



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



Efeito residual do óleo essencial de *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. (Annonaceae) para *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

RESIDUAL EFFECT OF *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. (Annonaceae) OIL ON *Alphitobius diaperinus* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

Julia Caroline Almeida Lima*, DeJane Santos Alves†,
Katiane Pompermayer‡, Sandra Gebauer§, Daniel Henrique Mendes de Souza¶,
Denilson Ferreira de Oliveira¹

RESUMO

Alphitobius diaperinus, cascudinho-dos-aviários, é um inseto praga que vem causando consideráveis danos à avicultura brasileira. Método comumente usados para controle é através de aplicações de inseticidas sintéticos, porém vem sendo relatada a seleção de populações resistentes a essa técnica de controle. Assim, é necessária a busca por substâncias que tenham potencial para o controle desse inseto. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito residual do óleo essencial (OE) de *Duguetia lanceolata* para *A. diaperinus*, em ensaio de ingestão, conduzido sob condições de laboratório. O OE de *D. lanceolata* foi incorporado à dieta de *A. diaperinus*, nas concentrações de 0; 25; 35; 50; 70 e 100µg do OE/mg de dieta. Passadas 4 semanas do armazenamento, foi constatada taxa de mortalidade de 51% nos insetos alimentados com o OE na concentração de 100µg do OE/mg de dieta. Dessa maneira, os resultados encontrados no presente trabalho demonstram que o OE de *D. lanceolata* apresenta excelente toxicidade para *A. diaperinus*, que é demonstrada pelo efeito residual desse OE.

Palavras-chave: inseticidas botânicos, metabólitos secundários, anonáceas

ABSTRACT

Alphitobius diaperinus, lesser mealworm, is a pest that has been causing considerable damage to Brazilian poultry farming. Commonly used method for control is through applications of synthetic insecticides, but the selection of populations resistant to this control technique is been reported. Thus, it is necessary to search for substances that have the potential to control this insect. Thus, this work aimed to evaluate the residual effect of the essential oil (EO) from *Duguetia lanceolata* for *A. diaperinus*, in an ingestion test, conducted under laboratory conditions. The EO of *D. laonceolata* was incorporated into the diet of *A. diaperinus* at concentrations of 0; 25; 35; 50; 70 and 100µg of EO/mg of diet. After 4 weeks of storage, a mortality rate of 51% was observed in insects fed with EO at a concentration of 100µg of EO/mg of diet. Thus, the results found in the present work demonstrate that the EO from *D. lanceolata* has excellent toxicity for *A. diaperinus*, which is demonstrated by the residual effect of this EO.

Keywords: botanical insecticides, secondary metabolites, annonaceous

* Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; julialima@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; dejanealves@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; katianepompermayer@gmail.com

§ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; sandragebauer@hotmail.com

¶ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Santa Helena, Paraná, Brasil; danielhenriqueutfpr@gmail.com

¹ Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brasil; denilson@ufla.br



1 INTRODUÇÃO

O cascudinho-dos-aviários, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: *Tenebrionidae*) é um inseto praga, que adaptou-se muito bem a cama dos aviários de frangos de corte no Brasil, e vem causando diversos prejuízos à avicultura. Entre os danos provocados, é possível citar que *A. diaperinus* é vetor e reservatório de enteropatógenos incluindo *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Salmonella enterica*, entre outros (DONOSO; PAREDES; RETAMAL, 2020). Contudo, o maior prejuízo causado por esse inseto está relacionado à conversão alimentar dos frangos. Quando *A. diaperinus* é ingerido pelas aves, no lugar da ração balanceada, tem-se a redução na ingestão dos nutrientes necessários, afetando o ganho de peso das aves (DESPINS; AXTEL, 1994, 1995).

Apesar das recomendações de práticas no manejo para aviários, o controle desse inseto é comumente baseado no uso de pesticidas químicos sintéticos (CHERNAKI-LEFFER; ALMEIDA, 2001). No entanto, a aplicação massiva e indiscriminada de inseticidas químicos sintéticos têm favorecido progressivamente a seleção de populações de insetos resistentes (RENAULT; COLINET, 2021; HICKMANN et al., 2018), fazendo-se necessária a busca por novas alternativas de controle.

Diante do exposto, os metabólitos secundários de plantas mostram-se bastante promissores, sendo inúmeros os relatos da atividade tóxica de metabólitos secundários para *A. diaperinus* (SZCZEPANIK et al., 2012; MARQUES et al., 2013; JACOMINI et al., 2016; ARENA et al., 2020).

Entre as famílias botânicas que se destacam por produzir metabólitos secundários tóxicos para insetos destaca-se as anonáceas (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014). Assim, para esse estudo foi selecionada a espécie *Duguetia lanceolata* A. St.- Hil (Annonaceae), popularmente conhecida como pindaiva ou ateira-da-mata, a qual apresentou atividade inseticida para *A. diaperinus*, em ensaios prévios conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa (dados não publicados). Dado o exposto, este trabalho objetivou responder a pergunta: “O óleo essencial (OE) de *D. lanceolata* possui efeito tóxico residual contra *A. diaperinus*?”

2 MÉTODO (OU PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA)

2.1 Criação de *A. diaperinus*

Para a realização da pesquisa, a criação dos insetos é mantida em condições de laboratório no Laboratório de Biologia e Ecologia de Invertebrados (LABIN) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Santa Helena. Os insetos são alimentados com dieta, descrita por Rice; Lambkin (2009), composta por: farelo de trigo (76%), ração para frango de corte (17%) e lêvedo de cerveja (7%). Seções de maçã, in natura, foram ofertadas para os insetos como fonte de água e mantidos em câmara climática na temperatura de 32° C e fotofase de 14 h.

Os ensaios foram conduzidos com larvas de *A. diaperinus*, com idade variando entre 10 a 13 dias. Para a obtenção de indivíduos de mesma idade, os insetos adultos foram alojados em recipientes plásticos de 1.000 mL, juntamente com a dieta, e armazenados por 72 h. Após esse período, os insetos adultos foram retirados do recipiente, mantendo apenas a dieta que continham os ovos resultantes da oviposição de *A. diaperinus*. Desta maneira houve a obtenção de larvas com variação de 72 h de idade, para a realização do experimento.



2.2 Obtenção do óleo essencial (OE) de *D. lanceolata*

As cascas do caule de *D. lanceolata* foram coletadas no município de Lavras, Minas Gerais. O material foi submetido à secagem em estufa de ventilação forçada de ar por 72 h. O material vegetal seco foi triturado em moinho do tipo Willey e submetido a extração do OE em aparelho do tipo Clevenger no Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Santa Helena.

2.3 Efeito residual do OE de *D. lanceolata* em ensaio de ingestão para *A. diaperinus*

O OE de *D. lanceolata* foi previamente solubilizado em acetona e adicionado em dieta (RICE; LAMBKIN (2009), nas concentrações de 25; 35; 50; 70 e 100 µg do OE/mg de dieta. Os tratamentos foram armazenados (sala climatizada temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h) e, em intervalos de 7 dias, foram empregados para a avaliação do efeito residual. Dessa maneira, foi avaliado o efeito dos tratamentos no tempos de 0, 1, 2, 3 e 4 semanas após a incorporação das diferentes concentrações do OE de *D. lanceolata* na dieta.

Para cada ensaio, alíquotas da dieta (20 mg) foram transferidas para tubos do tipo Eppendorf. Como controle negativo empregou-se dieta acrescida de acetona. Larvas de *A. diaperinus* (10-13 dias de idade) foram inoculadas em cada Eppendorf.

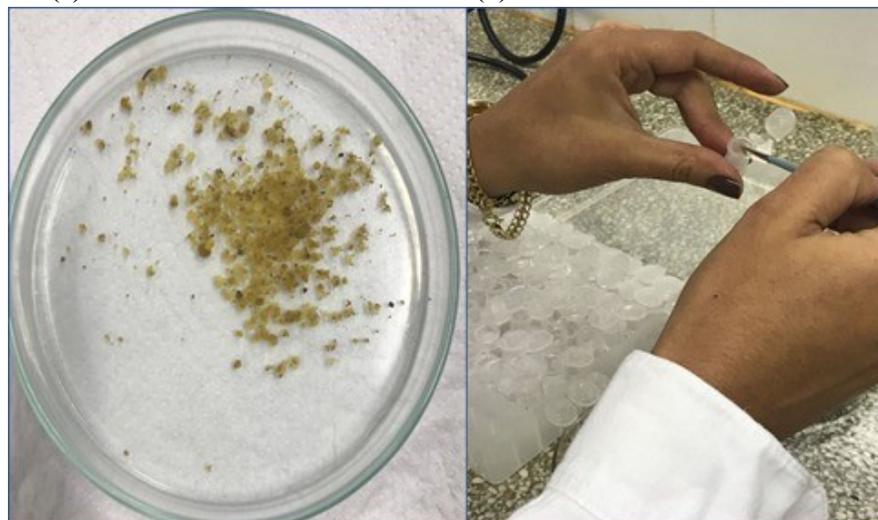
Os dados referentes a sobrevivência dos insetos após 72 h, do oferecimento das dietas tratadas, foi empregado para a determinação da concentração letal para 90% da população (CL_{90}). Foi considerado morto o inseto que não respondeu ao toque de um pincel de cerda finas (tamanho 000). As avaliações foram conduzidas empregando microscópio estereoscópico.

A análise estatística foi feita por meio da função de ligação logit utilizando o pacote DRC no software R (R Development Core Team, 2021) (RITZ et al., 2015). Para o cálculo da CL_{90} foi empregada a Eq (1):

$$f(x)=1/(1+\exp(b*(\log(x)-\log(e))))$$

Onde “b” e “e” = coeficientes da equação

Figura 1 - Experimento de ingestão residual, empregando o óleo essencial de *D. lanceolata*, com larvas de *Alphitobius diaperinus* (a) dieta tratada com óleo essencial e (b) larva sendo individualizada em tubo eppendorf.



Fonte: Autoria própria (2020).

3 RESULTADOS

Foi possível constatar toxicidade do OE de *D. lanceolata* para *A. diaperinus*, mesmo após 4 semanas do armazenamento da dieta contendo os tratamentos. Passadas 4 semanas do armazenamento, a CL_{90} , ou seja, a concentração necessária para causar a mortalidade de 90% dos indivíduos, foi estimada em $124,9 \pm 10,42 \mu\text{g}$ de OE/mg de dieta, não havendo sobreposição entre os intervalos de confiança das CL_{90} estimadas após 2 e 3 semanas do armazenamento. Destaca-se que após 3 semanas do armazenamento a porcentagem de mortalidade dos insetos foi de 85%. Esse resultado demonstra um excelente efeito residual desse tratamento. Não foi constatada diferença estatística na CL_{90} dos insetos que receberam os tratamentos no tempo 0 e após 1 semana de armazenamento (Tabela 1).

Tabela 1 – Efeito residual do óleo essencial das cascas do caule de *Duguetia lanceolata* para larvas de *Alphitobius diaperinus*.

Tempo de armazenamento (semanas)	Sobrevivência (%) (0 μg de OE/mg de dieta)	Sobrevivência (%) (100 μg de OE/mg de dieta)	χ^2	*b	*e	CL_{90}^{**}
0	94	0	493,47	-2,32	38,36	$98,6 \pm 9,25$ a
1	100	1	258,5	-3,10	36,45	$73,9 \pm 6,90$ a
2	88	8	246,17	-1,90	44,05	$139,2 \pm 26,10$ b
3	89	15	230,16	-3,03	62,54	$128,9 \pm 15,14$ b
4	85	49	493,03	-4,93	80,03	$124,9 \pm 10,42$ b



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

** Letras seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente, entre si, pois não houve sobreposição entre os intervalos de confiança, ao nível de significância de 5%.

Fonte: A autoria própria (2021).

4 CONCLUSÃO

O OE de *D. lanceolata* foi capaz de causar altas taxas de mortalidade em larvas de *A. diaperinus*, mesmo após 4 semanas do armazenamento da dieta contendo os tratamentos. Dado o exposto, esse OE apresenta-se como um candidato promissor para ser empregado no desenvolvimento de inseticidas botânicos para o controle desse inseto. Ainda é possível caracterizar quimicamente o OE para identificar seus compostos, e realizar novos ensaios com as substâncias puras. Também ressalta-se a importância de estudos para verificar a compatibilidade com inimigo natural do cascudinho-dos-aviários, o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*. Além disso, é possível nanoemulsionar esses compostos, visto que essa tecnologia tende a deixar as moléculas mais estáveis, e mais resistentes a alterações de temperatura, o que pode potencializar a ação, uma vez que os OEs são substâncias voláteis, de fácil degradação quando expostas ao ambiente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Araucária (FA), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e UTFPR (Edital 05/2020 – PROREC).

REFERÊNCIAS

- ARENA, Julieta. Soledad.; MERLO, Carolina.; DEFAGÓ, Maria. Teresa.; ZYGADLO, Julio. Alberto. Insecticidal and antibacterial effects of some essential oils against the poultry pest *Alphitobius diaperinus* and its associated microorganisms. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 1, p. 403–414, 2020. Springer Berlin Heidelberg.
- CHERNAKI-LEFFER, Andreia. Mauruto.; ALMEIDA, Lúcia, Massutti. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.3, p.365-368, 2001.
- DESPINS, Joseph. L.; AXTELL, Richard. Carl. Feeding behavior and growth of Turkey poults fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Poultry Science**, v.73, p.1526-1533, 1994.
- DESPINS, Joseph. L.; AXTELL, Richard. Carl. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Poultry Science**, v.74, p.331-336, 1995.



- DONOSO, Alvaro.; PAREDES, Natalia.; RETAMAL, Patricio. Detection of Antimicrobial Resistant *Salmonella enterica* Strains in Larval and Adult Forms of Lesser Mealworm (*Alphitobius diaperinus*) From Industrial Poultry Farms. Chile: **Frontiers in Veterinary**, 2020.
- HICKMANN, Frederico.; DE MORAIS, Alexssandro. Freitas.; BRONZATTO, Eduarda. Spagnol.; 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.
- JACOMINI, Débora.; TEMPONI, Livia. Godinho.; ALVES, Luis. Francisco. Angeli.; et al. Extrato de tabaco no controle do besouro cascudinho de aviário. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 51, n. 5, p. 680–683, 2016. **Embrapa Informação Tecnológica**.
- KRINSKI, Diones.; MASSAROLI, Angélica.; MACHADO, Marilza. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.36, n. spe1, p.225-242, 2014.
- MARQUES, Camila. Renata. Gonçalves.; MIKAMI, Adriana. Yatie.; PISSINATI, Aline.; et al. Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) por óleos de nim e citronela. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2565–2574, 2013.
- RENAULT, David.; COLINET, Hervé. Differences in the Susceptibility to Commercial Insecticides among Populations of the Lesser Mealworm *Alphitobius diaperinus* Collected from Poultry Houses in France. **Insects**, 12, 309, 2001.
- RICE, Steven. J.; LAMBKIN, Trevor. A. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 133, n. 1, p. 67–72, 2009.
- RITZ, Cristian.; BATY, Florent.; STREIBIG, Jens. Carl.; GERHARD, Daniel. Dose-Response Analysis Using R. **PLOS ONE**, v. 10, n. 12, p. e0146021, 30 dez. 2015.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: The R Project for Statistical Computing**.
- SZCZEPANIK, Maryla.; ZAWITOWSKA, Beata.; SZUMNY, Antoni. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Allelopathy Journal**, v. 30, n. 1, p. 129–142, 2012.