

CONTROLE ASSOCIADO DE *ALPHITOBIOUS DIAPERINUS* COM O FUNGO ENTOMOPATOGÊNICO *BEAUVERIA BASSIANA* E INSETICIDAS QUÍMICOS

T.M. Alexandre^{1*}, P.M.O.J. Neves¹, P.H. Santoro¹, L.F.A. Alves²

¹Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Rod. Celso Garcia Cid PR 445, km 380, CEP 86051-990, Londrina, PR, Brasil. E-mail: tma_br@yahoo.com.br

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo verificar a eficiência do controle de *Alphitobius diaperinus*, utilizando uma combinação de *Beauveria bassiana* e inseticidas químicos, avaliando as possíveis interações de sinergismo, antagonismo ou aditivismo. Nos tratamentos para larvas foi pulverizado, separadamente, 0,1 mL do inseticida, 0,1 mL do fungo e 0,1 mL da mistura (inseticida + fungo). Após um minuto da aplicação, as larvas foram transferidas e individualizadas em caixas de acrílico e os adultos em placa de Petri. No tratamento contendo apenas fungo, os adultos foram mergulhados em 5 mL da suspensão de conídios. No tratamento combinado, os insetos foram pulverizados com inseticida e, após 24 horas, submersos em suspensão de conídios. Em uma segunda etapa foi realizado um experimento fungo + inseticida onde os insetos foram mergulhados em suspensão de conídios e, após 24 horas, pulverizados com inseticida. Na interação entre inseticidas e fungos houve predominância de efeitos antagônicos, que ocorreram em 52,27% dos experimentos. De modo geral, maiores concentrações de fungos levaram a efeitos aditivos. Os experimentos mostraram que, independentemente das Concentrações Letais dos dois inseticidas utilizados, aplicados tanto em adultos como em larvas, na maioria dos resultados os efeitos aditivos foram observados quando se utilizou a CL_{70} do fungo.

PALAVRAS-CHAVE: Controle associado, inseto-praga, produção animal.

ABSTRACT

ASSOCIATED CONTROL OF *ALPHITOBIOUS DIAPERINUS* (PANZER) (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) WITH ENTOMOPATHOGENIC FUNGUS *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL AND CHEMICAL INSECTICIDES. The objective of this study was to verify the effectiveness of control of *A. diaperinus*, using a combination of *Beauveria bassiana* and chemical insecticides, and to evaluate possible synergistic, antagonistic, or additive interactions. In treatments against larvae, 0.1 mL of the insecticide, 0.1 mL of the fungus, and 0.1 mL of the mixture (insecticide + fungus) were sprayed separately. One minute after application, the larvae were transferred and individualized in acrylic boxes, and adults transferred to a Petri dish. In the treatment containing the fungus alone, the adults were submersed in 5 mL of a conidial suspension. In the treatment consisting of insecticide + fungus, the insects were sprayed with insecticide and after 24 hours were submersed in a conidial suspension. The second stage of the experiment was carried out with fungus + insecticide, the insects being submersed in a conidial suspension and after 24 hours sprayed with insecticide. There was a predominance of antagonistic effects in the interaction between insecticides and fungi, which occurred in 52.27% of the cases. In general, higher concentrations of the fungus led to additive effects. The experiments showed that regardless of the lethal concentrations of both insecticides used, applied either on adults or on larvae, the additive effects were observed when the LC_{70} of the fungus was used.

KEY WORDS: Alternative control, insect pest, animal production.

INTRODUÇÃO

Alphitobius diaperinus é um tenebrionídeo originário do leste africano e foi introduzido em sistemas de

produção animal através de ração contaminada com o inseto (O'CONNOR, 1987). O cascudinho é responsável por diversos problemas que afetam direta ou indiretamente as aves. Esses insetos servem como alimento

*Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina-Uel

²Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil.

alternativo para elas que, diminuindo o consumo de ração, diminuem o ganho de peso quando comparadas às aves que se alimentam normalmente de ração balanceada (AXTELL; ARENDS, 1990).

Além desses aspectos, seus prejuízos também estão relacionados à capacidade de atuarem como vetor de patógenos, a exemplo de vírus, bactérias, fungos e protozoários (SAFRIT; AXTELL, 1984; CRAWFORD *et al.*, 1998).

A estratégia de controle do cascudinho tem sido feita através de inseticidas químicos (VAUGHAN *et al.*, 1984). Nos aviários, os insetos vivem em meio à "cama" (forração de maravalha que cobre o chão dos aviários), principalmente ao redor dos comedouros e também no solo (até 20 cm de profundidade) onde se abrigam durante a fase pupal (ALVES *et al.*, 2005).

Uma forma alternativa para o controle pode ser o controle associado, onde se utilizam subdoses de produtos químicos seletivos em conjunto com entomopatógenos (MOINO JUNIOR.; ALVES, 1998).

Não há relatos na literatura de trabalhos onde se tenha estudado o potencial do controle associado para o cascudinho, no entanto, existem estudos com outros insetos (FARGUES, 1973; 1975; BOUCIAS *et al.*, 1996; NEVES; ALVES, 1999).

Assim, este estudo teve como objetivo verificar a eficiência do controle de *A. diaperinus*, utilizando uma combinação do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* e inseticidas químicos, avaliando as possíveis interações de sinergismo, antagonismo ou aditivismo.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta dos insetos

Adultos e larvas de *Alphitobius diaperinus* foram coletados em granja avícola do Município de Londrina, PR. Após a coleta, os insetos foram mantidos em bandejas plásticas contendo cama do aviário e alimentados com ração esterilizada para aves.

Os bioensaios foram realizados com adultos e larvas com tamanho, aproximadamente, entre 1,0 a 1,3 cm de comprimento que corresponde ao 1º estágio segundo FRANCISCO; PRADO (2001) e SILVA *et al.* (2005).

Estimativa da Concentração Letal (CL) dos produtos

Foram utilizados os produtos: Thiametoxam (Actara® 250WG); Imidacloprid (Confidor® 750 GrDA) e Cipermetrina 15 g/100 mL, Clorpirifós 25 g/100 mL e Citronelal 1,0/100 mL (CCC) (Colosso®). Inicialmente foi estudado o efeito das formulações sobre a viabilidade dos conídios de *B. bassiana* pelo

método de mistura na calda (SILVA; NEVES, 2005). Todos os produtos mostraram-se seletivos ao fungo com níveis de germinação dos conídios superior a 95%.

O método de aplicação dos tratamentos no bioensaio utilizado foi de pulverização. Para o inseticida thiametoxam foram testadas as concentrações de 50; 100; 1.000; 2.000 e 4.000 ppm de ingrediente ativo para adultos, e 25, 75, 150, 300, 500 ppm de ingrediente ativo para larvas. Para o CCC foram 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 mL/L da formulação para adultos e larvas. As concentrações de inseticidas e de conídios de *B. bassiana*, utilizadas em todas as estimativas das CL, foram definidas previamente, determinando uma concentração que matasse cerca de 10% e outra que matasse 90%, estando as concentrações utilizadas distribuídas entre esses extremos (ROBERTSON *et al.*, 1984). Em todos os experimentos foi utilizada uma testemunha aplicando-se apenas água destilada esterilizada.

Para cada concentração pulverizou-se 0,1 mL sobre 20 insetos (repetição) e após um minuto os adultos foram colocados em placas de Petri (6 cm de diâmetro) e as larvas individualizadas em recipientes de acrílico para que não ocorresse canibalismo. Os insetos foram alimentados com ração.

Em cada repetição foram utilizados 20 insetos com um total de 10 repetições, totalizando 200 insetos por tratamento. Os insetos foram incubados em câmara climatizada (B.O.D) à temperatura de 26°C, umidade relativa (UR) de 75 ± 10% e 12h de fotofase.

As avaliações foram diárias até aos 10 dias e o critério de avaliação utilizado foi a mortalidade comprovada pela imobilidade total dos insetos.

Os resultados de mortalidade corrigida, após 10 dias de avaliação, foram submetidos à análise de Probit, através do programa estatístico Polo-PC (LEORA SOFTWARE, 1987) para a estimativa da concentração letal.

Obtenção e multiplicação dos conídios de *Beauveria bassiana*

Para os bioensaios foi utilizado o isolado de *B. bassiana* UNIOESTE-4 (UNI-4), previamente selecionado para *A. diaperinus* por ROHDE *et al.* (2006).

Com o objetivo de recuperar a capacidade infectiva do isolado, conídios produzidos em meio B.D.A foram inoculados em adultos de *A. diaperinus* e reisolados em meio B.D.A.

Foram utilizados nos experimentos apenas conídios de segunda repicagem. Antes dos bioensaios, avaliou-se a viabilidade dos conídios, através da percentagem de germinação, utilizando apenas conídios que apresentaram entre 98 a 100% germinação.

Estimativa da Concentração Letal (CL) de *Beauveria bassiana*

Para a estimativa da CL para larvas e adultos, preparou-se suspensões de conídios com tween (0,02%) de 6 concentrações (1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 e 1×10^9 conídios/mL).

Pulverizou-se 0,1 mL da suspensão sobre 20 insetos em placa de Petri (6 cm de diâmetro). Após um minuto, os adultos foram transferidos para outra placa de Petri contendo ração esterilizada para frangos. As larvas foram individualizadas como descrito anteriormente. Para cada tratamento foram feitas 10 repetições de 20 insetos. Como não foi possível estimar a CL para os adultos utilizando-se o método de pulverização, optou-se pelo método de submersão em suspensão de conídios.

Os adultos foram submersos em 5 mL de suspensão de conídios durante um minuto nas concentrações: 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 e, em seguida transferidos para placas de Petri. Foram utilizados 20 insetos por repetição, com 10 repetições por tratamento.

O experimento foi avaliado diariamente durante 10 dias e os insetos mortos foram lavados em solução de hipoclorito de sódio a 1%, e colocados em câmara úmida para confirmação da mortalidade através da esteriorização do patógeno sobre o corpo do inseto.

Os resultados de mortalidade confirmada corrigida foram analisados para a estimativa da CL pelo programa Polo-PC.

Controle associado

Com a estimativa da CL dos produtos thiamethoxam, CCC e de *B. bassiana* (UNI-04) para

larvas e adultos, foi realizada uma série de experimentos, cujos tratamentos estão na Tabela 1.

Para larvas, pulverizou-se, separadamente, 0,1 mL do inseticida, 0,1 mL do fungo e 0,1 mL da mistura (inseticida + fungo). Na testemunha, para os tratamentos com inseticida, utilizou-se apenas água destilada esterilizada. Para os tratamentos com fungo e mistura utilizou-se água destilada esterilizada + tween (0,02%). Após um minuto da aplicação, as larvas foram transferidas para as caixas de acrílico, sendo utilizados 20 insetos por repetição com um total de 10 repetições, totalizando 200 insetos por tratamento.

Adotou-se o mesmo procedimento experimental para o tratamento de adultos, sendo que no tratamento contendo apenas fungo, os insetos foram mergulhados em suspensão de conídios conforme o item acima. No tratamento inseticida + fungo os insetos foram pulverizados com inseticida e, após 24 horas, mergulhados em suspensão de conídios.

Em uma segunda etapa para os tratamentos 6, 7 e 8 foi realizado um experimento onde, nos tratamentos fungo + inseticida, os insetos foram mergulhados em suspensão de conídios e, após 24 horas, pulverizados com inseticida (6A, 7A e 8A) (Tabela 1). Assim, procurou-se verificar se a pulverização com inseticida, posterior à aplicação do fungo, facilitaria o estabelecimento do patógeno possibilitando uma maior mortalidade confirmada por *B. bassiana*. Em todos os bioensaios, os adultos e larvas foram incubados em câmara climatizada a $26 \pm 1^\circ \text{C}$, UR $75 \pm 10\%$ e 12 h de fotofase. A avaliação foi realizada diariamente durante 10 dias, sendo os cadáveres mantidos em câmara úmida para confirmação da mortalidade nas mesmas condições de temperatura, umidade relativa e fotofase.

Tabela 1 - Tratamentos aplicados em *Alphitobius diaperinus* (adultos e larvas) utilizando (Thiamethoxam e CCC), *Beauveria bassiana* isoladamente e em associação com várias concentrações letais (CL).

Experimentos	Tratamentos		
	Inseticida	<i>B. bassiana</i>	Inseticida + <i>B. bassiana</i>
1	CL ₅₀	CL ₅₀	CL ₅₀ + CL ₅₀
2	CL ₂₀	CL ₅₀	CL ₂₀ + CL ₅₀
3	CL ₁₀	CL ₅₀	CL ₁₀ + CL ₅₀
4	CL ₅	CL ₅₀	CL ₅ + CL ₅₀
5	CL ₁	CL ₅₀	CL ₁ + CL ₅₀
6	CL ₁	CL ₇₀	CL ₁ + CL ₇₀
7	CL ₅	CL ₇₀	CL ₅ + CL ₇₀
8	CL ₁₀	CL ₇₀	CL ₁₀ + CL ₇₀
6A ¹	CL ₁	CL ₇₀	CL ₁ + CL ₇₀
7A ¹	CL ₅	CL ₇₀	CL ₅ + CL ₇₀
8A ¹	CL ₁₀	CL ₇₀	CL ₁₀ + CL ₇₀

¹Insetos foram submersos em suspensão de conídios e, após 24 horas, pulverizados com inseticida.

Análise estatística

Utilizou-se a mortalidade confirmada que foi corrigida pela fórmula Schneider e Orelli (NAKANO *et al.*, 1981).

Os dados foram analisados estatisticamente pelo método proposto por KOPPENHOFER *et al.* (2000) que avalia os eventuais efeitos de sinergismo, antagonismo e aditivismo, utilizando o teste de qui-quadrado, sendo: $\chi^2 = (MO - ME)^2 / ME$, onde MO: mortalidade observada; ME: mortalidade esperada, sendo $ME = M_1 + M_2(1 - M_1)$, onde M_1 : mortalidade do entomopatógeno sozinho; M_2 : mortalidade do inseticida sozinho. Se o χ^2 calculado for maior que o

valor tabelado (3,84 para 1 grau de liberdade, $P < 0,05$) o efeito é não aditivo, isto é, podendo ser sinergismo ou antagonismo. Se a diferença de $M_{12} - ME$ (onde M_{12} é a mortalidade da combinação do entomopatógeno e o inseticida) for positiva, o efeito é de sinergismo e quando negativa, antagonismo. Se o χ^2 calculado for menor que o valor tabelado, o efeito será aditivo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estimativa da Concentração Letal (CL) dos produtos e de *Beauveria bassiana*

Tabela 2 - Concentração letal do Thiamethoxam, CCC e *Beauveria bassiana* (UNI-4) para adultos e larvas de *Alphitobius diaperinus*.

Estágio/Produto	Equação de regressão	Concentração letal	Intervalo (95%)	χ^2
Adulto				
Thiam.	$y = 2,2573896 + 1,1379758 * \log x$	CL ₁ - 2,12 ¹ CL ₅ - 3,31 CL ₁₀ - 17,20 CL ₂₀ - 41,50 CL ₅₀ - 223,72	0,11 - 9,0 0,9 - 25,31 2,73 - 44,26 10,21 - 88,34 111,13 - 378,84	3,91 ³
CCC	$y = 5,53755231 + 3,4748399 * \log x$	CL ₁ - 0,14 ² CL ₅ - 0,23 CL ₁₀ - 0,29 CL ₂₀ - 0,40 CL ₅₀ - 0,70	0,11 - 0,18 0,19 - 0,27 0,23 - 0,34 0,34 - 0,44 0,64 - 0,75	3,45 ⁴
Larva				
Thiam.	$y = 2,6597647 + 1,4426327 * \log x$	CL ₁ - 1,02 ¹ CL ₅ - 3,03 CL ₁₀ - 5,41 CL ₂₀ - 10,93 CL ₅₀ - 41,89	-- -- 0,64 - 13,67 2,09 - 22,98 18,52 - 66,14	4,83 ³
CCC	$y = 5,56761209 + 2,4255256 * \log x$	CL ₁ - 0,064 ² CL ₅ - 0,12 CL ₁₀ - 0,17 CL ₂₀ - 0,26 CL ₅₀ - 0,58	0,02 - 0,10 0,06 - 0,18 0,10 - 0,23 0,17 - 0,33 0,48 - 0,67	6,36 ⁴
Adulto				
UNI-4	$y = 0,1790088 + 0,74125159 * \log x$	CL ₅₀ ⁵ - 3,49 x 10 ⁶ CL ₇₀ - 1,70 x 10 ⁷	2,02 x 10 ⁶ - 6,21 x 10 ⁶ 9,20 x 10 ⁶ - 3,87 x 10 ⁷	9,92 ⁶
Larva				
UNI-4	$y = 0,582164 + 0,63680163 * \log x$	CL ₅₀ - 8,66 x 10 ⁶ CL ₇₀ - 5,76 x 10 ⁷	2,24 x 10 ⁶ - 3,65 x 10 ⁷ -----	8,06 ⁶

¹ppm do ingrediente ativo;

²mL da formulação;

³ χ^2 não significativo < 7,82, $P \leq 0,05$;

⁴ χ^2 não significativo < 11,07, $P \leq 0,05$;

⁵concentração em conídios/mL;

⁶ χ^2 (adulto) não significativo < 11,07; χ^2 (larva) não significativo < 9,49, $P \leq 0,05$.

Não foi possível determinar a CL do imidacloprid por não ter atingido os intervalos de mortalidade entre 10 e 90%, tanto em adultos como em larvas. Desta forma esse inseticida não foi utilizado nos experimentos posteriores.

Os dados de CL (Thiamethoxam e CCC) e de *B. bassiana* (UNI-4) se adequaram ao modelo de Probit, apresentando um χ^2 não significativo e homogeneidade nos dados para todas as concentrações letais estimadas, para adultos e larvas (Tabela 2).

Controle associado

Nos 44 tratamentos onde se observou mortalidade confirmada corrigida, provocada pela interação de *B. bassiana* e os inseticidas thiamethoxam e CCC, tanto para larvas como para adultos, foram observados efeitos aditivos ou antagônicos, mas nenhum sinergismo foi detectado. Em 57,14% dos resultados não houve diferença entre adultos e larvas para o tipo de interação encontrada, tanto para thiamethoxam como CCC.

Na interação entre inseticidas e fungo houve predominância de efeitos antagônicos, que ocorreram em 52,27% dos experimentos. Esse tipo de efeito é comum quando interagem agentes de naturezas distintas (BENZ, 1971). Este autor cita algumas das prováveis causas para esse efeito, como: 1) pequenas doses de um determinado inseticida podem ter efeito repelente ou diminuir a atividade do inseto, com isso ele não entra em contato com quantidades letais do inseticida ou do patógeno; 2) o patógeno pode ter capacidade de degradar metabolicamente a molécula do inseticida, impedindo ou diminuindo sua ação sobre o inseto; 3) a utilização de doses sub-letais do inseticida pode produzir no inseto um aumento nas taxas metabólicas e um conseqüente aumento na resposta imune ao patógeno; 4) a simples incompatibilidade do produto (formulação) com entomopatógeno. Neste estudo, os três primeiros fatores são de difícil averiguação. Em relação a este último item, tomou-se o cuidado de realizar testes prévios de compatibilidade entre os produtos e o fungo. Também, a terceira hipótese, onde o inseto em contato com o inseticida aumenta sua atividade metabólica, provavelmente não ocorreu, se observarmos os resultados de controle associado onde os inseticidas foram aplicados 24 horas após a inoculação do fungo, possibilitando a sua germinação e penetração (Tabela 5). Entretanto, esta hipótese não deve ser totalmente descartada para outros produtos. É possível também que o inseticida, em determinadas concentrações, provoque a morte do inseto não permitindo o desenvolvimento do fungo. Neste caso, o fungo poderá ter o seu desenvolvimento comprometido ou inibido por microrganismos saprófagos que

colonizam rapidamente o inseto após a morte, pelo inseticida.

No caso de *A. diaperinus*, por viver na cama de frango, a quantidade e variedade de microrganismos presentes em seu corpo, em particular no aparelho digestivo, pode reforçar o efeito antagônico sobre o desenvolvimento do fungo no interior do inseto. Esta última hipótese tem a seu favor o fato de que, com o aumento da concentração de fungo, diminuiu o efeito antagônico, observando-se nas interações efeitos aditivos, em alguns casos para adultos (Tabelas 3, 4 e 5) e, principalmente, nas larvas, onde em todos os tratamentos onde se utilizou CL_{70} do fungo ocorreu aditivismo tanto para a mistura com thiamethoxam como para CCC (Tabelas 3, 4 e 5). A falta de efeito sinérgico neste estudo não possui motivos muito claros. Em alguns estudos este efeito foi atribuído à mudança no comportamento de limpeza dos insetos como em cupins, possibilitando que menores concentrações de conídios dos referidos patógenos possam causar elevada mortalidade (BOUCIAS *et al.*, 1996; NEVES; ALVES, 1999).

Em outros estudos observou-se que a baixa dosagem de inseticida aumenta a eficiência do patógeno, permitindo a redução na concentração de inóculo aplicado. Nesses estudos as interações entre patógeno e inseticida foram predominantemente aditivas quando se usou baixa concentração de fungo e sinérgicas quando foram aplicadas concentrações mais elevadas (NEVES; ALVES, 1999; JARAMILLO *et al.*, 2005).

Entretanto, para *A. diaperinus* o contrário foi observado, onde o efeito só foi aditivo quando se aumentou a concentração do fungo. Neste caso, o mecanismo envolvido provavelmente não é comportamental e sim fisiológico, reforçando a hipótese de que o antagonismo por outros microrganismos saprófagos possa ter ocorrido inibindo a confirmação da mortalidade pelo patógeno.

Numa avaliação geral dos resultados obtidos, verifica-se a existência de um padrão bastante consistente da interação entre os inseticidas e *B. bassiana* (UNI-4). O padrão consistiu na observação em 17 tratamentos, de um efeito antagônico quando se utilizou concentração menor de fungo (CL_{50}), e efeito aditivo quando a concentração do fungo foi mais elevada (CL_{70}).

Os tratamentos que apresentaram diferenças em relação ao padrão observado concentraram-se nos experimentos onde o inseticida thiamethoxam foi utilizado em adultos de *A. diaperinus*. Nos experimentos de thiamethoxam (CL_{10}) associado com *B. bassiana* (CL_{50}) e thiamethoxam (CL_5) associado com *B. bassiana* (CL_{50}) foi detectado um efeito aditivo, embora os experimentos envolvendo thiamethoxam e larvas, CCC e adultos, e CCC e larvas, nas mesmas concentrações, tenham apresentado um efeito antagônico.

Tabela 3 - Mortalidade confirmada de adultos e larvas (%) de *Alphitobius diaperinus* pelo inseticida thiamethoxam e o fungo *Beauveria bassiana* (UNI-4), isoladamente e em combinações.

Tratamentos	% de mortalidade (\pm EP)		χ^2 (b)	Interação
	Observada	Esperada ^(a)		
Adulto				
Thiamethoxam(CL ₅₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	43,0 \pm 2,49	80,73	17,63	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₂₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	15,0 \pm 1,57	53,65	28,57	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	39,0 \pm 4,34	49,67	2,51	aditivismo
Thiamethoxam(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	37,0 \pm 3,66	46,06	1,78	aditivismo
Thiamethoxam(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	30,5 \pm 2,62	48,70	6,80	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	32,0 \pm 2,70	46,37	4,45	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	38,0 \pm 2,00	46,65	1,60	aditivismo
Thiamethoxam(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	36,5 \pm 1,30	55,75	6,64	antagonismo
Larva				
Thiamethoxam(CL ₅₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	46,0 \pm 2,08	70,96	8,78	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₂₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	50,5 \pm 3,97	68,84	4,88	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	22,0 \pm 3,00	55,6	20,30	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	6,5 \pm 1,06	53,25	41,04	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	5,0 \pm 0,74	50,81	41,30	antagonismo
Thiamethoxam(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	53,0 \pm 2,80	54,55	0,04	aditivismo
Thiamethoxam(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	48,5 \pm 1,67	51,80	0,21	aditivismo
Thiamethoxam(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	55,0 \pm 4,14	63,68	1,18	aditivismo

^amortalidade esperada (ME) foi calculada pela fórmula $ME = M_1 + M_2(1-M_1)$, onde M_1 : mortalidade do entomopatógeno sozinho; M_2 : mortalidade do inseticida sozinho.

^b $\chi^2 = (\% \text{ mortalidade observada} - \% \text{ mortalidade esperada})^2 / (\% \text{ mortalidade esperada})$; χ^2 (tabelado) = 3,84, grau de liberdade = 1, $P \leq 0,05$.

De modo semelhante, experimentos de controle associado de thiamethoxam (CL₁) + *B. bassiana* (CL₇₀) e thiamethoxam (CL₁₀) + *B. bassiana* (CL₇₀) em adultos, onde o inseticida foi pulverizado antes do fungo, foi detectado um efeito antagônico, embora para a maioria dos outros experimentos, no mesmo sistema de aplicação e com maiores concentrações de fungos, levaram a efeitos aditivos. Os resultados mostraram que independente das concentrações letais dos dois inseticidas utilizados, aplicados tanto em adultos como em larvas, os efeitos aditivos ocorreram com maior frequência quando se utilizou a CL₇₀ do fungo, sendo esta relação presente em 75% dos experimentos com aplicação do inseticida antes. Por outro lado, para a maioria dos resultados, onde CL mais baixas do fungo (CL₅₀) foram utilizadas, foi detectado um efeito de antagonismo.

Já quando o inseticida foi pulverizado 24 horas após o contato com o fungo para adultos, a menor concentração de thiametoxam mostrou efeito aditivo e as duas maiores concentrações, efeito antagônico. Neste caso podemos levantar a hipótese de que novamente maiores níveis de intoxicação pelo thiametoxam provocaram algum tipo de resistência do inseto ao

fungo (Tabela 5). Já para o CCC observando-se efeito antagônico para a menor concentração de inseticida e aditivo para as duas maiores concentrações. Neste caso o produto pode ter enfraquecido o sistema de defesa do inseto ao fungo conforme a dosagem aumentou (Tabela 5). Esta diferença pode estar relacionada com os diferentes modos de ação dos dois inseticidas bem como a toxicidade ao cascudinho principalmente ao adulto. Por outro lado, para as larvas, tanto na mistura com Thiametoxan como para CCC, sempre foi observado aditivismo mesmo sendo a larva ligeiramente mais sensível ao fungo do que o adulto.

Essas constatações remetem à necessidade futura de trabalhos complementares, onde se possa determinar quais os fatores responsáveis pelo padrão observado, e de que modo esses fatores podem contribuir para uma melhoria nas abordagens do controle associado.

Também a mistura do fungo com outros inseticidas ou agentes de controle poderá contribuir para que encontrem efeitos sinérgicos que possam vir a contribuir para uma diminuição do uso de inseticidas químicos e de seus efeitos danosos.

Tabela 4- Mortalidade confirmada de adultos e larvas (%) de *Alphitobius diaperinus* pelo inseticida Cipermetrina 15 g/100 mL, Clorpirifós 25 g/100 mL e Citronelal 1,0/100 mL (CCC) e fungo *Beauveria bassiana* (UNI-4), isoladamente e em combinações.

Tratamentos	% de mortalidade (± EP)		χ^2 (b)	Interação
	Observada	Esperada ^(a)		
Adultos				
CCC(CL ₅₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	13,0 ± 2,00	83,72	59,73	antagonismo
CCC(CL ₂₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	29,0 ± 2,21	60,34	14,27	antagonismo
CCC(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	29,0 ± 2,21	58,03	14,52	antagonismo
CCC(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	32,0 ± 2,80	56,80	10,82	antagonismo
CCC(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	31,5 ± 3,07	50,53	7,16	antagonismo
CCC(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	42,5 ± 3,43	64,18	7,32	antagonismo
CCC(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	55,0 ± 3,33	66,68	2,04	aditivismo
CCC(C ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	56,0 ± 4,52	70,58	3,01	aditivismo
Larvas				
CCC(CL ₅₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	42,0 ± 3,66	86,40	22,81	antagonismo
CCC(CL ₂₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	32,5 ± 3,74	59,72	12,40	antagonismo
CCC(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	29,0 ± 1,63	58,69	15,01	antagonismo
CCC(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	27,5 ± 2,00	57,76	15,85	antagonismo
CCC(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₅₀)	46,0 ± 3,78	57,11	2,16	aditivismo
CCC(CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	63,5 ± 4,77	65,26	0,04	aditivismo
CCC(CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	67,0 ± 6,51	69,66	0,10	aditivismo
CCC(CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	63,0 ± 7,34	71,52	0,35	aditivismo

^amortalidade esperada (ME) foi calculada pela fórmula $ME = M_1 + M_2(1-M_1)$, onde M_1 : mortalidade do entomopatógeno sozinho; M_2 : mortalidade do inseticida sozinho.

^b $\chi^2 = (\% \text{ mortalidade observada} - \% \text{ mortalidade esperada})^2 / (\% \text{ mortalidade esperada})$; χ^2 (tabelado) = 3,84, grau de liberdade = 1, $P \leq 0,05$.

Tabela 5- Porcentagem de mortalidade confirmada de adultos e larvas de *Alphitobius diaperinus* pelos inseticidas Thiametoxam e CCC (Cipermetrina 15 g/100 mL, Clorpirifós 25 g/100 mL e Citronelal 1,0/100 mL) e fungo *Beauveria bassiana* (UNI-4), isoladamente e em combinações quando os inseticidas foram aplicados 24 horas após a inoculação do fungo.

Tratamentos	% de mortalidade (± EP)		χ^2 (b)	Interação
	Observada	Esperada ^(a)		
Adulto				
Thiametoxam (CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	33,0 ± 3,01	44,06	2,78	aditivismo
Thiametoxam (CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	44,5 ± 2,57	61,84	4,86	antagonismo
Thiametoxam (CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	35,5 ± 3,72	53,24	5,91	antagonismo
CCC (CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	42,5 ± 3,43	58,65	4,45	antagonismo
CCC (CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	55,0 ± 3,33	65,36	1,64	aditivismo
CCC (CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	56,0 ± 4,52	69,36	2,57	aditivismo
Larva				
Thiametoxam (CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	56,0 ± 4,52	56,66	0,01	aditivismo
Thiametoxam (CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	51,5 ± 2,10	50,98	0,01	aditivismo
Thiametoxam (CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	57,5 ± 4,71	61,96	0,32	aditivismo
CCC (CL ₁) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	54,0 ± 3,15	52,74	0,02	aditivismo
CCC (CL ₅) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	48,5 ± 1,67	49,80	40,03	aditivismo
CCC (CL ₁₀) + <i>B.bassiana</i> (CL ₇₀)	55,0 ± 3,33	62,17	0,83	aditivismo

^amortalidade esperada (ME) foi calculada pela fórmula $ME = M_1 + M_2(1-M_1)$, onde M_1 : mortalidade do entomopatógeno sozinho; M_2 : mortalidade do inseticida sozinho.

^b $\chi^2 = (\% \text{ mortalidade observada} - \% \text{ mortalidade esperada})^2 / (\% \text{ mortalidade esperada})$; χ^2 (tabelado) = 3,84, grau de liberdade = 1, $P \leq 0,05$.

No contexto do Manejo Integrado de Pragas (MIP) o efeito aditivo da associação de baixas concentrações de inseticidas e concentrações mais elevadas de patógenos, como os detectados neste trabalho, deve ser buscado e priorizado. Isso diminuirá a quantidade de inseticidas no ambiente, reduzindo, conseqüentemente, a possibilidade de contaminação do produto final (no caso aves), do produtor e do meio ambiente, além de minimizar os riscos de surgimento de pragas resistentes aos princípios ativos dos produtos químicos e reduzir consideravelmente os custos de produção. Este aspecto é extremamente importante também quando consideramos a importância da exportação de frango dentro da atividade avícola e as exigências e barreiras impostas pelos importadores com relação ao uso cada vez menor de substâncias químicas no manejo e sanidade das aves.

Assim, a investigação de interações entre fungos entomopatogênicos e produtos químicos no controle de pragas e especificamente de *A. diaperinus* é um tema de pesquisas bastante promissor, principalmente com relação aos inseticidas mais modernos e menos agressivos. Um exemplo são os neonicotinóides que mostram uma compatibilidade elevada com os fungos utilizados no controle associado, como *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces* sp., "in vitro" (NEVES et al., 2000). Um estudo adicional deve ser dirigido também para a realização de uma melhor compreensão das interações antagônicas entre produtos químicos com fungos, com o objetivo de preservar estes agentes biológicos importantes do controle em estratégias de MIP.

CONCLUSÕES

Observou-se um efeito antagônico da associação de inseticidas químicos e o fungo *B. bassiana* para a maioria dos experimentos com adultos e larvas de *A. diaperinus*.

Independentemente das concentrações letais dos dois inseticidas utilizados (thiamethoxam e CCC), aplicados tanto em adultos como em larvas, na maioria dos casos, os efeitos aditivos foram observados quando se utilizou a CL₇₀ do fungo *B. bassiana* (UNI-04).

AGRADECIMENTOS

À profa. Dra. Inês Fonseca pelo auxílio nas análises estatísticas, às estagiárias Silvia Akimi e Janaina Zorzetti do Laboratório de Controle Microbiano de Insetos/UEL.

REFERÊNCIAS

ALVES, L.F.A.; GASSEN, M.H.; PINTO, F.G.S.; NEVES, P.M.O.J.; ALVES, S.B. Ocorrência natural de *Beauveria*

bassiana (Bals.) Vuillemin (Moniliales: Moniliaceae) sobre o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em aviários comercial de Cascavel, PR. *Neotropical Entomology*, v.34, p.507-510, 2005.

AXTELL, R.C.; ARENDS, J.J. Ecology and management of arthropod pest of poultry. *Annual Review Entomology*, v.35, p.101-126, 1990.

BENZ, G. Synergism of micro-organisms and chemical insecticides. In: BURGESS, H.D.; HUSSEY, N.W. (Ed.). *Microbial control of insects and mites*. Londres: Academic Press, 1971. cap.15, p.327-356.

BOUCIAS, D.G.; STOKES, C.; STOREY, G. The effect of imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, v.49, p.103-144, 1996.

CRAWFORD, P.J.; BROOKS, W.M.; ARENDS, J.J. Efficacy of field-isolated strains of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) as microbial control agents of the lesser mealworm (Coleoptera: tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, v.91, n.6, p.1295-1301, 1998.

FARGUES, J. Etude expérimentale dans la nature de L'utilisation combinée de *Beauveria bassiana* et d'insecticides à dose réduite contre *Leptinotarsa decemlineata*. *Annales de zoologie. Ecologie Animale*, v.7, p.231-246, 1975.

FARGUES, J. Sensibilité dès larves de *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col., Chrysomelidae) à *Beauveria bassiana* Vuill. (Fungi imperfecti, Moniliales) em présence de doses réduites d'insecticide. *Annales de zoologie. Ecologie Animale*, v.5, p.231-246, 1973.

FRANCISCO, O.; PRADO, A.P. Characterization of the larval stages of *A. diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) using head capsule width. *Revista Brasileira de Biologia*, v.61, p.125-131, 2001.

JARAMILLO, J.; BORGEMEISTER, A.; GAIGL, A.; TOBÓN, R.; ZIMMERMANN, G. Effect of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Mestch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froechner (Hemiptera: Cydnidae). *Biological Control*, v.34, p.12-20, 2005.

LEORA SOFTWARE. POLO-PC a user's guide to probit or Logit analysis. 119 Shattuck Ave., Berkeley, CA, 94707, 22p, 1987.

KOPPENHOFER, A.M.; BROWN, I.M.; GAUGLER, R.; GREWAL, P.S.; KAYA, H.K.; KLEIN, M.G. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. *Biological Control*, v.19, p.245-251, 2000.

- MOINO JUNIOR, A.; ALVES, S.B. Efeito de imidacloprid e fipronil sobre *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e no comportamento de limpeza de *Heterotermes tenuis* (Hagen). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.27, p.611-619, 1998.
- NAKANO, O.; SILVEIRA, N.S.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). *Entomologia econômica*. São Paulo: Ceres, 1981. 314p.
- NEVES, M.J.O.; ALVES, S.B. Controle associado de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) com *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e imidacloprid. *Scientia Agrícola*, v.56, p.305-311, 1999.
- NEVES, P.M.O.J., HIROSE, E.T.; MOINO JUNIOR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v.30, p.263-268, 2000.
- O'CONNOR, J.P. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Col. Tenebrionidae) damaging polystyrene insulation in Irish piggery. Tolerância da bananeira à salinidade em fase inicial de desenvolvimento. *Entomologist's Monthly Magazine*, v.123, p.50, 1987.
- ROBERTSON, J.L.; SMITH, C. K.; SAVIN, N.E.; LAVIGNE, R.J. Effect of the selection and sample size on the precision lethal dose estimates in dose-mortality regression. *Journal Economic Entomology*, v.77, p.833-837, 1984.
- ROHDE, C.; ALVES, L.F.A.; NEVES, M.O.J.; ALVES, S.B.; SILVA, R.L.; ALMEIDA, J.E.M. Seleção de isolados de fungos de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill e *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sorok. contra o cascudinho (Panze) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Neotropical Entomology*, v.35, p.231-240, 2006.
- SAFRIT, R.D.; AXTELL, R.C. Evaluations of sampling methods for darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) in the litter of turkey and broiler houses. *Poultry Science*, v.63, p.2368-2375, 1984.
- SILVA, A.S.; HOFF, G.; DOYLE, R.L.; SANTURIO, J.M.S.; MONTERIO, S.G. Ciclo biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* em laboratório. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.177-181, 2005.
- SILVA, R.Z.; NEVES, P.M.O.J. Techniques and parameters used in compatibility tests between *Beauveria bassiana* (Bals)Vuill and in vitro phytosanitary products. *Pest Management Science*, v.61, p.667-674, 2005.
- VAUGHAN, J.A.; TURNER, E.; RUSZLER, P.C. Infestation and damage of poultry house insulation by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). *Poultry Science*, v.63, p.1094-1100, 1984.

Recebido em 27/2/07

Aceito em 6/11/08