, em seguida, pulverizados com solução de

3% dos compostos avaliados, incluindo os controles diluídos a 0,3%, conforme indicação do fornecedor. Após 15 minutos, foram adicionadas cama reutilizada e ração, com o objetivo de tornar as condições ambientais mais próximas das observadas a campo (Figura 6).

## Resultados

A descrição dos tratamentos e os respectivos resultados, médios (GL) e corrigidos em relação ao controle negativo (GL<sup>1</sup>), para ambos os protocolos são apresentados na Tabela 5.

Os resultados relatados na literatura, em relação à efetividade no controle do cascudinho, para os diversos extratos vegetais têm apresentado divergências, como no caso da *Azadiractina indica*,



Foto: Gilberto Silber Schmidt

**Figura 6.** Montagem experimental com os potes de PVC e cama.

**Tabela 5.** Resultados referentes ao grau de letalidade dos compostos; isolados e associados, médios (GL) e corrigidos em relação ao controle negativo (GL<sup>1</sup>), seguidos dos respectivos desvios padrões (DP).

Composto	Protocolo 1		Protocolo 2		Média
	GL (DP)	GL <sup>1</sup>	GL (DP)	GL <sup>1</sup>	
Neem (NE)	83,84+5,17 <sup>d</sup>	82,84	25,71+5,87 <sup>D</sup>	25,31	54,78
Timbó (TB)	47,00+3,59 <sup>g</sup>	46,00	3,67+3,65 <sup>H</sup>	3,27	25,34
Canela Líquida (CA)	37,62+5,97 <sup>h</sup>	36,62	3,97+3,71 <sup>H</sup>	3,57	20,80
Andiroba (AD)	32,80+8,68 <sup>i</sup>	31,80	10,80+7,08 <sup>F</sup>	10,40	21,80
Rotenona (RO)	96,00+5,16 <sup>a</sup>	95,00	40,98+10,12 <sup>B</sup>	40,58	68,49
NE/TB	78,00+4,86 <sup>e</sup>	77,00	11,20+8,60 <sup>F</sup>	10,80	44,60
NE/CA	96,00+8,43 <sup>a</sup>	95,00	20,82+5,38 <sup>D</sup>	20,42	58,41
NE/AD	45,00+3,06 <sup>g</sup>	44,00	10,08+9,49 <sup>F</sup>	9,68	27,54
TB/CA	30,00+3,55	29,00	4,40+3,95 <sup>H</sup>	4,00	17,20
TB/AD	96,00+5,16 <sup>a</sup>	95,00	36,84+9,29 <sup>C</sup>	36,44	66,42
NE/TB/CA	94,00+8,43 <sup>bc</sup>	93,00	37,60+12,18 <sup>C</sup>	37,20	65,80
NE/TB/AD	93,00+8,23 <sup>c</sup>	92,00	39,92+10,98 <sup>C</sup>	39,52	66,46
NE/CA/AD	96,00+5,16 <sup>a</sup>	95,00	39,84+8,79 <sup>C</sup>	39,44	67,92
NE/CA/AD/TB	95,00+8,50 <sup>ac</sup>	94,00	43,37+6,84 <sup>B</sup>	42,97	69,19
RO/NE	38,00+6,87 <sup>h</sup>	37,00	6,50+6,02 <sup>G</sup>	6,10	22,25
RO/CA	62,00+7,00 <sup>f</sup>	61,00	19,28+9,55 <sup>E</sup>	18,88	40,64
RO/AD	20,00+10,54	19,00	6,02+10,70 <sup>G</sup>	5,62	13,01
Controle Negativo	1,00+1,16 <sup>j</sup>	0,00	0,40+1,26 <sup>I</sup>	0,00	0,70
Controle Positivo (Nokaut)	98,00+4,22 <sup>a</sup>	97,00	99,60+1,26 <sup>A</sup>	99,20	98,80
Controle Positivo (Pankada)	99,00+3,16 <sup>a</sup>	98,00	100,00+0,00 <sup>A</sup>	99,60	99,50

<sup>1</sup>Valores corrigidos em função do tratamento controle negativo.

cujos valores variam de 26,5 a 100% (Marcomini *et al.*, 2009). Estes resultados conflitantes, provavelmente, são decorrentes da metodologia de extração, que afeta a composição e a atividade dos componentes secundários, além da inclusão na formulação de alguns produtos disponíveis no mercado de ingredientes inertes, que reduzem ou inibem a ação dos compostos ativos.

Outro fator que afeta os resultados, em nível de laboratório, é o método de avaliação, que tem sido um dos principais responsáveis pela ineficiência dos compostos que apresentam resultados satisfatórios nos bioensaios quando da validação a campo, onde as condições ambientais são plenamente satisfatórias para a proliferação e desenvolvimento do cascudinho. A média geral obtida no teste realizado envolvendo duas diferentes metodologias do efeito dos tratamentos no grau de letalidade, isto é, placa de Petri (66,91%) e cama (28,05%), corroboram com os resultados descritos na literatura. Provavelmente, este fato está ligado ao mecanismo de ação da maioria dos extratos de planta, que agem por contato, que é dificultado quando a aplicação do tratamento é realizada utilizando-se cama, o que não ocorre quando o teste é realizado em placas de Petri.

Os resultados do grau de letalidade (Tabela 5), considerando os efeitos isolados, demonstraram que tanto no teste de placas como no teste de cama, respectivamente, corrigidos para o efeito do tratamento controle negativo (1,00% e 0,40%), o Óleo de Neem (82,84% e 25,31%) e a Rotenona (95,00% e 40,58%) apresentaram maiores graus de letalidade para os insetos adultos. Os demais extratos, em média, considerando ambas as metodologias para o Timbó (25,34%), Andiroba (21,80%) e a Canela (20,80%), apresentaram baixos graus de letalidade.

Em relação aos compostos duplos, o grau de letalidade média para ambos os métodos, as combinações Timbó/Andiroba (66,42%), Neem/Canela (58,41%) e Neem/Timbó (44,60%) e Rotenona/Canela (40,64%), apresentaram os melhores resultados. Considerando que a metodologia que utiliza cama e ração como substrato apresenta maior similaridade em relação às condições de campo, a letalidade destes compostos foram, respectivamente, 36,84; 20,82; 11,20 e 19,28%, todas muito baixas em relação ao valor de 50%, considerado ideal como indicativo de potencial inseticida para o controle do cascudinho.

Os compostos envolvendo três ou quatro substratos, em média, apresentaram potencial inseticida superior a 50%. Portanto, deverão ser o caminho para a elaboração de um composto associado a ser

utilizado em um programa integrado de controle do cascudinho. Em relação aos testes realizados na cama envolvendo três ou quatro substratos, o melhor resultado foi obtido pelo composto envolvendo os quatro substratos testados, 43,37% (Tabela 5).

## Avaliação do composto BIOEMB-C

Com base nos resultados da avaliação do potencial inseticida dos compostos biológicos, orgânicos e associados, foi formulado um bioinseticida contendo os extratos vegetais Neem, Andiroba e Rotenona e os microrganismos *Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, denominado de BIOEMB-C, que foi avaliado por meio de bioensaio laboratorial para posterior validação à campo, na segunda etapa do projeto.

## Protocolo de execução

O composto BIOEMB-C, formulado com os insumos Óleo de Neem, Andiroba, Rotenona (Timbó), *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) e *Beauveria bassiana* (*Bb*), foi avaliado para determinar o GL para as fases adulta e larva do cascudinho. Considerando que alguns insumos minerais apresentam potencial inseticida e que numa segunda etapa poderiam ser inseridos na fórmula do ativo tecnológico em desenvolvimento, foram incluídos, no teste de avaliação, Gesso (GE), Terra Diatomácea (TD), Silicato de Magnésio (SM), Basalto (BS) e Bentonita (*Bt*), na forma isolada e nas combinações GE/TD, GE/SM, TD/SM e GE/TD/MS, em partes iguais. Como controle negativo foi utilizada água destilada e, como controle positivo, o composto em desenvolvimento pela Embrapa (BIOEMB-C) e o inseticida químico comercial Pankada.

O delineamento utilizado (Figura 7) foi inteiramente casualizado, constituído de 12 tratamentos, sendo cinco compostos minerais isolados, quatro compostos associados, controle positivo (água destilada) e dois controles positivos BIOEMB-C e Pankada, com cinco repetições/tratamento, totalizando 60 unidades experimentais. Os insetos adultos e as larvas, em média de 10 de cada estágio, foram acondicionados em placas de Petri forradas com papel filtro contendo 1 g do composto mineral. Para o controle positivo, o papel filtro foi pulverizado com uma solução diluída em água destilada (0,3%).

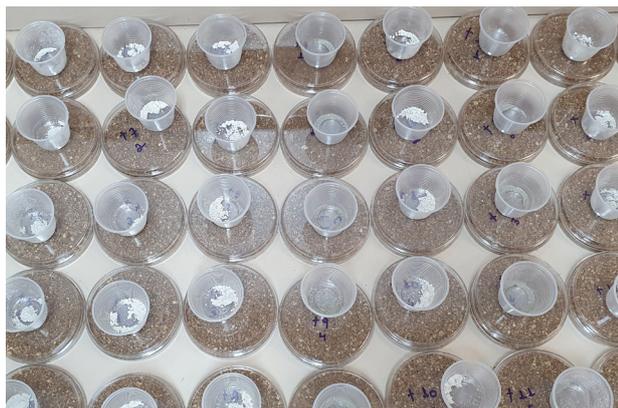


Foto: Gilberto Silber Schmidt

**Figura 7.** Montagem experimental para avaliação dos compostos.

## Resultados

O grau de letalidade médio (GL) e corrigido em relação ao controle negativo (GL<sup>1</sup>), obtidos para os compostos isolados e associados, são apresentados na Tabela 6. Os resultados de GL, obtidos para insetos adultos (100,00%) e larvas (100,00%), em teste de placa, demonstraram que o composto em desenvolvimento na Embrapa (BIOMB-C) apresentou alto potencial inseticida, porém serão necessários antes do teste de validação para avaliar o GL utilizando situações mais próximas às observadas em nível de campo.

Em relação aos compostos isolados, para adultos e larvas, respectivamente, o Silicato de Magnésio (22,00% e 92,00%) e a Terra Diatomácea (25,00% e 50,00) foram os minerais com maior potencial inseticida contra o cascudinho. Vale ressaltar que ambos minerais têm maior ação larvicida, portanto poderão ser incluídos em compostos associados envolvendo insumos orgânicos e biológicos. Os compostos minerais GE, BS e Bt apresentaram baixos índices de letalidade, tanto para larvas (0,00; 12,00 e 24,00%) como para insetos adultos (4,00; 10,00 e 10,00%). Desta forma, estes minerais não apresentam potencial para a inclusão em compostos associados.

Em relação aos composto associados, verificou-se que a inclusão de GE, tanto nos compostos duplos como triplo, reduziu o potencial inseticida, principalmente em relação às larvas. Assim, considerando apenas a eficiência, o GE não apresenta potencial direto no controle do cascudinho. Alguns efeitos colaterais positivos do GE, como melhoria na qualidade da cama, que reduz a capacidade de proliferação e desenvolvimento do cascudinho, pode qualificar seu uso em programas integrados de controle, porém sem sua inclusão nos compostos associados.

Considerando os resultados dos compostos isolados e associados, verificou-se um efeito aditivo na combinação TD/SM em relação às larvas (100,00%), que ficou acima da média desses insumos isolados

**Tabela 6.** Grau de letalidade médio (LD) e corrigida (LD<sup>1</sup>), em relação ao tratamento controle, dos compostos isolados e associados.

Tratamento	GL (%)		GL <sup>1</sup> (%)	
	Larva	Adulto	Média	Larva
Gesso	0,00+0,00 <sup>G</sup>	4,00+0,85 <sup>E</sup>	-2,00	0,00
TD	50,00+1,25 <sup>C</sup>	25,00+2,83 <sup>F</sup>	48,00	-4,00
SM	92,00+3,52 <sup>A</sup>	22,00+2,65 <sup>B</sup>	90,00	18,00
BS	12,00+3,25 <sup>F</sup>	10,00+2,89 <sup>C</sup>	10,00	6,00
BT	24,00+4,56 <sup>E</sup>	10,00+2,96 <sup>C</sup>	22,00	6,00
GE/TD	42,00+3,56 <sup>D</sup>	6,00+2,63 <sup>DE</sup>	40,00	2,00
GE/SM	42,00+4,20 <sup>D</sup>	6,00+2,48 <sup>D</sup>	40,00	2,00
TD/SM	100,00+0,00 <sup>A</sup>	8,00+2,35 <sup>CD</sup>	98,00	4,00
GE/TD/MS	60,00+4,12 <sup>B</sup>	4,00+1,82 <sup>E</sup>	58,00	0,00
Pankada	100,00+0,00 <sup>A</sup>	100,00+0,00 <sup>A</sup>	98,00	96,00
BIOEMB-C	100,00+0,00 <sup>A</sup>	100,00+0,00 <sup>A</sup>	98,00	96,00
Controle Negativo	2,0+1,010 <sup>G</sup>	4,00 <sup>E</sup>	0,00	0,00

<sup>1</sup>Valores corrigidos em função do tratamento controle negativo.

(71,00%). A redução do potencial inseticida no composto triplo (60,00%) foi decorrente da inclusão de GE no composto, que continha partes iguais de todos os insumos.

Com base nos resultados, o Silicato de Magnésio e a Terra Diatomácea apresentaram potencial para a inclusão na formulação do BIOEMB-C, principalmente pelo efeito deletério observado em relação às larvas. Neste sentido, a etapa seguinte deste projeto, que incluirá o desenvolvimento de protocolos de controle integrado de pragas na avicultura, deverá incluir um bioensaio para avaliar a potencialização do ativo tecnológico desenvolvido no projeto (BIOEMB-C), com a inclusão destes insumos com potencial larvicida.

## Avaliação do grau de toxidez

### Metodologia

As células da linhagem celular DF-11 foram cultivadas por 4-6 passagens. O tratamento começou 24 horas após a última passagem, as células foram cultivadas em meio Eagle modificado por Dulbecco suplementado com 4,5 mM de glicose, 10% (v/v) de soro fetal bovino e 2 mM de glutamina, a 37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, pH 7,4.

A solução de MTT (5 mg/mL) foi preparada em PBS e armazenada a -20 °C e protegida da luz. O meio de cultura foi substituído por meio fresco (90 µL), então 10 µL da solução de MTT, 5 mg/mL, serão adicionados a cada um dos poços, para atingir uma concentração final de 0,5 mg/mL, para um volume final de 100 µL. As células foram incubadas com MTT por 3 horas a 37 °C, sob proteção da luz. O meio foi então aspirado, e os cristais de formazan formados foram solubilizados pela adição de DMSO. Em seguida, 200 µL de DMSO foram adicionados. A placa foi agitada por 5 min, 200 RPM e então incubada por 30 minutos a 37 °C em uma incubadora de CO<sub>2</sub>. As densidades ópticas (DO) foram medidas em um fotômetro de microplaca MultiskanTM FC a 540 nm, com um fundo de 630 nm.

As leituras de DO para os brancos de controle positivo não foram maiores que 1,25, caso contrário, o experimento seria descartado. A distribuição dos grupos nos poços de cada placa será alternada sistematicamente entre os experimentos. A leitura média dos brancos de controle e tratamento foi subtraída dos grupos de controle e tratados, respectivamente. Para calcular o resultado, os dados são

expressos em porcentagem em relação ao grupo de controle negativo, como segue:

$$\% \text{Viabilidade celular} = \frac{(\text{OD do Grupo tratado} - \text{OD do tratamento em branco})}{(\text{Branco})} \quad (2)$$

## Resultado

Os resultados de viabilidade celular mostraram que as formulações BIOEMB-A1 (Rotenona/Neem/Andiroba), BIOEMB-A2 (Neem/Rotenona) e BIOEMB-A3 (Neem/Rotenona/Terra Diatomácea) em todas as concentrações (pura, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 e 1:256) não apresentaram citotoxicidade em cultura de fibroblastos *Gallus gallus*, sendo essas semelhantes estatisticamente ao controle ( $p > 0,05$ ), nos períodos de 24 e 48 horas. Entretanto, a formulação QUIEMB-C (0,3% - Neem/rotenona/Fipronil) em todas as concentrações utilizadas apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação controle, reduzindo a viabilidade celular, em torno de 35% no período de 24 horas ( $p < 0,05$ ). Os resultados obtidos demonstraram que a formulação Q nas concentrações 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 e 1:256 não apresentaram citotoxicidade, sendo semelhantes estatisticamente ao controle ( $p > 0,05$ ), nos períodos de 24 e 48 horas.

## Conclusões

O composto BIOEMB-C, desenvolvido pela Embrapa Suínos e Aves, demonstrou potencial bioinseticida para o controle de insetos adultos e larvas de cascudinho, a nível laboratorial, porém, se torna necessário o teste de validação a campo, que fará parte da segunda etapa do projeto. Considerando os resultados da avaliação dos insumos minerais, a Terra Diatomácea e o Silicato de Magnésio, demonstraram grande potencial larvicida e, portanto, poderão, na segunda fase do projeto, serem incluídos na formulação do BIOEMB-C, ampliando o potencialidade do produto à campo. Os testes de toxidez demonstraram que todos os compostos em desenvolvimento na Embrapa não apresentam citotoxicidade.

## Agradecimentos

Agradecemos a todos os colaboradores Valdir Silveira de Ávila, Geordano Dalmedico, Eduardo Marchesini Deiss e Newton Sakiara Miyasaka, pelo

empenho e dedicação, que foram fundamentais para o sucesso deste projeto.

## Referências

- ABPA. **Anuário técnico da Associação Brasileira de Proteína Animal**. São Paulo, 2023. 54 p.
- ALVES, L. F. A.; GASSEN, M. H.; PINTO, F. G. S.; NEVES, P. M. O. J.; ALVES, S. B. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) sobre o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em aviário comercial de Cascavel, PR. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 507-510, 2005.
- AXTELL, R. C.; ARENDS, J. J. Ecology and management of arthropod pests of poultry. **Entomology**, n. 35, p. 101-126, 1990.
- BACK, A. **Manual de doenças das aves**. Cascavel: Coluna do Saber, 2004. 199 p.
- BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S.S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.
- CAVALCANTE, G. M.; CARRANO, A. F.; VASCONCELOS, M. S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 41, n. 1, p. 9-14, 2006.
- CHERNAKI-LEFFER, A. M.; BIESDORF, S. M.; ALMEIDA, L. M.; LEFFER, E. V. B.; VIGNE, F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Poultry Science Journal**, v. 4, n. 3, 2002.
- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.
- DESPINS, J. L.; AXTELL, R. C. Feeding behavior and growth of broiler chicks feed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Poultry Science**, v. 74, n. 2, p. 331-336, 1995.
- FOGAÇA, I.; FERREIRA, E.; SATURNINO, K. C.; SANTOS, T. R.; CAVALI, J.; PORTO, M. O. Álcool para controle de cascudinho em cama de frangos de corte. **Archives de Zootecnia**, v. 6, n. 256, p. 509-514, 2017.
- FRANCISCOA, O.; PRADO, P. Characterization of the larval stages of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) using head capsule width. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 61, n. 1, 2001.
- GUARNIERE, P. C.; BADIA, V. Moduladores biológicos para inibição competitiva de patógenos no ambiente de criação. **O Presente Rural**, 2021.
- GUY, W. Utilizing *Metarhizium anisopliae* for the development of effective and safe control strategies of the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* in poultry houses. Israel: University of Haifa, 2016. 13 p.
- JAPP, A. K.; BICHO, C. L.; DA SILVA, A. V. F. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**, v. 7, n. 40, 2010.
- KEHLER, L. Darkling beetles. **Canadian Poultry**, 2020.
- KIM, S.; PARK, H.; PARK, I. Effect of temperature on the development of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Korean Society of Sericultural Science**, v. 35, n. 2, p. 106-110, 2017.
- MARCOMINI, A. M.; ALVES, L. F. A.; BONINI, A. K.; MERTZ, N. R.; SANTOS, J. C. Atividade inseticida de extratos vegetais e do óleo de Neem sobre adultos de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera, Tenebrionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 409-416, 2009.
- MARQUES, C. R. G. **Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) por óleo de Neem e citronela**. 2010. 44 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.
- MARQUES, C. R. G.; MIKAMI, A. Y.; PISSINATI, A.; PIVA, L. B.; SANTOS, J. A. P.; VENTURA, A. Y. Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) por óleo de Neem e Citronela. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 2565-2574, 2013.
- MATIAS, R. S. Controle de *Alphitobius diaperinus* em piso e cama de aviários. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 1, p. 205-207, 1992.
- MELHORES práticas na granja: o controle dos cascudinhos. **O Presente Rural**, 15 out. 2020.
- MENDES, L. R.; POVALUK, M. Ciclo e controle do *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera, Tenebrionidae) no município de Quitandinha, PR. **Saúde Meio Ambiente**, v. 6, n. 1, p. 107-122, 2017.
- PAIVA, D. P. Controle de moscas e cascudinho: desafios na produção Agrícola. In: SIMPÓSIO SOBRE RESÍDUOS DA PRODUÇÃO AVÍCOLA, 1., 2000, Concórdia, SC. **Anais...** Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2000. 74 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos, 66). p. 21-26.

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

SAS INSTITUTE INC. **System for Microsoft Windows**, Release 9.4, Cary, NC, USA (CD-ROM). 2012.

SCHMIDT, G. S.; ABREU, P. G. Manejo integrado para o controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) na produção de frangos de corte. **Avicultura Industrial**, n. 5, 2023.

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

