









## Atividade da Metilxantina em pó aplicada na cama de frango sobre adultos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)

*Activity of powdered methylxanthine applied to poultry litter on adults of *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)*

Masaio Mizuno Ishizuka<sup>1</sup> , Nadja Susana Mogyca Leandro<sup>2</sup> , Julia Marixara Sousa da Silva<sup>2</sup> , Raphael Rodrigues dos Santos<sup>2</sup> , Helder Freitas de Oliveira<sup>2</sup> , Marcos Barcellos Cafê<sup>\*2</sup> 

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil

\*correspondente: [mcafe@ufg.br](mailto:mcafe@ufg.br)

### Resumo

Uma das pragas que mais afetam e comprometem a produção avícola no mundo é o inseto *Alphitobius diaperinus*, conhecido como cascudinho. Este inseto é vetor de doenças que comprometem não só a produção de frangos como também a saúde humana. Objetivou-se com esse trabalho avaliar a eficácia e determinar a dose adequada de Metilxantina (MTX), inseticida natural extraído da cafeína, para o controle da população adulta de cascudinhos em cama de frango. Foram utilizados 2.500 cascudinhos adultos distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, cinco tratamentos, 10 repetições com 50 insetos por repetição. Os tratamentos consistiram de grupo controle e quatro concentrações 14 g/m<sup>2</sup>, 16 g/m<sup>2</sup>, 18 g/m<sup>2</sup>, 20 g/m<sup>2</sup> de MTX espalhadas em recipientes plásticos contendo cama de frango reutilizada e ração, alocados em um galpão de frangos de corte a fim de simular a condição de granja. Período experimental foi de 18 dias e realizadas cinco leituras nos dias dois, quatro, seis, 10 e 18. A MTX afetou (P<0,05) a taxa de mortalidade acumulada de cascudinhos, grupos de insetos alojados em caixas tratadas com 16 g/m<sup>2</sup> de MTX apresentaram maior mortalidade acumulada (86,6%) ao final do período experimental. Conclui-se que MTX tem ação inseticida sobre adultos de cascudinho, podendo ser utilizada sobre a cama de frango para o controle da população deste inseto em galpões de criação de frangos, a concentração 16 g/MTX/m<sup>2</sup> demonstrou maior efetividade.

**Palavras-chave:** Metilxantina; inseticida; cama de frango; cascudinho

### Abstract

One of the pests that most affect and compromise poultry production worldwide is the insect *Alphitobius diaperinus*, known as the lesser mealworm. This insect is a vector of diseases that compromise not only chicken production but also human health. This study proposes to examine the efficacy and determine the appropriate rate of methylxanthine (MTX), a natural insecticide extracted from caffeine, for the control of an adult population of lesser mealworms in poultry litter. A total of 2,500 adult mealworms were distributed into five treatments in a completely randomized design using 10 replications with 50 insects per replication. The treatments consisted of a control group and four concentrations of MTX (14, 16, 18, and 20 g/m<sup>2</sup>) spread in plastic boxes containing reused poultry litter and feed, allocated in a broiler shed, to simulate the farm condition. The experimental period was 18 days, and five readings were performed on days 2, 4, 6, 10, and 18. Methylxanthine affected (P<0.05) the mealworms' cumulative mortality rate, with the groups of insects housed in boxes treated with 16 g/m<sup>2</sup> MTX showing the highest cumulative mortality (86.6%) at the end of the experimental period. In conclusion, MTX has insecticidal action on adults of lesser mealworm and can be used on chicken litter to control the population of this insect in poultry sheds. The MTX concentration of 16 g/m<sup>2</sup> showed the greatest effectiveness.

**Keywords:** chicken bed; insecticide; lesser mealworm; methylxanthine

Recebido: 28 de abril de 2022. Aceito: 2 de setembro de 2022. Publicado: 30 de setembro de 2022.



## Introdução

*Alphitobius diaperinus* é um dos insetos mais abundantes nas instalações de produção de frango e que se destaca na avicultura por ter *status* de praga, por ser reservatório e vetor de patógenos e de difícil controle. Reproduzem-se na cama utilizada nas granjas de produção de frango, alimentam-se de dejetos de aves, desperdícios de ração, ovos quebrados, aves mortas e outros materiais orgânicos<sup>(1,2,3)</sup>. As maiores perdas econômicas em estabelecimentos de produção avícola são em razão: i) das aves preferirem consumir este inseto ao invés de ração com consequente redução do ganho de peso<sup>(4,5)</sup>; ii) dos danos às estruturas das instalações, pois larvas de cascudinhos costumam cavar túneis nas paredes, em materiais de isolamento e no piso do galpão em busca de locais para se transformarem em pupa e fugir dos inimigos presentes na cama<sup>(2, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14)</sup>.

Há ainda o comprometimento da saúde das aves decorre do fato do *A. diaperinus* atuarem como vias de transmissão de agentes etiológicos de doenças tais como: i) Salmonelas<sup>(15, 16, 17)</sup>, *Campylobacter* sp<sup>(18)</sup>, *Escherichia coli*<sup>(19, 20, 21)</sup>; ii) fungos<sup>(20)</sup>; iii) vírus da doença de Marek<sup>(22)</sup>, doença de Newcastle e boubá<sup>(23)</sup>, enterites<sup>(24)</sup> e doença de Gumboro<sup>(25, 26)</sup>; iv) tênia das galinhas<sup>(27)</sup> e *Ascaridia galli*<sup>(27)</sup>. Produtos químicos mais utilizados são, principalmente, os piretróides (Bifentrina, deltametrina, fenitrotiona, pirimifós-metilico) que apresentam alta toxicidade em aves e seu acúmulo no tecido muscular torna a carne desses frangos não recomendada para consumo humano<sup>(1,28)</sup>. É crescente o número de relatos de populações de cascudinhos resistentes a estes compostos<sup>(29, 30, 31)</sup>, inclusive no Brasil<sup>(32, 33)</sup>.

Controle químico de cascudinhos pela aplicação de inseticidas piretróides e organofosforados, é comumente utilizada como medida preventiva<sup>(34)</sup> e durante o vazio sanitário, é mais eficiente, a curto prazo, para os produtores. Porém estudos já demonstram que esse tipo de controle químico com uso de piretróides em camas durante o vazio sanitário já não apresentam resultados eficazes em razão do retorno da presença dessa praga durante o alojamento<sup>(35)</sup>. Assim, a utilização de produtos naturais é outro método que tem se destacado no controle de diversos microrganismos patogênicos e pragas. Esses produtos podem ser uma alternativa eficiente e viável para o controle do cascudinho, em vista que este método não depende da ausência das aves nos aviários. Alguns óleos essenciais já foram testados e tiveram seu efeito inseticida comprovado, como os óleos de *Melaleuca alternifolia*<sup>(1,36)</sup>.

A cafeína (1,3,7 trimetilxantina) é um alcalóide lipossolúvel, integrante da classe dos compostos denominados metilxantinas<sup>(37)</sup> que atua no sistema nervoso central humano e é também conhecida pelas

suas propriedades antioxidantes<sup>(38)</sup> e, juntamente com a teofilina, são encontradas em frutos silvestres, sementes e folhas de inúmeras espécies de plantas incluindo chá, café, cacau e nozes<sup>(39)</sup>. Estudos tem mostrado que a cafeína causa efeitos tóxicos nas larvas de *Aedes aegypti*, interferindo no desenvolvimento e, conseqüentemente não atingem a fase adulta<sup>(40, 41)</sup> com conseqüente diminuição da taxa de oviposição<sup>(42)</sup>. Objetivou-se avaliar a eficácia e determinar a concentração eficaz de Metilxantina extraído da cafeína, contra adultos de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) em cama de frango.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no Aviário Experimental do Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. Foram utilizados 2.500 cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) adultos capturados em diversas granjas de frangos de corte da região de Itaberaí, Goiás. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos, 10 repetições com 50 insetos por unidade experimental. Os tratamentos consistiram de quatro concentrações 14 g/m<sup>2</sup>, 16 g/m<sup>2</sup>, 18 g/m<sup>2</sup>, 20 g/m<sup>2</sup> de Metilxantina (MTX) espalhadas em recipientes plásticos (41 x 27 x 12,5 cm) contendo 10 cm de altura de cama de frango reutilizada com uma porção de ração de frango, e um grupo controle sem uso de qualquer produto.

Após a colocação dos cascudinhos e a MTX, as caixas foram vedadas com tecido de filó, para impedir a saída e entrada de insetos, e posteriormente foram alocadas em um galpão de frangos de corte a fim de simular a condição de granja. A duração do experimento foi de 18 dias e realizadas cinco leituras nos dias dois, quatro, seis, 10 e 18. A cada período transcorrido, as removiam-se as vedações para realização da contagem dos insetos mortos e vivos com auxílio de pinça cirúrgica e registro em fichas de coleta de dados, em seguida as caixas eram novamente vedadas, esse processo foi repetido até o final do período experimental. Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey utilizando-se pacote computacional R. Adotou-se  $\alpha=0,05$ .

## Resultados

A concentração de Metilxantina (MTX) afetou ( $P<0,05$ ) a taxa de mortalidade acumulada de cascudinhos, grupos de insetos alojados em caixas tratadas com 16 g/m<sup>2</sup> de MTX apresentaram maior mortalidade acumulada (86,6%) ao final do período experimental (Tabela 01).

**Tabela 1.** Índice de mortalidade acumulada de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) em cama de frango tratada com Metilxantina (MTX)

Dia da observação	Tratamentos									
	12 g/MTX/m <sup>2</sup>		14 g/MTX/m <sup>2</sup>		16 g/MTX/m <sup>2</sup>		18 g/MTX/m <sup>2</sup>		Controle	
	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto	Vivo	Morto
2°	354	146	352	148	198	302	322	178	497	3
4°	287	67	285	67	138	60	270	52	495	2
6°	269	18	255	30	117	21	241	29	493	2
10°	233	36	219	36	103	14	208	33	491	2
18°	183	50	167	52	67	36	158	50	486	5
Mortalidade acumulada (%)	63,4 b		66,6 b		86,6 a		68,4 b		2,8 c	
Valor de P	<0,0001									
EPM <sup>1</sup>	4,288									

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05); <sup>1</sup>Erro padrão da média.

## Discussão

Foi observado que o efeito primário da metilxantina (MTX) no cascudinho se dá pela inibição da atividade da fosfodiesterase e aumento intracelular da adenosina monofosfato cíclico (AMP cíclico). As baixas concentrações são potentes sinérgicos de outros inseticidas conhecidos por ativarem o adenilato ciclase dos insetos. Estes dados sugerem o emprego da MTX no controle de artrópodes como inseticida natural por inibir a fosfodiesterase isoladamente com envolvimento do AMP ciclase ou em combinação com outros compostos<sup>(43)</sup>. Nathanson<sup>(43)</sup> demonstrou atividade pesticida e pestistático da MTX em larvas da mosca do tabaco (*Manduca sexta*) tendo observado letalidade em 24 horas. Pólo<sup>(44)</sup> demonstrou que a MTX altera o padrão de síntese das esterases, importante em vários processos fisiológicos estando, inclusive, envolvidas no bloqueio da metamorfose dos insetos. Esterases estão envolvidas em vários processos fisiológicos, incluindo a atividade neuronal<sup>(45)</sup>, metabolismo do hormônio juvenil de insetos<sup>(46)</sup> e a resistência aos inseticidas<sup>(47)</sup>.

Na atividade neuronal, a acetilcolina é liberada na fenda sináptica, ligando-se a receptores transmembrana e gerando a transmissão de sinal, e posteriormente, a acetilcolinesterase hidrolisa a acetilcolina cessando o estímulo<sup>(48)</sup>. Nishi et al.<sup>(49)</sup> confirmam que a cafeína inibe o padrão de expressão gênica das esterases. A esterase do hormônio juvenil (JHE) controla a concentração do hormônio juvenil (JH) e, portanto, a cafeína altera o padrão de expressão gênica das esterases. O JH é uma classe de sesquiterpenóides produzidos na *Corpora Allata* do inseto e distribuído por toda hemolinfa estando diretamente envolvidos em várias atividades metabólicas dos insetos como metamorfose e ovogênese e que durante a metamorfose modula a atividade da ecdisteroide (20E) evitando que ocorra a muda durante o estágio larval<sup>(50)</sup>.

Dentre os diferentes extratos de plantas com efeito inseticida demonstrados em estudos laboratoriais, a

cafeína tem sido a que atua na intoxicação das larvas interrompendo seu desenvolvimento e levando-as à morte<sup>(40, 42, 51)</sup>. A cafeína revelou-se potencialmente eficaz no controle do coleóptero adulto de *Tribolium castaneum* por meio de efeito repelente, fumigante e por contato, sendo que sua ação estaria ligada à inibição de certas enzimas como carboxilesterase<sup>(52)</sup>. Em insetos adultos, a cafeína causa imobilidade motora pelo aumento da atividade do receptor da dopamina, antagonista de receptores da adenosina, inibindo sua ação<sup>(49, 53, 54)</sup>. Cafeína atua de forma dose dependente, sendo a concentração de 1 mg/mL de água letal para as larvas<sup>(40)</sup>.

Produtos fitoterápicos são reconhecidos como inseticidas naturais, como a emulsão à base de extrato de chá que pode ser utilizada como inseticida para o controle do pulgão verde do pêssego<sup>(58)</sup>. Algumas formulações de inseticidas à base de ervas medicinais foram eficazes no combate a diversas pragas: Rosmarina-pimenta<sup>(59)</sup>, Nim (*Azadirachta indica*)<sup>(60, 61)</sup>, alho<sup>(62)</sup> e diversas espécies de eucalipto<sup>(63)</sup>, onde os principais efeitos deletérios destas substâncias no combate a insetos estão relacionados a metilxantina.

Em estudo semelhante a este, Ananenka<sup>(64)</sup> testou a eficácia de um inseticida natural composto de cafeína em grilos domésticos comuns (*Acheta domesticus*) onde concluiu que a cafeína resulta em aumento da atividade neuronal e consequentemente morte do inseto devido a despolarização de neurônios da membrana cerebral, sendo uma opção para controle desta espécie. Na presente pesquisa a concentração MTX 16 g/m<sup>2</sup> teve resultados positivos para a taxa de mortalidade acumulada no período total de observação, sendo 80% maior do que o tratamento controle e garantindo aumento consecutivo da mortalidade do 2° ao 18° dia de observação.

O controle do *Alphitobius diaperinus* é imprescindível devido aos vários efeitos deletérios na produtividade destes animais, pois esta espécie pode causar feridas superficiais e afetar negativamente o crescimento das aves. Além disso, a ingestão de grandes

quantidades de *A. diaperinus*, gera efeitos negativos na qualidade nutricional das dietas visto que adultos e larvas podem causar obstrução intestinal em frangos de corte devido à falta de quitinase para a digestão da quitina amplamente encontrada no exoesqueleto do besouro, causando enterite necrótica e reduzindo a absorção de nutrientes, levando a perdas econômicas consideráveis para os frangos<sup>(65,66)</sup>.

Vários estudos demonstram que o uso de cipermetrina, diclorvos e triflumuron são eficientes no controle de ectoparasitas nas produções de aves no Brasil<sup>(67,68)</sup>. Porém, já é relatado a resistência de populações de pragas a esses compostos em vários países<sup>(69,70)</sup>. Destarte, o uso de extratos de plantas como a citronela, cafeína, entre outros que possuem ação inseticida sobre o sistema nervoso central dos insetos são incentivados. Esses compostos comprovadamente prejudicam o desenvolvimento dos insetos e possuem atividade repelente e larvicida<sup>(71,72)</sup>, sendo eficientes formas de controle dos prejuízos causados pelo *Alphitobius diaperinus* em produções avícolas.

## Conclusão

A Metilxantina (MTX), extraída da cafeína, tem ação inseticida sobre adultos de cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) e pode ser utilizada sobre a cama de frango para o controle da população deste inseto em galpões de criação de frangos sendo que a concentração de 16 g/MTX/m<sup>2</sup> demonstrou maior efetividade.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

## Contribuições do autor

**Conceituação:** M.M. Ishizuka, N.S.M.Leandro e M.B. Café. **Curadoria de dados:** J.M.S. Silva, R.R. Santos e H.F. Oliveira. **Análise formal:** M.B. Café. **Recursos:** M.M. Ishizuka e N.S.M.Leandro. **Redação (esboço original):** M.M. Ishizuka, M.B. Café e H.F. Oliveira. **Redação (revisão e edição):** H.F. Oliveira

## Referências

- Volpato A, Galli GM, Campigotto G, Glombowsky P, Santos RCV, Silva AS, Vaucher RA. Avaliação *in vitro* dos efeitos inseticida e larvicida de oito óleos essenciais sobre o cascudinho aviário (*Alphitobius diaperinus*). Arch. Vet. Sci. 2018; 23(2):84-90. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v23i2.46127>
- Axtell RC, Arends JJ. Ecology and management of arthropod pests of poultry. Annu. Rev. Entomol. 1990; 35(1990):101-126. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-en.35.010190.000533>
- Rueda LM, Axtell RC. Arthropods in litter of poultry (broiler chicken and turkey) houses. J. Agri. Entomol. 1997; 14(1):81-91. Disponível em: <http://www.lib.ncsu.edu/resolver/1840.2/2110>
- Santos JC, Alves LFA, Opazo MAU, Mertz NR, Marcomini AM, Oliveira DGP, Bonini AK. Eficiência da aplicação de inseticida químico no solo para o controle de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviário de frango de corte. Arq. Inst. Biol. 2009; 76(3):417-425. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v76p4172009>
- Wojciehovski P, Pedrassani D, Fedalto LM. Terra de diatomáceas para controle do *Alphitobius diaperinus* em granjas de frango de corte. Saúde Meio Ambient. 2015; 4(1):66-78. Disponível em: <https://doi.org/10.24302/sma.v4i1.695>
- Somerfield KG. Recent aspects of stored product entomology in New Zealand. New Zealand J. Agric. Res. 1981; 24(0):403-408. Disponível em: <http://hbs.bishopmuseum.org/iji/pdf/somerfield1981.pdf>
- Vaughan JA, Turner EC. Studies on the infestation into polystyrene insulation by the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus* Panz.), a common inhabitant of deep-pit caged layer houses. Va. J. Sci. 1982; 33(3):91-91.
- Despins JL. Investigations of the destructive behavior, and methods for control of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). Ph.D. Tesis, Blacksburg, Virgínia, 1987.
- Despins JL, Turner EC, Ruszler PR. Effects of poultry manure moisture and poultry house construction materials on movements of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), a structural insect pest in high-rise layer houses. Poult. Sci. 1989; 68(10):1326-1331. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.0681326>
- Despins JL, Turner EC, Pfeifer DG. Evaluation of methods to protect poultry house insulation from infestation by lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Agric. Entomol. 1991; 8(3):209-217. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10919/73829>
- O'Connor JP. *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) damaging polystyrene insulation on an Irish pig-gery. Entomol. Monthly Magaz. 1987; 123(0):1472-1475.
- Geden CJ, Axtell RC. Factors affecting climbing and tunneling behavior of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Econom. Entomol. 1987; 80(6):1197-1204. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/80.6.1197>
- Axtell RC. Biology and economic importance of the darkling beetle in poultry houses. Proceedings of the North Carolina State University Poultry Supervisors' Short Course. 1994; 8-17. Disponível em: <http://www.lib.ncsu.edu/resolver/1840.2/2108>
- Salin C, Delettre YR, Cannavaccioulo M, Vernon P. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. Eur. J. Soil. Biol. 2000; 36(2):107-115. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(00\)01054-2](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(00)01054-2)
- McAllister JC, Steelman CD, Skeeles JK. Reservoir competence of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Salmonella typhimurium* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). J. Med. Entomol. 1994; 31(3):369-372. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jmedent/31.3.369>
- Crippen TL, Zheng L, Sheffield CL, Tomberlin JK, Beier RC, Yu Z. Transient gut retention and persistence of *Salmonella* through metamorphosis in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Appl. Microbiol. 2012; 112(5):920-926. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05265.x>
- Roche AJ, Cox NA, Richardson LJ, Buhr RJ, Cason JA,



- Fairchild BD, Hinkle NC. Transmission of Salmonella to broilers by contaminated larval and adult lesser mealworms, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Poult. Sci.* 2009; 88(1):44-48. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00235>
18. Strother KO, Steelman CD, Gbur EE. Reservoir competence of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Campylobacter jejuni* (Campylobacteriales: Campylobacteraceae). *J. Med. Entomol.* 2005; 42(1):42-47. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.1.42>
19. De Las Casas E, Pomeroy BS, Harein PK. Infection and quantitative recovery of Salmonella typhimurium and *Escherichia coli* from within the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). *Poult. Sci.* 1968; 47(6):1871-1875. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.0471871>
20. De Las Casas E, Harein PK, Pomeroy BS. Bacteria and fungi within the lesser mealworm collected from poultry brooder houses. *Environ. Entomol.* 1972; 1(1):27-30. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ee/1.1.27>
21. McAllister JC, Steelman CD, Skeeles JK, Newberry LA, Gbur EE. Reservoir competence of the *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) for *Escherichia coli* (Eubacteriales: Enterobacteriaceae). *J. Med. Entomol.* 1996; 33(6):983-987. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jmedent/33.6.983>
22. Eidson CS, Schmittle SC, Goode RB, Lal JB. The role of the darkling beetle (*Alphitobius diaperinus*) in the transmission of acute leukosis in chickens. *Poult. Sci.* 1965; 44(5):1366-1367. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps.0441347>
23. De Las Casas E, Harein PK, Deshmukh DR, Pomeroy BS. Relationship between the lesser mealworm, fowl pox and Newcastle disease virus in poultry. *J. Econ. Entomol.* 1976; 69(6):775-779. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/69.6.775>
24. Despains JL, Axtell RC, Rives DV, Guy JS, Ficken MD. Transmission of enteric pathogens of turkeys by darkling beetle larva (*Alphitobius diaperinus*). *J. Appl. Poult. Res.* 1994; 3(1):61-65. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/japr/3.1.61>
25. Watson DW, Guy JS, Stringham SM. Limited transmission of turkey coronavirus in young turkeys by adult *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Med. Entomol.* 2000; 37(3):480-483. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jmedent/37.3.480>
26. Mullen G, Durden L. Medical and veterinary entomology. 3rd ed. San Diego, United States, Academic Press, 2019;794p.
27. Elowni EE, Elbihari S. Natural and experimental infection on the beetle, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) with *Choanotaenia infundibulum* and other chicken tapeworms. *Vet. Sci. Commun.* 1979; 3:171-173. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02268965>
28. Galli A, Souza D, Garbellini GS, Coutinho CFB, Mazo LH, Avaca LA, Machado SAS. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. *Quím. Nova.* 2006; 29(1):105-112. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100020>
29. Tomberlin JK, Richman D, Myers HM. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. *J. Econ. Entomol.* 2008; 101(2):480-483. Disponível em: [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2008\)101\[480:soadct\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2008)101[480:soadct]2.0.co;2)
30. Chernaki-Leffer AM, Sosagómez DR, Almeida LM, Lopes ION. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuron in southern Brazil. *Rev. Bras. Entomol.* 2011; 220(1):125-128. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0085-56262011000100020>
31. Fogaça I, Ferreira E, Saturnino KC, Santos TR, Cavali J, Porto MO. Alcool para controle de cascudinho em cama de frangos de corte. *Arch. Zootec.* 2017; 66(256):509-514. Disponível em: <https://doi.org/10.21071/az.v66i256.2766>
32. Chernaki-Leffer AM, Sosa-Gomez DR, Almeida LM. Susceptibilidade de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) a reguladores de crescimento de insetos (RCI). *Arq. Inst. Biol.* 2006; 73(1):51-55. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/284549911\\_Susceptibility\\_of\\_Alphitobius\\_diaperinus\\_Panzer\\_1797\\_Coleoptera\\_Tenebrionidae\\_to\\_insect\\_growth\\_regulators\\_IGR](https://www.researchgate.net/publication/284549911_Susceptibility_of_Alphitobius_diaperinus_Panzer_1797_Coleoptera_Tenebrionidae_to_insect_growth_regulators_IGR)
33. Gazoni FL, Flores F, Bampi RA, Silveira F, Bouffleur R, Lovato. Avaliação da resistência do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) a diferentes temperaturas. *Arq. Inst. Biol.* 2012; 79(1):69-74. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/QDGt4PYpcqL76Yt3XtPH5bD/?format=pdf&lang=pt>
34. Alves LFA, Uemura-Lima DH, Oliveira DGP, Godinho RPV. Eficiência de um novo inseticida comercial para o controle do cascudinho dos aviários (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Arq. Inst. Biol.* 2010; 77(4):693-700. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p6932010>
35. Dias DA, Vargas AB, Almeida FS. Efeitos de dosagem mais concentrada de cipermetrina no controle de cascudinho. *Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.* 2013; 11(4):437-442. Disponível em: <https://doi.org/10.7213/academico.011.004.AO11>
36. Volpato A, Lorenzetti WR, Zortea T, Giombelli LCDD, Barretta D, Santos RCV, Vaucher RA, Raffin RP, Souza ME, Stefani LM, Boligon AA, Athayde ML, Silva AS. *Melaleuca alternifolia* essential oil against the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and its possible effect on the soil fauna. *Rev. Bras. Ciênc. Avic.* 2016; 18(1):41-46. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1516-635X1801041-046>
37. Maria CAB, Moreira RFA. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. *Quim. Nova.* 2007; 30(1):99-105. Disponível em: [http://static.sites.sbg.org.br/quimicanova.sbg.org.br/pdf/Vol30-No1\\_99\\_20-RV05372.pdf](http://static.sites.sbg.org.br/quimicanova.sbg.org.br/pdf/Vol30-No1_99_20-RV05372.pdf)
38. Krisko A, Kveder M, Pifat G. Effect of caffeine on oxidation susceptibility of human plasma low density lipoproteins. *Clin. Chim. Acta.* 2005; 355(1-2):47-53. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.12.001>
39. Varago FC, Silva LP, Ribeiro JR, Fernandes CA, Carvalho BC, Gioso MM, Moustacas VS. Teofilina como agente capacitante do semen bovino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2017; 69(6):1670-1614. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9173>
40. Laranja AT, Manzato AJ, Bicudo HEMC. Effects of caffeine and used coffee grounds on biological features of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and their possible use in alternative control. *Genet. Mol. Biol.* 2003; 26(4):419-429. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-47572003000400004>
41. Guirado MM, Bicudo HEMC. Attractiveness of bioinsecticides caffeine and used coffee grounds in the choice of oviposition site by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Int. J. Mosquito Res.* 2016; 47(3):47-51. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2016/ses-38077/ses-38077-7041.pdf>
42. Laranja AT, Manzato AJ, Bicudo HEMC. Caffeine effect on mortality and oviposition in successive generations of *Aedes aegypti*. *Rev. Saúde Pública.* 2006; 40(6):1112-1117. Disponível

em: <https://doi.org/10.1590/S0034-89102006000700022>

43. Nathanson JA. Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. *Science*. 1984; 226(4671):184-187. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.6207592>

44. Pólo AM. Efeito da cafeína no desenvolvimento de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): o significado biológico das alterações do padrão de síntese de esterases. Dissertação Mestrado. UNESP, 2014. Disponível em: <http://www.sbcicafu.ufv.br/handle/123456789/8993>

45. Harel M, Kryger G, Rosenberry TL, Mallender WD, Lewis T, Fletcher RJ, Guss JM, Silman I, Sussman JL. Three-dimensional structures of *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase and of its complexes. *Protein Sci*. 2000; 9(6):1063-1072. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1110%2Fps.9.6.1063>

46. Davey K. The interaction of feeding and mating in the hormonal control of egg production in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol*. 2007; 53(3): 208-215. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.10.002>

47. Lucena ALM, Giglioli AAS, Lapenta AS. Análise das esterases durante as fases do desenvolvimento em *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) e sua relação com a resistência ao inseticida malathion. *SaBios: Rev. Saúde Biol*. 2012; 7(3):36-44. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/771>

48. Pohanka M. Alpha-7-nicotinic acetylcholine receptor is a target in pharmacology and toxicology. *Int. J. Mol. Sci*. 2012; 13(2):2219-2238. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms13022219>

49. Nishi Y, Sasaki K, Miyatake T. Biogenic amines, caffeine and tonic immobility in *Tribolium castaneum*. *J. Insect Physiol*. 2010; 56(6):622-628. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.01.002>

50. Mansur JF, Figueira-Mansur J, Santos AS, Santos-Junior H, Ramos IB, Medeiros MN, Machado EA, Kaiser CR, Muthukrishnan S, Masuda H, Melo ACA, Moreira MF. The effect of lufenuron, a chitin synthesis inhibitor, on oogenesis of *Rhodnius prolixus*. *Pestic. Biochem. Physiol*. 2010; 98(1):59-67. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.04.013>

51. Guirado MM, Bicudo HEMC. Effect of used coffee grounds on larval mortality of *Aedes aegypti* L. (Diptera: culicidae): Suspension concentration and age versus efficacy. *BioAssay*. 2007; 2(5):1-7. Disponível em: <http://www.seb.org.br/biosay/arquivos/journals/1/articles/52/public/52-254-1-PB.pdf>

52. Phankaen Y, Manaprasertsak A, Pluempanupat W, Koul O, Kainoh Y, Bullangpoti V. Toxicity and repellent action of *Coffea arabica* against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults under laboratory conditions. *J. Stored Prod. Res*. 2017; 71(2017):112-118. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.01.006>

53. Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zwartau EZ. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol. Rev*. 1999; 51(1):83-133. Disponível em: <https://pharmrev.aspetjournal-s.org/content/51/1/83>

54. Zahniser N, Simosky JK, Mayfield RD, Negri CA, Hanania T, Larson GA, Kelly MA, Grandy DK, Rubinstein M, Low MJ, Fredholm BB. Functional uncoupling of adenosine A(2A) receptors and reduced response to caffeine in mice lacking dopamine D2 receptors. *J. Neurosci*. 2000; 20(16):5949-5957. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/jneurosci.20-16-05949.2000>

55. Crippen TL, Sheffield CL, Esquivel SV. The acquisition and internalization of Salmonella by the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2009; 9(1):65-71. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0103>

56. Lambkin TA, Rice SJ. Baseline responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to cyfluthrin and detection of strong resistance in field populations in eastern Australia. *J. Econ. Entomol*. 2006; 99(3):908-913. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.3.908>

57. Kaufman PE, Strong C, Rutz DA. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) adults and larvae exposed to two commercial insecticides on unpainted plywood panels. *Pest Manag. Sci*. 2008; 64(2):108-111. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.1475>

58. Khoshraftar Z, Shamel A, Safekordi AA, Zaefizadeh M. Chemical composition of an insecticidal hydroalcoholic extract from tea leaves against green peach aphid. *Int. J. Environ. Sci. Technol*. 2019; 16(11):7583-7590. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s13762-018-2177-x>

59. Gomes GA, Monteiro CMO, Julião LS, Maturano R, Senra TOS, Zeringóta V, Calmon F, Matos RS, Daemon E, Carvalho MG. Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Exp. Parasitol*. 2014; 137(0):41-45. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.12.003>

60. Boursier CM, Bosco D, Coulibaly A, Negre M. Are traditional neem extract preparations as efficient as a commercial formulation of azadirachtin A?. *Crop Prot*. 2011; 30(3):318-322. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.11.022>

61. Anjali CH, Sharma Y, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsion--a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*. *Pest Manag. Sci*. 2012; 68(2):158-163. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ps.2233>

62. Yang Z, Baldermann S, Watanabe N. Recent studies of the volatile compounds in tea. *Food Res. Int*. 2013; 53(2):585-599. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.011>

63. Filomeno CA, Barbosa LCA, Teixeira RR, Pinheiro AL, Farias ES, Silva EMP, Picanço MC. *Corymbia* spp. and *Eucalyptus* spp. essential oils have insecticidal activity against *Plutella xylostella*. *Ind. Crops Prod*. 2017; 109(0):374-383. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.033>

64. Ananenka A. Insecticides and invertebrate neurophysiology: testing the efficacy of caffeine as an insecticide. 2018. Thesis (PhD in Biology). Montreal: Concordia University, 2018. Disponível em: [https://digitalcommons.csp.edu/cup\\_commons\\_undergrad/124](https://digitalcommons.csp.edu/cup_commons_undergrad/124)

65. Tamburro M, Sammarco ML, Trematerra P, Colacci M, Ripabelli G. Potential role of *Alphitobius diaperinus* Panzer (Insecta, Coleoptera) in poultry farm as transmission vector of bacterial pathogens in broilers and humans. *J. Appl. Microb*. 2022; 74(6):883-892. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/lam.13679>

66. Rumbos C, Pantazis I, Athanassiou C. Population growth of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), on various commodities. *J. Econ. Entomol*. 2020; 113:1001-1007. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jee/toz313>

67. Oliveira DGP, Cardoso RR, Mamprim AP, Angeli LF. Laboratory and field evaluation of a cypermethrin-based insecticide for the control of *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera:

- Tenebrionidae) and its in-vitro effects on *Bacauveria bassiana* bals. vuill. (Hypocreales: Cordycipitaceae). *Braz. J. Poult. Sci.* 2016; 18(3):371-380. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1590/1806-9061-2015-0115>.
68. Souza CJ, Barbosa FM, Marujo MM, Santos ET, Domingues CH, Oliveira D, Sgavioli S. Effect of cypermethrin on the control of lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and broiler performance. *Pesq. Vet. Bras.* 2021; 41:e06859. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6859>
69. Tomberlin JK, Richman D, Myers H. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) from broiler facilities in Texas to four insecticides. *J. Econ. Entomol.* 2008; 101(2):480-483. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1603/0022-0493>
70. Hickmann F, Morais AF, Bronzatto ES, Giacomelli T, Guedes JVC, Bernardi O. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), from broiler farms of southern Brazil to insecticides. *J. Econ. Entomol.* 2018; 111(2):980-985. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1093/jee/toy059>
71. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions on yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.* 2006; 27(1):1-93. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.008>
72. López MD, Pascual-Villalobos MJ. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Indust. Crops. Products.* 2010; 31(2):284-288. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.005>