

EFICÁCIA *IN VITRO* DO SPINOSAD CONTRA *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

IN VITRO EFFECTIVENESS OF SPINOSAD AGAINST Alphitobius diaperinus (Panzer)
(Coleoptera: Tenebrionidae)

L. M. SOUZA¹, G. S. SILVA², I. CHARLIE-SILVA³, M. A. A. BELO^{1,4}, V. E. SOARES¹,
A. J. COSTA⁴

RESUMO

Com a expansão avícola industrial, *Alphitobius diaperinus* tem se apresentado mundialmente como uma das principais pragas da avicultura moderna. Destacam-se inúmeros prejuízos, entre eles, redução no ganho de peso e veiculação de agentes potencialmente patogênicos entre as aves. Medidas de controle sanitário envolvendo o manejo correto do substrato utilizado como cama para as aves e tratamento das instalações têm sido pesquisadas e aplicadas. Em busca de novas alternativas para o controle de *A. diaperinus*, avaliou-se, neste estudo, a ação do Spinosad produto da síntese da fermentação aeróbica de um fungo actinomiceto presente no solo, *Sacharopolyspora spinosa*. Para tanto, dois experimentos “*in vitro*” foram conduzidos, o primeiro utilizando-se tratamento direto dos coleópteros em placas de petri e o segundo, em condições simuladas de “cama de aves” utilizando-se a casca de arroz. Os estudos em placas de petri revelaram percentuais de eficácia de 99,67% e 99,33% no controle de adultos 24° dias após tratamento (DPT), bem como 97,0% e 96,0% no controle de larvas (24°DPT), respectivamente para o tratamento com Spinosad nas concentrações de 400ppm e 250ppm. A aplicação do 250 ppm Spinosad na casca de arroz resultou em percentuais de eficácia superiores (74,39%, 76,92% e 77,82% nos 16°DPT, 23°DPT e 30°DPT, respectivamente) quando comparados ao tratamento com 400ppm (68,51%, 68,18% e 70,55% nos 16°DPT, 23°DPT e 30°DPT, respectivamente), apesar de não ter sido observada diferença estatística significativa entre estes achados ($P>0,05$). Portanto, verificou-se neste estudo que o Spinosad, nas concentrações de 400ppm e 250ppm, via spray, mostrou-se eficaz tanto aplicado diretamente sobre *A. diaperinus* (adultos e larvas) ou quando dispersados em casca de arroz parasitada.

PALAVRAS-CHAVE: Cascudinho. Antiparasitários. Controle. Avicultura. Quimioterápicos.

SUMMARY

With the expansion of industrial poultry, *Alphitobius diaperinus* represents one of the main pests of modern for poultry production in the world. Numerous losses stand out, such as: reduction in weight gain and transmission of pathogens among birds.. Sanitary control measures with correct handling of the substrate used as litter and treatment of facilities have been researched and applied. In search of a new alternative for the control of *A. diaperinus*, in this study, the action of Spinosad, synthesis of the aerobic fermentation of an actinomycete fungus present in the soil, *Sacharopolyspora spinosa*, was evaluated. For this purpose, two “*in vitro*” experiments were conducted, the first using direct treatment of the coleoptera in petri dishes and the second, under simulated conditions of “poultry litter” using the rice husk. Petri dish studies revealed 99.67% and 99.33% efficacy percentages for adult control (24DPT), as well as 97.0% and 96.0% for larvae control (24° Days post-treatment- DPT) respectively for treatment with Spinosad in concentrations of 400ppm and 250ppm. The application of 250 ppm Spinosad in the rice husk resulted in higher efficacy percentages (74.39%, 76.92% and 77.82% in the 16°DPT, 23°DPT and 30°DPT, respectively) when compared to the 400ppm treatment (68.51 %, 68.18% and 70.55% in the 16th PDT, 23rd PDT and 30th PDT, respectively), although no statistically significant difference was observed between these findings ($P> 0.05$). Therefore, it was observed that Spinosad in concentrations of 400ppm and 250ppm, via spray, showed efficacy when applied directly on *A. diaperinus* (adults and larvae) or dispersed in parasitized rice husks.

KEY-WORDS: Mealworm. Antiparasitic. Control. Poultry. Chemotherapy.

¹ Laboratório de Parasitologia Veterinária, Universidade Brasil, Campus de Descalvado. Autor de Correspondência: Luciano Melo de Souza, lucianomelos@gmail.com, luciano.melo@universidadebrasil.edu.br. Avenida Hilário da Silva Passos, 950. Jd. Universitário, Descalvado/SP, 13690-000.

² Laboratório de Parasitologia Animal, Instituto Biológico (APTA), Votuporanga/SP.

³ Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP)

⁴ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Campus de Jaboticabal.

INTRODUÇÃO

Alphitobius diaperinus, considerado inicialmente uma praga secundária de grãos armazenados, tem se apresentado, mundialmente, como uma das principais pragas da avicultura moderna (SOUZA et al., 2020). Com a expansão avícola industrial este coleóptero, pertencente à família Tenebrionidae e popularmente conhecido como “cascudinho”, encontrou junto às instalações avícolas habitat ideal para seu desenvolvimento.

Uma vez estabelecidos, multiplicam-se rapidamente, sendo encontradas elevadas populações em cama de frangos de corte, de matrizes, e mesmo nas fezes de poedeiras de ovos comerciais confinadas em gaiolas (CHARLIE-SILVA et al., 2019). Adultos, ovos, larvas e pupas vivem sob a superfície da cama, em equipamentos e em frestas dos pisos e paredes, alimentando-se de ração, aves mortas, aves debilitadas, esterco e outros materiais orgânicos encontrados no galpão (SOUZA et al., 2009). Podem voar mais de 1600 metros e apresentam fototropismo negativo, sendo mais ativos à noite, o que os constituem, também, num problema para residências situadas próximas aos aviários.

Destacam-se, dentre os inúmeros prejuízos causados por *A. diaperinus*: ser reservatório de patógenos de fundamental importância para avicultura, como os dos gêneros *Eimeria*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Aspergillus*, além de vírus causadores das doenças de Marek, Gumboro e Newcastle (SEGABINAZI et al., 2005; VITTORI et al., 2007; GEHRING et al., 2020); e ainda pelo desenvolvimento de cisticercóides, são considerados hospedeiros intermediários de cestódeos parasitos de aves (ARENDS, 1987). Interfere no desenvolvimento das aves causando desuniformidade do lote, pelo fato de se constituir alimento alternativo, principalmente para pintinhos (SOUZA et al., 2020).

Afim de reduzir a população dos besouros, com menor custo, menor risco e maior eficiência, medidas de controle sanitário como manejo correto e tratamento das instalações têm sido aplicadas e pesquisadas (SOUZA et al., 2009). Estudos envolvendo controle biológico foram realizados com o intuito de controlar este importante parasito (GEDEN et al., 1998). Contudo, devido a dinâmica de sua proliferação, o manejo integrado e o controle químico são os meios mais utilizados pelos produtores.

No manejo sanitário das produções animais, o uso inadequado das formulações antiparasitárias em ambientes infestados resulta na seleção de insetos resistentes (SOARES et al., 2009; BELO et al., 2012; SOUZA et al., 2017; CHARLIE-SILVA et al., 2018). No controle químico do cascudinho tem-se utilizado, dentre outros, tratamentos com piretróides (HAMM et al., 2006; TOMBERLIN et al., 2008); imidacloprida (SINGH & JOHNSON, 2015), benzoilfenilureia (CHERNAKILEFFER et al., 2011) e organofosforados (LAMBKIN, 2005, KAUFMAN et al., 2008; YEASMIN et al., 2014).

O Spinosad é síntese da fermentação aeróbica do fungo actinomiceto presente no solo, o *Sacharopolyspora spinosa*, e faz parte de um novo grupo de acaricidas conhecido como naturalyte, sendo constituído pela

mistura de dois metabólitos naturais do fungo, spinosyn A e spinosyn D. Este quimioterápico tem modo de ação diferenciado. Em insetos, caracteriza-se pela excitação do sistema nervoso, levando a contrações involuntárias dos músculos, provocando prostração com tremores e paralisia. Esses efeitos estão ligados a ativação de receptores nicotínicos e acetilcolínicos por um mecanismo de ação totalmente novo (ORR et al., 2009).

Em busca de nova alternativa para o controle do *A. diaperinus* avaliou-se, neste estudo, a ação do Spinosad sobre o coleóptero em questão. Para tanto, dois experimentos “in vitro” foram conduzidos: o primeiro utilizando-se tratamento direto dos coleópteros em placas de petri, e o segundo, em condições simuladas de “cama de aves” utilizando-se a casca de arroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e formulação medicamentosa

Os experimentos foram conduzidos em laboratório pertencente ao departamento de Patologia animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV-UNESP), campus de Jaboticabal. Foram utilizadas, em cada experimento, duas concentrações de Spinosad (400 ppm e 250 ppm), aplicadas via tópica sob forma de aspersão (spray), diretamente sobre formas adultas e imaturas (larvas) de *A. diaperinus* acondicionados em placas de petri (experimento 1) e/ou em casca de arroz (experimento 2). Utilizou-se para aplicação, frasco com dispositivo de borrifação atomizada, “spray”, com controle de volume e pressão.

A. diaperinus

Os estágios adulto e larval de *A. diaperinus* foram obtidos em uma granja comercial de frangos de corte com histórico de elevada infestação por cascudinhos pertencentes ao município de Descalvado, SP (Latitude: 21° 54' 14" Sul, Longitude: 47° 37' 12" Oeste).

Avaliação em Placas de Petri

Placas de petri contendo *A. diaperinus* foram sorteadas ao acaso para distribuição de seis grupos experimentais (Tabela 1). As placas possuíam perfurações que permitiam aeração e periodicamente eram colocadas, em cada uma, dois gramas de ração para frangos de corte e ½ mL de água para alimentação dos cascudinhos.

Na ocasião do tratamento, os indivíduos de cada repetição foram transferidos para peneiras de “nylon” de 7cm de diâmetro, o que proporcionou escoamento do excesso de solução e homogeneidade na administração do tratamento. Cada aplicação teve duração de cinco segundos, correspondendo ao conteúdo de 6,5 mL para cada repetição. Após a aplicação do inseticida os cascudinhos foram alocados em suas respectivas placas de petri.

Avaliações da efetividade do tratamento foram realizadas, em todas as parcelas, logo após o tratamento (1HPT e 4HPT - correspondendo ao “dia zero”), e ainda,

um, três, cinco, sete, 14, 17 e 24 dias pós-tratamento (DPT). Para avaliação, foram observados os cascudinhos (adultos e/ou larvas) que se apresentavam vivos e com movimentos normais (locomovendo-se), vivos, porém em estado de prostração/paralisia, e mortos.

Adultos foram considerados em estado de prostração quando não conseguiam se locomover, porém, apresentavam, em posição decúbito dorsal, movimentos de patas e/ou antenas. Para os estágios larvais considerou-se, também, os que não se locomoviam normalmente, em sua maioria na posição decúbito dorsal, e com movimentos apenas de patas e antenas. Eram considerados como mortos, para efeito de avaliação crítica e estimativa do percentual de mortalidade, aqueles que se apresentavam sem qualquer movimento e enrijecidos (adultos e larvas).

Avaliação em casca de Arroz

Alphitobius diaperinus foram distribuídas em recipientes plásticos (12cm x 10cm) contendo casca de arroz. Foram considerados seis grupos experimentais, os quais, por sorteio, foram submetidos aos tratamentos (Tabela 1). Após alojamento dos adultos e larvas de *A. diaperinus* nos recipientes, procedeu-se a aplicação dos tratamentos. A altura da casca de arroz era de 4cm. As

soluções preparadas com Spinosad foram aplicadas via tópica, por meio de spray, durante 25 segundos, na superfície de cada cama (27,5mL de solução, correspondendo a 0,012L/m²). Cada recipiente foi acondicionado em caixas entomológicas individuais, devidamente identificadas.

Após 1, 3, 6, 9, 16, 23 e 30 dias pós-tratamento (DPT) o conteúdo de cada recipiente era retirado e o número de adultos ou larvas com movimentos normais (locomovendo-se) era computado, sendo a casca de arroz e os *A. diaperinus* devolvidos nos respectivos recipientes e caixas. Por ocasião das avaliações, dois gramas de ração comercial para aves de corte e ½ mL de água foram misturadas à casca de arroz, para alimentação dos cascudinhos.

Eficácia Terapêutica

A partir dos resultados do número de adultos e/ou larvas vivos nos grupos controle e tratados, foram calculados os percentuais de eficácia do Spinosad em cada data avaliada, conforme a Portaria 88 de 06 de novembro de 2015 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2015):

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{(\text{n.º de indivíduos vivos no grupo controle} - \text{n.º de indivíduos vivos no grupo tratado})}{\text{n.º de indivíduos vivos no grupo controle}} \times 100$$

2.6. Delineamento Experimental

Foi utilizado, em cada experimento, delineamento em parcela subdividida no tempo (“Split Plot in Time”), sendo considerados, como tratamentos principais, as concentrações do fármaco e o controle e, como secundário, as datas de observações (BANZATTO e KRONKA, 1989). As análises dos dados foram realizadas aplicando-se o teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey (SAS, 2012).

RESULTADOS

Placas de Petri

As duas concentrações do fármaco avaliado (400 e 250ppm) apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle em todas as análises (1, 3, 5, 7, 14, 17 e 24 DPT), no que se refere a adultos e larvas normais (Tabelas 2 e 3). Portanto, o número de sobreviventes nos grupos medicados foi significativamente menor quando comparado ao grupo controle, o que comprova a ação do Spinosad sobre *A. diaperinus*.

O percentual de eficácia, já no primeiro dia pós-tratamento de adultos, apresentou-se elevado para as duas concentrações do medicamento (99,32% para 400 ppm e 98,63% para 250 ppm). Nos dias três, cinco, 7, 14 e 17 DPT, a maior concentração do medicamento (400ppm) apresentou-se 100% eficaz. Com exceção do terceiro dia (99,66%), a concentração de 250 ppm, também proporcionou 100% de eficácia contra adultos de *A. diaperinus*.

Os índices de eficácia de 99,65% e 99,30% alcançados no 24ºDPT, respectivamente, para as

concentrações de 400 e 250ppm, decorreram do fato de alguns poucos (1 a 2) indivíduos que se apresentavam paralisados retomarem seus movimentos normais, locomovendo-se.

Em larvas, os percentuais de eficácia variaram de 62,89% a 97,96% e de 77,32% a 95,92%, respectivamente, para 400 e 250ppm do composto aplicado, nas diferentes datas de avaliação. Não houve diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) entre os grupos medicados.

Observa-se através da Tabela 4 que os índices de mortalidade de adultos tratados elevaram-se gradativamente, evoluindo de 6,67% e 1,00% (1DPT) 99,67% e 99,33% (24DPT), correspondendo aos tratamentos 400 e 250 ppm, respectivamente. Esta conotação foi decorrente da evolução do estado de prostração, em que se encontravam inicialmente adultos e larvas, para mortalidade. No grupo controle tal índice manteve-se inferior a 5% até o 17º DPT, atingindo este percentual na última avaliação (24ºDPT).

Os índices de mortalidade de larvas tratadas foram de 7,00% e 8,00% no 1ºDPT e de 97,0% e 96,0% no 24ºDPT, respectivamente, para as concentrações de 400 e 250ppm (Tabela 5). Para larvas do grupo controle, tal índice atingiu 6% nos dias três e cinco, elevando-se, gradativamente (10, 24, 32 e 51%, respectivamente, nos dias sete, 14, 17 e 24 pós-tratamento). Apesar do grupo controle atingir elevada mortalidade, a diferença entre este e os grupos tratados manteve-se estatisticamente significativa ($P < 0,05$) durante todo o período pós-tratamento.

Tabela 1 - Distribuição dos grupos experimentais para avaliação do Spinosad contra *Alphitobius diaperinus*. Teste em placa de petri ou em casca de arroz (Experimentos 1 e 2).

Grupo	Nº de repetições ¹ (placas de petri ou casca de arroz)	<i>A. diaperinus</i> (estágio)	Tratamento	Concentração	Via de aplicação
I	10	adulto	Spinosad	400 ppm	Spray
II	10	adulto	Spinosad	250 ppm	Spray
III	10	adulto	Controle (água)	-	Spray
IV	10	larvas	Spinosad	400 ppm	Spray
V	10	larvas	Spinosad	250 ppm	Spray
VI	10	larvas	Controle (água)	-	Spray

(30 adultos e 10 larvas/repetição)

Tabela 2. Comparação múltipla do número médio** de adultos de *Alphitobius diaperinus* apresentando movimentos normais nos grupos controle e tratados com spinosad - placas de petri; percentuais de eficácia.

TRATAMENTO	DIAS PÓS-TRATAMENTO / Nº MÉDIO DE ADULTOS NORMAIS							
	0	1	3	5	7	14	17	24
G1: Spinosad (400ppm)	30,00 ^A	0,20 ^B	0,00 ^B	0,10 ^B				
% EFICÁCIA	-	99,32	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	99,65
GII: Spinosad (250ppm)	30,00 ^A	0,40 ^B	0,10 ^B	0,00 ^B	0,00 ^B	0,00 ^B	0,00 ^B	0,20 ^B
% EFICÁCIA	-	98,63	99,66	100,00	100,00	100,00	100,00	99,30
GIII: Controle	30,00 ^A	23,60 ^A	29,00 ^A	28,80 ^A				

** Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey (P≥0,05).

*Eli Lilly do Brasil Ltda.

Tabela 3. Comparação múltipla do número médio** de larvas de *Alphitobius diaperinus* apresentando movimentos normais nos grupos controle e tratados com Spinosad - placas de petri; percentuais de eficácia.

TRATAMENTO	DIAS PÓS-TRATAMENTO / Nº MÉDIO DE LARVAS NORMAIS							
	0	1	3	5	7	14	17	24
GIV: Spinosad (400ppm)	10,00 ^A	3,60 ^B	2,50 ^B	1,30 ^B	0,20 ^B	0,20 ^B	0,20 ^B	0,10 ^B
% EFICÁCIA	-	62,89	73,40	85,87	97,73	97,37	97,06	97,96
GV: Spinosad (250ppm)	10,00 ^A	2,20 ^B	1,40 ^B	1,20 ^B	1,00 ^B	0,30 ^B	0,30 ^B	0,20 ^B
% EFICÁCIA	-	77,32	85,11	86,96	88,64	96,05	95,59	95,92
GVI: Controle	10,00 ^A	9,70 ^A	9,40 ^A	9,20 ^A	8,80 ^A	7,60 ^A	6,80 ^A	4,90 ^A

** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey ($P \geq 0,05$).

*Eli Lilly do Brasil Ltda.

Tabela 4. Comparação múltipla do número médio** de adultos de *Alphitobius diaperinus* mortos e em paralisia, dos grupos controle e tratados com spinosad - placas de petri; % de mortalidade.

TRATAMENTO	DIAS PÓS-TRATAMENTO / Nº MÉDIO DE ADULTOS															
	0		1		3		5		7		14		17		24	
	Vivos	M***	P***	M***	P***	M***	P***	M***	P***	M***	P***	M***	P***	M***	P***	
GI: Spinosad (400ppm)	30,00 ^A	2,00 ^A	27,80	15,40 ^A	14,60	23,20 ^A	6,80	26,00 ^A	4,00	29,70 ^A	0,30	29,70 ^A	0,30	29,90 ^A	0,00	
% MORTALIDADE	-	6,67	-	51,33	-	77,33	-	86,67	-	99,00	-	99,00	-	99,67	-	
GII: Spinosad (250ppm)	30,00 ^A	0,30 ^B	29,30	0,30 ^B	29,60	21,50 ^A	8,50	25,5 ^A	4,50	29,60 ^A	0,40	29,70 ^A	0,30	29,80 ^A	0,00	
% MORTALIDADE	-	1,00	-	1,00	-	71,67	-	85,00	-	98,67	-	99,00	-	99,33	-	
GIII: Controle	30,00 ^A	0,70 ^A	0,00	1,00 ^B	0,00	1,20 ^B	0,00	1,20 ^B	0,00	1,20 ^B	0,00	1,20 ^B	0,00	1,50 ^B	0,00	
% MORTALIDADE	-	2,33	-	3,33	-	4,00	-	4,00	-	4,00	-	4,00	-	5,00	-	

** Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste Tukey

* Eli Lilly do Brasil Ltda.

*** M: Mortos; P: Paralisia

Tabela 5. Comparação múltipla do número médio** de larvas de *Alphitobius diaperinus*, mortas e em paralisia, dos grupos controle e tratados com spinosad - placas de petri; % de mortalidade.

TRATAMENTO	DIAS PÓS-TRATAMENTO / Nº MÉDIO DE LARVAS															
	0		1		3		5		7		14		17		24	
	Vivos	M***	P***													
GV: Spinosad (400ppm)	10,00 ^A	0,70 ^A	5,70 ^A	3,80 ^A	3,70 ^A	5,00 ^A	3,70 ^A	6,80 ^A	3,00 ^A	9,10 ^A	0,70 ^A	9,50 ^A	0,30 ^A	9,70 ^A	0,20 ^A	
% MORTALIDADE		7,00	-	38,00	-	50,00	-	68,00	-	91,00	-	95,00	-	97,00	-	
GV: Spinosad (250ppm)	10,00 ^A	0,80 ^A	7,00	4,50 ^A	4,20	6,50 ^A	2,30	8,00 ^A	1,00	9,00 ^A	0,70	9,00 ^A	0,70	9,60 ^A	0,20	
% MORTALIDADE	-	8,00	-	45,00	-	65,00	-	80,00	-	90,00	-	90,00	-	96,00	-	
GVI: Controle	10,00 ^A	0,30 ^A	0,00	0,60 ^B	0,00	0,60 ^B	0,20	1,00 ^B	0,20	2,40 ^B	0,00	3,20 ^B	0,00	5,10 ^B	0,00	
% MORTALIDADE	-	3,00	-	6,00	-	6,00	-	10,00	-	24,00	-	32,00	-	51,00	-	

** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey (P

* Eli Lilly do Brasil Ltda.

*** M: Mortas; P: Paralisia

Tabela 6. Comparação múltipla do número médio** de adultos de *Alphitobius diaperinus* apresentando movimentos normais nos grupos controle e tratados com spinosad (casca de arroz); percentuais de eficácia.

TRATAMENTO	Nº MÉDIO DE ADULTOS NORMAIS / DIAS PÓS-TRATAMENTO (DPT)							
	0	1	3	6	9	16	23	30
G1: Spinosad (400ppm)	30,00 ^A	8,50 ^C	8,20 ^B	8,30 ^B	8,10 ^B	9,10 ^B	9,10 ^B	8,10 ^B
% EFICÁCIA	-	71,57	72,58	71,86	72,16	68,51	68,18	70,55
GII: Spinosad (250ppm)	30,00 ^A	16,2 ^B	10,60 ^B	8,50 ^B	12,40 ^B	7,40 ^B	6,60 ^B	6,10 ^B
% EFICÁCIA	-	45,82	64,55	71,19	57,39	74,39	76,92	77,82
GIII: Controle	30,00 ^A	29,90 ^A	29,90 ^A	29,50 ^A	29,10 ^A	28,90 ^A	28,60 ^A	27,50 ^A

** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey (P>0,05).

Tabela 7. Comparação múltipla do número médio** de larvas de *Alphitobius diaperinus* apresentando movimentos normais nos grupos controle e tratados com spinosad (casca de arroz); percentuais de eficácia.

TRATAMENTO	Nº MÉDIO DE LARVAS NORMAIS / DIAS PÓS-TRATAMENTO (DPT)						
	0	1	3	6	9	16	23
GIV: Spinosad (400ppm)	10,00 ^A	3,80 ^B	2,90 ^B	2,60 ^B	2,10 ^B	0,70 ^B	0,60 ^B
% EFICÁCIA	-	62,00	70,41	72,63	76,14	90,00	89,09
GV: Spinosad (250ppm)	10,00 ^A	4,20 ^B	3,60 ^B	2,70 ^B	2,50 ^B	1,20 ^B	1,20 ^B
% EFICÁCIA	-	58,00	63,27	71,58	71,59	82,86	78,18
GVI: Controle	10,00 ^A	10,00 ^A	9,80 ^A	9,50 ^A	8,80 ^A	6,90 ^A	5,50 ^A

** Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste Tukey (P>0,05).

Chama-se atenção ao fato de que nenhuma forma adulta de *A. diaperinus*, pertencente ao grupo controle (não tratado) apresentou-se em estado de prostração.

À título de observação, em algumas repetições dos grupos de adultos medicados foram observadas alterações morfofisiológicas como distensão da cloaca e presença de ovos nas placas, o que pode ser atribuído à ação do medicamento.

Após a última avaliação, ocasião do encerramento do período experimental, as larvas dos grupos tratados e controle foram alojadas em recipientes contendo casca de arroz. Decorrido período de 20 dias, nos recipientes que continham larvas do grupo controle foram observadas larvas vivas e mortas, pupas e algumas formas adultas. No entanto, não foi constatada a presença de pupas e adultos nos recipientes onde foram alojadas as larvas tratadas; a maioria estava morta. Tais observações deixam clara a interferência do tratamento com Spinosad (duas concentrações) no ciclo biológico do *A. diaperinus*.

Casca De Arroz

As duas concentrações do fármaco avaliado (400 e 250ppm) apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$), em relação ao grupo controle, em todas as datas analisadas (1, 3, 6, 9, 16, 23 e 30 DPT) no que se refere ao número médio de adultos e de larvas normais de *A. diaperinus* (Tabela 6).

Em adultos, a menor concentração de Spinosad (250ppm) apresentou percentual de eficácia superior (74,39%, 76,92% e 77,82% nos 16°DPT, 23°DPT e 30°DPT, respectivamente) à maior (400ppm, 68,51%, 68,18% e 70,55%); porém, quando analisada estatisticamente, tal diferença não foi significativa ($P > 0,05$).

A diferença entre as duas concentrações, no tratamento de larvas (Tabela 7), também não foi significativa ($P > 0,05$), embora a concentração de 400ppm tenha apresentado maior índice de eficácia durante o período experimental.

Após 23 dias do tratamento, em algumas repetições do grupo de larvas não tratadas, observou-se a presença de pupas, o que determinou o término do período de contagens de larvas. Não foram observadas pupas nos grupos tratados, mostrando, assim, um possível efeito dos tratamentos (Spinosad a 400ppm e a 250ppm) na interrupção do ciclo biológico do *A. diaperinus*.

DISCUSSÃO

A eficácia do Spinosad contra *A. diaperinus*, obtida nos dois experimentos, estão compatíveis com resultados descrito por outros autores empregando outros inseticidas, seja em pesquisas de laboratório ou no campo (OLIVEIRA et al. 2016), corroborando os achados de Lambkin e Rice (2007), os quais relataram a eficácia inseticida do Spinosad em 13 cepas de *A. diaperinus* provenientes de aviários de frango de corte na Austrália e resistentes a diferentes piretróides.

Os resultados de eficiência dependem não somente do princípio ativo empregado, mas também do

meio, dose e concentração a serem adotados. Assim, Morales et al (1991) comprovaram, “*in vitro*”, baixo controle biocida, contra cascudinhos, do malathion, carbaril e dipterex quando aplicados a 0,5 lb/m². Porém, o espectro de ação foi melhor, atingindo até 100% de mortalidade, quando se elevou a aplicação para 1L/m². Estes resultados dose-resposta corroboram com aos descritos por Lyons et al. (2017) que observaram efeito dose-dependência com uso de piretróides aplicados no ambiente no controle de larvas e adultos deste coleóptero. De acordo com Souza et al. (2009), ocorreu correlação significativa entre aumento da dose e a letalidade deste coleóptero em estudo dose-resposta envolvendo o Spinosad para controle de *A. diaperinus*. Diferentemente deste estudo, não se observou significativa diferença de eficácia nas duas concentrações de Spinosad adotadas (400 e 250ppm).

Verificou-se no presente trabalho, por meio dos delineamentos experimentais ensaiados, que o Spinosad, nas concentrações de 400ppm e 250ppm, via tópica em forma spray, mostrou-se eficaz tanto aplicado diretamente sobre *A. diaperinus* (adultos e larvas) ou quando dispersados em casca de arroz infestada.

Em face dos resultados alcançados, em laboratório, pelo Spinosad contra *A. diaperinus* e atentando-se a todos os outros fatores envolvidos na eleição de um produto eficaz e seguro para controle de parasitos, as pesquisas com tal princípio ativo devem ter continuidade, incluindo-se testes de campo.

REFERÊNCIAS

- ARENDS, J.J. Control, maagement of the litter beetle. *Poultry Digest*. 172-6, 1987.
- BANZATO, D. A., KRONKA, S. N. Experimentação Agrícola. Jaboticabal, FUNEP, 1989.
- BELO, M. A. A.; PRADO, E. J. R.; SOARES, V. E.; SOUZA, L. M.; MOTA, F. C. C.; GIAMLORENÇO, T. F.; GÍRIO, T. M. S. Eficácia de diferentes formulações no controle da mosca *Haematobia irritans* em bovinos naturalmente infestados. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 28, p. 245-250, 2012.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Consulta Pública, Portaria da Secretaria de Defesa Animal nº 88, de 06 de novembro de 2015 – Projeto de Regulamentação Técnica sobre Antiparasitários de Uso Veterinário. 2015.
- CHARLIE-SILVA, I.; SOUZA, L. M.; BELO, M.A.; MORAES, A.C.; PRADO, E.J.R.; MOLENTO, M. B.; MARCHIORI-FILHO, M.. *In vitro* toxicity of cypermethrin and deltamethrin on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Ars Veterinária*, Jaboticabal, v. 33, p. 51-56, 2018.
- CHARLIE-SILVA, I.; SOUZA, L. M.; PEREIRA, C. C.; MAZZONETTO, F.; BELO, M. A. A. INSECTICIDAL EFFICACY OF AQUEOUS EXTRACTS OF *Ricinus communis*, *Baccharis trimera* AND *Chenopodium ambrisioides* ON ADULTS OF

- Alphitobius diaperinus*. *Ars Veterinária*, v. 35, p. 07-11, 2019.
- CHERNAKI-LEFFER, A.M.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ALMEIDA, L.M.; LOPES, I.O. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuron in southern Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* v.55: p.125-128, 2011.
- GEDEN, C.J.; ARENDS, J.; STEINKRAUS, D. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). In poultry litter, soil, and a pupal trap. *Biological Control*. 13, 71-7. 1998.
- GEHRING, V. S.; SANTOS, E. D.; MENDONÇA, B. S.; SANTOS, L. R.; RODRIGUES, L. B.; DICKEL, E. L.; DAROIT, L.; PILOTTO, F. *Alphitobius diaperinus* control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. *Poultry Science* v.99, n.4, p.2120-2124, 2020.
- HAMM, R.L.; KAUFMAN, P.E.; REASOR, C.A.; RUTZ, D.A.; SCOTT, J.G. Resistance to cyfluthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. *Pest Management Science*, Cambridge, V.62, p. 673-677, 2006.
- KAUFMAN, P.E.; STRONG, C.; RUTZ, D.A. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) adults and larvae exposed to two commercial insecticides on unpainted plywood panels. *Pest Management Science*, Cambridge, V.64, p. 108-111, 2008.
- LAMBKIN, A.T. Baseline responses of adult *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to fenitrothion and susceptibility status of populations in Queensland and New South Wales Australia. *Journal of Economic Entomology*, Baltimore, V.98, n.5, p.938-942, 2005.
- LAMBKIN, A.T.; RICE, S.J. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to spinosad, and susceptibility of broilers population in Eastern and Southern Australia. *Journal of Economic Entomology*, Baltimore, V.100, n.4, p.1423-1427, 2007.
- LYONS, B. N.; CRIPPEN, T. L.; ZHENG, L.; TEEL, P. D.; SWIGER, S. L.; TOMBERLIN, J. K. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* in Texas to permethrin-and β -cyfluthrin-treated surfaces. *Pest management science*, 73(3), 562-567, 2017.
- MORALES, A. Control químico del coleóptero *Alphitobius diaperinus* com Malathion, Carbaril y Dipterex e granjas avícolas. *Rev. Cubana de Cien. Avícola*. 18, 205-209, 1991.
- OLIVEIRA, D. G. P., CARDOSO, R. R., MAMPRIM, A. P., ANGELI, L. F. Laboratory and field evaluation of a Cypermethrin-based insecticide for the control of *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) and its in-vitro effects on *Beauveria bassiana* Bals. Vuill.(Hypocreales: Cordycipitaceae). *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.18, n.3, p. 371-380, 2016.
- ORR, N., SHAFFNER, A. J., RICHEY, K., CROUSE, G. D. Novel mode of action of spinosad: Receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.95, n.1, p.1-5, 2009.
- SAS Institute, 2012. SAS® User's Guide: Estatistics. SAS Insntitute, Inc. Cary, NC, USA.
- SINGH, N. & JOHNSON, D. Baseline susceptibility and cross-resistance in adult and larval *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) collected from poultry farms in Arkansas. *Journal of Economic Entomology*, Riverside, v. 108, n. 4, p. 1994-1999, 2015.
- SOARES, V. E.; BELO, M. A. A.; SOUZA, L. M.; GUIARO, C. R.; BORTOLETTO NETO, O.; GIRIO, T. M. S. Associação de cipermetrina, diclorvós e butóxido de piperonila contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos naturalmente infestados. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v. 14, p. 1-8, 2009.
- SOUZA, L., SILVA, G., BELO, M., SOARES, V., SILVA, I., COSTA, A.J. Atividade inseticida do spinosad sobre *Alphitobius diaperinus* em fezes de poedeiras comerciais naturalmente infestadas. *Ars Veterinaria*, v.36, n.2, p.109-116, 2020.
- SOUZA, L. M.; BELO, M. A. A.; SILVA, I. C. Eficácia de diferentes formulações de acaricidas sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Biotemas*, Florianópolis, v. 30, p. 65 de 2017.
- SOUZA, L. M.; SILVA, G. S.; BELO, M. A. A.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. CONTROLE DE *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) EM INSTALAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE. *Archives of Veterinary Science*, v. 14, p. 214-220, 2009.
- TOMBERLIN, J.K.; RICHMAN, D.; MYERS, H.M. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. *Journal of Economic Entomology*, Baltimore, v.101, n.2, p.480-483, 2008.
- VITTORI, J.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; TROVÓ, K.P.; RIBEIRO, C.A.M.; BARBOSA, G.G.; SOUZA, L.M.; PIGATTO, C.P. *Alphitobius diaperinus* como veiculador de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas do interior paulista – Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, V.37, n.3, p.894-896, 2007.
- YEASMIN, A. M.; WALIULLAH, T. M.; RAHMAN, A. S. Synergistic effects of chlorpyrifos with piperonyl butoxide (pbo) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian Pacific Journal of Reproduction*, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 305-310, 2014.