

Toxicidade de óleos essenciais para *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Toxicity of essential oils for *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

RESUMO

Katiane Pompermayer
katianepompermayer@alunos.utfpr.edu.br

Dejane Santos Alves
dejanealves@utfpr.edu.br

Murilo Silva de Oliveira
murilo_tinelli@hotmail.com

Beatriz de Oliveira dos Santos Gomes
beatriz_oliveira9421@gmail.com

Isabela Caroline Luft
isabela.luft@outlook.com

Andressa Soares Scolari
andressa-scolari@outlook.com

Jociani Ascari
jascari@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil

Denilson Ferreira de Oliveira
denilson@ufpa.br
Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil

Os avanços tecnológicos elevaram o patamar do Brasil no *ranking* da produção e exportação de frango. Contudo, essa alta demanda associada as dificuldades no manejo, tornou propícia a proliferação de pragas da avicultura. Nesse contexto, *Alphitobius diaperinus* é considerada a principal praga da avicultura de corte. O método comumente utilizado para o controle desse inseto é a aplicação de inseticidas químicos sintéticos, que se utilizados indiscriminadamente acarretam na seleção de insetos resistente. Assim, esse trabalho objetivou avaliar a toxicidade do óleo essencial proveniente das cascas do caule de *Duguetia lanceolata* para *A. diaperinus*, em ensaio de ingestão. A concentração letal mediana (CL50), ou seja, concentração necessária para causar mortalidade em 50% da população foi de 38,36 µg/mg de dieta. As larvas alimentadas com a dieta contendo o óleo essencial de *D. lanceolata* foram submetidas a análise ultraestrutural em microscópio eletrônico de varredura, sendo possível constatar alterações morfológicas que impediram que os insetos realizassem o processo de ecdise. Desse modo, o óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* causa mortalidade e afeta o processo de ecdise de *A. diaperinus*.

PALAVRAS-CHAVE: Inseticidas botânicos. Manejo de pragas. Metabólitos secundários.

ABSTRACT

Technological advances have raised the level of Brazil in the ranking of chicken production and exports. However, this high demand associated with the difficulties in handling, made the proliferation of aviculture pests conducive. In this context, *Alphitobius diaperinus* is considered the main plague of poultry farming. The method commonly used to control this insect is the application of synthetic chemical insecticides, which if used indiscriminately lead to the selection of resistant insects. Thus, this work aimed to evaluate the toxicity of the essential oil from the stem bark of *Duguetia lanceolata* to *A. diaperinus*, in ingestion test. The median lethal concentration (LC₅₀), that is, the concentration necessary to cause mortality in 50% of the population was 38.36 µg/mg of diet. The larvae fed with the diet containing the essential oil of *D. lanceolata* were submitted to ultrastructural analysis in a scanning electron microscope, being possible to verify morphological changes that prevented the insects from carrying out the process of ecdysis. Thus, the essential oil from the bark of the stem of *D. lanceolata* causes mortality and affects the ecdysis process of *A. diaperinus*.

KEYWORDS: Botanical insecticides. Pest management. Secondary metabolites.

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

A avicultura no Brasil desempenha um importante papel na economia do país. O aumento na produção e abate, reflexo dos avanços tecnológicos associados à criação na esfera industrial, levou o Brasil a assumir a segunda posição no *ranking* de maior produtor de frango no ano de 2018, assim passou a liderar a lista dos maiores exportadores do produto no mundo (VOGADO et al., 2016; USDA, 2019; ABPA, 2020).

Contudo, o aumento na demanda por frango de corte, associado as dificuldades de manejo, criaram um cenário propício a proliferação de diversas pragas da avicultura. A principal delas é *Alphitobius diaperinus* Panzer, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido popularmente como cascudinho dos aviários. *A. diaperinus* é um inseto cosmopolita, oriundo do Oeste da África que adaptou-se muito bem a cama dos aviários de corte, onde encontrou condições favoráveis para seu aumento populacional (UEMURA et al., 2008).

O número elevado de indivíduos de *A. diaperinus* tem gerado diversos prejuízos aos avicultores, dentre eles é possível mencionar que o cascudinho atua como reservatório e vetor de diversas bactérias enteropatogênicas, tais como a *Salmonella*, conhecida por causar intoxicação alimentar em humanos (CHERNAKI-LEFFER et al., 2002; LEFFER et al., 2010). Também é observado danos às estruturas dos galpões, perfuração do isolamento térmico dos aviários o que prejudica o controle de temperatura dos mesmos (HICKMANN et al., 2018). Entretanto, seu maior impacto está relacionado a conversão alimentar das aves, que tendem a ingerir o inseto deixando de se alimentar da ração balanceada ofertada, refletindo diretamente no seu ganho de peso (DESPINS; AXTELL, 1995). Ainda é possível mencionar que aves, que ingeriram o cascudinho em sua fase de desenvolvimento, apresentaram lesões no trato digestório, e em casos mais graves essas lesões ocasionaram a morte das aves (JAPP et al., 2010).

O controle do cascudinho é comumente realizado por meio de aplicações de inseticidas químicos sintéticos, porém a utilização dessas substâncias seleciona população de insetos resistentes; além de deixar resíduos de pesticidas na carne, o que é considerado uma barreira para exportação do produto (JAPP et al., 2010; HICKMANN et al., 2018).

Diante disso, fica evidente a necessidade da busca por novas alternativas de controle para *A. diaperinus*, e os óleos essenciais de plantas demonstram-se promissores. Uma vez que inseticidas botânicos podem agregar valor comercial ao produto, já que cada vez mais as pessoas vêm buscando alimentos livres de resíduos químicos. Também há a possibilidade de isolar e identificar esses compostos em laboratório, com vistas a diminuir os custos da produção.

Entre as famílias de plantas com potencial inseticida, destaca-se as anonáceas. Fazem parte dessa família plantas lenhosas, arbustos ou arbustivas que são caracterizadas pela floração solitária ou inflorescência, e pelos frutos de aparência carnosos ou secos (PONTES et al., 2004). Ademais, as anonáceas são reconhecidas pela produção de metabólitos secundários tóxicos para herbívoros e ainda possuem reconhecida importância na farmacologia e medicina natural (SILVA et al., 2015; ALVES et al., 2016).

Para tanto, esse trabalho objetivou avaliar a toxicidade do óleo essencial proveniente das cascas do caule de *Duguetia lanceolata* para *A. diaperinus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Criação de *A. diaperinus*

Os insetos foram alimentados com dieta constituída por gérmen de trigo (76%), ração de frango (17%) e levedo de cerveja (7%) (RICE; LAMBKIN, 2009). Secções de maçã *in natura* foram usados como fonte de água. Para obter insetos de mesma idade, necessários para a realização dos bioensaios, foram colocados aproximadamente 200 insetos adultos, não sexados, em recipientes plásticos (1.000 ml) com a dieta descrita anteriormente por 72 h. Após esse período, os insetos adultos foram retirados, permanecendo nos recipientes apenas os ovos. Assim foram obtidos insetos com uma variação de idade de apenas 72 horas.

Óleos essenciais

A coleta do material botânico proveniente das cascas do caule de *D. lanceolata* foi realizada na Região de Alto Rio Grande, Lavras – Minas Gerais. O material botânico foi submetido à secagem em estufa de ventilação forçada a 40°C, e posteriormente esse material foi moído em moinho tipo Willey, dando origem ao material vegetal seco.

O material botânico seco foi submetido a extração por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR, Câmpus de Santa Helena. O óleo foi separado da água por decantação e os traços de água foram removidos empregando sulfato de sódio anidro.

Determinação da resposta concentração x mortalidade

Diferentes concentrações do óleo essencial de *D. lanceolata* foram solubilizadas em acetona e incorporadas em dieta artificial (1 g), resultando nas concentrações finais de 25, 35, 50, 70, 100 µg/mg de dieta. Após a evaporação do solvente, foram transferidas alíquotas da dieta (20 mg) para tubos do tipo eppendorf, onde foi inoculada uma larva de 10 a 13 dias de vida, selecionada aleatoriamente e mantida individualizada. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 50 repetições para cada tratamento.

O experimento foi aleatorizado, com 50 repetições por tratamento. O controle negativo constituiu de dieta acrescida de acetona. O ensaio foi repetido duas vezes em dias diferentes. Os dados de sobrevivência dos insetos após 72 h da exposição das larvas a dieta contendo o óleo essencial foram empregados para a determinação da resposta concentração x mortalidade. Para isso os dados foram submetidos a análise de logit. As análises foram conduzidas empregando o software R®.

Análise ultraestrutural em microscópio eletrônico de varredura

A análise ultraestrutural, em microscópio eletrônico de varredura (MEV), foi realizada seguindo o protocolo para preparo de amostras biológica (MIO et al., 2006). Assim, após a dieta contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *D. lanceolata* ser oferecida para larvas de *A. diaperinus* por 72 h, as mesmas foram transferidas para fixador Karnosvisk. Em seguida, o fixador foi descartado e adicionado cacodilato de sódio 0,05 M pH 7,2 e deixado por um período de 10 minutos. Após esse processo, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%). Após a desidratação, o material foi submetido a secagem ao ponto crítico em aparelho Critical Point Dryer BAL-TEC/CPD030. As amostras foram submetidas a banho de ouro em aparelho Spuntter Coater BAL-TEC (SCD 050). As imagens foram geradas empregando aparelho EVO 40.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A concentração letal mediana (CL₅₀), ou seja, concentração necessária para causar mortalidade em 50% da população foi de 38,36 ± 1,8113 µg/mg de dieta. Ao passo que a concentração necessária para causar mortalidade em 90% da população (CL₉₀) foi de 98,63 ± 9.2555 (χ²=493,47; df=499) (Tabela 1).

Tabela 1 – Resposta concentração x mortalidade do óleo essencial de *Duguetia lanceolata* para larvas de *Alphitobius diaperinus*.

χ ²	b*	e*	CL ₅₀	CL ₉₀
493,47	-2.326	38,36	38,36 ± 1,8135	98,63 ± 9,2555

*“b” e “e” = coeficientes da equação $f(x)=1/1+\exp(b(\log(x)-\log(e)))$.

Quando submetidos à análise estrutural em microscópio eletrônico de varredura, as larvas de *A. diaperinus* tratadas com óleo essencial de *D. lanceolata* apresentaram alterações morfológicas que impediram o processo de ecdise, sendo constatado que a exúvia ficou aderida ao corpo do inseto (Figura 1).

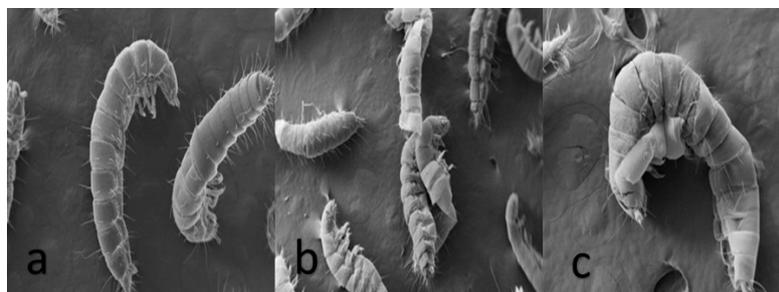


Figura 2 – Larvas de *Alphitobius diaperinus* submetidas à análise em microscópio eletrônico de varredura. (a) larvas alimentadas com dieta contendo o controle acetona. (b) e (c) larvas alimentadas com a dieta contendo o óleo essencial de *Duguetia lanceolata*.

Fonte: Autoria própria (2020).

Esse é o primeiro relato da atividade inseticida do óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* para *A. diaperinus*. No entanto, já havia sido constatado o efeito subletal do extrato etanólico das folhas (ANSANTE et al., 2015) e efeito tóxico das frações solúveis em diclorometano provenientes do extrato metanólico das cascas do caule dessa planta (ALVES et al. 2016; 2020) para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). O extrato etanólico, fração hexânica e óleo essencial das folhas de *D. lanceolata* também apresentaram atividade inseticida para *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) e *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) (RIBEIRO et al., 2016, 2020).

O fato do óleo essencial de *D. lanceolata* ter afetado o processo de ecdise de *A. diaperinus* é de extrema importância, pois indica que esse óleo atue possivelmente como um regulador de crescimento. Os reguladores de crescimento de insetos são conhecidos pela sigla IGR (Insect Growth regulador), eles surgiram nos anos 70 e são conhecidos pela seu modo de ação específico e menor toxicidade para os mamíferos (CHAMBERLAIN, 1975; GRAFT, 1993).

Um bom exemplo de inseticida que atua comprovadamente na inibição do crescimento de insetos é o diflubenzuron (MONTAÑO-REYES et al., 2019). Existem relatos da ação inibidora da ecdise do diflubenzuron para *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (SILVA, 2004; MONTAÑO-REYES et al., 2019), bem como outros insetos aquáticos associados a subfamília Anophelinae (FREITAS et al., 2014) e ainda foi comprovada sua toxicidade contra a mosca do chifre *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) (DA SILVA; MENDES, 2002). Esse inseticida atua na biossíntese de quitina, comprometendo o processo de ecdise que é restrito aos artrópodes, além disso, os estudos sugerem uma rápida degradação no ambiente quando expostos à radiação sol (SILVA, 2004; FREITAS et al., 2014).

Nesse sentido, o estudo conduzido com óleo essencial de *D. lanceolata* apresenta-se muito promissor, uma vez que ele impediu o processo de ecdise das larvas de *A. diaperinus* provocando a morte dos indivíduos. Embora esse seja o primeiro relato de efeito IGR com o óleo essencial de *D. lanceolata*, é importante ressaltar a necessidade dos estudos para identificação dos compostos ativos, bem como sua seguridade para os organismos não-alvo.

CONCLUSÃO

O óleo essencial das cascas do caule de *D. lanceolata* causou mortalidade e afetou o processo de ecdise de *A. diaperinus*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Araucária (FA), Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras e a Pró Reitoria de Relações Empresariais e Comunitárias (PROREC) pela concessão de bolsa no edital 05/2020, Projeto Destaque UTFPR.

REFERÊNCIAS

ABPA. Relatório Anual 2020. Associação Brasileira de Proteína Animal, 2020.

ALVES, D. S.; COSTA, V. A.; MACHADO, A. R. T.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. Stem bark produces phenylpropanoids lethal to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 127, n. July 2019, p. 104965, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104965>

ALVES, D. S.; MACHADO, A. R. T.; CAMPOS, V. A. C.; OLIVEIRA, D. F.; CARVALHO, G. A. Selection of annonaceae species for the control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and metabolic profiling of *Duguetia lanceolata* using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 649–659, 2016.

ANSANTE, T. F.; DO PRADO RIBEIRO, L.; BICALHO, K. U.; et al. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: Screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 969–976, 2015.

CHAMBERLAIN, W. F. Review article! Insect growth regulating agents for control of, v. 12, n. 4, p. 395–400, 1975.

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. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 243–247, 2002.

DA SILVA, J. J.; MENDES, J. Effect of diflubenzuron on immature stages of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 5, p. 679–682, 2002.

DESPINS, J. L.; AXTELL, R. C. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Poultry science*, v. 74, n. 2, p. 331–336, 1995. **Poultry Science Association Inc.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0740331>

FREITAS, A. F.; PEREIRA, F. F.; FORMAGIO, A. S. N.; et al. Effects of Methanolic Extracts of Annona Species on the Development and Reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 5, p. 446–452, 2014.

GRAFT, J. The role insect growth regulators in arthropod control. **Parasitology Today**, v. 9, p. 471–174, 1993.

HICKMANN, F.; DE MORAIS, A. F.; BRONZATTO, E. S.; et al. Susceptibility of the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), from Broiler Farms of Southern Brazil to Insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 2, p. 980–985, 2018.

JAPP, A. K.; BICHO, C. DE L.; SILVA, A. V. F. DA. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1668–1673, 2010. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000700030&lng=en&nrm=iso&tlng=pt

LEFFER, A. M.; KUTTEL, J.; MARTINS, L. M.; et al. Vectorial competence of larvae and adults of *Alphitobius diaperinus* in the transmission of *Salmonella enteritidis* in poultry. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, n. 5, p. 481–487, 2010.

MIO, L. L. M.-D.; NOVAES, Q. S. DE; ALVES, E. Metodologias de preparação de amostras de ferrugem para estudos morfológicos de uredinísporos por meio de microscopia eletrônica de varredura. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 3, p. 267–273, 2006. Grupo Paulista de Fitopatologia. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-54052006000300009&lng=pt&tlng=pt Acesso em: 27/4/2020.

MONTAÑO-REYES, A.; LLANDERAL-CÁZARES, C.; VALDEZ-CARRASCO, J.; MIRANDA-PERKINS, K.; SÁNCHEZ-ARROYO, H. Susceptibility and alterations by diflubenzuron in larvae of *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 102, n. 2, p. 1–12, 2019.

PONTES, A. F.; BARBOSA, M. R. DE V.; MAAS, P. J. M. Flora Paraibana: Annonaceae Juss. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 2, p. 281–293, 2004.

Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062004000200008&lng=pt&tlng=pt

RIBEIRO, L. DO P.; VENDRAMIM, J. D.; GONÇALVES, G. L. P.; et al. Searching for promising sources of grain protectors in extracts from Neotropical Annonaceae. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 15, n. 4, p. 215–232, 2016.

RIBEIRO, L. P.; DOMINGUES, V. C.; GONÇALVES, G. L. P.; et al. Essential oil from *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae): Suppression of spoilers of stored-grain. **Food Bioscience**, v. 36, n. May, p. 100653, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100653>

RICE, S. J.; LAMBKIN, T. A. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Applied Entomology**, v. 133, n. 1, p. 67–72, 2009.

SILVA, L. E.; REIS, R. A.; MOURA, E. A.; AMARAL, W.; SOUSA, P. T. Plantas do Gênero *Xylopia*: Composição Química e Potencial Farmacológico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 814–826, 2015.

SILVA2, F. M. E I. G. DA. Avaliação da atividade inibidora do diflubenzuron na ecdise das larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus , 1762) (Diptera , Culicidae) Evaluation of the inhibiting activity of the diflubenzuron on the ecdysis of. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 2, p. 135–138, 2004.

UEMURA, D. H.; ALVES, L. F. A.; OPAZO, M. A. U.; et al. Distribuição E Dinâmica Populacional Do Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) Em Aviários De Frango De Corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 4, p. 429–435, 2008.

USDA. Livestock and Poultry World Markets and trade. United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service, 2019.

VOGADO, G. M. S.; VOGADO, K. T. S.; FONSECA, W. J. L.; et al. Evolução Da Avicultura Brasileira. **Nucleus Animalium**, v. 8, n. 1, p. 49–58, 2016.