

## CONTROLE BIOLÓGICO

Interação do Fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com Terra Diatomácea para o Controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), o Cascudinho dos AviáriosDAIAN G.P. DE OLIVEIRA<sup>1,2</sup>, LUIS F.A. ALVES<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Zoologia, Rua Universitária, 2069, CEP 85819-110, Cascavel, PR, Brasil.

<sup>2</sup>Bolsista de iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) modalidade PIBIC/CNPq/Unioeste.

<sup>3</sup>Bolsista de Produtividade em Pesquisa pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). E-mail: [lfaalves@unioeste.br](mailto:lfaalves@unioeste.br)

---

BioAssay 2:6 (2007)

Interaction of *Beauveria bassiana* with Diatomaceous Earth for the Control of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), the Lesser Mealworm

**ABSTRACT** – The lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) is considered one of the most important pests of modern aviculture. Alternatives to control this insect include entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. as well as diatomaceous earth (DE). This study aimed to evaluate the interaction of these agents for lesser mealworm control, in two humidity conditions. The experiment consisted of six treatments, at 55% and 95% of humidity, as follows: DE applied 2g.kg<sup>-1</sup>; *B. bassiana* at 5×10<sup>7</sup>; and 5×10<sup>8</sup> conidia.g<sup>-1</sup>; DE (2g.kg<sup>-1</sup>) + *B. bassiana* at 5×10<sup>7</sup>; and 5×10<sup>8</sup> conidia.g<sup>-1</sup>, and control. The agents were mixed with the bird food and distributed into Petri dishes with 15 adults were released in each replicate (three replicates per treatment). The viability of the fungus associated to DE also was checked. It was verified that DE significantly affect the fungi viability at 95% of humidity. The highest mortality values were verified at 55% humidity, and treatments where the agents were combined performed better (97.8%). The combined agents also showed the greatest activity at 95% humidity; however, mortality was lower than 70%. With regard to their interaction, a positive effect occurred at the higher humidity only, in which a synergism was verified for both concentrations of the fungus. We concluded that the use of both agents could be a good strategy as long as they are used at smaller amounts, which is quite interesting economically in a program for the integrated management of the pest.

**KEYWORDS** – Inert dusts, *Alphitobius diaperinus*, synergism, alternative control.

**RESUMO** – O cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer), é considerado uma das principais pragas da avicultura moderna. O fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e terra diatomácea (TD) são alternativas para o controle do inseto. Avaliou-se no presente estudo a interação destes dois agentes para o controle do cascudinho, sob diferentes condições de umidade. O trabalho constou de cinco tratamentos, incubados a 55 e 95% de umidade: TD 2g.kg<sup>-1</sup> de ração; *B. bassiana* nas concentrações de 5×10<sup>7</sup> e 5×10<sup>8</sup> conídios.g<sup>-1</sup> de ração e TD (2g.kg<sup>-1</sup>) + *B. bassiana* nas concentrações de 5×10<sup>7</sup> e 5×10<sup>8</sup> conídios.g<sup>-1</sup> de ração, além da testemunha. Misturaram-se os agentes à ração para aves em sacos plásticos, sendo distribuídos em placas de Petri, com 15 adultos por repetição (três repetições por tratamento). Monitorou-se a viabilidade do fungo associado à TD durante o período de avaliação. Verificou-se que a TD afetou mais significativamente a viabilidade do fungo na umidade de 95% e na umidade de 55% os maiores valores de mortalidade foram obtidos, principalmente nos tratamentos com os agentes combinados (97,8%). Na umidade de 95%, os agentes combinados também apresentaram a maior atividade, com máximo de 70% de mortalidade. Quanto à interação, ocorreu sinergismo para as duas concentrações de fungo, mas apenas na umidade de 95%. Conclui-se que o uso dos agentes combinados pode ser uma boa estratégia se usados em menores quantidades, o que é muito interessante economicamente para um programa de MIP.

**PALAVRAS-CHAVE** – Pós-inertes, *Alphitobius diaperinus*, sinergismo, controle alternativo.

A indústria avícola tem se destacado nos últimos anos no Brasil, alcançando níveis comparáveis de produção de nações mais desenvolvidas neste setor, sendo o segundo maior produtor e o principal exportador de frangos do mundo (Avicultura Industrial 2006).

O besouro *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido como cascudinho, é uma das principais pragas da avicultura moderna colonizando o substrato utilizado nos aviários (Arends 1987). Sua introdução em sistemas de produção animal ocorreu, provavelmente, por meio de ração contaminada, já que é considerado praga secundária de farinhas, rações e derivados de grãos armazenados, dispersando-se e adaptando-se rapidamente às condições dos aviários (Chernaki-Leffer 2004).

As aves ao se alimentarem dos insetos deixam de ingerir a ração balanceada, ocasionando redução na conversão de peso, podendo ainda contaminar a carcaça de frangos, quando são extraídos o papo e a moela nos abatedouros (Despins & Axtel 1994, Chernaki-Leffer *et al.* 2001). Em algumas regiões de clima frio faz-se necessário o uso de isolantes térmicos nos aviários, que é perfurado pelo inseto causando danos estruturais de até 30% nesse material (Steelman 1996). O inseto pode também ser vetor de inúmeras doenças causadas por vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos, sendo que alguns microorganismos já foram isolados do mesmo (Chernaki-Leffer *et al.* 2002, Bates *et al.* 2004).

As condições encontradas nos aviários, como temperatura adequada, ausência de radiação UV e população elevada da praga favorecem o desenvolvimento de fungos entomopatogênicos, sendo que há relatos da ocorrência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) (Sorok.) e *Beauveria bassiana* (Bals.) (Vuill.) em populações do cascudinho em aviários nos EUA e também no Brasil (Steinkraus *et al.* 1991; Alves *et al.* 2004; 2005).

Métodos alternativos de controle têm sido pesquisados visando reduzir a utilização de inseticidas químicos, e o controle biológico destaca-se como uma opção para o controle do cascudinho (Crawford *et al.* 1998).

Pós-inertes, como a terra de diatomácea (TD), são utilizados para o controle de pragas de grãos armazenados (Lorini *et al.* 2001), sendo sua eficiência comprovada para o cascudinho em testes de laboratório (Alves *et al.* 2006).

A TD é proveniente de fósseis de algas diatomáceas, composta principalmente por dióxido de sílica amorfa. É um produto natural, inerte, não produzindo resíduos tóxicos. Seu modo de ação é baseado na adesão das partículas do pó ao corpo dos insetos e, conseqüentemente, na remoção da cera epicuticular, devido à abrasão. A morte ocorre, principalmente, por desidratação ou dessecação (Quarles 1992, Korunic 1998).

Tanto a TD como o fungo *B. bassiana* atuam por meio do contato com o tegumento do inseto, mas de maneira diferente, o que pode resultar em uma interação positiva para o controle das pragas, já que o fungo deve aderir, germinar e penetrar o tegumento, e sua eficácia pode ser melhorada na presença de outros agentes superfície-ativos. A TD não afeta germinação e os danos provocados ao inseto podem auxiliar na penetração do entomopatógeno (Lord 2001).

Verifica-se que o desempenho de *B. bassiana* geralmente é melhorado quando a umidade do ambiente é mais elevada (Ferron 1977), inversamente à TD, que mostra-se mais eficiente em baixa umidade (Lord 2001). Contudo, os dois agentes são aparentemente complementares em suas umidades ótimas (Akbar *et al.* 2004), podendo o seu uso ser muito interessante para programas de MIP. A utilização simultânea pode reduzir a concentração aplicada de ambos agentes, diminuindo os gastos e potencialmente melhorando os resultados de mortalidade, pois testes realizados em campo com formulações à base de *B. bassiana* não apresentaram resultados significativos (Geden & Steinkraus 2003).

Torna-se necessário buscar novas estratégias de aplicação do fungo em campo (Oliveira 2005), e a associação com outros agentes pode ser uma alternativa (Chernaki-Leffer 2004), visto que a TD apresentou resultados satisfatórios na mortalidade do cascudinho (Alves *et al.* 2006) e esta combinação demonstrou-se promissora para outros insetos em grãos armazenados (Lord 2001, Akbar *et al.* 2004).

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a interação de *B. bassiana* com a terra diatomácea na mortalidade de adultos de *A. diaperinus*, em diferentes concentrações e condições de umidade relativa do ar.

## Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Zoologia de Invertebrados da Unioeste, Cascavel/PR, com insetos provenientes de aviários comerciais da região, foram mantidos em baldes plásticos fechados com tampa perfurada, contendo cama de aviário e alimentados com ração para aves, em condições ambiente, de temperatura e fotoperíodo.

**Obtenção do fungo.** Utilizou-se o isolado Unioeste 4 de *B. bassiana* por ter sido previamente selecionado para o controle do cascudinho (Rohde *et al.* 2006). O fungo foi produzido em placas com meio de cultura ME (meio de esporulação, Alves *et al.* 1998), incubadas a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e 14 h de fotofase, durante um período mínimo de sete dias para crescimento vegetativo e conidiogênese. Após este período, os conídios foram coletados e armazenados em tubos de vidro estéreis sob condições de freezer ( $-12^\circ\text{C}$ ) por um período não superior a cinco dias.

Inicialmente, quantificou-se o número de conídios.g<sup>-1</sup> do fungo produzido, utilizando-se uma câmara de Neubauer, bem como se estimou a

viabilidade (Alves *et al.* 1998). Com base nestes resultados o fungo foi pesado e misturado a amido de milho PA, obtendo-se as concentrações de  $5 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  conídios.g<sup>-1</sup> da mistura.

O produto à base de TD utilizado foi fornecido pela empresa Keepdry (Keepdry™), contendo 86% de dióxido de sílica amorfa com granulometria média de 5µm.

**Efeito da umidade sobre a germinação do fungo.**

Para verificar o efeito da umidade na germinação do fungo monitorou-se sua viabilidade nos diferentes tratamentos. O fungo foi produzido como descrito anteriormente, e 0,1 mL de suspensão contendo aproximadamente  $10^5$  conídios.mL<sup>-1</sup> foi inoculado na superfície do meio de cultura ME + tetraciclina, em placas de Petri que foram incubadas a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e 14 h de fotofase, durante 16 h. A viabilidade foi avaliada observando-se as placas em microscópio de luz, no aumento de 400 vezes, realizando-se três contagens por quadrante, num total de quatro quadrantes por placa, obtendo-se assim a viabilidade inicial (91%).

Na montagem do experimento, o fungo foi misturado à ração comercial para aves e à ração comercial +TD, e em seguida, distribuiu-se o material em tubos de vidro estéreis, que foram divididos em dois grupos, um para cada uma das umidades em teste ( $55 \pm 6\%$  e  $95 \pm 2,6\%$ ). Assim foram constituídos três tratamentos para cada umidade: 1) Fungo; 2) Fungo+Ração; 3) Fungo+Ração+TD.

Todo o material foi acondicionado durante 10 dias em potes plásticos com tampa e com fundo recoberto por espuma de poliuretano umedecida, no caso da umidade elevada, e para a baixa umidade os potes plásticos não apresentavam esta espuma e permaneceram sem a tampa.

As avaliações foram realizadas com 1, 2, 3, 6, e 10 dias, retirando-se amostras que foram diluídas seriamente em água + espalhante adesivo, e as suspensões foram quantificadas e diluídas para se obter uma concentração final de  $10^6$  conídios.mL<sup>-1</sup>. Em seguida, 0,1 mL da suspensão de cada tratamento foi inoculado na superfície da placa de Petri, adotando-se o procedimento para incubação e avaliação, conforme descrito anteriormente.

Os dados de viabilidade foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x/100}$  utilizando-se o programa Excel® e comparando-se as médias de mortalidade pelo teste de Tukey (P<0,05) com o auxílio do programa Sisvar® (Ferreira 1992). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas no tempo (split-plot).

**Interação dos agentes de controle.** O experimento constou de cinco tratamentos adicionados à ração esterilizada para aves, contendo três repetições de 15 insetos cada (n=15), submetidos às umidades de  $55 \pm 6\%$  e  $95 \pm 2,6\%$ . As umidades foram mantidas como descrito anteriormente. No tratamento apenas com TD misturou-se 2 g.kg<sup>-1</sup> de ração, e nos tratamentos apenas

com fungo foram utilizadas quantidades equivalentes à 1g de mistura (fungo + amido) por placa de Petri, nas duas concentrações. Na combinação da TD com ambas as concentrações do patógeno, foram utilizadas as mesmas proporções que dos agentes isoladamente.

A incorporação dos agentes de controle na ração ocorreu agitando-se o material em sacos plásticos fechados, durante 1 minuto. Em seguida, 5g da mistura homogênea foram distribuídos em cada placa de Petri, e na testemunha, colocou-se apenas ração. Os potes foram incubados em B.O.D. ( $26 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotofase de 14 h), durante 15 dias.

As avaliações foram realizadas diariamente, sendo os insetos mortos retirados e desinfestados em solução de álcool 70% e água destilada, e transferidos individualmente para câmara úmida, nas mesmas condições de incubação do experimento, a fim de confirmar a morte pelo fungo. Nos tratamentos que continham TD, a mortalidade considerada foi a total. A umidade junto às placas foi medida três vezes ao dia com um termohigrômetro, sendo duas avaliações na foto fase e uma na escotofase, registrando-se os valores para cálculo de uma média diária.

Os dados de mortalidade obtidos foram transformados em  $\arcsen \sqrt{x/100}$ , utilizando-se o programa Excel® e submetidos à análise de variância (teste F), comparando-se as médias de mortalidade pelo teste de Tukey (P<0,05), também utilizando-se o programa Sisvar® (Ferreira 1992). A interação entre os agentes e a interpretação da mesma foi calculada pelo método apresentado por Koppenhofer & Kaya (1997), baseado no teste do  $\chi^2$ , comparando-se a mortalidade observada (MO) com a esperada (ME), segundo a fórmula proposta pelos autores:

$$ME = TD + \frac{Bb(100 - TD)}{100}, \text{ onde TD é a mortalidade}$$

causada pela TD e Bb é a mortalidade causada pelo fungo. Assim, considera-se efeito aditivo (H<sub>0</sub>) para os valores  $\leq 3,84$  (gl=1), sendo que para os excedentes ao tabelado (>3,84) rejeita-se H<sub>0</sub>, e foi calculado um índice através da diferença entre a mortalidade obtida no tratamento contendo os agentes combinados (M<sub>TDBb</sub>) e a mortalidade esperada (M<sub>TDBb</sub>- ME). Quando esta diferença apresenta valores positivos, o efeito é o sinergismo, e quando negativa, considera-se antagonismo.

**Resultados e Discussão**

**Efeito da umidade sobre a germinação do fungo.**

Verificou-se que a porcentagem de germinação reduziu-se ao longo do tempo em todos os tratamentos, em ambas as umidades de incubação, sendo mais evidente na última avaliação (Tabela 1).

Contudo, os efeitos foram mais drásticos na umidade de 55%, já que nos tratamentos incubados a 95% a viabilidade foi menos afetada até o terceiro dia, tempo suficiente para o fungo germinar e penetrar a cutícula do inseto (Alves 1998).

De maneira diferente, Lord (2005) constatou, em seus estudos, que *B. bassiana* apresentou maior porcentagem de germinação em umidades relativas mais baixas (43% e 56%), sendo que em umidade mais elevada (75% e 85%) verificou-se, após certo tempo, influência negativa na germinação.

Considerando que a umidade elevada é recomendada para o crescimento de *B. bassiana* (Ferron 1977), e a divergência entre os resultados obtidos neste estudo e também por Lord (2005), concorda-se com a afirmação feita pelo último autor, segundo o qual a interação do fungo com a umidade do ambiente trata-se de uma questão complexa e controversa, e desta forma, torna-se difícil estabelecer uma regra.

Além disso, comprovou-se que a TD é inócua ao fungo, pois ao se comparar os valores obtidos neste parâmetro, entre o fungo isoladamente e associado à TD, excetuando-se o ocorrido no segundo e terceiro dias de avaliação na umidade de 95%. Nas demais, a viabilidade do fungo no tratamento associado não diferiu significativamente ou foi superior à viabilidade do fungo isoladamente, corroborando observações feitas por Lord (2001).

**Interação dos agentes de controle.** Verificou-se que a maior mortalidade foi obtida nos tratamentos em que os insetos foram mantidos em baixa umidade (55%), superando em quase todas as concentrações, os valores encontrados a 95% (Tabela 2).

Contudo, conforme visto anteriormente, a viabilidade do fungo na maior umidade de incubação permaneceu maior durante o período de germinação e penetração do fungo, e desta forma, é provável que este fator ambiental não seja responsável pela redução da mortalidade dos insetos incubados nessa condição.

A presença de TD também influenciou diretamente a mortalidade, haja vista que os tratamentos que a continham combinada ao fungo apresentaram valores de mortalidade mais elevados em ambas as umidades relativas.

Analisando-se a mortalidade dos diferentes tratamentos separadamente em cada umidade, observou-se que na menor, o tratamento que continha apenas TD atingiu valores de mortalidade que não diferem estatisticamente dos tratamentos com os agentes combinados. Nos demais, apenas o fungo na concentração de  $5 \times 10^7$  conídios.g<sup>-1</sup> diferiu da testemunha, com valores intermediários de 46,7% de mortalidade.

**Tabela 1.** Porcentagem de germinação de conídios de *Beauveria bassiana* (Bb) em dois diferentes substratos, ração (R) e ração + Terra de diatomáceas (TD), e em duas umidades relativas, 55 e 95% durante seis dias.

Tempo de incubação (dias)	Umidade/Tratamentos/% de viabilidade					
	55%			95%		
	Bb	Bb + R	Bb + TD	Bb	Bb + R	Bb + TD
0	91±0,88 A	91±0,88 A	91±0,88 A	91±0,88 A	91±0,88 A	91±0,88 A
1	66±4,40 Ba <sup>1</sup>	64±0,88 Ba	60±2,60 Ba	90±0,00 Aa <sup>*2</sup>	86±0,33Aa <sup>**3</sup>	87±0,57 Aa <sup>***4</sup>
2	54±1,45 Ba	11±0,57 Cb	47±2,18 BCa	68±1,73 Ba*	37±5,92 Cc <sup>**</sup>	55±1,85 Bb
3	26±1,15 Cb	11±3,38 Cc	45±9,47 Ca	65±0,88 Ba*	49±3,78 Bb <sup>**</sup>	47±5,04 Bb
6	0±0,00 Db	3±1,33 Dc	23±3,84Da	20±1,45 Cc*	50±3,17 Ba <sup>**</sup>	34±0,00 Cb <sup>***</sup>

Bb = *B. bassiana* 10<sup>9</sup>.g<sup>-1</sup>; R = *B. bassiana* 10<sup>9</sup>.g<sup>-1</sup> + 1g Ração; Bb + TD = *B. bassiana* 10<sup>9</sup>.g<sup>-1</sup> + 1g ração + 0,002g Terra de Diatomácea

<sup>1</sup> Médias (±EP) seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha para cada umidade não diferem entre si, segundo o teste de Tukey (P<0,05).

<sup>2</sup> \*diferença significativa para o tratamento Bb entre 55 e 95% de umidades.

<sup>3</sup> \*\* diferença significativa para o tratamento R entre 55 e 95% de umidades.

<sup>4</sup> \*\*\* diferença significativa para o tratamento TD entre 55 e 95% de umidades.

$F_{1\text{dia}} = 0,63$ ,  $P = 0,5447$ ,  $CV = 3,77$ ;  $F_{2\text{dias}} = 6,50$ ;  $P = 0,0122$ ,  $CV = 8,08$ ;  $F_{3\text{dias}} = 8,07$ ;  $P = 0,0060$ ,  $CV = 14,89$ ;  $F_{6\text{dias}} = 36,72$ ;  $P = 0,0000$ ,  $CV = 12,32$ ; G.L. = 2 para todas as análises.

**Tabela 2.** Porcentagem de mortalidade total (T) ou confirmada (C), de adultos de *Alphitobius diaperinus* em duas umidades de incubação, 55±6% e 95±2,6%.

Mortalidade/Tratamentos	Mortalidade	
	55%	95%
(T) Testemunha	11,1 ± 0,88 C a <sup>1</sup>	15,6 ± 0,88 B a
(T) Terra Diatomácea (TD)	95,6 ± 2,23 A a	28,9 ± 13,49 AB b
(C) <i>B. bassiana</i> (Bb) 5×10 <sup>7</sup>	46,7 ± 0,00 B a	6,7 ± 00,00 B b
(C) <i>B. bassiana</i> (Bb) 1×10 <sup>8</sup>	28,9 ± 5,87 BC a	17,8 ± 5,87 B a
(T) TD + B.b. 5×10 <sup>7</sup>	97,8 ± 2,23 A a	68,9 ± 15,56 A b
(T) TD + B.b. 1×10 <sup>8</sup>	97,8 ± 2,23 A a	62,2 ± 18,98 A b

C.V. = 30,2%

<sup>1</sup> Médias (±EP) seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, segundo o teste de Tukey a 5% de significância.

$F_{\text{tratamentos}} = 29,58$ ;  $P = 0,0000$ ,  $gl = 5$ ;  $F_{\text{umidade}} = 27,9$ ;  $P = 0,0000$ ,  $gl = 1$ ;  $F_{\text{tratamentos*umidade}} = 2,65$ ;  $P = 0,0482$ ,  $gl = 5$ .

Na umidade de 95%, verificou-se que a TD sozinha, apesar de ter atingido 29% de mortalidade, não diferiu da testemunha nem dos demais tratamentos, caracterizando influência negativa da umidade em sua eficiência. Este fato é comprovado ao comparar os resultados dos tratamentos incubados nas duas umidades, não havendo diferença significativa na mortalidade apenas no tratamento do fungo aplicado sozinho na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios.g<sup>-1</sup>.

Michalaki *et al.* (2006) obtiveram resultados semelhantes avaliando a combinação de *Metarhizium anisopliae* e TD para o controle de *T. confusum*, constatando que quanto maior a umidade do ambiente de incubação, menor a mortalidade ocasionada pela TD.

Outros autores também observaram tal relação, quando avaliaram a influência da umidade na eficiência da TD aplicada sozinha para o controle de *T. confusum* e *T. castaneum* (Arthur 2000) e também somente para *T. confusum* (Vayas & Athanassiou 2004). Estudos realizados por Lord (2005) com *B. bassiana* associado à TD para o controle de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bruchidae) obtiveram os maiores valores de mortalidade na menor umidade de incubação (43%), inclusive nos tratamentos que continham apenas o fungo.

Estes dados corroboram os obtidos no presente trabalho, visto que a umidade de 55% apresentou os maiores valores de mortalidade, não diferindo estatisticamente da maior umidade apenas no tratamento com o fungo aplicado na concentração de  $1 \times 10^8$  conídios.g<sup>-1</sup> (Tabela 2).

Assim, sob efeito da maior umidade os insetos podem ter maior movimentação, revolvendo mais intensamente a ração e proporcionando maior contato desta com o fungo, possibilitando até mesmo uma maior limpeza do corpo do inseto devido ao atrito gerado, dificultando a permanência do fungo na superfície da cutícula e conseqüentemente a infecção.

Neste sentido, trabalhos realizados por Alves (dados não publicados) com TD aplicada diretamente nos adultos do cascudinho, demonstraram tal limpeza do corpo do inseto pelo contato com o substrato.

No entanto, estes resultados diferem de Akbar *et al.* (2004), que não encontraram diferenças significativas quando compararam o efeito de duas umidades relativas (56% e 75%) na mortalidade causada por TD acrescida de diferentes concentrações de *B. bassiana* para *T. castaneum*. Porém, isto pode ser explicado pelo fato de que no presente trabalho utilizou-se uma umidade máxima de incubação diferente (95%), resultando em um intervalo de 40%, o dobro do utilizado pelo autor e que provavelmente foi o fator que caracterizou a diferença significativa.

Vayas & Athanassiou (2004) reportaram que 10% de variação na umidade (por exemplo, 55% para 65%) é suficiente para que ocorra uma redução considerável na mortalidade de *T. confusum* causada pela TD e conseqüentemente pelos tratamentos em que ela encontra-se combinada.

É certo que a alta umidade do substrato interfere no modo de ação da TD, diminuindo a abrasão e conseqüentemente minimizando o efeito dessecante (Fields & Korunic 2000, Mewis & Ulrichs 2001).

Além disso, quando expostas em ambientes com altos níveis de umidade relativa do ar, as partículas de TD absorvem-na, o que resulta na redução adicional na eficácia (Arthur 2001). Outro efeito que também pode ser atribuído à alta umidade do ambiente sobre a TD é que nestas condições a perda de água do corpo do inseto é menor, conferindo a ele, provavelmente maior resistência à dessecação.

Na análise da interação ocorreu sinergismo entre os agentes nas duas concentrações de fungo testadas, mas apenas quando incubados na maior umidade, sendo que na umidade menor o efeito foi aditivo (Tabela 3).

**Tabela 3.** Interação de Terra de Diatomácea (TD) e *Beauveria bassiana* na mortalidade de adultos de *Alphitobius diaperinus* em duas umidades distintas de incubação, 55±6% e 95±2,6%, analisada pelo teste do  $\chi^2$  (gl = 1).

Concentração de <i>B. bassiana</i> (conídios.g <sup>-1</sup> )	% Mortalidade				$\chi^2$
	<i>B. bassiana</i> sem adição de TD	Observada de <i>B. bassiana</i> + TD	Esperada de <i>B. bassiana</i> + TD		
<b>55%</b>					
0	-	95,6	-	-	
$5 \times 10^7$	46,7	97,8	97,6	0,00 <sup>1</sup>	
$1 \times 10^8$	28,9	97,8	96,6	0,00 <sup>1</sup>	
<b>95%</b>					
0	-	28,9	-	-	
$5 \times 10^7$	6,7	68,9	33,7	36,81 <sup>2</sup>	
$1 \times 10^8$	17,8	62,2	40,9	11,11 <sup>2</sup>	

<sup>1</sup>- Efeito aditivo:  $\chi^2 \leq 3,84$ .

<sup>2</sup>- Efeito sinérgico:  $\chi^2 > 3,84$  (Quando  $M_{TDbb} - ME =$  valor positivo).

\* Nenhum dos tratamentos apresentou efeito antagônico:  $\chi^2 > 3,84$  (Quando  $M_{TDbb} - ME =$  valor negativo).

De forma diferente, Akbar *et al.* (2004) avaliaram a interação entre TD e o fungo *B. bassiana* na mortalidade de larvas de *T. castaneum* em duas umidades distintas (56% e 75%), constatando sinergismo em ambas para todas as concentrações de fungo testadas. Isto pode ter ocorrido porque as larvas geralmente são mais susceptíveis à ação tanto do fungo quanto da TD por apresentarem um tegumento mais frágil que os adultos. Além disso, o maior volume corpóreo de *A. diaperinus* em relação a *T. castaneum* pode representar maior reserva de água, e consequentemente maior resistência contra dessecação.

O valor próximo a 100% de mortalidade ocasionada pela TD aplicada sozinha na umidade de 55%, quando lançado no cálculo da interação entre os agentes, impede que se obtenha um valor que indique a ocorrência de sinergismo, e mesmo que a adição do fungo trouxesse algum ganho, ele seria imperceptível estatisticamente.

Concluiu-se que a TD e o fungo *B. bassiana* têm potencial para uso conjunto como uma alternativa viável para o controle do cascudinho, podendo ocorrer interação sinérgica entre os agentes dependendo da estratégia adotada, sendo a umidade do ambiente e a concentração do fungo os fatores limitantes a serem considerados para a interação. Ressalta-se que no presente trabalho, no tratamento com fungo na menor concentração associado à TD obteve-se resultados de sinergismo que não diferiram estatisticamente da maior concentração, o que pode ser muito importante do ponto de vista econômico, pois a aplicação em um aviário normalmente demandaria grandes quantidades dos dois agentes.

É preciso que se sejam realizados novos estudos com os agentes combinados, testando também outros possíveis fatores limitantes, como temperatura, influência do substrato, persistência dos agentes no ambiente, para que seja possível então indicar a melhor forma e estratégia de aplicação em um programa de manejo integrado para o cascudinho.

#### Literatura Citada

- Akbar, W., J.C. Lord, J.R. Nechols & R.W. Howard. 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *J. Econ. Entomol.* 97: 273-280.
- Alves, S.B. Fungos Entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos, 2ªed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.289-381.
- Alves, S.B., J.E.M. ALMEIDA, A. MOINO JR., L.F.A. ALVES. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos, 2ªed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.637-712.
- Alves, L.F.A., G.D. Buzarello, D.G.P. Oliveira & S.B. Alves. 2006. Ação da terra de diatomácea contra adultos do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Arq. Inst. Biol.* 73: 115-118.
- Alves, L.F.A., M.H. Gassen, F.G.S. Pinto, P.M.O.J. Neves & S.B. Alves. 2005. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) sobre cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários comerciais de Cascavel, PR. *Neotrop. Entomol.* 34: 507-510.
- Alves, L.F.A., V.S. Alves, D.F. Bressan, P.M.O.J. Neves & S.B. Alves. 2004. Ocorrência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em adultos de cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários comerciais em Cascavel, PR. *Neotrop. Entomol.* 33: 793-795.
- Arends, J.J. 1987. Control, management of the litter beetle. *Poult. Digest.* 172-176.
- Arthur, F.H. 2000. Toxicity of diatomaceous earth to red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae): Effects of temperature and relative humidity. *J. Econ. Entomol.* 93: 526-532.
- Arthur, F.H. 2001. Immediate and delayed mortality of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) exposed on wheat treated with diatomaceous earth: Effects of temperature, relative humidity, and exposure interval. *J. Stored Prod. Res.* 37: 646-649.
- Avicultura Industrial. 2006. Liderança consolidada. Anuário 2006 da Avic. Ind. 1140: 25p. Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/ListaRevista.asp?IDRevista=1221&RevistaNumero=1140&RevistaAno=2006> Acesso em 31 out. 2006.
- Bates, C., K.L. Hiatt & N.J. Stern. 2004. Relationship of *Campylobacter* isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand. *Avian Dis.* 48: 138-147.
- Chernaki-Leffer, A.M., F.A. Lazzari, S.M.N. Lazzari & L.M. Almeida. 2001. Controle do cascudinho. *Avic. Ind.* 1094: 22-25.
- Chernaki-Leffer, A.M., S.M. Biesdorf, L.M. Almeida, E.V.B. Leffer & F. Vigne. 2002. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. *Ver. Brás. Cienc. Avic.* 4: 243-247.
- Chernaki-Leffer, A.M. 2004. Dinâmica populacional, estimativa da resistência a inseticidas e alternativas de controle para o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 123p.
- Crawford, P.J. W.M. Brooks & J.J. Arends. 1998. Efficacy of field-isolated strains of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) as microbial control agents of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 91: 1295-1301.
- Despins J.L. & R.C. Axtell. 1994. Feeding behavior and growth of turkey poult fed larvae of the

- darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. Poult. Sci. 73: 1526-1533.
- Ferreira, D.F. 1992. SISVAR (Sistema para análise de variância para dados balanceados).
- Ferron, P. 1977. Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* [Fungi Imperfecti, Moniliales] in imagines of *Acanthoscelides obtectus* [Col.: Bruchidae]. Entomophaga 22: 397-404.
- Fields, P. & Z. Korunic. 2000. The effect of grain moisture content and temperature on the efficacy of diatomaceous earths from different geographical locations against stored-product beetles. J. Stored Prod. Res. 36: 1-13.
- Geden, C.J. & D.C. Steinkraus. 2003. Evaluation of three formulations of *Beauveria bassiana* for control of lesser mealworm and hide beetle in Georgia poultry houses. Vet. Entomol. 96: 1602-1607.
- Koppenhofer, A.M. & H.K. Kaya. 1997. Additive and synergistic interaction between entomopathogenic nematodes and *Bacillus thuringiensis* for scarab grub control. Biol. Control. 8: 131-137.
- Korunic, Z. 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. J. Stored Prod. Res. 4: 87-97.
- Lord, J.C. 2001. Desiccant dust synergize the effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on stored-grain beetles. J. Econ. Entomol. 94: 367-372.
- Lord, J.C. 2005. Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favor efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) for the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bruchidae). Biol. Control. 34: 180-186.
- Lorini, I., A. Ferreira Filho, I. Barbieri, N. A. Demaman, R. R. Martins & O. Dalbello. 2001. Terra de diatomáceas como alternativa no controle de pragas de milho armazenado em propriedade familiar. Agroeco. e Desen. Rur. Sust. 2: 32-36.
- Mewis, I. & C. Ulrichs. 2001. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum*, *Tenebrio molitor*, *Sitophilus granarius* and *Plodia interpunctella*. J. Stored Prod. Res. 37: 153-164.
- Michalaki, M.P., C.G. Athanassiou, N.G. Kavallieratos, Y.A. Batta & G.N. Balotis. 2006. effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. Crop Prot. 25: 418-425.
- Oliveira, R.C. 2005. Influência do substrato e a utilização de armadilhas com *Beauveria bassiana* e inseticidas no controle de *Alphitobius diaperinus*. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Curitiba, 66p.
- Quarles, W. 1992. Diatomaceous earth for pest control. IPM Practitioner. 14: 1-11.
- Rohde, C., L.F.A. Alves, P.M.O.J. Neves, S.B. Alves, E.R.L. Silva & J.E.M. Almeida. 2006. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok contra o Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Neotrop. Entomol. 35: 231-240.
- Steelman, D. 1996. Darkling beetles are costly pests. Poultry Digest. 55: 22-23.
- Steinkraus, D.C., C.J. Geden & D.A. Rutz. 1991. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria bassiana*: Effects of host stage, formulation, substrate and host passage. J. Med. Entomol. 28: 314-321.
- Vayas, B.J. & C.G. Athanassiou. 2004. Factors affecting the insecticidal efficacy of the diatomaceous earth formulation SilicoSec against adults and larvae of the confused flour beetle, *Tribolium confusum* DuVal (Coleoptera: Tenebrionidae). Crop Prot. 23: 565-573.