UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL
CAMPUS DE DESCALVADO, SP

MAICON APARECIDO OLIN

DESENVOLVIMENTO DE BIOPESTICIDA COM EXTRATO AQUOSO DE *Artemisia annua* PARA MANEJO E CONTROLE SANITÁRIO AVÍCOLA DO CASCUDINHO, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

DEVELOPMENT OF BIOPESTICIDE WITH AQUEOUS EXTRACT OF *Artemisia annua* FOR THE MANAGEMENT AND HEALTH CONTROL OF CASCUDINHO, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Descalvado – SP
Fevereiro 2021

UNIVERSIDADE BRASIL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL

MAICON APARECIDO OLIN

DESENVOLVIMENTO DE BIOPESTICIDA COM EXTRATO AQUOSO DE *Artemisia annua* PARA MANEJO E CONTROLE SANITÁRIO AVÍCOLA DO CASCUDINHO, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo
Orientador

Prof. Dr. Luciano Melo de Souza
Coorientador

Descalvado – SP

Fevereiro 2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Olin, Maicon Aparecido
O39d Desenvolvimento de biopesticida com extrato aquoso de *Artemisia annua* Para manejo e controle sanitário avícola do cascudinho, *Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleptera: Tenebrionidae)* / Maicon Aparecido Olin. – Descalvado: Universidade Brasil, 2021.
36f.: il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Produção Animal.
Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo
Coorientador: Prof. Dr.Luciano Melo de Souza

Disponível em:
https://universidadebrasil.edu.br/portal/curso.php?id_curso=161

1.Coleóptero. 2. Cascudinho. 3. Avicultura comercial. 4. Vetores biológicos. 5. Cama de frango. I. Título.

CDD 636.5

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Malcon Aparecido Olin

"DESENVOLVIMENTO DE BIOPESTICIDA COM EXTRATO AQUOSO DE *Artemisia annua* PARA MANEJO E CONTROLE SANITÁRIO AVÍCOLA DO CASCUDINHO, *Alphitobius diaperinus (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae)*".

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Marco Antônio de Andrade Belo (Orientador)
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal

Prof. Dr. Paulo Henrique Moura Dian
Programa de Pós-Graduação em Produção Animal

Dr. Ives Charlie da Silva
Instituto de Ciências Biomédicas- Universidade de São Paulo (USP)

Descalvado, 27 de Fevereiro de 2021

Prof. Dr. Marco Antonio de Andrade Belo
Presidente da Banca

Houve alteração do Título: sim ( ) não (X)

UNIVERSIDADE BRASIL

Termo de Autorização

Para publicação de dissertações e teses no formato eletrônico na página WWW do respectivo programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES nº. 13 de 15 de fevereiro de 2006, autorizo (amos) a Universidade Brasil Ltda a disponibilizar através do site http://www.universidadebrasil.edu.br, na página do respectivo programa de Pós-graduação Stricto sensu, bem como no Banco de Dissertações da CAPES, através do site http://bancodeteses.coes.gov.br, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **DESENVOLVIMENTO DE BIOPESTICIDA COM EXTRATO AQUOSO DE *Artemisia annua* PARA MANEJO E CONTROLE SANITÁRIO AVÍCOLA DO CASCUDINHO, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae**)

Autor(es):

Discente: Maicon Aparecido Olin
Assinatura: _____

Orientador: Marco Antonio de Andrade Belo
Assinatura: _____

Coorientador: Luciano Melo de Souza
Assinatura: _____

Data: 27/fevereiro/2021

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a minha esposa Patrícia Marques de Sousa Olin, que me apoiou em todos os momentos, meus dois filhos Isis e Erick, ao meu orientador Marco Antônio de Andrade Belo que teve muita paciência e dedicação comigo, ao meu professor Luciano Melo de Souza que me ajudou no desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus e Nossa Senhora Aparecida.

Agradecer também meu orientador Marco Antônio de Andrade Belo pelo incentivo e pela paciência e dedicação do seu tempo no trabalho de dissertação.

Ao Professor Luciano Melo de Souza e ao Dr. Ives Charlie da Silva que tiveram o carinho e dedicação em me ajudar na pesquisa.

A minha esposa Patrícia Marques de Sousa Olin pela compreensão, paciência, ajuda e que sempre esteve ao meu lado me apoiando ao longo de toda a minha trajetória.

Aos meus filhos Isis e Erick que amo muito.

EPÍGRAFE

“O vencedor não será o mais forte, será aquele que melhor se adaptar”

(Charles Darwin)

RESUMO

Com base na importância do controle de *Alphitobius diaperinus* em granjas avícolas, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade biopesticida do extrato aquoso de *Artemisia annua* contra este coleóptero. Amostras de folhas secas de *A. annua* foram analisadas quanto aos níveis de artemisinina (ART). Os vermes menores foram separados de acordo com sua atividade e colocados aleatoriamente em 12 placas de Petri cobertas por papel de filtro com 100 insetos cada para compor quatro tratamentos em triplicata: Controle negativo (água destilada); tratados com 19,2, 38,4 e 76,8 mg de ART / mL de extrato, respectivamente. 10 mL do extrato foram derramados uniformemente sobre o papel de filtro. A mortalidade foi medida após 1, 3, 12 e 24 horas após a exposição. O extrato aquoso de *A. annua* utilizado em diferentes concentrações apresentou efeito inseticida dependente da concentração contra adultos de *A. diaperinus*, resultando em 33,6, 40,0 e 57,3% de mortalidade quando comparado ao grupo controle após 24 horas pós-exposição para 19,2, 38,4 e 76,8 mg de ART / mL de extrato, respectivamente, resultando em uma concentração letal (CL 50-24h) de 59,2 mg de ART / mL de extrato. Portanto, os resultados observados neste delineamento experimental "*in vitro*" permitiram inferir que, nestas condições ambientais controladas, o extrato aquoso de *Artemisia. annua* demonstrou considerável eficácia inseticida no controle de *Alphitobius. diaperinus*, demonstrando assim o potencial da artemisinina para a utilização no controle estratégico e ambiental do cascudinho em granjas avícolas.

Palavras-chave: coleóptero, cascudinho, avicultura comercial, vetores biológicos, cama de frango, fitoterapia.

ABSTRACT

Based on the importance of controlling *Alphitobius diaperinus* in poultry farms, the objective of this study was to evaluate the biopesticide activity of *Artemisia annua* aqueous extract against this coleopter. Samples from dry leaves of *A. annua* were analyzed for its artemisinin (ART) levels. The lesser mealworms were separated according to their activity and were randomly placed in 12 Petri dishes covered by a filter paper with 100 insects each to compound four treatments in triplicate: Negative control (distilled water); treated with 19.2, 38.4 and 76.8 mg of ART/mL of extract, respectively. 10 mL of the extract was evenly poured over the filter paper. Mortality was measured after 1, 3, 12 and 24 h after exposure. The aqueous extract of *A. annua* used in different concentration showed a concentration-dependent insecticide effect against adults of *A. diaperinus*, resulting in 33.6, 40.0 and 57.3 % of mortality when compared to control group after 24 hour post exposition for 19.2, 38.4 and 76.8 mg of ART/mL of extract, respectively, resulting in a lethal concentration (LC 50-24h) of 59.2 mg of ART/mL of extract. Therefore, in this controlled experimental design, the aqueous extract of *A. annua* demonstrated significant efficacy in the control of *A. diaperinus*, and our results showed the potential of artemisinin for environmental control of mealworm in poultry farms.

Keywords: coleoptera, lesser mealworm, artemisia, commercial poultry, biological vectors, chicken litter, phytotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo Biológico do Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*, Panzer).(Coleoptera: Teneobridae).....18

Figura 2 – Instares adultos de Alphitobius diaperinus em cama de frango.....19

Figura 3 –Cromatograma do extrato aquoso de folhas de *Artemisia annua* obtido por HPLC-IR.....27

Figura 4 –Kaplan-Meier Survival.....28

Figura 5- . Regressão linear do percentual de mortalidade pela concentração do extrato aquoso de *A. annua*.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tratamentos utilizados no estudo do efeito inseticida "*in vitro*" de extrato aquoso de *Artemisia annua*.....26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

2 OBJETIVOS.....15

3 REVISÃO DA LITERATURA 15

3.1 INDÚSTRIA AVÍCOLA 15
3.2 IMPORTANCIA DOS CASCUDINHOS NA AVICULTURA.....16
3.3 BIOLOGIA DO *Alphitobius diaperinus* 17
3.4 CONTROLE DO *Alphitobius diaperinus*.....19
3.5 *Artemisia annua*.....21
3.5.1 Histórico de Atividade Antiparasitária do Principio Ativo Artemisinina.....21
3.5.2 Estrutura Química da Artemisinina.....23
3.5.3 Mecanismo de Ação da Artemisinina.....23
3.5.4 Farmacocinética da Artemisinina.....24
3.5.5 Toxicologia da Artemisinina.....24

4 MATERIAL E MÉTODOS 25

4.1 MATERIAL VEGETAL E PRODUÇAO DO EXTRATO AQUOSO.....25
4.1.2 Coleta dos Insetos.....25
4.1.3 Avaliação *in vitro* dos Extratos Aquosos.....25
4.1.4 Análise do Extrato.....26
4.1.5 Análise dos Dados.....26

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....*27*

6 CONCLUSÃO 30

***7* REFERÊNCIAS.....31**

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da produção avícola em função da alta demanda do mercado interno e externo, acarretou investimentos na criação de aves em confinamento e consequentemente resultando no aumento da densidade das aves dentro dos galpões comerciais. No Brasil a produção de frangos de corte é considerada atividade econômica muito importante e em expansão; sendo também a proteína do frango a mais consumida no país (ABPA, 2021). Além disto, a indústria avícola é responsável pela manutenção de cerca de 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos no país, sendo também muito importante economicamente em países como EUA, países da União Europeia e Índia (MONITOR, 2016).

Com a expansão da indústria avícola, o coleóptero cascudinho (*Alphitobius diaperinus*) (Panzer,1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), adaptou-se ao meio ambiente artificial e hoje é considerado um dos grandes entraves na produção, sendo o principal responsável pela diminuição no ganho em peso e ocasionando piora na conversão alimentar das aves por constituir em alimento alternativo para pintinhos (SOUZA, et al., 2009; SOUZA, et al.2020a).

A busca de formas de controle para este inseto é constante uma vez que, mesmo que existam métodos de manejo associados a tratamentos com inseticidas comerciais, o cascudinho continua vivendo em grandes populações nos aviários e causando altos prejuízos. O uso de fitoterápicos como alternativa de controle do cascudinho representa uma importante estratégia para o manejo sanitário sustentável da atividade avícola. Neste contexto, estudos tem demonstrado a eficácia de *Artemisia annua* sobre diferentes parasitas que afetam a saúde dos seres humanos e animais, tais como contra o *Plasmodium* spp. (KLAYMAN, 1993), coccídeos (ALLEN, et al., 1997), *Babesia* spp. (KUMAR, et al., 2003), *Leishmania* spp. (YANG & LIEW, 1993) e *Neospora caninum* (KIM, et al, 2002).

Com base na importância do cascudinho para a avicultura nacional e da necessidade de buscar alternativas para o manejo sanitário e sustentável deste coleóptero, este estudo avaliou a eficácia terapêutica do extrato aquoso de *Artemisia annua* contra adultos de *Alphitobius diaperinus.* nas concentrações: 2, 4 e 8%.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se neste estudo avaliar a atividade inseticida *in vitro* do extrato aquoso de *Artemisia annua* contra adultos de *Alphitobius diaperinus.* nas concentrações: 2, 4 e 8%, sobre coleópteros adultos de *Alphitobius diaperinus* coletados em aviários naturalmente infestados.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. INDÚSTRIA AVÍCOLA

O Brasil posiciona-se como o segundo maior produtor mundial e também o maior exportador de carne de frango. Praticada em todo território nacional, a produção de carne de frango tem maior importância na Região Sul do Brasil, porém não deixa de ser muito importantes nos demais estados brasileiros (FEIL et al., 2019).

O crescimento e êxito deste setor no cenário econômico está relacionado a razões, tais como, melhor seleção genética de linhagens, produção de melhores insumos, aplicação de tecnologias modernas na produção, atenção constante à biossegurança, manejo assertivo, além do sistema de produção integrada que possibilita a disseminação regional das tecnologias e padrões sanitários.

A indústria da criação de frangos busca por condições cada vez mais próximas do ideal para as aves e as estruturas demandam condições ambientais bem controladas e confortáveis. Todavia, o sistema de confinamento com alta população por metro quadrado, dificulta os programas de biosseguridade que prezam de forma direta e indireta prevenir, diminuir ou controlar os desafios gerados na produção de animais, frente à contaminação por agentes patogênicos (CHARLIE-SILVA et al., 2019).

Para evitar o contato direto das aves com o piso dos galpões aviários, são utilizados substratos que podem ser constituídos por diversos materiais, como palha de arroz ou maravalha, conhecidos popularmente por cama de frango. A cama cumpre diversas funções dentro dos aviários, mas sobretudo, proporcionam melhor bem-estar às aves e facilitam o manejo (SOUZA et al., 2020a).

As condições ambientais ofertadas às aves somadas à presença da cama de

frango nos alojamentos permitiram o desenvolvimento bem-sucedido de *Alphitobius diaperinus*, um coleóptero cosmopolita conhecido popularmente como cascudinho dos aviários (SOUZA et al., 2020a) que, uma vez estabelecido, multiplica-se rapidamente, sendo habitualmente encontrado em elevadas populações, tornando-se numa das principais pragas da avicultura moderna.

3.2. IMPORTÂNCIA DOS CASCUDINHOS NA AVICULTURA

O cascudinho é importante por causar prejuízos na avicultura de forma direta e indireta sendo responsável por manter e transmitir diversos microrganismos patogênicos, dentre eles, vírus, bactérias, fungos, helmintos e até mesmo protozoários (CHERNAKI-LEFFER et al., 2002). Este inseto contribui ainda para a desuniformidade do lote por causar alteração da conversão alimentar, e provocar disfunções ou infecções gastrointestinal nas aves, além de proporcionar também prejuízos, como a redução no consumo do alimento fornecido às aves e danos às instalações (SOUZA et al., 2020a).

Os cascudinhos portam-se como transmissores e reservatórios de patógenos causadores de enfermidades nas aves, tais como: *Eimeria*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Campylobacter, Bacillus, Streptococcus, Aspergillus*, vírus causadores de doenças como Marek, Gumboro, Newcastle e Influenza Aviária (GUIMARÃES & LEFFER, 2009). É ainda considerado hospedeiro intermediário de cestódeos, parasitos de aves, albergando em si larvas cisticercóides. Nas instalações avícolas, a reprodução destes insetos causa sérios prejuízos, pois os cascudinhos apresentam hábitos de escavar túneis em orifícios nos equipamentos, consequentemente causando falha no seu funcionamento (TURNER, 1986).

Este coleóptero, considerado uma praga secundária de grãos armazenados, distribuiu-se e adaptou-se amplamente no sistema produtivo avícola mundial, sendo notificado em altas populações em aviários industriais (GOMES, 2000).

A expansão avícola industrial em sistema de confinamento nas últimas três décadas proporcionou a esse tenebrionídeo um habitat ideal para seu desenvolvimento, (SOUZA et al., 2020a). Considerado inicialmente agente secundário na degradação de grãos armazenados tem se apresentado, mundialmente, como uma das principais pragas da avicultura moderna (SOUZA et al., 2020b).

Uma vez estabelecidos em criações intensivas de perus e frangos de corte, multiplicam-se rapidamente na cama onde larvas e adultos se criam na ração derramada e no esterco, sendo encontradas elevadas populações ainda em camas de matrizes, e mesmo nas fezes de poedeiras de ovos comerciais confinadas em gaiolas (CHARLIE-SILVA et al., 2019).

3.3. BIOLOGIA DO *Alphitobius diaperinus*

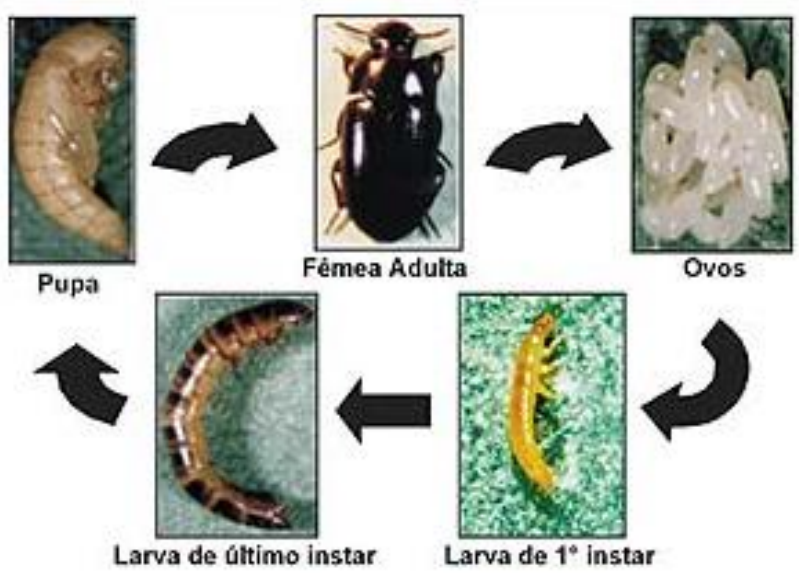
Dentro da família Tenebrionidae, cerca de 2900 espécies ocorrem na região tropical da América. No entanto, somente poucas espécies são problemas para a indústria avícola. Desta família, uma das espécies que melhor se adaptou aos aviários foi indubitavelmente o *Alphitobius diaperinus*, Panzer 1797, conhecido popularmente como cascudinho, besouro da cama de frango ou “lesser mealworm” (SOUZA et al 2020b).

Originário do leste da África, estes insetos apresentam instares adultos, ovos, larvas e pupas que vivem sob a superfície da cama, em equipamentos e em frestas dos pisos e paredes (CHARLIE-SILVA et al., 2019).

Formas adultas e imaturas distribuem-se uniformemente nos aviários, todavia foi detectada uma menor predileção na linha sob os bebedouros para formas adultas do besouro (SOUZA et al., 2020b). Alimentam-se de restos de ração, aves mortas ou debilitadas, esterco e outros materiais orgânicos encontrados no galpão. Podem voar longas distâncias e apresentam fototropismo negativo, sendo, portanto, mais ativos à noite, constituindo-se em problema para o homem residente nas proximidades dos aviários.

Por suas características comportamentais e hábitos biológicos que dificultam seu controle e o caracterizam como “transportador e disseminador” de patógenos, passou a ser considerado importante agente causador de prejuízos sanitários e econômicos na cadeia de produção avícola GUIMARÃES & LEFFER, 2009).

Seu ciclo evolutivo (ovo a adulto) é rápido, cerca de 42,5 dias sob temperatura de 28º. C, em galpões de frangos de corte, significando que para cada saída de lote, há uma nova geração de insetos (GUIMARÃES & LEFFER, 2009). Como os demais coleópteros de sua classe, as fases evolutivas deste inseto incluem ovo, larva, pupa e adulto, ilustrados na Figura 1.



Fonte: www.aviculturaindustrial.com.br

Figura 1. Ciclo Biológico do Cascudinho (*Alphitobius diaperinus*, Panzer).(Coleoptera: Teneobridae). Fotos em diferentes escalas.

As fêmeas iniciam a postura seis a 10 dias após o acasalamento. Ovipositam centenas de ovos em grupos, na cama do aviário ou no esterco (Figura 2). Estes são elípticos de coloração branca leitosa brilhante, medindo de 1,0 a 1,2mm. A eclosão ocorre em três a 10 dias, sob temperaturas de 18º a 40ºC. A larva sofre de seis a 10 ecdises durante um período de vida que varia de três a 200 dias, dependendo das condições ambientais. Possuem tegumento marrom podendo as de último instar medir até 13,8 mm de comprimento. Estas em último estágio penetram no solo, ou aprofundam-se na cama, junto ao piso de concreto ou ainda em frestas, para pupar. As pupas de coloração esbranquiçada possuem morfologia externa semelhante à do inseto adulto, medem de 6,4 a 6,7 mm de comprimento. (GUIMARÃES & LEFFER, 2009).

Os adultos emergem de suas pupas (machos e fêmeas) em quatro a 14 dias e possuem coloração escura (preta ou parda), medindo de 6,0 a 6,8 mm de comprimento e vivem períodos que podem ultrapassar os doze meses.

No Brasil, CHERNAKI- LEFFER et al. (2011) realizaram estudos laboratoriais acerca da biologia e das características comportamentais do *A. diaperinus*, analisando a influência de diferentes temperaturas sobre desenvolvimento do ciclo biológico e das características morfológicas que contribuem para o diagnóstico preciso do inseto.

Em granjas avícolas dos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, estes autores em estudos anteriores demonstraram que há notória influência de temperaturas sobre os estágios evolutivos do *A. diaperinus*. O controle em épocas de temperaturas inferiores a 16,5º.C, contribui para eliminação de número maior de insetos em seus diferentes estágios desde que nestas condições térmicas, o desenvolvimento de estágios imaturos não ocorre, diminuindo significativamente a quantidade de insetos adultos.

Figura 2. Instares adultos de *Alphitobius diaperinus* em cama de frango

3.4. CONTROLE DO *Alphitobius diaperinus*

De maneira geral, o uso de inseticidas químicos, associado à manejo da cama de frango, continuam sendo a principal forma de controle dos cascudinhos. Pesquisas brasileiras sobre o controle estratégico do *Alphitobius diaperinus* em aviários foram descritas utilizando-se piretróides (BERNARDI, 2000; GOMES, 2000; HAMM et al., 2006), organofosforados, clorados e carbamatos (MORALES, 1991), lactonas macrocíclicas (MILLER, 1990), ácido bórico (DUFOUR et al., 1992) e spinosad (SOUZA et al., 2009, SOUZA et al., 2020b).

O uso indiscriminado e incorreto dessas formulações em ambientes infestados, tem sido uma estratégia infrutífera e pode corroborar como meio de seleção e indutor de amostras resistentes desses insetos (SOARES et al., 2009; BELO et al., 2012). A falta de monitoramento da eficácia e uso das drogas no Brasil impossibilita uma análise mais profunda do tema e, provavelmente este seja um dos motivos de

existirem relatos da redução da atividade dos compostos (CHERNAKI-LEFFER et al., 2011).

Inúmeras estratégias são empregadas para controlar os cascudinhos no ambiente, como a avaliação do controle biológico com fungos entomopatogênicos (PRESTES et al., 2015; SANTORO, et al., 2010; ALEXANDRE et al., 2006), cal hidratada, cal virgem, sulfato de alumínio e gesso agrícola (WOLF, et al., 2014).

Atualmente, vários medicamentos antiparasitários são usados rotineiramente para controle de inúmeros parasitos. No entanto, a administração a longo prazo desses medicamentos pode estar associada a uma alta incidência de efeitos secundários adversos (SARAIVA et al., 2011).

Sabe-se que muitos produtos naturais, como os derivados de plantas, são fontes de substâncias biologicamente ativas e têm se mostrado promissores em diversas terapias (BARREIRO & BOLZANI, 2009). Estes são frequentemente usados como alternativas porque causam menos efeitos colaterais. Um grande número de plantas contém substâncias com potencial para serem utilizadas em novas preparações de drogas (NASCIMENTO et al., 2012), dentre as quais podemos destacar *Artemisia annua* L., pertencente à família Asteraceae.

A. annua contém uma lactona sesquiterpênica de endoperóxido chamada artemisinina, a planta tem sido usada tradicionalmente para tratar a malária. A relevância para a humanidade da descoberta da artemisinina foi reconhecida pela atribuição do Prêmio Nobel de medicina em 2015 a Youyou Tu. Além disso, estudos mostraram que a artemisinina também possui atividade anti-leishmania e antitumoral (WANT et al., 2015). Outros estudos relataram vários efeitos biológicos da artemisinina e seus derivados diidroartemisina (DHA), artesunato (ART) e artemeter (ARTE).

Recentemente, Charlie-Silva et al. (2017, 2018) observaram os efeitos biológicos sobre carrapatos e helmintos de bovinos e ovinos *in vivo* dessa planta e também os atribuíram à artemisinina, e outros autores sugeriram que esse composto pode ser útil como uma alternativa para tratar muitas doenças e vetores artrópodes (FERREIRA et al., 2011; SPERENDER et al., 2015).

3.5. *Artemisia annua*.

3.5.1. Histórico de atividade antiparasitária do princípio ativo artemisinina.

Originária da Ásia, a *Artemisia annua* L. é produzida em muitos países, onde se desenvolvem projetos de adaptação da planta, visando o aumento de produção da artemisinina, uma lactona sesquiterpênica oriunda do metabólito secundário da planta.

A artemisinina é extraída da planta *Artemisia annua* L., utilizada na China a mais de 2.000 anos, onde é denominada qing hao (AGTMAEL et al., 1999). A primeira citação do uso do qing hao é de 168 a.C., encontrada na tumba da dinastia Mawangdui Han, nas “Receitas para 52 tipos de doenças”, constando seu uso recomendado para hemorróidas. A planta também foi mencionada mais tarde no “Livro de Bolso de Prescrições para Tratamento de Emergências” (Zhou How Bei Ji Fang), de Ge Hong, para reduzir febre (KLAYMAN et al. , 1985).

A descrição mais detalhada aparece no “Compêndio de Matéria Médica” (Ben Cao Gang Mu), 22 publicada em 1956 pelo médico da Dinastia Ming, Li Shizhen, famoso herbalista chinês, e impresso até hoje na China (HAYNES e WONWILLER, 1997). Em 1967 o governo na República Popular da China desenvolveu um exame sistemático das principais plantas utilizadas pela medicina popular, mais de 3.000 plantas foram analisadas, entre elas o qing hao, onde sua ação antimalárica foi comprovada (LEE et al., 2002). Em 1972 o ingrediente ativo foi purificado e denominado qinghaosu (essência do qing hao) (MESHNICK, 2002).

Outras denominações encontradas são huanghuahaosu, artennuin e artemisinine. A *Artemisia annua* com o antigo nome de qinghao, é conhecida na tradicionalmente na medicina chinesa. Apareceu em muitos manuscritos antigos da medicina chinesa, que a descreveram em seus usos para incluir o tratamento de feridas e no alivio de febres intermitentes, bem como aumentando o brilho nos olhos e até mesmo melhorar a longevidade.

Liu et al. (2013) compararam características morfológicas e DNA, em amostras de restos vegetais encontradas em túmulo do cemitério Shengjindian na china. Esta foi a primeira evidência arqueológica do uso da planta para este fim, e que por ter fragrância forte, estes restos vegetais sugerem que eram usadas para disfarçar o odor do falecido. Apesar de numerosos registros de *A. annua* em antigos, textos chineses

como fitoterapia, a citação de uso para reduzir odores de cadáveres foi sugerida neste artigo.

Na cultura agrícola, tornou-se valiosa após proposta da Organização Mundial de Saúde a recomendação da artemisinina como um componente da ACT (artemisininas, usadas em terapêutica de combinação), pois sabe-se que a deficiência de potássio aumenta significativamente a concentração (g/100 g) de artemisinina, que interage, sob uma leve deficiência de potássio (FERREIRA, 2007)

O nome adotado oficialmente no ocidente foi artemisinin (AVERY et al., 2002), estes relatos tiveram como base estudos realizados em 1979, que elucidaram sua estrutura química (KLAYMAN et al., 1985). Também em 1979, o Chinese Coordinatin Research Group realizou o tratamento de 2.099 pacientes com malária utilizando artemisinina, sendo todos curados. Em adição, trataram 143 casos de *Plasmodium falciparum* resistente à cloroquina, e 141 casos de malária cerebral, sendo todos curados. A partir da década de 80 houve então a disseminação do uso deste princípio ativo para o ocidente (LEE et al., 2002).

A *Artemisia annua* L. planta nativa da China, pertencente à família Asteraceae ou Compositae e hoje utilizada em muitos países (DHINGRA et al., 2000). A artemisinina é produzida nas folhas e se acumula nas inflorescências, podendo ser extraída de ambos em concentração que varia entre 0,01 a 0,8% do peso seco, sendo a sua baixa concentração extraída uma das limitações para a produção em larga escala, e um dos fatores do alto custo da medicação (JAIN et al., 1996).

Além de ser a única fonte comercial de artemisinina, a planta contém um óleo essencial, agradavelmente aromática, valorizado em perfumaria e cosméticos, atuante também como antioxidante, sugerindo que o subproduto industrial usado como um suplemento de alimentação animal ou como uma fonte de compostos para o mercado de produtos nutracêuticos.

Artemisinina em modelos animais, impediu hiperpermeabilidade mediada por IgE cutânea vascular. De acordo com Cheng (2013), foi descrita atividade anti-alérgica, fornecendo como base para o desenvolvimento tratamento de asma e outras doenças, mediadas por células mastro, mostrando-se eficazes para atenuar a asma alérgica em modelos de rato

A eficácia de *A. annua* sobre diferentes parasitas que afetam a saúde dos seres humanos e animais já foi comprovada, como em *Plasmodium* spp. (KLAYMAN, 1993),

coccídeos (ALLEN, et al., 1997), *Babesia* spp. (KUMAR, et al., 2003), *Leishmania* spp. (YANG & LIEW, 1993) e *Neospora caninum* (KIM, et al, 2002). A artemisinina e seus derivados também foram utilizados com sucesso para o tratamento do câncer (SINGH, 2001) e foi aprovado pela Food and Drug Administration.

Alguns autores relatam derivados semi-sintéticos, dihidroartemisinina, artesunato, artemeter, arteeter e artelinato, uma vez utilizado não induziu desenvolvimento de cepas de *P. falciparum* resistentes (GARDINER et al., 2004; RANG et al., 2003).

3.5.2. Estrutura química da Artemisinina

A estrutura aparentemente complexa da artemisinina nos vários sistemas sintetizados e testados, grupam fundamentalmente um sesquiterpeno trioxana-lactona com ponte de peróxido. Este fator, essencial para a atividade não é usual em outros produtos naturais. A artemisinina e a dihidroartemisinina são pouco solúveis em água e óleo. Devido à sua insolubilidade, impossibilita sua administração parenteral. intravenosa e intramuscular. A Oarteeter, lipossolúvel, foi desenvolvido pela OMS, e o artelinato, hidrossolúvel, desenvolvidos por Walter Reed Instituto de Pesquisa do Exército (AGTMAEL et al., 1999).

3.5.3. Mecanismo de Ação da Artemisinina

A artemisinina tem ação mais rápida sobre o parasita que os outros, porque inibe os estádios iniciais de desenvolvimento do parasito, logo que este invade os eritrócitos (HAYNES e KRISHNA, 2004), sendo descritos mais de 30 anos, um enorme número de artigos publicado (WU, 2002).

O progresso foi grande, mas o mecanismo exato de ação dessas drogas ainda é controverso (UHLEMANN et al., 2005), havendo, inclusive, sugerido mecanismo de ação alternativo para a artemisinina, esclarecendo sumariamente que inibem o retículo sarcoendoplasmático Ca +2 ATPase (SERCA).

3.5.4. Farmacocinética da Artemisinina.

As formulações orais de artemisinina e derivados são absorvidos rapidamente,

mas de forma incompleta. A concentração plasmática máxima ocorre em uma a duas horas e a maioria dos compostos possui meia vida de uma a três horas após a ingestão. Formulações lipossolúveis, administrada via intramuscular, possuem meia vida maior devido à formação de depósito muscular (AGTMAEL et al., 1999). Com exceção da artemisinina, após absorção os seus derivados são convertidos primeiramente em dihidroartemisinina e depois metabolizados pelas enzimas do citocromo P450 e outros sistemas enzimáticos. A dihidroartemisinina é potente, possui tempo de meia vida de 45 minutos e 90% de ligação com proteínas plasmáticas (WOODROW et al., 2004).

3.5.5. Toxocologia de artemisinina.

A artemisinina e seus derivados exibem neurotoxicidade em estudos em animais *in vivo e in vitro* em células neuronais. A toxicidade pode ser devido a uma interação de ferro com a ponte endoperóxido do derivado para produzir radicais livres tóxicos e/ou outros metabolitos (SMITH, 1997). A Genética Toxicológica é uma das áreas da ciência que tem se dedicado a pesquisa das propriedades genotóxicas e mutagênicas de agentes aos quais os organismos estão expostos, Amostras de artemisinina têm sido quimicamente modificados para a produção de derivados, tais como: artesunato (sodium artesunate), artemether, arteether, dihidroartemisinana e ácido arteliníco Alguns trabalhos em relação ao artesunato demonstraram o potencial genotóxico em células tumorais e células de roedores, *in vitro* (DU et al., 2010). A artemisinina apresenta efeito deletério citotóxico e mutagênico, esses dados revela o seu uso cauteloso, uma vez que, desta substância, pode acarretar um aumento da carcinogênese (CARDOSO, 2012).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal e produção do extrato aquoso

Amostras de folhas secas de *A. annua* foram analisadas quanto ao teor de artemisinina (ART) na UNICAMP, SP. A planta foi cultivada na cidade de Paulínia, estado de São Paulo, Brasil (Lat. 22 ° 48'02,38 ”S, Long. 47 ° 06'43,10” W), a uma

altitude de 612 metros acima do nível do mar, seguindo metodologia descrita por Charlie-Silva et al. (2017). Para a obtenção dos extratos secos, o material foi moído até a forma de um pó fino que foi mantido em frascos protegidos. Os extratos aquosos da segunda etapa foram preparados no Laboratório de Fitotecnia da Universidade Brasil (Descalvado / SP, Brasil). As soluções dos extratos foram obtidas pela adição proporcional de pó vegetal a 2,0, 4,0 e 8,0 g de matéria seca, diluída em 100 mL de água destilada (BOGORNI & VENDRAMIM, 2003). Os extratos foram mantidos em frascos escuros até a extração dos componentes hidrossolúveis por 12h que foram posteriormente filtrados em papel filtro para obtenção de cada extrato aquoso.

4.1.2. Coleta dos insetos

Os coleópteros foram coletados em camas de frango em granjas comerciais naturalmente contaminadas pertencentes ao município de Neves Paulista (Lat .: -20,822336 e Long .: 49,6360757), no estado de São Paulo. As amostras foram transportadas para o laboratório em recipientes plásticos cobertos com tela e mantidas em temperatura ambiente (25ºC e fotoperíodo natural), até o início dos experimentos. Os instares dos insetos foram alimentados com ração comercial para aves.

4.1.3. Avaliação *in vitro* dos extratos aquosos

Testes *in vitro* foram realizados para avaliar o efeito inseticida dos extratos. Inicialmente, os coleópteros foram separados de acordo com sua atividade e 1200 besouros foram aleatoriamente distribuídos em 12 placas de Petri contendo papel de filtro (n=100) para compor quatro tratamentos em triplicata: Controle negativo (água destilada); tratados com 2, 4 e 8% do extrato aquoso contendo 19.2, 38.4 e 76.8 mg de ART / mL de extrato, respectivamente (Tabela 1). Após a distribuição aleatora dos grupos, 10 mL do extrato foram vertidos uniformemente sobre o papel filtro de cada unidade experimental. Um grupo controle foi estabelecido com 10 mL de água destilada. A mortalidade foi avaliada após 1, 3, 12 e 24 horas após a exposição.

Tabela 1. Tratamentos utilizados no estudo do efeito inseticida "*in vitro*" de extrato aquoso de *Artemisia annua*, nas concentrações 2, 4, 8%, sobre adultos de *Alphitobius diaperinus*. Descalvado/SP, 2019.

Grupo	Formulação	Diluição (%)/Concentração ART/mL
I	Controle - Água destilada	-----
II	*A. annua*	2% (19.2)
III	*A. annua*	4% (38.4)
IV	*A. annua*	8% (76.8)

4.1.4. Análise do Extrato

Para a determinação da artemisinina presente nos extratos aquosos, o objetivo foi observar a replicabilidade dos dados e quantificar a artemisinina em cada teste. Onde Y foi = 1,17e + 003 X + 4,49e + 003, com o coeficiente de correlação (R2) de 0,9998 ± 0,0005, o limite de detecção (LOD) foi igual a 2,2 µg / mL e o limite de quantificação (LOQ) foi igual a 7,5 µg / mL.

4.1.5. Análise dos dados

Por tratar-se de uma pesquisa sem uso de animais cordados, não houve necessidade de aprovação pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA). As frações de sobrevivência para os grupos de tratamento e controle (n = 300, 100 besouro por recipiente e 3 recipientes para tratamento) foram calculadas usando o método de limite de produto de Kaplan-Meier, usando o software Epi Info, versão 3.5.3. A regressão linear foi determinada usando o programa Prism - Graphpad (Vesão 8).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise fitoquímica (Figura 3) demonstrou a presença de artemisinina na concentração de 0,96% (desvio padrão ± 0,010). Para a realização do teste in vitro, cada diluição foi utilizada com 2,0, 4,0 e 8,0 g de planta seca em 100 mL de água destilada, correspondendo a 19,2, 38,4 e 76,8 mg de ART / mL de extrato, respectivamente.

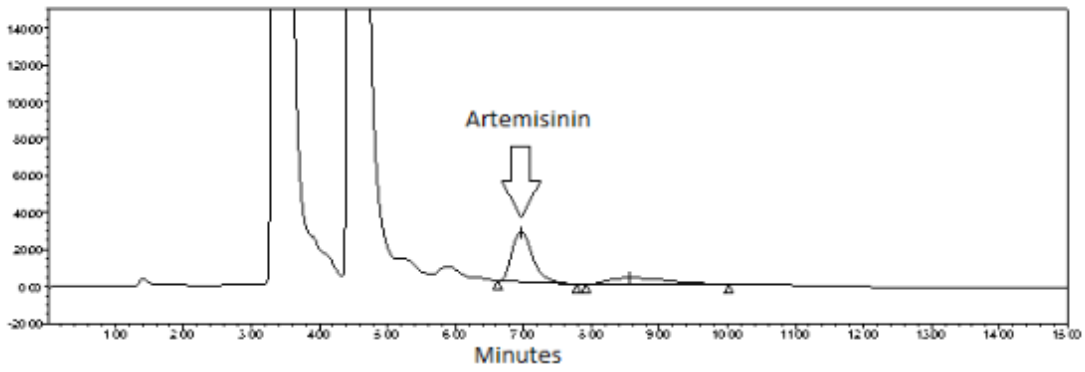


Figura 3- Cromatograma do extrato aquoso de folhas de *Artemisia annua* obtido por HPLC-IR.

Na quantificação do teor de artemisinina em *A. annua* e demais componentes do extrato, o ART pode ser obtido por extração de folhas ou flores, com 0,01 a 0,8% de seu peso seco (BALINT, 2001). Lapkin et al. (2014), descreve que existe uma variabilidade significativa na concentração de metabólitos de *A. annua* cultivados em diferentes regiões do mundo. Charles et al. (1990) mostraram uma variabilidade muito menor, de 0,003 a 0,39% de ART, das folhas de *A. annua*. Esses achados podem ser explicados pelo genótipo semelhante de *A. annua* usado para seleção genética contendo 0,96% de ART no CPQBA / UNICAMP), adaptado às condições climáticas brasileiras.

Mais recentemente, houve um aumento no número de estudos científicos sobre a atividade de *A. annua* em uma variedade de parasitas, embora, até onde sabemos, *A. annua* ou derivados semissintéticos não foram testados contra *A. diaperinus*. Os dados do presente trabalho relatam que o extrato aquoso de *A. annua* usado em diferentes concentrações mostrou um efeito inseticida dependente da concentração

contra adultos de *A. diaperinus*, resultando em 33,6 (66,4), 40,0 (60,0) e 57,3 (42,7) % de mortalidade (sobrevivência) após 24 horas após o tratamento para 19,2, 38,4 e 76,8 mg de artemisinina / mL de extrato, respectivamente (Figura 2). O grupo controle (água destilada) apresentou 5,3 (94,7)% de mortalidade (sobrevivência), descrevendo a funcionalidade do teste (Figura 4).

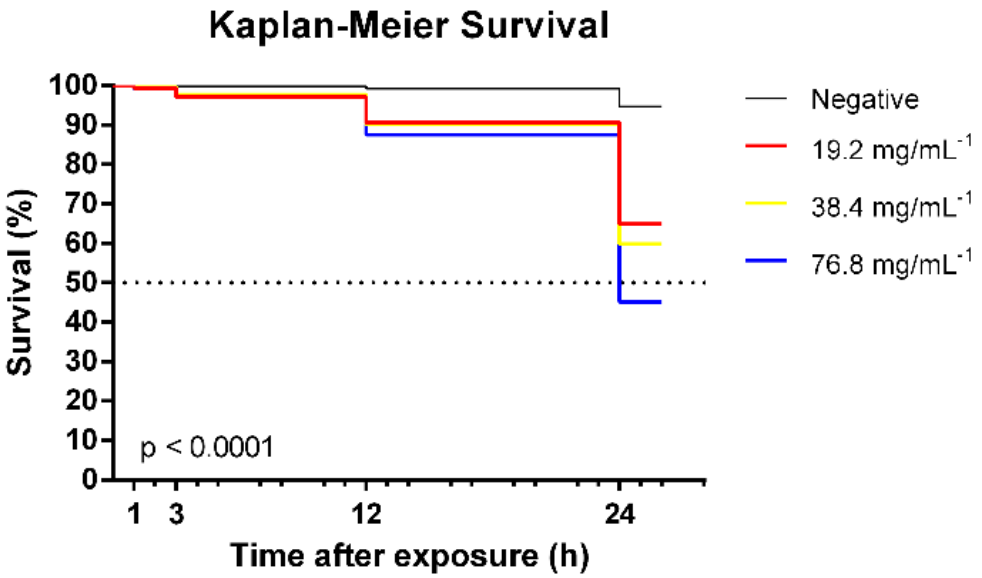


Figura 4. Dados (n = 300, 100 besouro por recipiente de vidro e três recipientes para tratamento) mostram diferenças significativas (p <0,0001) pelo método de limite de produto de Kaplan-Meier.

A determinação da concentração letal para 50% em 24 horas ($CL_{50\text{-}24h}$) resultou em 59,2 mg de ART / mL (Figura 5). Para a equação de regressão gerada, o $CL_{99\text{-}24h}$ é de 138,0 mg de ART / mL de extrato. Nessa situação, para se obter 100 mL de extrato seriam necessários 14,3g de planta seca. Tais resultados são promissores, pois demonstram a viabilidade técnica para o desenvolvimento comercial desse biopesticida.

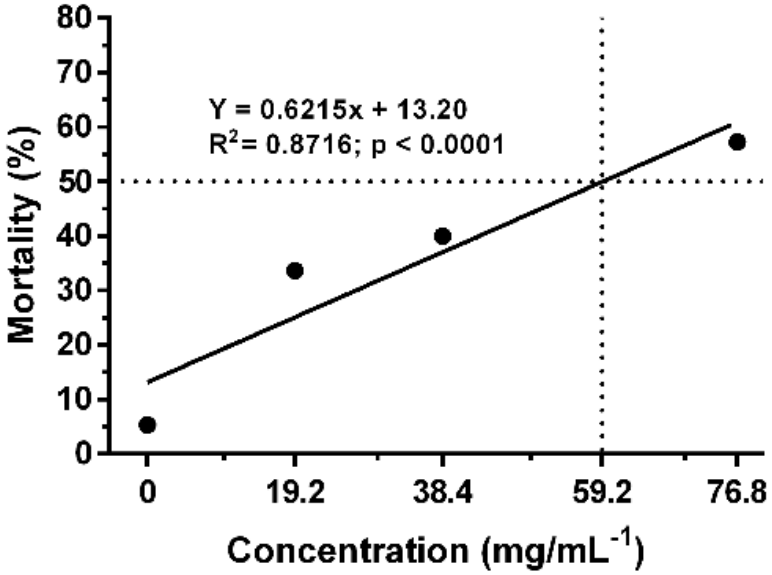


Figura 5. Regressão linear do percentual de mortalidade pela concentração do extrato aquoso de *A. annua*.

Sugerimos que, entre o mecanismo de ação de *A. annua* em larvas de farinha, deve haver uma relação com a artemisinina que também é relevante para humanos como medicamentos antimaláricos. O efeito parasiticida de *A. annua* pode envolver a abertura do dímero da ponte peróxida atuando com radicais livres, que são espécies reativas, interagindo com ácidos nucléicos e lipídeos dos parasitas. Outro mecanismo alternativo proposto é que os compostos podem inibir a Ca + 2 ATPase do retículo sarcodendoplasmático (SERCA) do parasita, conforme relatado por Uhlemann et al. (2005), no controle de *Plasmodium* spp. Portanto, o mecanismo atribuído a este metabólito inclui a interferência do transporte de proteínas dos parasitas, interrupção da função mitocondrial, modulação do sistema imunológico do hospedeiro, bem como a inibição da angiogênese (GOLENSER et al. 2006).

Os efeitos biológicos do extrato aquoso de *A. annua* contra carrapatos de ovinos e bovinos *in vivo* foram demonstrados (CHARLIE-SILVA et al., 2017; 2018). Esses autores relataram que o efeito foi atribuído da ART. Embora a eficácia da artemisinina tenha sido confirmada, o composto ainda tem seu uso limitado, pois este composto não é facilmente diluído em água, resultando em uma absorção fraca e errática após a exposição. Além disso, o composto apresentou meia-vida curta e metabolismo de primeira passagem rápido (TITULAER et al. 1991).

No presente estudo, o extrato aquoso de *A. annua* demonstrou eficácia

significativa no controle de *A. diaperinus*. Desta forma, os resultados mostraram o potencial da artemisinina para o controle ambiental de cascudinhos em granjas avícolas. Entretanto, este experimento controlado (*in vitro*) não proporcionou as condições ambientais encontradas nos galpões de criação de frangos, indicando-se assim, que estudos a campo com este biopesticidada sejam realizados para determinar a eficácia em granjas avícolas, bem como sua toxicidade para as aves e a estabilidade ambiental da artemisinina quando aplicada em condições de criação.

6. CONCLUSÃO

Os resultados observados neste delineamento experimental "*in vitro*" permitiram inferir que, nestas condições ambientais controladas, o extrato aquoso de *Artemisia. annua* demonstrou considerável eficácia inseticida no controle de *Alphitobius. diaperinus*, demonstrando assim o potencial da artemisinina para a utilização no controle estratégico e ambiental do cascudinho em granjas avícolas.

7. REFERÊNCIAS

ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2020**. São Paulo, 2021. 75 p

AGTMAEL, M. A. et al. Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. Trends in **Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 5, p. 199-205, mai. 1999.

ALLEN, P.C.; LYDON, J.; DANFORTH, H.D. Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens. **Poultry Science**, v.76, p.1156-63, 1997.

ALEXANDRE, T.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*** v.35, n.1, p.75-82, 2006.

AVERY, M. A. et al. Structure-activity relationships of the antimalarial agent artemisinina. 7. Direct modification of (+)-artemisinin in vivo antimalarial screening of new, potential reclinical antimalarial candidates. **Journal of Medicinal Chemistry,** v. 45, p. 4321-4335, abr. 2002.

BALINT, G. A. Artemisinin and its derivatives. An important new class of antimalarial agents. **Pharmacol. Therapeut**., v. 90, p. 261- 265, 2001.

BARREIRO, E.J.; BOLZANI, V.S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, p.679–688, 2009.

BELO, M. A. A.; PRADO, E.J.R.; SOARES, V. E.; SOUZA, L. M.; MOTA, F. C. C.; Giamlorenço, T.F.; GÍRIO, T.M.S. Eficácia de diferentes formulações no controle da mosca *Haematobia irritans* em bovinos naturalmente infestados. **Bioscience Journal**, v. 28, p. 245-250, 2012.

BERNARDI, P.L. Programa para controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*). In: **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Anais... p.153-157, 2000.

BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, v.32, p.665–669, 2003.

BRISIBE, E.A.; UMOREN, U.E.; OWAI, P.U.; BRISIBE, P. Dietary inclusion of dried *Artemisia annua* leaves for management of coccidiosis and growth enhancement in chickens. **African Journal of Biotechnology** v.7, p.4083–4092, 2008.

CARDOSO, Plínio Cerqueira dos Santos. Avaliação *in vitro* dos possíveis efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos das drogas antimaláricas artemisinina e artemeter em linfócitos humanos. 2012. 44 f. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, 2012.

CELEGHINI, R.M.S.; SOUSA, I.M.O.; SILVA, A.P. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE-IR para determinação de artemisinina em *Artemisia annua* L**. Química Nova** v.32, p.875–878, 2009.

CHARLES, D; SIMON, J.E.; CEBERT. E.;GRANT, L.; JANICK, J; WHIPKEY, *Artemisia annua* L: Um promissor aromático e medicinal. **Journal od Natural Products**, p.522-526, 1990.

CHARLIE-SILVA I. et al. Anthelmintic activity of *Artemisia annua* in sheep-model. **Journal of Medical Plants Research** v.11, p.137–143, 2017.

CHARLIE-SILVA, I.; GIGLIOTI, R.; MAGALHÃES, PM.; SOUSA, IM.; FOGLIO, MA.; OLIVEIRA, M.C.; CHAGAS, A. Lack of impact of dietary inclusion of dried *Artemisia annua* leaves for cattle on infestation by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks. **Tick Borne Diseases** v.9, p.1115–1119, 2018.

CHARLIE-SILVA, I.; SOUZA, L. M.; PEREIRA, C. C.; MAZZONETTO, F.; BELO, M. A. A.. Insecticidal efficacy of aqueous extracts of *Ricinus communis, Baccharis trimera* and *Chenopodium ambrisioides* on adults of *Alphitobius diaperinus*. **Ars Veterinária** v. 35, p. 07-11, 2019.

CHENG, C , NG D. S. W. , CHAN, T. K., GUAN, .,S. P. HO, W. E., KOH, A. H.M, IAN, H. Y. A. LAU, WONG, W. S. F., Anti-allergic action of anti-malarial drug artesunate in Experimental mast cell-mediated anaphylactic models v. 68, 2, p 195–203, 2013

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

CRESPO-ORTIZ, M.P.; WEI, M.Q. Antitumor Activity of Artemisinin and Its Derivatives: From a Well-Known Antimalarial Agent to a Potential Anticancer Drug. **Journal of Biomedicine and Biotechnology** p.1–18, 2012.

DARWIN, C. **A Origem das Espécies**. Hemus – Livraria Editora Ltda, São Paulo, SP.

DHINGRA, V.; RAO, K. V.; NARASU, M. L. Current status of artemisinina and itsderivatives as antimalarial drugs. **Life Sciences**, v. 66, n. 4, p. 279-300, ago. 2000.

DU, J.H., ZHANG, H.D., MA, Z.J., JI, K.M. Artesunate induces oncosis-like cell death in vitro and has antitumor activity against pancreatic cancer xenografts in vivo. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology** 65, 895–902, 2010.

DUFOUR, L., SANDER, J.E.; WYATT, R.D. et al. Experimental exposure of broiler chickens to boric acid to assess clinical signs and lesion of toxicosis. **Avian Diseases**, v.36, p.1007-1011, 1992.

FEIL, M. A. A.; SGAVIOLI, S.; DOMINGUES, C. H. F.; NÄÄS, I. A.; MOURA, J. B.; GARCIA, R. G. Evolução da produção e exportação de frangos de corte no estado do Mato Grosso do Sul. **Ars Veterinária**, v. 35, p. 26, 2019.

FERREIRA, J.F.S., Nutrient Deficiency in the Production of Artemisinin, Dihydroartemisinic Acid, and Artemisinic Acid in *Artemisia annua* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 55 (5), 1686-1694

FERREIRA, J.F.S.; PEADEN, P.; KEISER, J. *In vitro* trematocidal effects of crude alcoholic extracts of Artemisia annua, A. absinthium, Asimina triloba, and *Fumaria officinalis*. **Parasitology Research** v.109, p.1585–1592, 2011.

GOLENSER, J.; WAKNINE, J.K.; KRUGLIAK, M. et al.Current perspectives on the mechanism of action of artemisinins. **International Journal of Parasitology** v.36, p.1427–1441, 2006.

GARDINER, D.L, SPIELMANN, T., DIXON, M.WA.; HAWTHORNE, P.L.; SKINNER-ADANS, T.S. CLAG 9 está localizado nos roptrios de *Plasmodium falciparum.* **Parasitology Researches** v.93, p. 64-67, 2004.

GOMES, J.P.C. Controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários. In: **Simpósio Brasil Sul de Avicultura**. Anais.p.143-147, 2000.

GUIMARÃES J.H.; LEFFER, A.M.C. Ectoparasitas e outros artrópodes importantes para a indústria avícola brasileira. In: JÚNIOR BERCHIERI, A.; SILVA, NEPOMUCENO, E. DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. Doenças das Aves. Campinas: **Facta**, 2009. Cap.7.3, p. 867 a 905.

HAMM, R.L.; KAUFMAN, P.E.; REASOR, C.A. et al. Resistance to cyfluthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. **Pest Management Science**, v.62, p.673-677, 2006.

HAYNES, RK, KRISCHNA, S. Artemisinins: activities and actions. **Microbes Infect**. Nov;6(14):1339-46, 2004.

JAIN, D. C. et al. Isolation of high artemisinin-yielding clones of *Artemisia annua*. **Phytochemistry,** v. 43, n. 5, p. 993-1001, mai. 1996.

KIM, J.-T., PARK, J.-Y.; SEO, H.-S.; OH, H.-G.; NOH, J.-W.; KIM, J.-H.; KIM, D.-Y.; YOUN, H.-J. In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v.103, n.1-2, p.53-63, 2002.

KLAYMAN, D.L. *Artemisia annua*: from weed to respectable antimalarial plant. In: BALANDRIN, A.D.K.A.M.F. (Ed.). Human Medicinal Agents from Plants. Washington: **American Chemical Society**, p. 242-255. 1993.

KLAYMAN, D. et al. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. **Science,** v. 228, p. 1049-1055. 1985.

KUMAR, S.; GUPTA, A.K.; PAL, Y.; DWIVEDI, S.K. *In vivo* therapeutic efficacy

trial with artemisinin derivative, Buparvaquone and Imidocarb Dipropionate against *Babesia equi* infection in donkeys. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.65, n. 11, p.1171-1177, 2003.

LAM, N.S.; LONG, X.; SU, X., LU, F. Artemisinin and its derivatives in treating helminthic infections beyond schistosomiasis. **Pharmacology Research** v.133, p.77–100, 2018.

LAPKIN A, ADOU E, MLAMBO BN, et al Integrating medicinal plants extraction into a high-value biorefinery: An example of Artemisia annua L. **Comptes Rendus Chim** 17:232–241, 2014.

LIU ZL; XC UI, YP LI; HQ LI, ZW DENG, Zhou L, Du SS. Identificação de componentes repelentes e inseticidas do óleo essencial de *Artemisia rupestres* L. Partes aéreas contra *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. ***Moléculas***.;18 (9): 10733-10746, 2013

LOO, C.S.N.; LAM, N.S.K.; YU, D. et al. Artemisinin and its derivatives in treating protozoan infections beyond malaria. **Pharmacology Research** v.117, p.192–217, 2017.

MESHINICK, S. R. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 1655-1660, ago. 2002.

MILLER, R. Use of Ivermectin to Control the Lesser Mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in a Simulated Poultry Broiler House. **Poultry Science** v.69, p.1281–1284, 1990.

MONITOR. A indústria do frango no Brasil. **Repórter Brasil**, São Paulo, n.2; p. 18, 2016

PRESTES, T.M; PIETROWSKI, V; ZANINI, A; FORMENTINI, M.A; ALVES, L.F.A. Ocorrência natural de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Moniliales: Moniliaceae) e patogenicidade sobre *Protortonia navesi* Fonseca (Hemiptera: Monophlebiidae) na cultura da mandioca, em Marechal Cândido Rondon, Paraná **Arquivo do Instituto Biológico** v.82, 2015.

RANG, H.P. et al. **Farmacologia**. 5 ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2003.

SANTORO, P.H.; NEVES, P.M.O.J.; ALEXANDRE, T.M. et al. Selection of *Beauveria bassiana* isolates to control *Alphitobius diaperinus.* Journal of Invertebrate Pathology v.97,p.83–90, 2008.

SANTORO, P.H; NEVES, P. M.O.J; AMARO, J.T. et al. Associação de pós inertes com fungo entomopatogênico para o controle do cascudinho *Alphitobius diaperinus* **Ciência Rural**, Santa Maria, online 2010.

SANTOS, H. O.; MANN, R. S.; PODEROSO, J. C. M.; ANDRADE, T. M.; ALVES, R. A.; RIBEIRO, G. T.; CARVALHO, M. L. M. Eficiência do extrato aquoso de folhas de mamona (*Ricinus communis* L.) sobre ovos e ninfas de quinto instar do

predador *Podisus nigrispinus dallas* (Pentatomidae). In: **V Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**, Lavras. 2008.

SCHAFER DA SILVA, A. et al. Ciclo biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* em laboratório. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, n.2, p.177-181, 2005.

SILVA, J.; SOUZA, L. M.; SILVA, I. C.; SOARES, V. E.; BELO, M. A. A.; TORRENTE, A. C. G.; FARIA, V. P.; MAZZONETTO, F.; CHAGAS, A. C. S.. Potencial larvicida do extrato aquoso de Jatropha curcas (Pinhão manso), sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **In: V Congresso da Sociedade Paulista de Parasitologia**, Guarulhos / SP. 2010.

SILVA, I. C.; SOUZA, L. M.; BELO, M. A. A.; SOARES, V. E.. Larval hatchability from eggs masses of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* treated with different acaricides. **In: XIII International Congress of Acarology**, Recife / PE, 2010.

SINGH, N. P.; LAI, H. selective toxicity of dihydroartemisinin and holotransferrin toward human breast cancer cells. **Life Sci**. v. 70, 49-56, 2001.

SOARES, V. E.; BELO, M. A. A.; SOUZA, L. M.; GUIARO, C. R.; BORTOLETTO NETO, O.; GIRIO, T. M. S.. Associação de cipermetrina, diclorvós e butóxido de piperonila contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos naturalmente infestados. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, p. 1-8, 2009.

SOUZA, L. M.; SILVA, G. S.; BELO, M. A. A.; SOARES, V. E.; COSTA, A. J. Controle de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em instalações avícolas de corte tratadas com spinosad . **Archives of Veterinary Science**, v. 14, p. 214-220, 2009.

SOUZA, L. M.; SILVA, G. S.; SILVA, G. S.; BELO, M. A. A.; BELO, M. A. A.; SOARES, V. E.; SOARES, V. E.; SILVA, I. C.; SILVA, I. C.; COSTA, A. J.; COSTA, A. J.. Atividade inseticida do spinosad sobre *Alphitobius diaperinus* em fezes de poedeiras comerciais naturalmente infestadas. **Ars Veterinária** , v. 36, p. 109-116, 2020a.

SOUZA, L. M. ; SILVA, G. S. ; CHARLIE-SILVA, I. ; BELO, M. A. A. ; SOARES, V. E. ; COSTA, A. J. . Eficácia *in vitro* do spinosad contra *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ars Veterinária**, v. 36, p. 242-252, 2020b.

SMITH T, WEATHERS PJ, CHEETHAM RD. Effects of gibberellic acid onhairy root cultures of Artemisia annua: Growth and artemisinin production. **In Vitro Cell Develop Biol Plant** 33:75–79. 1997.

TITULAER, H.C.; ZUIDEMA, J.; LUGT, C.B. Formulation and pharmacokinetics of artemisinin and its derivatives. **International Journal of Pharmacology** v.69, p.83–92, 1991.

TURNER JR, E.C. Structural ad litter pests. **Poultry Science**, v.65, p.644-648, 1986.

UHLEMANN, A-C.; CAMERON, A.; ECKSTEIN-LUDWIG, U. et al. A single amino acid residue can determine the sensitivity of SERCAs to artemisinins. **Nature Structural & Molecular Biology** v.12, p.628–629, 2005.

YANG, D.M.; LIEW, F.Y. Effects of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives on experimental cutaneous leishmaniasis. **Parasitology**, v.106, p.7-11, **1993**.

WANT MY, ISLAMUDDIN M, CHOUHAN G, et al. Therapeutic efficacy of artemisinin-loaded nanoparticles in experimental visceral leishmaniasis. **Colloids Surfaces B Biointerfaces** v.130, p.215–221, 2015.

WOODROW, C. J.; HAYNES, R. K.; KRISHNA, S. Artemisinins. **Post grad Med.** J., v. 81, p. 71-78, set. 2004.

WU, Y. Commentary: How might qinghaosu (artemisinin) and related compounds kill the intraerythrocytic malaria parasite? A chemist's view. **Accounts of Chemical Research**, v. 35, n. 5, p. 255-259, 2002.