



Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

CONVÊNIO DE COOPERAÇÃO TÉCNICA QUE CELEBRAM ENTRE SI A UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ - UENP E O INSTITUTO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL - ITEDES, TENDO POR OBJETO A REALIZAÇÃO DE ESTUDO DO USO DE NEPs NATIVOS BRASILEIROS NA FAZENDA NOSSA SENHORA APARECIDA LOCALIZADA NO MUNICÍPIO DE ARAPONGAS - PR.

A UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ - UENP, pessoa jurídica de direito público, com sede, na Rodovia PR Km. 160, na cidade de Cornélio Procopio, Estado do Paraná, inscrita no CNPJ/MF sob no 78.640.489/0001-53, neste ato representada por seu Reitor Prof. Dr. Eduardo Rando Meneguel, doravante denominada **UENP**, e o **INSTITUTO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL - ITEDES**, pessoa jurídica de direito privado, declarado como órgão de utilidade pública, com sede na Avenida Presidente Castelo Branco, nº 655, Jardim Presidente, na cidade de Londrina, Estado do Paraná, inscrita no CNPJ/MF sob nº 00.413.717/0001-65, representada por sua Diretora Presidente Profª Drª Nilza Aparecida Freres Stipp e seu Diretor Administrativo e Financeiro Prof. Me. Jaime de Oliveira, doravante denominado **ITEDES**, neste ato firmam o presente Convênio de Cooperação Técnica, mediante as seguintes cláusulas e condições:

CLÁUSULA PRIMEIRA - Do Objeto

O presente Convênio tem por objeto a cooperação entre as partes acordantes visando ao desenvolvimento das atividades referentes aos estudos do uso de NEPs nativos brasileiros a serem realizados na Fazenda Nossa Senhora Aparecida no Município de Arapongas - PR, bem como nas dependências da Solana Agropecuária Ltda, mediante o uso de infraestrutura permanente cedida pela **UENP** sob a coordenação e responsabilidade técnica da Profª Drª Viviane Sandra Alves, lotada no Colegiado de Ciências Biológicas do CCHE da UENP.

Parágrafo único. O presente Convênio, o Contrato de Prestação de Serviços celebrado entre o **ITEDES** e a **Solana Agropecuária Ltda**, bem como a proposta técnica nº 017.2011- ITEDES, são integrantes entre si de forma que qualquer omissão imputada em um dos instrumentos será considerada válido e especificado em outro, e reger-se-á pelas normas de Direito Público, em especial pela Lei Estadual nº 15.608/07, e, subsidiariamente pela Lei Federal nº 8.666/93 e, em caso de necessidade, pelas normas de Direito Privado.

CLÁUSULA SEGUNDA - Da Natureza dos Serviços.

O objeto supracitado na cláusula primeira compreende a avaliação do potencial de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Cyrtomom luridus* em cultivos de *Duboisia* sp. Na Fazenda Nossa Senhora Aparecida no Município de Arapongas - PR, conforme os seguintes objetivos específicos a saber:

- a) Realizar a seleção de isolados de nematóides entomopatogênicos visando o controle de *Cyrtomos Luridus* (com base na virulência e concentração letal);



Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

- b) Realizar testes em casa de vegetação para validar a eficiência do isolado escolhido antes de realizar testes em campo (analisando capacidade de deslocamento e eficiência quanto a aplicação no solo);
- c) Avaliar o potencial do isolado escolhido em condições de campo, testando diferentes metodologias de aplicação, concentrações e tempos de aplicação.

CLÁUSULA TERCEIRA - Do Plano de Trabalho

As atividades de que tratam as Cláusulas Primeira e Segunda serão instruídas com base na confecção de um plano de trabalho específico, parte integrante ao presente convênio, elaborado e aprovado pelas partes, em que constam as seguintes informações:

- a) Objeto;
- b) Metas;
- c) Origem dos recursos financeiros;
- d) Plano de aplicação dos recursos financeiros;
- e) Cronograma de desembolso;
- f) Previsão de início e fim de execução do objeto;
- g) Previsão de conclusão das etapas ou fases programadas.

CLÁUSULA QUARTA - Da Coordenação

A coordenação das atividades decorrentes do presente Convênio será realizada pela Profª Drª Viviane Sandra Alves do Colegiado de Ciências Biológicas do CCHE.

Parágrafo único. Cabe a Profª Drª Viviane Sandra Alves a iniciativa de propor, negociar e implementar a realização dos estudos de que trata este Convênio.

CLÁUSULA QUINTA - Dos Recursos Financeiros

A execução dos serviços objeto do presente Convênio será custeada mediante recursos provenientes da Solana Agropecuária LTDA conforme previsto na cláusula quinta do contrato de prestação de serviços supracitado.

Parágrafo único. Os recursos financeiros arrecadados com a inscrição dos candidatos e aloca-dos pela UNIVERSIDADE e Itedes serão utilizados exclusivamente à consecução do objeto deste Convênio, descrito na Cláusula Segunda, observado o Plano de Aplicação dos Recursos Financeiros.

CLÁUSULA SEXTA - Da Gestão dos Recursos

Os recursos financeiros gerados em atividades resultantes deste Convênio serão gerenciados em conta específica sob titularidade do Itedes e somente poderá ser movimentada mediante requerimento por ofício.

CLÁUSULA SÉTIMA - Da Aplicação dos Recursos Financeiros

Os recursos financeiros serão aplicados na execução dos serviços objeto deste Convênio, podendo o Itedes reter 5% (cinco por cento) do valor das parcelas previsto na cláusula quinta do contrato de prestação de serviços, visando o custeio das despesas decorrentes da execução dos serviços sob seu encargo, decorrentes deste convênio.

Parágrafo Primeiro. O Itedes deverá repassar mensalmente no prazo de duração deste convênio a quantia de R\$ 550,00 (quinhentos e cinquenta reais) a estudante bolsista de aperfeiçoamento técnico indicada pela Coordenadora e Responsável Técnica Profª Drª Viviane Sandra Alves, mediante assinatura de recibo.



Parágrafo Segundo. O Itedes deverá repassar a partir do mês de abril do ano de 2012, até o término de duração deste convênio a quantia de R\$ 1.200,00 (Hum mil e duzentos reais) a estudante bolsista de mestrado que realizará a dissertação na área em comento, indicada pela Coordenadora e Responsável Técnica Profª Drª Viviane Sandra Alves mediante assinatura de recibo.

Parágrafo Terceiro. Existindo saldo financeiro remanescente deverão os mesmos ser repassados à UENP no prazo de 30 (trinta) dias do encerramento das atividades do objeto conveniado, mediante demonstração contábil.

CLÁUSULA OITAVA - Das Atribuições da UENP:

- a) Fornecer os equipamentos permanentes elencados no item 4 do plano de trabalho parte integrante deste convênio;
- b) promover, em tempo hábil, as medidas necessárias à autorização para realização do objeto deste convênio;
- c) fornecer as instalações físicas e equipamentos necessários à realização do objeto deste convênio;

CLÁUSULA NONA - Das Atribuições do Itedes

- a) Observar e cumprir as cláusulas, condições e prazos conforme estipulado no Contrato de prestação de serviços celebrado entre o ITEDES e a Solano Agropecuária Ltda;
- b) Abrir conta bancária específica para o gerenciamento dos recursos;
- c) Viabilizar a execução do Plano de Trabalho parte integrante deste convênio;
- d) Apoiar as ações da UENP;
- e) Responsabilizar-se pelo pagamento das despesas de execução dos serviços, conforme plano de aplicação de recursos;
- f) Responsabilizar-se pelo pagamento das despesas de pessoal envolvidos na execução do objeto deste convênio, a serem suportados exclusivamente com recursos provenientes deste convênio, conforme plano de aplicação de recursos;
- g) Acompanhar o desenvolvimento dos serviços, assegurando o alcance de seus objetivos;
- h) Depositar os recursos financeiros em conta específica aberta para execução deste Convênio, para custeio das despesas decorrentes dos serviços conveniados;
- i) Transferir à UENP, no prazo máximo de 30 (trinta) dias contados do término da execução deste Convênio, o saldo financeiro remanescente;

CLÁUSULA DÉCIMA - Da Vigência

O presente Convênio passará a vigorar a partir de sua assinatura até o término das atividades previstas neste instrumento.

CLÁUSULA DÉCIMA PRIMEIRA - Da Extinção

O presente Convênio será regularmente extinto quando atingir seu termo final, admitindo-se hipóteses de denúncia e renúncia nos moldes dos parágrafos da presente cláusula, sendo que, em qualquer das formas de extinção, os saldos existentes em poder do Itedes serão repassados à UENP, no prazo de 30 (trinta) dias a contar da data de encerramento do objeto do presente convênio, conforme previsto no Art. 145 da Lei Estadual nº 15.608/2007.



Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

Parágrafo Primeiro. O presente convênio poderá ser denunciado a qualquer tempo, por qualquer dos partícipes, independentemente de descumprimento de qualquer cláusula do presente instrumento, mediante notificação escrita, com antecedência mínima de 30 (trinta) dias, firmando-se para tanto, "Termo de Encerramento".

Parágrafo Segundo. O "Termo de Encerramento" a que se refere o parágrafo anterior deve prever as resoluções entre as partes convenientes quanto às atividades pendentes e encerramento de eventuais contas, dispondo a respeito da conclusão do convênio.

Parágrafo Terceiro. O presente convênio poderá ser rescindido em decorrência de inobservância total ou parcial das atribuições assumidas, bem como em decorrência do interesse público, nos termos da Lei, independentemente de notificação judicial ou extrajudicial, respondendo a parte ensejadora da rescisão por perdas e danos decorrentes, ressalvadas as hipóteses de caso fortuito ou força maior, devidamente demonstradas e comprovadas.

CLÁUSULA DÉCIMA SEGUNDA - Do Foro

Para dirimir eventuais dúvidas do presente Convênio, fica eleito o foro da Comarca de Cornélio Procópio, Estado do Paraná, renunciando a qualquer outro por mais privilegiado que seja.

E, por estarem conforme as partes, assinam o presente instrumento em 2 (vias) vias de igual teor.

Londrina, 24 de outubro de 2011.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
Reitor

INSTITUTO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO
ECONÔMICO E SOCIAL-ITEDES

Profa. Dra. Nilza Aparecida Freres Stipp
Diretora-Presidente

Prof. Me. Jaime de Oliveira
Diretor Administrativo e Financeiro

TESTEMUNHAS:

Nome: Ricardo Aparecido Campos
RG: 5.329.149-0
(Portaria nº 159/2011)

Nome: Viviane S. Alves
RG: 7.369.227-0

Avenida Presidente Castelo Branco, nº 655 – Jardim Presidente
Londrina – PR - CEP 86.061-335 - Fone/Fax: (43) 3328-2400 / 3357-2136
E-mail: convenio@itedes.org.br



Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

PROPOSTA 017.2011-ITEDES

A

Boehringer Ingelheim do Brasil – Solana Agropecuária Ltda
Att.: Sr. Paulo Tironi – Eng. Agro./Pesquisa
Estrada do Bule, km 7
Arapongas-PR

Proponente: ITEDES – Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social
CNPJ/MF: 00.413.717/0001-65
Avenida Presidente Castelo Branco, nº 655 – Jardim Presidente
Londrina – PR - CEP 86.061-335
Fone/Fax: (43) 3328-2400 / 3357-2136

Executor: Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP
CNPJ/MF: 08.885.100/0003-16
Rod. PR 160, Km 0
Cornélio Procópio – PR – CEP 86.300-000
Fone/Fax: (43) 3904-1888

DESCRIÇÃO DO SERVIÇO

USO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGENICOS (RHABDITA: STEINERNEMATIDAE E HETERORHABDITIDAE) VISANDO O CONTROLE DE *Cyrtomon luridus* (BOH.) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) EM *Duboisia* sp. (SOLANACEAE)

1. INTRODUÇÃO

Cyrtomon luridus (Coleóptera: Curculionidae) é um inseto nativo de solanáceas silvestres que ocorrem em regiões neotropicais, e no Brasil há registros de sua ocorrência nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Lanteri, 1990).

O inseto adulto é encontrado em áreas infestadas, caminhando no solo ou sobre a folhagem da planta, onde se alimenta das folhas (Tironi et al., 2004) no período de setembro a abril. Nessa época, acasalam e, em seguida, as fêmeas realizam postura nas folhas e caule das plantas.

Após a eclosão dos ovos, as larvas caem no solo, onde se aprofundam aproximadamente 45 cm, e durante toda a fase larval, os insetos se alimentam das raízes das



plantas, passando em seguida a fase de pupa e finalmente adulto. O ciclo todo, dura em torno de um ano (Tironi et al., 2004).

C. luridus não causa prejuízos significativos em nenhuma cultura brasileira, motivo pelo qual estudos a seu respeito são bastante escassos. Além disso, por esse motivo, também não existem produtos registrados para o seu controle em culturas brasileiras. Entretanto, quando *Duboisia* sp. foi introduzida no Brasil na década de 80, o inseto se adaptou rapidamente a essa cultura, causando danos bastante severos, podendo em altas infestações (aproximadamente 60 larvas/planta) causar 100% de mortalidade em plantações (Tironi et al., 2004).

Métodos de controle são escassos, e pouco estudados. Tironi et al. (2005) realizaram estudos sobre a biologia do parasitóide *Microctonus* sp. (Hymenoptera: Braconidae) ocorrendo naturalmente sobre *C. luridus*. Segundo os autores, no período de fevereiro a junho, foi observado até 54% de parasitismo em insetos adultos coletados no campo, e até 40% de parasitismo em experimentos de laboratório. Entretanto, segundo os autores, a produção em larga escala, para a realização de liberações massais, é bastante difícil, e inviabiliza o seu uso em programas de controle.

No que se refere ao controle microbiano, não existem registros da ocorrência natural de entomopatógenos, sendo esta uma possibilidade a ser estudada, principalmente com relação aos nematóides entomopatogênicos, pois estes agentes vivem no solo, e são o método mais indicado para controle de insetos com hábitos crípticos, que passam pelo menos uma fase do seu ciclo de vida no solo (Grewal et al., 2001; Lewis et al., 2006).

Os nematóides entomopatogênicos (NEPs) pertencem à ordem Rhabditida (Nematoda: Secernentea), na qual estão localizadas as famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae. A família Steinernematidae possui dois gêneros: *Steinernema* Travassos, 1927 e *Neosteinerema* Nguyen & Smart, 1994, enquanto a família Heterorhabditidae possui o gênero *Heterorhabditis* Poinar, 1976. Atualmente, existem descritas e validadas cerca de 41 espécies do gênero *Steinernema*, uma do gênero *Neosteinerema* e 11 do gênero *Heterorhabditis*, sendo que mais de 70% dessas foram descritas nos últimos 20 anos (Adams et al., 2006).

Neps apresentam quatro fases larvais (juvenis), uma fase adulta e ovo. O ciclo de vida começa quando juvenis de terceiro estágio (J3), também chamados infectantes (JIs), carregando células de bactérias em uma vesícula localizada na região anterior do intestino, penetram no corpo do hospedeiro através de suas aberturas naturais quando *Steinernema* (boca, ânus, espiráculos) e quando *Heterorhabditis* pelo tegumento (Forst e Clarke, 2002).

Os juvenis infectantes são morfologicamente adaptados à permanência no solo, pois retêm a cutícula do segundo estágio, e possuem o ânus e a boca fechados. Dentro do hospedeiro, migram para a hemocele, onde perdem a cutícula extra e defecam, liberando as bactérias (Poinar, 1966). Assim se multiplicam em um curto período de tempo e causam septicemia no hospedeiro. Todas as fases ocorrem dentro do inseto, podendo haver vários ciclos. Quando as reservas nutricionais do inseto encontram-se esgotadas, juvenis da terceira fase larval engolem algumas bactérias e saem em busca de outro inseto para infectar. São os chamados juvenis infectivos (JIIs), única fase adaptada para sobreviver fora do inseto (Adams e Nguyen, 2002).

Entre as principais vantagens apresentadas por estes agentes, está o fato de serem mais resistentes que outros agentes defensivos agrícolas, possibilitando sua utilização em



programas de Manejo Integrado de Pragas; podem apresentar ação sinérgica com outros agentes entomopatogênicos; apresentam boa capacidade de adaptação a novos ambientes, desde que estes não apresentem condições adversas extremas; algumas espécies podem difundir-se no ambiente, buscando pelo hospedeiro; podem reproduzir-se por partenogênese; são inócuos a plantas e outros animais, inclusive ao homem (Ferraz, 1998).

Sendo assim, este trabalho terá como objetivo, o estudo do uso de NEPs nativos brasileiros como agentes de controle de *C. luridus* em condições de laboratório, casa de vegetação e também em campo.

2. Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

- Avaliar o potencial de nematoides entomopatogênicos visando o controle de *Cyrtomom luridus* em cultivos de *Duboisia* sp.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos visando o controle de *Cyrtomom luridus* (com base na virulência e concentração letal);
- Realizar testes em casa de vegetação para validar a eficiência do isolado escolhido antes de realizar testes em campo (analisando capacidade de deslocamento e eficiência quanto a aplicação no solo);
- Avaliar o potencial do isolado escolhido em condições de campo, testando diferentes metodologias de aplicação, concentrações e tempos de aplicação;

3. Metodologia

3.1 Obtenção de Isolados

Serão utilizados apenas isolados nativos brasileiros nos testes de seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos visando o controle do coleóptero *C. luridus*. Para tanto, será solicitado junto a EMBRAPA TRIGO (Passo Fundo – RS) o envio das estirpes NEPETS, bem como ao Instituto Biológico (Campinas – SP) e a Universidade Federal de Lavras (Lavras – MG) o envio dos isolados nativos que estas possuem para que sejam utilizados nos testes.

Paralelamente ao desenvolvimento dos outros experimentos, durante as escavações para coleta de larvas para os testes, serão procurados insetos que apresentem sintomatologia de infecção natural por nematoides entomopatogênicos. Caso sejam encontrados, esses insetos serão coletados e enviados ao laboratório de Entomologia e Controle Microbiano da UENP, para isolamento do nematóide.

Serão também, coletadas amostras de solo na região, para tentativa de isolamento de NEPs pelo método de isca-viva.



Para montagem das armadilhas de iscas-vivas, serão coletadas amostras de 200g de solo, que serão etiquetadas, acondicionados em sacos plásticos, e em seguida em caixa de isopor, onde serão transportados até o Laboratório de Entomologia da UENP.

No laboratório, as amostras serão dispostas em potes plásticos, e em seguida receberão de 4 a 6 larvas de *Galleria mellonella* (5º instar), os potes serão então tampados e invertidos, para aumentar o contato do solo com os insetos.

Após 5 dias, os potes serão abertos, e os insetos mortos que apresentarem sintomatologia características da infecção por nematóides entomopatogênicos serão lavados em álcool 70%, água destilada e acondicionados em câmara seca, e posteriormente em armadilha de White para coleta dos nematóides.

Após a coleta, os isolados serão mantidos em suspensão aquosa em frascos Erlenmeyer em câmara climática à temperatura de 16°C. Quando necessário, a multiplicação será feita pelo método *in vivo*, em larvas do último instar de *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) provenientes do laboratório de Entomologia, Campus de Cornélio Procopio da UENP, criadas de acordo com metodologia descrita por Dolinski (2005).

Serão analisados todos isolados possíveis, visando a escolha de dois mais virulentos para os testes posteriores.

3.2 Multiplicação e manutenção dos Isolados

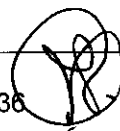
Manutenção de *G. mellonella*: o preparo da dieta será feito conforme metodologia de Kaya & Stock 1997.

Manutenção dos nematóides: para a produção *in vivo*, 30 larvas de 5º instar de *G. mellonella* serão colocadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro contendo papel filtro duplo e inoculadas com aproximadamente 20 Juvenis Infectantes (JIs) /larva e mantidas em câmaras climáticas. Após um período de dois dias as larvas mortas serão retiradas e colocadas em câmara seca (placa de Petri com papel filtro) onde permanecerão por 5 dias, também em câmara climática, para desenvolvimento dos nematóides e observação da sintomatologia característica da infecção, onde as larvas ficam ligeiramente encurvadas e de coloração vermelha acentuada.

Em seguida, as larvas serão colocadas em armadilhas de White (White, 1927). Esta consiste de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro com um pedaço de material acrílico fixado no centro da placa, sobre o qual é colocada uma folha de papel filtro, onde são depositadas as lagartas mortas e já incubadas por cinco dias em câmara seca. A armadilha recebe ainda cerca de 2mL de água destilada. A umidade estimula a saída dos nematóides, que ficam suspensos na água, de onde serão recolhidos diariamente durante cinco dias.

A multiplicação também poderá ser conduzida com larvas de *Tenebrio molitor*, cuja criação será mantida em câmara climática, com foto fase de 12 horas, a temperatura e a umidade relativa do ar de 25 ± 1 °C e $60 \pm 5\%$. Os insetos serão mantidos em caixas plásticas com tampa perfurada, de tamanho de 17 x 24 x 9cm de largura, comprimento e altura, respectivamente, contendo tipo de dieta a base de farinha de trigo, farelo de trigo, germen de trigo, pão e batata doce.

3.3 Manutenção dos isolados





Para a multiplicação dos isolados pelo método *in vivo* serão utilizadas 30 larvas de 5º instar de *G. mellonella* ou *T. molitor* que serão colocadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro contendo papel filtro duplo e inoculadas com aproximadamente 20 Juvenis Infectantes (JIs) /larva e mantidas em câmaras climáticas sem fotofase, a $25\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $60\pm 5\%$. Após um período de dois dias as larvas mortas serão retiradas e colocadas em câmara seca (placa de Petri com papel filtro) onde permanecerão por cinco dias, também em câmara climática, em iguais condições, para desenvolvimento dos nematóides e observação da sintomatologia característica da infecção.

Em seguida, as larvas serão colocadas em armadilhas de White (White, 1927), que consiste em uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro com um pedaço de material acrílico fixado no centro da placa, sobre o qual é colocada uma folha de papel filtro, onde são depositadas as lagartas mortas e já incubadas por cinco dias em câmara seca. A armadilha recebe ainda cerca de 2mL de água destilada. A umidade estimula a saída dos nematóides, que ficam suspensos na água, de onde serão recolhidos diariamente durante cinco dias.

Após a coleta, os NEPs serão mantidos em câmara climática a $16\pm 1^\circ\text{C}$ em suspensão aquosa por um período máximo de uma semana, aguardando a montagem dos experimentos.

3.4 Seleção de Isolados

Serão coletadas larvas de terceiro ínstar do besouro em campo e levadas ao laboratório, onde os insetos serão mantidos em solo úmido, contendo raízes de *Duboisia* sp. ou brotos de batata como alimento.

Para os testes de seleção de isolados, as larvas serão distribuídas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo 20g de areia estéril e pedaços de raiz de *Duboisia* sp ou brotos de batata. Os insetos serão cobertos com a areia, e os isolados aplicados em 3mL de suspensão na concentração de 100JIs/cm².

As placas serão mantidas em câmara climática a $25^\circ\text{C}\pm 1$, UR de 70 ± 10 . As avaliações serão diárias até o 5º dia, observando-se o número de insetos mortos estimando-se a porcentagem de mortalidade. As larvas mortas serão transferidas para câmara seca, onde permanecerão por mais cinco dias, e em seguida serão dissecadas com auxílio de microscópio estereoscópio, para confirmação da mortalidade.

O delineamento experimental será dependente da quantidade de isolados avaliados para posteriormente determinar a quantidade de tratamentos totais.

O número médio de larvas mortas por nematóides será analisado utilizando ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, feitas pelo programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2002).

3.5 Teste de Concentrações para a utilização de nematóides entomopatogênicos visando o controle do besouro *Cyrtomom luridus*.

Serão selecionados os dois melhores isolados nativos com base nos testes de virulência. Ambos isolados serão aplicados em sete concentrações diferentes (0 - testemunha; 50; 100; 200; 400; 800 e 1000 JIs/inseto).

Serão coletadas larvas de terceiro ínstar do besouro em campo e levadas ao laboratório, onde os insetos serão distribuídos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo papel filtro duplo (oito insetos/placa). A unidade experimental (parcela) será de uma

47



placa de Petri de 9 cm de diâmetro contendo dez insetos, e cada tratamento será repetido 5 vezes.

Será avaliado até o 5º dia, analisando os insetos mortos, calculando-se a porcentagem de mortalidade. As larvas mortas serão mantidas em câmara seca para observação da sintomatologia durante cinco dias. Em seguida, os insetos serão dissecados com auxílio de microscópio estereoscópico para confirmação da mortalidade.

O delineamento a ser utilizado será inteiramente casualizado com 14 tratamentos (2 isolados + 7 concentrações).

O número médio de larvas mortas por nematóide será analisado utilizando ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e a análise de regressão será feita pelo programa estatístico Sivasr (Ferreira, 2002).

3.6 Testes para avaliação da capacidade de deslocamento dos isolados em coluna de solo

Os isolados que forem selecionados também serão avaliados quanto à capacidade de deslocamento em coluna de solo, simulando uma situação mais próxima às condições de campo.

Para montagem da coluna serão utilizados pedaços de cano PVC de 150 mm de diâmetro, com altura de 10cm, com tela plástica colada em uma das extremidades. Cada pedaço de cano, após ser preenchido com solo não esterilizado, receberá raízes de *Duboisia sp* sobre o qual serão transferidos 10 insetos. Os pedaços de cano serão então empilhados até a altura de 50 cm (5 pedaços) e unidos com fita adesiva.

O nematóide será aplicado em suspensão aquosa no topo da coluna, em um volume de no máximo 10 mL de água, na concentração de 100JIs/cm². Após a aplicação, as colunas de solo serão mantidas em câmara de vegetação, em temperatura ambiente e a avaliação será feita 5 dias após, desmontando-se as colunas e contando o número de insetos vivos e mortos em cada extrato da coluna. O experimento será conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3 (dois isolados e a testemunha,) x 5 (diferentes profundidades). Os dados referentes aos diferentes métodos de aplicação serão submetidos ao teste de comparação de médias Tukey ($P < 0,05$), enquanto que o desempenho de cada tratamento, quanto ao deslocamento, será submetido à análise de regressão.

3.7 Testes de compatibilidade do NEP com produtos químicos usados na lavoura

Para avaliar a compatibilidade dos isolados escolhidos com agroquímicos utilizados na lavoura de *Duboisia sp.* será utilizado o protocolo de Vainio (1992), adaptado por Negrisoni (2006).

Assim, os nematóides serão obtidos de lagartas de *G. mellonella*, mantidos em suspensão aquosa e estocados por até uma semana antes da utilização do experimento. O produto fitossanitário será preparado com o dobro da maior concentração de ingrediente ativo recomendado pelo fabricante. Desta solução será retirada uma alíquota de 1 mL e colocada em cinco tubos de vidro por tratamento, nos quais serão adicionados 2.500 JIs em 1 mL de água destilada e agitados.

O bioensaio será conduzido em câmara de climatizada a $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ e UR de $70 \pm 10\%$. A viabilidade dos nematóides será avaliada 48 horas após exposição aos produtos. Para tanto, uma alíquota de 0,1 mL da suspensão será retirada e observados 100 JIs para a determinação



da mortalidade. Serão considerados mortos aqueles que não responderam a estímulo com estilete.

A infectividade dos nematóides será testada nos mesmos períodos que a viabilidade. Os tubos serão completados com água destilada (3 mL) e deixados para decantar por meia hora na geladeira. O sobrenadante (cerca de 3mL) será descartado e a lavagem repetida por três vezes. Após a lavagem, 0,2 mL (cerca de 100 JIs) serão retirados do fundo de cada tubo e pipetados em cinco placas de petri (9 cm de diâmetro) com papel filtro por tratamento. Cada placa receberá dez lagartas de último instar de *G. mellonella* e mantida em câmaras climatizadas nas mesmas condições que o teste anterior, durante cinco dias. As lagartas mortas serão transferidas para placas de petri (9 cm de diâmetro) contendo uma folha de papel filtro seco e mantidas no escuro por mais três dias, sendo submetidas à dissecação para a avaliação da presença de nematóides.

Os valores de mortalidade de lagartas e nematóides serão submetidos à análise de variância. A diferença na viabilidade e infectividade das espécies de NEPs será determinada usando o teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). A interação entre tempo de exposição e concentração do produto será determinada pela regressão polinomial em cada espécie de NEP. Originalmente, o método preconiza que valores de mortalidade de nematóides ou redução de infectividade maiores de 50% caracterizam o produto como incompatível com os nematóides testados. No entanto, para melhor comparação entre as metodologias, não será utilizada essa classificação.

3.8 Testes em casa de vegetação

Após seleção do isolado e da realização dos demais testes, serão realizados testes em casa de vegetação com plantas infestadas artificialmente, para observar a ação do nematóide em condições semelhantes ao campo.

Para tanto, plantas com 90 dias após o plantio da estaca, serão acondicionadas em vasos de 5L, usando solo como substrato (com tratamento de adubagem de acordo com o recomendado para a região). Após o estabelecimento das plantas, estas serão infestadas com 10 larvas/vaso, e mantidas em casa de vegetação por 5 dias, para aclimação das larvas. Em seguida, será feita aplicação do nematóide via suspensão aquosa, na concentração de 100JIs/cm² (área do vaso).

Os vasos serão mantidos em casa de vegetação por mais 5 dias, e em seguida será feita avaliação, arrancando as plantas, e contando o número de larvas mortas e vivas em cada vaso.

Será também feito um tratamento testemunha, que receberá apenas água destilada, durante a aplicação. Cada tratamento será repetido 15 vezes, sendo que cada vaso corresponderá a uma parcela do experimento.

Ao final, o número médio de larvas vivas/vaso será submetido a teste de médias pelo teste de Tukey, para avaliar a eficiência do nematóide em controlar as larvas de *C. luridus*.

3.9 Testes em condições de campo

Os testes, em condições de campo, serão conduzidos na cidade de Arapongas, estado do Paraná, nas plantações de *Duboisia* sp., mantidos pela empresa Solana.



Será realizada uma amostragem de larvas do besouro na área onde será instalado o experimento, sendo realizadas escavações em algumas plantas para que seja diagnosticada a presença dos insetos e coletados em diversos pontos da área, para que seja considerada uma avaliação homogênea.

Será utilizado o melhor nematóide escolhido no experimento anterior, caracterizado por melhor produzir em laboratório e por ter alta virulência à larva.

O nematóide será aplicado em suspensão aquosa com auxílio de equipamento desenvolvido pela empresa para a aplicação de produtos químicos. Além do tratamento com nematóides, será feito um tratamento testemunha e outro com produto químico como padrão de comparação.

O experimento será feito em blocos distribuídos no espaço, sendo que cada bloco consistirá em três ruas da plantação de *Duboisia* sp. com 30 plantas em cada linha. Para critério de avaliação, serão descartadas as linhas das laterais, bem como as 10 plantas de cada extremidade, sendo avaliadas portanto, 10 plantas da linha central de cada bloco.

Além disso, será feita avaliação da persistência dos nematóides no campo, coletando-se 300 g de solo em volta das plantas, nas quais esses serão aplicados. As amostras de solo serão encaminhadas ao Laboratório de Entomologia da UENP em caixa térmica, onde serão submetidas à análise de persistência pela técnica isca-viva (Kaya & Stock, 1997), usando larvas de último instar de *G. mellonella*.

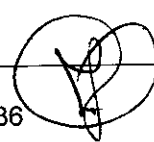
Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A eficiência de controle dos tratamentos será calculada pela fórmula de Abbott (1925).

3.10 Outros testes: a partir dos resultados obtidos nos testes acima propostos, será possível avaliar o potencial dos nematoides entomopatogênicos para o controle de *C. luridus*. Em caso de resposta positiva, outros testes deverão ser propostos, visando avaliar diferentes técnicas de aplicação, número de aplicações necessárias para controle efetivo, entre outros.

Será necessário também, avaliar formas de produção do nematoide para seu uso em larga escala, possibilitando a aplicação massal no campo.

3.11 Propriedade e direitos autorais

A UENP se reserva ao direito autoral de todos os dados produzidos a partir desse trabalho, incluindo o direito de patente e registro das tecnologias produzidas.





Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

4. Orçamento

Materiais de Consumo	Preço R\$	Quantidade	Justificativa	Total R\$
Reagentes para experimentos e criações	1.000,00	1	Manutenção da assepsia do laboratório	1.000,00
Dieta e materiais para <i>Galleria mellonella</i>	1.000,00	1	Manutenção da criação de <i>G. mellonella</i>	1.000,00
Dieta e materiais para <i>Tenebrio molitor</i>	1.000,00	1	Manutenção da criação de <i>T. molitor</i>	1.000,00
Material para manutenção dos nematóides	1.000,00	1	Manutenção dos nematóides	1.000,00
Material de limpeza	500,00	1	Manutenção da limpeza do laboratório	500,00
Vídrarias e material laboratorial	3.500,00	1	Para montagem dos experimentos laboratório	3.500,00
Combustível para deslocamento e coletas (litros)	2,70	600	Transporte para as coletas de larvas	1.620,00
Materiais para trabalhos de campo	1.500,00	1	Para as coletas das larvas do besouro	1.500,00
Apoio para participação em eventos	1.000,00	3	Para divulgação e troca de experiência	3.000,00
Material Permanente				
Mobília para o Laboratório de Entomologia	12.000,00	1	Contrapartida para o patrocínio da pesquisa	12.000,00
Pessoal				
Bolsista Aperfeiçoamento Técnico	550,00	30	Aluno recém formada em Biologia ou Agronomia	16.500,00
Bolsista de Mestrado	1.200,00	24	Aluno que realizará dissertação na área	28.800,00
Total				71.420,00
Tarifas Administrativas				
5% ITEDES				3.571,00

Avenida Presidente Castelo Branco, nº 655 – Jardim Presidente
Londrina – PR - CEP 86.061-335 - Fone/Fax: (43) 3328-2400 / 3357-2136
E-mail: convenio@itedes.org.br



Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

Seguro de vida para professor e aluno	100,00	3	Seguro para os deslocamentos e exp. em campo	300,00
Total				75.291,00

Desembolso Mensal

2.509,70

5. Contrapartida da UENP

Equipamentos Permanentes				
Câmara de Germinação	4.500,00	4	Condução dos ensaios em laboratório	18.000,00
Geladeira	1.000,00	1	Manutenção do banco de entomopatógenos	1.500,00
Destilador de água	1.500,00	1	Água para bioensaios	1.500,00
Estufa de esterilização e secagem	3.500,00	1	Condução dos ensaios	3.500,00
Vidrarias	3.000,00	1	Condução dos ensaios	3.000,00
Carro	40.000,00	1	Para deslocamento nas coletas	40.000,00
Autoclave	3.500,00	1	Para esterilização de materiais	3.500,00
Pessoal				
Bolsistas Iniciação Científica (360,00/mês)	4.320,00	2 (por ano)	Para auxílio na condução dos experimentos	21.600,00
Professor Coordenador do Trabalho	4.600,00	2,5 anos	Para orientação e coordenação dos trabalhos	137.880,00
Total				230.480,00

Avenida Presidente Castelo Branco, nº 655 – Jardim Presidente
Londrina – PR - CEP 86.061-335 - Fone/Fax: (43) 3328-2400 / 3357-2136
E-mail: convenio@itedes.org.br



Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social - ITEDES

6. Cronograma

Atividades	Ano I				Ano II				Ano III				Ano IV			
	4º Trim	1º Trim	2º Trim	4º Trim	4º Trim	2º Trim	4º Trim	4º Trim	1º Trim	2º Trim	3º Trim	4º Trim	1º Trim	2º Trim	3º Trim	4º Trim
Criação <i>G. mellonella</i>	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X			
Manutenção dos isolados	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X			
Experimento 3.1 a 3.4	X															
Experimento 3.5		X														
Experimento 3.6		X														
Experimento 3.7			X													
Experimento 3.8				X	X											
Experimento 3.9									X	X	X	X	X			
Relatório e Análise de dados	X	X	X	X	X				X	X	X	X	X			

Avenida Presidente Castelo Branco, nº 655 – Jardim Presidente
Londrina – PR - CEP 86.061-335 - Fone/Fax: (43) 3328-2400 / 3357-2136
E-mail: convenio@itedes.org.br



7. Bibliografia

ALEXANDRE, AT.M.; ALVES, L.F.A.; NEVES, P.M.O.J.; ALVES, S.B. Efeito da temperatura e cama do aviário na virulência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) para o controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**. 35 (1), p. 075-082, 2006.

ALVES, L.F.A.; ALVES, V.S.; BRESSAN, D.F.; NEVES, P.M.O.J. & ALVES, S.B. Ocorrência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. Em adultos de cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários comerciais em Cascavel, PR. **Neotropical Entomology**. 33 (6), p. 793-795, 2004.

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.) Vuilleman (Moliniales: Moniliaceae) sobre o cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), em aviário comercial em Cascavel, PR. **Neotropical Entomology**. 34 (3), p. 507-510, 2005a.

ALVES, L.F.A.; ROHDE, C. & ALVES, V.S. Patogenicidade de *Steinernema glaseri* e *S. carpocapsae* (Nematoda: Rhabdita) contra o cascudinho, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae), **Neotropical Entomology**. 34(1), p. 139-141, 2005b.

ALVES, V.S.; MOINO Jr, A.; SOUZA, G.C. & MOREIRA, G.F. Determinação da concentração letal máxima de nematóides entomopatogênicos para a cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro, *Dysmicoccus texensis* (Hemiptera: Pseudococcidae), In: **Anais do 26º Congresso Brasileiro de Nematologia**. Campos do Goytacazes, 2006.

ALVES, L.F.A.; OLIVEIRA, D.G.P.; NEVES, P.M.O.J. Fatores que afetam a eficiência da Terra de Diatomácea no controle de adultos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**. 37 (6), p. 716-722, 2008.

ALVES, V.S.; ALVES, L.F.A.; QUADROS, J.C.; LEITE, L.G. Suscetibilidade da broca-da-erva-mate *Hedypathes betulinus* (Klug, 1825) (Coleoptera: Cerambycidae) ao nematóide *Steinernema carpocapsae* (Nematoda, Steinernematidae). **Arquivos do Instituto Biológico**. 73 (3), p. 479-482, 2009.

AVICULTURA INDUSTRIAL, disponível em:

(http://www.aviculturaindustrial.com.br/site/dinamica.asp?id=4335&tipo_tabela=produtos&categoria=frango_de_corte). Acesso em: 31 de março de 2006.

BELLAVER, C.; COSTA, C.F.; FIGUEIREDO, E.A.P.; JAENISCH, F.R.F.; FAVERO, J.A.; PALHARES, J.C.P.; FIORENTIN, L.; BRUN, P.A.R.; ABREU, P.G. & AVILA, V.S. Boas práticas de produção de frangos. EMBRAPA: Concórdia, 2003. **Circular Técnica**. 38, 12 p.

CHERNAKI, A.M. & ALMEIDA, L.M. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**. 30 (3) p. 365-368, 2001.



CHERNAKI-LEFFER, A.M.; BIESDORF, S.M.; ALMEIDA, L.M.; LEFFER, E.V.B. & VIGNE, F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Avícola.** 4 (3), p. 243-247, 2002.

CHERNAKI-LEFFER, A.M.; LAZZARI, F.A.; LAZZARI, S.M.N. ALMEIDA, L.M. Controle do cascudinho. **Avicultura Industrial.** Nº 1094, p. 22-25, 2001.

CHERNAKI-LEFFER, A.M.; SOSA-GOMES, D.R.; ALMEIDA, L.M.; LOPES, I.O.N. Suscetibility of *Aphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera, Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuron in southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia.** 55 (1), p. 125-128, 2011.

DESPINS, J.L. & AXTELL, R.C. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Poultry Science.** 74, p. 331-336, 1995.

DESPINS, J.L.; TURNER, Jr., E.C.; RUSZLER, P.L. 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 caged layer houses. **Poultry Science.** 68, p. 1326-1331, 1989.

DOLINSKI, C. & MOINO JR., A. Utilização de nematóides entomopatogênicos nativos ou exóticos: o perigo das introduções. **Nematologia Brasileira.** 30 (2), p. 139-149, 2006.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos.** 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. cap. 16, p. 541-569.

FERREIRA, D.F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas.** Disponível em: <http://www.dex.ufla.br/danielff/sisvarmanual.pdf> Acesso em: 25 abr 2006.

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.

GEDEN, C.J.; ARENDS, J.J. & BROOKS, W.M. Susceptibility of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to the entomogenous nematodes *Steinernema feltiae*, *S. glaseri* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis heliothidis* (Heterorhabditidae). **Journal of Entomological Science.** 20, p. 331-339, 1985.

GEDEN, C.J.; ARENDS, J.J. & AXTELL, R.C. Field trials of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) for control of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in commercial broiler and turkey houses. **Journal of Economic Entomology.** 80, p. 136-141, 1987.



GEDEN, C.J. & AXTELL, R.C. Effect of temperature on nematode (*Steinernema feltiae* [Nematoda: Steinernematidae]) treatment of soil for control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in turkey houses. **Journal of Economic Entomology**. 81, p. 800-803, 1988.

GEDEN, C.J.; ARENDS, J.J.; RUTZ, D.A. & STEINKRAUS, D.C. Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* (Moniliales: Moniliaceae) against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), in poultry litter, soil, and a pupal trap. **Biological Control**. 13, p. 71-77, 1998.

HAZELEGER, W.C.; BOLDER, N.M.; BEUMER, R.R.; JACOBS-REITSMA, W.F. Darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and their larvae as potential vectors for the transfer of *Compylobacter jejuni* and *Salmonella enterica* serovar paratyphi B variant java between successive broiler flocks. **Applied Environmental Microbiology**. 74 (22), p. 6887-6891, 2008.

JAPP, A.K. **influência do *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera, Tenebrionidae) no desempenho zootécnico de frangos de corte e avaliação da terra diatomácea como estratégia para o seu controle**. Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias – Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná – UFPR. Curitiba, 2008.

JAPP, A.K.; BICHO, C.L.; SILVA, A.V.F. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**. 40 (7), p. 1668-1673, 2010.

LEGNER, E.F. & OLTON, G.S. Worldwide survey and comparison of adult predator and scavenger insect populations associated with domestic animal manure where livestock is artificially congregated. **Hilgardia**. 40, p. 225-256, 1970.

MATIAS, R.S. Controle de *Alphitobius diaperinus* em piso e cama de aviários. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 27(1), p. 205-207, 1992.

MATIAS, R.S. Controle de *Alphitobius diaperinus* com inseticidas piretróides e organofosforados em granjas avícolas no sul do Brasil. **A Hora Veterinária**. 25 (148), p. 47-51, 2005.

OLIVEIRA, R.C. Influência do substrato e a utilização de armadilhas com *Beauveria bassiana* e inseticida no controle de *Alphitobius diaperinus*. 2005. 66 p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR.

PINTO, D.M.; RIBEIRO, P.B. & BERNARDI, E. Flutuação populacional de *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1799) (Coleoptera: Tenebrionidae), capturados por armadilhas do tipo sanduíche, em granja avícola, no município de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**. 72 (2), p. 199-203, 2005.

PEZOWICZ, E. Effects of Steinernematidae and Heterorhabditidae on the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Bulletin IOBC**. 26: 193-195, 2003.



- ROHDE, C. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos visando o controle do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). 2004. 76 p. Monografia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Cascavel, PR.
- RODRIGUEIRO, T.S.C.; GINARTE, C.M.A.; LEITE, L.G.; GOULART, R.M.; GIOMETTI, F.H.C Eficiência de *Heterorhabditis indica* IBCB-N05 (Rhabditida: Heterorhabditidae) no controle de *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) sob comedouros de granja avícola. **Arquivos do Instituto Biológico**. 75 (3), p. 279-284, 2008.
- 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**. 63, p. 2368-2375, 1984.
- SALIN, C.; DELETTRE, Y.R.; CANNAVACCIULO, M. & VERNON, P. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **European Journal Soil Biology**. 36, p. 107-115, 2000.
- 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.
- STEELMAN, D. Darkling beetles are costly pests. **Poultry Digest**. 55 (10), p. 22-23, 1996.
- STEINKRAUS, D.C.; GEDEN, C.J. & RUTZ, D.A. Susceptibility of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to *Beauveria basiana*: Effects of host stage, formulation, substrate and host passage. **Journal of Medical Entomology**. 28, p. 314-321, 1991.
- SZALANSKI, A.L.; PALMER, T.W.; McKAY, T.; STEELMAN, C.D. Infectivity of *Steinernema* spp. (Nematoda: Steinernematidae) to adult litter beetles, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. **Biocontrol Science and Technology**, v.14, n. 1, p. 81-85, 2004.
- UBA – União Brasileira de Avicultura. Relatório anual 2010/2011. Disponível em <http://ubá.com.br/relatórios/relatorioanual.pdf>. Acesso em 15 de Julho de 2011.
- VITORI, J.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; TROVÓ, K.P.; RIBERIO, C.A.M.; BARBOSA, G.G.; SOUZA, L.M.; PIGATTO, C.P. *Alphitobius diaperinus* como veiculador de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas do interior paulista – Brasil. **Ciência Rural**. 37 (3), p. 894-896, 2007.
- WATSON, D.W.; GUY, J.S. & STRINGHAM, S.M. Limited transmission of turkey coronavirus in young turkeys by adult *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Medical Entomology**. 37 (3), p. 480-483, 2000.