

## SCIENTIFIC NOTE

Ocorrência Natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) Sobre o Cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em Aviário Comercial de Cascavel, PR

LUIS F.A. ALVES<sup>1</sup>, MARIANA H. GASSEN<sup>2</sup>, FABIANA G.S. PINTO<sup>3</sup>,  
PEDRO M.O.J. NEVES<sup>4</sup> E SÉRGIO B. ALVES<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Lab. Zoologia, Univ. Estadual do Oeste do Paraná/CCBS, Bolsista de Produtividade em Pesquisa/CNPq

<sup>2</sup>Lab. Controle Biológico, Instituto Biológico, Centro Experimental de Campinas, C. postal 70, 13001-970, Campinas, SP

<sup>3</sup>Lab. Microbiologia, Univ. Estadual do Oeste do Paraná/CCBS, R. Universitária, 2069, 85819-110, Cascavel, PR

<sup>4</sup>Depto. Agronomia Universidade Estadual de Londrina/ C.postal 601, 86051-970, Londrina, PR

<sup>5</sup>Depto. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Univ. São Paulo/Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", C. postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP

*Neotropical Entomology* 34(3):507-510 (2005)

Natural Occurrence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman (Moniliales: Moniliaceae) on the Lesser Mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), in a Poultry House in Cascavel, PR

ABSTRACT - One of the main problems in poultry houses in Brazil is the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer. This insect inhabits the litter, manure and soil of poultry houses, feeding on bird manure, cadavers and spilt feed. The lesser mealworm serves as a reservoir of many animal pathogens. Chickens also feed readily on the beetles in infested litter and this sometimes causes nutritional problems and affects weight gain. Current control measures are generally unsatisfactory and microbial control may be a promising strategy to control *A. diaperinus*. Natural occurrence of entomopathogens is very important for the natural control of insect pests and this paper records the occurrence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on the lesser mealworm in commercial poultry houses, in Brazil. The evaluation was carried out weekly for six months (September/2002 to February/2003). The soil around the poultry house was collected and transferred to Zoology Laboratory from Uniãoeste, at Cascavel, PR. Infected larvae and adults were always present, but infected pupae were registered twice. Larvae were more susceptible than pupae and adults (incidence ranging from 49% to 100%, mean 74%, 33% to 50%, mean 6.9%; 0.9% to 100%, mean 40.7%, respectively). The pathogenicity of the fungus was confirmed under laboratory conditions following procedures outlined in Koch's postulates.

KEY WORDS: Microbial control, entomopathogenic fungus, animal production

RESUMO - A presença de populações elevadas do cascudinho-dos-aviários, *Alphitobius diaperinus* Panzer, nos aviários é um dos principais problemas da avicultura brasileira. O inseto infesta os aviários, transmite doenças às aves e afeta seu desenvolvimento quando ingerido no lugar da ração. Seu controle é dificultado pelos hábitos crípticos e pela presença constante das aves nos aviários e o controle microbiano pode ser uma alternativa viável para o problema. Sabe-se que a presença de entomopatógenos no ambiente contribui para o controle natural dos insetos-praga. Este trabalho relata a ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre larvas e adultos do cascudinho em aviários comerciais no Brasil. O experimento foi realizado de setembro/2002 a fevereiro/2003, com amostragem semanal de insetos no solo periférico de um aviário comercial em Cascavel, PR. O fungo esteve presente em todas as avaliações, infectando principalmente larvas (49% a 100%, média de 74,4%) e adultos (0,9% a 100%, média de 40,7%) encontrados no solo, sendo que pupas infectadas ocorreram apenas em duas avaliações (33% a 50,0%, média de 6,9%). O isolado de fungo obtido nos cadáveres foi identificado como sendo *B. bassiana* e teve sua patogenicidade ao cascudinho comprovada pelo postulado de Koch, em condições de laboratório.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, fungo entomopatogênico, produção animal

*Alphitobius diaperinus* Panzer, popularmente conhecida por cascudinho, é atualmente um dos grandes problemas da avicultura mundial, incluindo o Brasil, sendo também conhecido como praga secundária de derivados de grãos armazenados. Adaptou-se muito bem às condições dos aviários, onde se alimenta de ração, fezes e animais mortos (McAllister et al. 1995, Pacheco & Paula 1995).

Os prejuízos provocados à avicultura decorrem do fato de os insetos afetarem o desenvolvimento inicial das aves, pois são ingeridos pelas mesmas em grande quantidade no lugar da ração balanceada. Além disso, causam ferimentos no trato digestivo das aves, podendo transmitir bactérias, vírus, fungos, protozoários e platelmintos parasitos (Avancini & Ueta 1990, Despina et al. 1994, Despina & Axtell 1995).

Nos aviários, os insetos vivem em meio à cama do aviário, principalmente ao redor dos comedouros e, também no solo (até 20 cm de profundidade) onde se abrigam durante a fase pupal. Medidas de controle são necessárias, mas os hábitos do inseto e a presença constante das aves nos aviários dificultam a prática de medida de controle, principalmente aquelas que se baseiam no uso de produtos químicos, que embora eficientes podem causar problemas de intoxicação nas aves.

Assim, o controle biológico pode ser uma alternativa viável, pois os microrganismos entomopatogênicos têm se mostrado inócuos aos animais endotérmicos, incluindo-se as aves (Alves 1998, Crawford et al. 1998). Tentativas sobre o uso desta estratégia para o controle do cascudinho foram relatadas na literatura, principalmente a partir da década de 90, sendo constatado o potencial de isolados do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuilleman para o controle da praga (Crawford et al. 1998, Geden et al. 1998, Chernaki-Leffer 2004). Steinkraus et al. (1991) relataram a ocorrência natural desse fungo sobre larvas e adultos de cascudinho em aviários nos EUA, e também ressaltam que algumas condições verificadas na cama dos aviários, como temperatura estável, umidade relativa elevada e a presença de solo compactado abaixo da cama nos aviários, podem favorecer a ocorrência de epizootias de fungos entomopatogênicos, contribuindo para o controle da praga.

O presente trabalho registra a ocorrência natural de *B. bassiana* sobre larvas e adultos do cascudinho, tendo-se comprovado sua ação patogênica e elevada virulência.

Quinzenalmente, entre os meses de setembro de 2002 e fevereiro de 2003 foram coletadas amostras de solo de aproximadamente 100 cm<sup>3</sup>, a cada 5 m, ao longo da margem externa de um aviário comercial localizado na Linha Alto Bom Retiro, Cascavel, PR.

As amostras foram individualizadas em sacos plásticos identificados e no Laboratório de Zoologia da Unioeste foram transferidas para bandejas plásticas, sendo coletadas larvas, pupas e adultos vivos ou mortos, com ou sem sinal da presença de fungo. Os insetos vivos foram mantidos em placas de Petri com ração para aves e observados diariamente. Quando morriam eram desinfetados por imersão em álcool 70% durante 15 s e lavados em água destilada esterilizada e, em seguida, transferidos para câmara úmida, mantidos a 26 ± 1°C e fotofase de 14h, a fim de se comprovar o agente causal de mortalidade. Adotou-se o mesmo procedimento

para aqueles insetos encontrados mortos no campo e sem sinal da presença do fungo.

O fungo foi isolado dos cadáveres, utilizando-se meio de cultura seletivo (aveia-Dodine) (Chase et al. 1986) e, em seguida, multiplicado em meio BDA ou em meio para esporulação (Alves et al. 1998), sendo em seguida identificado e armazenado no banco de patógenos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

A fim de comprovar sua patogenicidade foram realizados bioensaios com o isolado obtido, seguindo o postulado de Koch. Assim, o fungo foi produzido em placa de Petri, sobre meio para produção de esporos (Alves et al. 1998). Após 10 dias de incubação os conídios foram recolhidos, preparando-se uma suspensão de conídios em água destilada + espalhante adesivo Tween 80 (0,01%), padronizada na concentração de 10<sup>9</sup> conídios/ml, além da testemunha (água destilada + espalhante adesivo).

Larvas e adultos do cascudinho provenientes da criação mantida no Laboratório de Zoologia da Unioeste foram imersos na suspensão por 10 segundos sob agitação, sendo divididos em quatro repetições de 15 indivíduos. Em seguida, as larvas foram individualizadas em caixas de acrílico e os adultos reunidos em placas de Petri, todas tendo o fundo recoberto por papel filtro e com uma pequena porção de ração, ambos esterilizados. Todo o conjunto foi mantido no interior de recipientes plásticos fechados contendo no fundo uma camada de espuma de poliuretano umedecida com água destilada até a saturação, incubados em câmara BOD (26 ± 1°C, fotofase de 14h), sendo observados diariamente. Os insetos mortos foram retirados, desinfetados externamente em álcool 70% e mantidos em uma câmara úmida para confirmação do agente causal da mortalidade, como descrito anteriormente.

Em todas as avaliações foram encontrados insetos infectados pelo fungo *B. bassiana* e, embora tenham sempre sido coletados mais adultos que larvas (cerca de 380 e 141 indivíduos/avaliação, respectivamente), houve maior percentual de larvas infectadas em relação às pupas e adultos (74,4% e 40,7% de infecção para larvas e adultos, respectivamente) (Tabela 1).

A porcentagem de larvas infectadas no solo aumentou aos sete dias após a retirada das aves, voltando a cair na avaliação seguinte. Provavelmente isso esteja relacionado ao aumento da permanência dos insetos no interior do aviário, o que fez reduzir a quantidade de insetos na periferia do mesmo. Em consequência, reduziu-se a incidência de fungo nos insetos coletados nesse local, até que nova perturbação interna voltasse a ocorrer e provocasse a saída dos insetos. No caso dos adultos essa tendência nem sempre foi constatada.

Nos meses de setembro a dezembro de 2002 e fevereiro de 2003 a mortalidade principalmente de larvas pelo fungo esteve quase sempre acima de 70%, enquanto no início do mês de janeiro de 2003 houve uma queda brusca no número de larvas coletadas e, conseqüentemente na incidência de fungo neste estágio de desenvolvimento. Por outro lado, neste último período de avaliação, o número de adultos coletados elevou-se consideravelmente, mas não houve reflexo na incidência do fungo. Este fato provavelmente está associado

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade natural do cascudinho (*A. diaperinus*) em diferentes estágios de desenvolvimento, por *B. bassiana* ao longo de seis meses de avaliação (Cascavel, PR).

Avaliação	Lote	Estágio de desenvolvimento					
		Larva	n <sup>1</sup>	Pupa	n <sup>1</sup>	Adulto	n <sup>1</sup>
05/09/02 <sup>2</sup>	1	72,8	235	0,0	9	4,3	46
19/09/02	2	69,5	200	0,0	1	14,1	85
02/10/02	3	100	55	0,0	0	100	16
17/10/02 <sup>2</sup>	4	100	192	0,0	0	100	91
31/10/02	5	49,4	136	0,0	1	94,1	17
14/11/02	6	88,2	34	0,0	1	35,4	731
28/11/02	7	66,7	108	33,3	3	34,9	952
12/12/02 <sup>2</sup>	8	93,2	88	50,0	2	36,8	125
09/01/03 <sup>3</sup>	9	11,5	30	0,0	0	33,0	749
24/01/03 <sup>2</sup>	10	80,0	90	0,0	3	20,7	240
02/02/03	11	68,6	140	0,0	5	14,5	440
20/02/03 <sup>2</sup>	12	93,2	103	0,0	4	0,9	316
Média		74,4	141,1	6,9	2,9	40,7	317,3

<sup>1</sup>Número total de insetos coletados nos diferentes estágios de desenvolvimento

<sup>2</sup>As aves foram retiradas do aviário sete dias antes da amostragem de solo periférico

<sup>3</sup>Precedida de aplicação de inseticida à base de piretróide

à aplicação de inseticida à base de cipermetrina no aviário logo após a retirada das aves, no início do mês de janeiro, fato que não havia ocorrido na saída dos lotes anteriores.

O manejo dos aviários, ao oferecer condições adequadas para o desenvolvimento do inseto (abrigo, temperatura e alimento), permite que sua população cresça a cada lote de aves, com sobreposição de gerações. Esse crescimento é interrompido periodicamente com a remoção das aves e revolvimento ou troca do substrato (cama) ou ainda com aplicações de inseticidas químicos. Nessa ocasião, parte da população na fase adulta busca outros locais para se abrigar (fendas no solo ou piso de cimento, em vigas e colunas internas), retornando à cama do aviário quando as aves são novamente alojadas. Parte das larvas busca o solo, onde se desenvolvem até a fase adulta, ovipositando neste local, restabelecendo a população dos insetos no aviário.

Neste ciclo, a entrada de indivíduos infectados por *B. bassiana* provenientes da periferia do aviário pode contribuir com o controle natural da praga, pois gradativamente eleva-se o potencial de inóculo no interior do aviário, favorecendo a ocorrência de epizootias, conforme constatado durante o transcorrer do estudo de dinâmica populacional no aviário em questão e, também por Steinkraus *et al.* (1991), nos EUA. Além disso, a ocorrência de fungo na região periférica representa substancial redução no número de insetos que podem reinfestar o aviário, visto que na maioria das vezes a mortalidade larval nunca esteve abaixo de 65%.

Sabendo-se que no aviário em estudo são adotadas práticas de manejo baseadas exclusivamente na aplicação de inseticida químico, verifica-se que este procedimento é

ineficaz no controle do inseto em longo prazo. Além disso, quando não há compatibilidade entre o mesmo e os fungos entomopatogênicos, este procedimento pode afetar negativa e consideravelmente a eficiência do controle natural. Assim, são necessários estudos visando conhecer a compatibilidade entre inseticidas e outros produtos utilizados no manejo das aves e os fungos entomopatogênicos.

O fungo isolado foi patogênico aos insetos, em níveis comparáveis aos obtidos por Geden *et al.* (1998), que, tal como aqui verificado (Tabela 2), também constataram maior suscetibilidade larval, sugerindo que possa ser utilizado em futuros programas de controle biológico da praga.

### Agradecimentos

Aos colegas que auxiliaram na leitura do manuscrito, ao CNPq pela concessão de Bolsa de Produtividade em Pesquisa e à empresa Globoaves Agroindustrial Ltda., por disponibilizar o aviário para a realização deste trabalho.

### Literatura Citada

- Alves, S.B. 1998. Patologia e controle microbiano: Vantagens e desvantagens, p.21-37. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Alves, S.B., J.E.M. Almeida, A. Moino Jr. & L.F.A. Alves. 1998. Técnicas de laboratório, p.637-711. In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.

Tabela 2. Comparação da patogenicidade de isolados de *B. bassiana* para larvas e adultos do cascudinho em condições de laboratório (temperatura = 26 ± 1°C, fotofase de 14h).

Isolado	Mortalidade total (%) <sup>1</sup>	Mortalidade confirmada (%) <sup>2</sup>
Larva		
Unioeste2	98,3 a	98,3 a
Testemunha	1,7 b	0,0 b
Adulto		
Unioeste2	73,3 a	66,7 a
Testemunha	1,7 b	0,0 b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas e dentro de cada fase de desenvolvimento, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05).

<sup>1</sup>Valores obtidos sete dias da inoculação.

<sup>2</sup>Valores obtidos 10 dias após a constatação da morte do inseto.

**Avancini, R.M.P. & M.T. Ueta. 1990.** Manure breeding insects (Diptera and Coleoptera) responsible for cestoidosis in caged layer hens. *J. Appl. Entomol.* 110: 307-312.

**Chase, A.R., L.S. Osborne & V.M. Ferguson. 1986.** Selective isolation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from an artificial potting medium. *Fla. Entomol.* 69: 285-292.

**Chernaki-Leffer, A.M. 2004.** Dinâmica populacional, estimativa da resistência a inseticidas e alternativas de controle para o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797). Tese de doutorado, 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. 1995.** Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *Poultry Sci.* 74: 331-336.

**Despins, J.L., R.C. Axtell, D.V. Rives, J.S. Guy & M.D.**

**Ficken. 1994.** Transmission of enteric pathogens of turkeys by darkling beetle larva (*Alphitobius diaperinus*). *J. Appl. Poultry Res* 3: 61-65.

**Geden, C.J., J.J. Arends, D.A. Rutz & D.C. Steinkraus. 1998.** Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. *Biol. Control* 13: 71-77.

**McAllister, J.C., C.D. Steelman, L.A. Newberry & J.K. Skeeles. 1995.** Isolation of infectious bursal disease virus from the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). *Poultry Sci.* 74: 45-49.

**Pacheco, I.A. & D.C. de Paula. 1995.** Insetos de grãos armazenados – identificação e biologia. São Paulo, Fundação Cargill, 229p.

**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.

Received 29/VIII/03. Accepted 02/III/05.