

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa de Pós-graduação em Fitossanidade**



**Dissertação**

**Prospecção de iscas tóxicas para o controle de *Gryllus assimilis*  
(Orthoptera: Gryllidae) em condições de laboratório**

**Arminda Davane Sumbuleiro**

Pelotas, 2024

**Arminda Davane Sumbuleiro**

**Prospecção de iscas tóxicas para o controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) em condições de laboratório**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Flávio Roberto Mello Garcia

Pelotas, 2024

Autora (Arminda Davane Sumbuleiro)

Prospecção de iscas tóxicas para o controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) em condições de laboratório.

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de mestra em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 26 de Fevereiro de 2024.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Flávio Roberto Mello Garcia -----Orientador.

Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Católica do Rio grande do Sul

Prof. Dr. Edison Zefa-----.

Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade de Rio Claro SP.

Prof Junir António Lutinski-----.

Doutor em Biodiversidade pela Universidade Federal de Santa Maria.

Prof. José Chamessanga Álvaro-----.

Doutor em Entomologia Agrícola pela Universidade Estadual Paulista ``Júlio de Mesquita Filho``.

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar a Deus pelos cuidados e pela força que me deu para alcançar sucesso na concretização deste trabalho, pois em momentos de muita dificuldade Ele esteve comigo me auxiliando.

Ao Programa de Pós Graduação em Fitossanidade (PPGFS) da Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

A Minha família, em especial a minha querida mãe, Lurdes Fernando, pelo apoio incondicional, exemplo de mulher forte e corajosa, pelos ensinamentos da vida, tudo que sou hoje devo a ela.

Ao meu amado esposo André Francisco Muarauane Decil e as minhas filhas Assuema Lurdes Muarauane e Walda Míriam Muarauane, pelo apoio incondicional, que apesar da distância se fizeram sempre presentes a me encorajar nos momentos de desânimo.

Ao Prof. Dr Flávio Roberto Mello Garcia, ao qual tive a honra e o privilégio de ser sua orientanda, pela excelente orientação e pelos ensinamentos durante a caminhada acadêmica.

Ao professor Duane Barros da Fonseca, da Universidade Federal do Rio Grande, pela parceria oferecida, colaborando na realização parcial dos testes, se colocou a disposição sempre que fosse necessário para que pudessemos alcançar êxitos.

Aos professores e colaboradores do Programa de Pós Graduação em Entomologia, pela atenção e ensinamentos durante o percurso, em especial a Professora Cândida Jacobsen e suas colaboradoras do laboratório por toda a ajuda que proporcionaram.

A Koppert, pelo material fornecido para a realização parcial dos experimentos.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecologia dos Insetos (LAbEI): Maguistontz Cedney Jean-Baptist, Filomena Teresa Abel Tembe, Adelio Zeca Mussalama e aos demais colegas pela amizade e por toda ajuda pelos momentos marcantes que me proporcionaram durante esta caminhada.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram e fizeram parte do sucesso deste trabalho.

## Resumo

SUMBULEIRO, Arminda Davane. **Prospecção de iscas tóxicas para o controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae)**. Orientador: Flávio Roberto Mello Garcia. 2024. 66f. Dissertação (Mestra em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2024.

As plantações de eucalipto, assim como qualquer ambiente de monocultura, podem sofrer ataques de pragas, uma vez que estes ambientes proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento e permanência de doenças e insetos, que dependendo do nível populacional podem atingir o status de praga. Dentre os insetos-pragas associados às florestas de eucalipto, destaca-se *Gryllus assimilis* (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae), que causa danos as plântulas e mudas de eucalipto até o segundo ano de plantio. Para *Eucalyptus*, não existe recomendação de uso de inseticidas químicos sintéticos para o controle de grilos. O presente trabalho objetivou prospectar em laboratório iscas tóxicas para o controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae), com destaque à substâncias menos prejudiciais aos ecossistemas, como óleos essenciais e fungos entomopatogênicos. Primeiramente, foram realizados testes de preferência alimentar de *G. assimilis* em quatro tipos de farinhas vegetais: aveia, trigo, milho e mandioca. A farinha de milho acrescida a solução aquosa com melado de cana mostrou ser mais atrativa aos grilos, pelo teste de Wilcoxon ( $W$ ): 3,00 e  $p=0,0098$ . Em seguida foi feita a avaliação da eficácia de quatro cepas de fungos entomopatogênicos presentes nos produtos: Boveril cana<sup>®</sup> (*Beauveria bassiana* IBCB 66), Boveril WP<sup>®</sup> (*Beauveria bassiana* PL63), Metarril<sup>®</sup> (*Metarhizium anisopliae* E9) e Challenger<sup>®</sup> (*Isaria fumosorosea* 1296). Os testes foram feitos tanto por ingestão tanto por contato. A maior porcentagem de mortalidade de *G. assimilis* por ingestão foi observada sete dias após o tratamento com *M. anisopliae* 0,15g que causou mortalidade de mais da metade dos insetos. A maior mortalidade foi observada 24 horas após tratamento com Boveril Wp<sup>®</sup> na concentração de 30g que causou a morte de 88% de ninfas e 57% de adultos. Posteriormente foi avaliada a eficácia dos óleos essenciais de neem, cravo-da-índia, cedro e gerânio tendo sido verificado que o óleo de cravo da índia nas concentrações de 15 e 20% causou mortalidade acumulada de 85 e 78% respectivamente; o óleo de gerânio 10, 15 e 20% provocou mortalidade acumulada de 90%, 71% e 82% respectivamente. O óleo de Neem em concentração de 20% causou mortalidade acumulada de 80%, 95% de mortalidade acumulada foi observada com aplicação, e o óleo de cedro na concentração de 20% provocou mortalidade acumulada de 95%.

**Palavras-chave:** bioformulações; controle de insetos; preferência alimentar, Microbiológicos, bioformulações, inseticidas biológico, controle de insetos.

## Abstract

SUMBULEIRO, Arminda Davane. **Prospecting toxic baits to control *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae)**. Advisor: Flávio Roberto Mello Garcia. 2024. 66.f. Dissertation (Master of Science) –Graduate Program in Plant Health. Federal University of Pelotas. Pelotas, 2024.

Eucalyptus plantations, as well as any monoculture environment, can suffer pest attacks, since these environments provide favorable conditions for the development and persistence of diseases and insects, which, depending on the population level, can reach pest status. Among the insect pests associated with eucalyptus forests, *Gryllus assimilis* (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae) stands out, which causes damage to eucalyptus seedlings until the second year of planting. For *Eucalyptus*, there is no recommendation to use synthetic chemical insecticides to control crickets. The present work aimed to prospect in the laboratory for toxic baits to control *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae), with emphasis on substances that are less harmful to ecosystems, such as essential oils and entomopathogenic fungi. Firstly, food preference tests of *G. assimilis* were carried out on four types of vegetable flours: oats, wheat, corn and cassava. Corn flour added to an aqueous solution with sugarcane molasses proved to be more attractive to crickets, according to the Wilcoxon test (W): 3.00 and  $p=0.0098$ . Next, the effectiveness of four strains of entomopathogenic fungi present in the products was evaluated: Boveril cana® (*Beauveria bassiana* IBCB 66), Boveril WP® (*Beauveria bassiana* PL63), Metarril® (*Metarhizium anisopliae* E9) and Challenger® (*Isaria fumosorosea* 1296). The tests were done both by ingestion and by contact. The highest percentage of *G. assimilis* mortality due to ingestion was observed seven days after treatment with *M. anisopliae* 0.15g, which caused mortality in more than half of the insects. The highest mortality was observed 24 hours after treatment with Boveril Wp® at a concentration of 30g, which caused the death of 88% of nymphs and 57% of adults. Subsequently, the effectiveness of Neem, clove, cedar and geranium essential oils was evaluated and it was found that clove oil at concentrations of 15 and 20% caused accumulated mortality of 85 and 78% respectively; geranium oil 10, 15 and 20% caused accumulated mortality of 90%, 71% and 82% respectively. Neem oil at a concentration of 20% caused an accumulated mortality of 80%, 95% of accumulated mortality was observed with application, and cedar oil at a concentration of 20% caused an accumulated mortality of 95%.

**Keywords:** Food preference, Microbiologicals, bioformulations, biological insecticides, insect control.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Índices de preferência alimentar de *Gryllus assimilis* em laboratório: combinações 1 (aveia-trigo), combinação3 (aveia- milho), combinação 5(aveia - mandioca) e combinação 6(trigo-mandioca)..... 19
- Figura 2.** Índices de preferência alimentar de *Gryllus assimilis* em laboratório: Combiação2(milho-mandioca) e combinação 4 ( milho-trigo)..... 20
- Figura 3.** Índice de preferência alimentar de *Gryll assimilis* em laboratório, combinação milho com e sem melado de cana I®..... 20
- Figura 4.** Mortalidade diária de adultos de *Gryllus assimilis* submetidos a diferentes concentrações de Boveril cana I®, Boveril WP I®, Metarril I® e Chalanger I® (5%, 10% e 15%) em condições de laboratório durante sete dias após tratamento..... 38
- Figura 5.** Mortalidade acumulada (média EP)de adultos de *Gryllus assimilis* submetidos a diferentes concentrações de Boveril cana I®, Boveril WP I®, Metarril I®, Challenger I® (5%, 10% e 15%) em condições de laboratório até oito dias apos tratamenro. .... 39
- Figura 6.** Número médio de adultos vivos de *Gryllus assimilis* apos tratamento em condições de laboratório..... 40
- Figura 7.** Mortalidade acumulada de nifas pré adultas e adultos de *Gryllus assimilis* sob aplicação de quatro cepas de fungos entomopatogêncos (Boveril cana I®, Boveril WP I®, Metarril I® e Challenger I®) em duas concentrações 20g e 30g em oito dias de avaliação. .... 45
- Figura 8.** Ninfas de *Gryllus assimilis* vivas em bioensaiode contatotratadas com microbiologicos em diferentes períodos após a exposição. os valores apresentam as médias ( $\pm$ SE) de 4 reepições. .... 45
- Figura 9.** Adultos de *Gryllus assimilis* vivos em bioensaiode contato tratatdas com inseticidas microbiológicos em diferentes períodos após a exposição. os valores representam as médias ( $\pm$ SE) e quatro repetições. .... 46
- Figura 10.** Quantidade de adultos de *Gryllus assimilis* vivos em bioensaios de ingestão em dieta (ração comercial) tratada com inseticidas botânicos em diferentes períodos de após a exposição. os valores representam as médias ( $\pm$ SE) de 4 repetições. .... 59

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Índices de preferência alimentar (IPA) de *Gryllus assimilis* em seis farinhas vegetais(%) ..... 21
- Tabela 2.** Valores médios em gramas de consumo de *Gryllus assimilis* em quatro farinhas vegetais ( aveia, trigo, milho e mandioca com e sem melado de cana) em em diferentes períodos (24horas, 36 horas, 48 horas, 60 horas e 72 horas)..... 22
- Tabela 3.** Ínseticidas microbiológicos comerciais utilizados nos bioensaios laboratoriais contra *Gryllus assimilis*..... 30
- Tabela 4.** Ninfas de *Gryllus assimilis* mortos e percentagem de mortalidade (M%) em bioensaio de contato tratada com inseticidas mocrbiológicos em diferentes períodos apos a exposição. .... 43
- Tabela 5.** Adultos de *Gryllus assimilis* mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaios de contato tratados com inseticidas microbiológicos em diferentes períodos de exposição..... 44
- Tabela 6.** Quantidade de insetos mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaios de ingestão em dieta (ração comercial) tratada com óleos essenciais em diferentes períodos após a exposição..... 59
- Tabela 7.** Quantidade de adultos de *Gryllus assimilis* mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaio de ingestão em dieta(Ração comercial) Tratada com óles essenciais em diferentes períodos após a exposição. ... 60



## Sumário

Resumo .....	4
Sumário .....	8
1. Introdução Geral.....	10
2. Objetivos.....	12
2.1. Objetivo geral: .....	12
3. Capítulo 1. AVALIAÇÃO DE ATRATIVOS ALIMENTARES PARA <i>Gryllus assimilis</i> (Orthoptera: Gryllidae) EM LABORATÓRIO .....	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT .....	14
3.1. Introdução.....	15
3.2. Material e métodos.....	15
3.2.1. Criação de <i>Gryllus assimilis</i> .....	15
3.2.2. Teste de preferência.....	16
3.2.3. Análise de dados .....	18
3.3. Resultados .....	18
3.4. Discussão .....	23
3.5. Conclusão .....	24
4. Capítulo 2. Eficácia de fungos entomopatogênicos para uso em iscas tóxicas visando o controle de <i>Gryllus assimilis</i> (Orthoptera: Gryllidae) .....	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT .....	26
4.1. Introdução .....	27
4.2. Material e métodos.....	29
4.2.1. Criação de <i>Gryllus assimillis</i> .....	29
4.2.2. Formulações e tratamentos dos produtos bioinseticidas .....	29
4.2.3. Bioensaio.....	30
4.2.3.1. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de adultos de <i>Gryllus assimilis</i> por ingestão .....	30
4.2.3.2. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de ninfas e adultos de <i>Gryllus assimilis</i> por contato. ....	31

4.2.3.3. Análise dos dados .....	31
4.4. Resultados.....	32
4.4.1. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de adultos de <i>Gryllus assimilis</i> por ingestão em laboratório .....	32
4.4.2. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de ninfas e adultos de <i>Gryllus assimilis</i> por contato .....	41
4.5. Discussão .....	46
4.6. conclusão .....	49
5. Capítulo 3. Avaliação do efeito de óleos essenciais no controle de <i>Gryllus assimilis</i> em condições de laboratório .....	49
Resumo .....	49
Abstract .....	50
5.1. Introdução.....	51
5.2. Materiais e métodos.....	53
5.2.1. Criação de <i>Gryllus assimilis</i> .....	53
5.2.2. Bio-ensaio: Efeito de óleos essenciais no controle de <i>Gryllus assimilis</i> (Orthoptera: Gryllidae) em laboratório.....	53
5.4. Resultados .....	54
5.5. Discussão .....	60
5.6. Conclusão.....	61
6. Considerações finais .....	61
7. Referências .....	63

## 1. Introdução Geral

O Brasil é referência mundial na produtividade florestal com enfoque ao *Eucalyptus*. Em 2020, a área total de árvores plantadas com *Eucalyptus* foi de 7,47 milhões de hectares, correspondente a cerca de 78% do total de áreas com árvores plantadas no país (Ibá, 2021).

As plantações de eucalipto, assim como qualquer ambiente de monocultura, podem sofrer ataques de pragas, uma vez que estes ambientes proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento e permanência de doenças e insetos, que dependendo do nível populacional pode atingir o status de praga (Mafia *et al.*, 2018).

Muitos insetos se alimentam das plantas cultivadas pelo homem e têm vindo a criar enormes perdas com a alimentação, assim como refúgio (Borrer *et al.*, 1981).

As ninfas pré-adultas e adultos de grilos, causam danos em uma grande variedade de vegetais podendo se alimentar de toda ou qualquer parte de certas plantas, incluindo raízes, caules, folhas, flores e sementes em desenvolvimento das plantas de trigo, aveia, cevada, centeio, linho, trevo doce e milho. Os frutos do tomateiro, melão, melancia, abóbora, ervilha, feijão e morango também servem de alimento para os grilos. As raízes da beterraba e da cenoura podem ser atacadas, assim como os tubérculos da batata (Severin, 1926).

Beck e Skinner, (1926) relatam que os grilos danificam gravemente os campos de milho matando mudas, causando assim reduções acentuadas, no estande de plantas.

Os grilos causam danos em plantações florestais de eucalipto, dentre os quais pode-se destacar a espécie *G. assimilis* (F. 1775) (Orthoptera: Gryllidae), cujos indivíduos causam danos as plântulas em viveiro e mudas até o segundo ano de plantio (Lemes; Zanuncio, 2021). Estes também atacam hortaliças, em viveiros e no campo, podem ocorrer esporadicamente em culturas como algodão, arroz, milho, soja, girassol e pastagens. Adultos e ninfas pré-adultas podem provocar danos que exigem o replantio das mudas, uma vez que, ao possuírem aparelho bucal mastigador, são capazes de causar o desfolhamento, a quebra de coleto por anelamento e a raspagem de coleto e raízes, o que geralmente pode levar à morte das mudas (Andaló *et al.*, 2018; Masson *et al.*, 2020).

Para a cultura de eucalipto, não existe recomendação de uso de inseticidas químicos sintéticos para o controle de grilos, sendo que atualmente já ocorre o uso de inseticidas botânicos e microbiológicos (Agrofit, 2022). Os produtos naturais extraídos de plantas se têm se constituído como uma alternativa importante para o programa de controle de pragas, por serem mais seletivos e menos danosos ao meio ambiente (Vendramim, 2000, Spletozer *et al*, 2021)

Os efeitos dos inseticidas botânicos sobre os insetos são variáveis, podendo ser tóxicos ou repelentes, causar esterilidade, modificar o comportamento, o desenvolvimento ou reduzir a alimentação (Arnason *et al.*, 1990; Bell *et al.*, 1990).

A azadiractina por exemplo apresenta diversos efeitos endócrinos, sendo o maior a modificação dos níveis de ecdisteróides na hemolinfa, por agir sobre os sítios de produção destes hormônios, como as células da epiderme e os oenócitos. Diversos outros efeitos da azadiractina podem ser observados em insetos, como: a alteração na diferenciação de tecidos (por exemplo, os omatídeos e discos marginais das asas) e a melanização da cutícula (Moreira *et al*, 2001)

A atividade inseticida do neem foi reportada para mais de 400 espécies de insetos, das quais 100 destas têm ocorrência no Brasil (Penteado, 1999)

Os produtos à base de azadiractina, encontrados principalmente nas sementes de neem, estão entre os principais métodos alternativos para o controle de pulgões e outros insetos (Mordue; Nisbet, 2000). A utilização de extratos obtidos de plantas com potencial inseticida e a utilização de suas substâncias como modelo para a obtenção de compostos sintéticos, tem se tornado alvo de estudos com objetivo de desenvolver alternativas mais seletivas e menos prejudiciais ao meio ambiente (SPLETOZER *et al*, 2021).

Os efeitos da azadiractina sobre insetos incluem repelência, deterrência alimentar, interrupção do crescimento, interferência na metamorfose, esterilidade e anormalidades anatômicas (Mordue; Nisbet, 2000, Martinez; Emden, 2001; Santos *et al.*, 2004; Venzon *et al.*, 2007).

Outra forma de controle promissora é com o uso de fungos entomopatogênicos, como o *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. A sua eficácia é provada durante anos de pesquisa, além do fato de não existir qualquer relato de resistência (Halder

*et al.*, 2017). Estes são usados para manejar insetos, incluindo Orthoptera, na agricultura e plantações florestais (Soliman *et al.* 2019, Jordan *et al.* 2021, Khun *et al.* 2021, Domingues *et al.* 2022).

O controle microbiano com o uso de entomopatógenos, principalmente fungos, tem se destacado devido à sua ocorrência, em condições naturais, e tem sido, no Brasil e em outros países, um fator importante na redução de populações de insetos (Alves *et al.*, 2008).

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo geral:**

- Prospectar em laboratório iscas tóxicas para o controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae), com destaque à substâncias menos prejudiciais aos ecossistemas, como óleos essenciais e fungos entomopatogênicos.

### **2.2. Objetivos específicos:**

- Avaliar atrativos alimentares do *G. assimilis* em laboratório.
- Avaliar a eficácia de fungos entomopatogênicos na mortalidade de *G. assimilis* em laboratório.
- Avaliar o efeito de óleos essenciais no controle de *G. assimilis* em laboratório.

### 3. Capítulo 1. AVALIAÇÃO DE ATRATIVOS ALIMENTARES PARA *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) EM LABORATÓRIO

#### RESUMO

O grilo do campo, *Gryllus assimilis* (F. 1775) (Orthoptera: Gryllidae), pode ocasionar danos em hortas e mudas de eucalipto. O controle desse inseto é feito à base de iscas tóxicas. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar alguns atrativos alimentares que podem aumentar a eficiência do uso destas iscas. Foi utilizado o teste de comparação de grupos usando quatro farinhas vegetais: aveia, trigo, milho e mandioca. Para os testes, foi utilizada uma arena de acrílico que consiste em uma câmara de teste e um disco rotatório preso a arena através de um eixo, que abriga os alimentos. A câmara de teste possui dois orifícios que dão acesso aos recursos alimentares. Foram feitas seis combinações, compostas por duas farinhas em cada combinação, e oferecidas aos insetos individualmente. O tempo de alimentação em cada farinha foi contabilizado, e posteriormente, convertido em índice de preferência alimentar. Os resultados obtidos mostraram que, na primeira etapa, houve diferenças significativas para as combinações milho-mandioca (combinação 2) e milho-trigo (combinação 4). Na segunda etapa, a farinha de milho foi acrescida a uma solução de água e melado de cana e, novamente, submetida aos grilos, mostrando diferenças significativas em teste de Wilcoxon [(W): 3,00 e P=0,0098]. Após as duas etapas da pesquisa, concluiu-se que houve preferência alimentar pela farinha de milho. A farinha de milho acrescida à solução aquosa com melado de cana mostrou ser mais atrativa aos grilos. Sendo assim, sugere-se que seja substituído o farelo de trigo das iscas tóxicas para o controle de *G. assimilis* pela farinha de milho.

**Palavras chave:** comportamento; farinhas vegetais, iscas, preferência alimentar.

## ABSTRACT

The field cricket, *Gryllus assimilis* (F. 1775) (Orthoptera: Gryllidae), can cause damage to vegetable gardens and eucalyptus seedlings. This insect is controlled using toxic baits. Therefore, the objective of this study was to evaluate some food attractants that can increase the efficiency of using these baits. The group comparison test was used using four vegetable flours: oats, wheat, corn and cassava. For the tests, an acrylic arena was used, consisting of a test chamber and a rotating disc attached to the arena through an axis, which houses the food. The test chamber has two holes that provide access to food resources. Six combinations were made, consisting of two flours in each combination, and offered to the insects individually. The time spent eating each flour was recorded and subsequently converted into a food preference index. The results obtained showed that, in the first stage, there were significant differences for the corn-cassava combinations (combination 2) and corn-wheat (combination 4). In the second stage, the corn flour was added to a solution of water and sugarcane syrup and, again, submitted to the crickets, showing significant differences in the Wilcoxon test [(W): 3.00 and P=0.0098]. After the two stages of research, it was concluded that there was a dietary preference for corn flour. Corn flour added to the aqueous solution with sugarcane syrup proved to be more attractive to crickets. Therefore, it is suggested that wheat bran in toxic baits for the control of *G. assimilis* be replaced by corn flour.

**Keywords:** behavior; Vegetable flours, baits, food preference.

### 3.1. INTRODUÇÃO

O gênero *Gryllus* inclui 104 espécies válidas, com ampla distribuição mundial. O grilo do campo, *Gryllus assimilis* (F. 1775) (Orthoptera: Gryllidae), é proveniente da Jamaica e, por esta razão, também é conhecido como grilo jamaicano (Weissman *et al.* 2009; Masson *et al.* 2020). Sua distribuição engloba o sul da região Neártica e a maior parte da região Neotropical, principalmente entre os trópicos (Cigliano *et al.* 2024).

Em alguns países africanos, como Angola e Moçambique, algumas espécies de *Gryllus* fazem parte da alimentação e do folclore dos nativos, sendo notáveis nos campos africanos por causa de seu canto de chamado, que é audível à longa distância (Magara 2021).

Os grilos são onívoros (Walker e Masaki, 1989; Vilela, 2018), e se alimentam de grande variedade de materiais de origem animal, bem como vegetais, como milho, mandioca, trigo, abóboras entre outros (Salvadori *et al.*, 2022; Okweche *et al.*, 2022). Deste modo, pressupõe-se que, sendo grilos de serapilheira florestal, eles têm acesso a diversas fontes de recursos alimentares de origem vegetal ou animal, assim como material vivo ou morto (Bolnik *et al.*, 2003).

O controle de grilos é realizado, basicamente, através do uso de iscas tóxicas, as quais oferecem o melhor custo benefício e uso ecologicamente correto dos inseticidas (Blank *et al.*, 1984; Severin, 1926). Além do ingrediente ativo, os atrativos e estimulantes alimentares utilizados nas iscas tóxicas são fundamentais para a eficiência das mesmas (Kepner e Yu, 1987; Hertl *et al.*, 2005).

O presente estudo visa avaliar a preferência alimentar de *G. assimilis* por quatro tipos de farinhas vegetais. A farinha preferida poderá servir como alimento atrativo na formulação de iscas tóxicas para o controle dos grilos.

### 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.2.1. Criação de *Gryllus assimilis*

Os insetos utilizados neste experimento foram oriundos da criação mantida no Biotério de Invertebrados Terrestres do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Os insetos, foram mantidos em sala climatizada ( $27 \pm 1$  °C, UR  $70 \pm 10\%$ ) e fotoperíodo constante (12 L:12 D). Os grilos

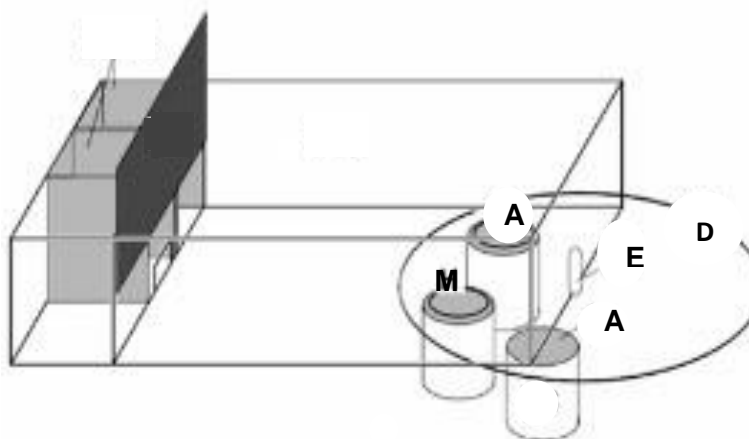


foram alimentados *ad libitum* com ração comercial para gatos (Golden, PremieRpet ® ,São Paulo, Brasil) cujo os componentes são: farinha de vísceras de frango, farinha de salmão, farelo de gluten de milho, gluten de trigo, proteína isolada de suíno, milho integral moído, quirera de arroz, polpa de beterraba, gordura de frango, óleo de peixe e levedura de cerveja, desde a eclosão dos ovos e tiveram acesso a água em algodão húmido *ad libitum*, renovado diariamente.

### 3.2.2. Teste de preferência

Foram avaliadas quatro farinhas vegetais: aveia (*Avena sp.*, Poaceae), trigo (*Triticum sp.*, Poaceae), milho (*Zea mays*, Poaceae) e mandioca (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae). Foram utilizadas farinhas industrializadas de milho (granulação média), de trigo, mandioca (as três da marca -TORDILHO ®) e farinha de aveia (-Natural Hepy Life©), quanto a preferência de *G. assimilis*.

Foi utilizada uma arena formada por placas de acrílico opaco (3 cm de espessura) coladas com clorofórmio formando uma câmara de teste medindo 25 cm de comprimento x 15,5 cm de largura x 7 cm de altura e um disco rotatório que se encontra por baixo e fica preso a arena através de um eixo. A câmara de teste possui dois orifícios os quais dão acesso aos recursos alimentares (Matsumoto e Mizunami, 2000).



Adaptado de MATSUMOTO e MIZUNAMI, (2000)

A- Alimento A; M- alimento B; E- eixo e D- disco rotatório.

Para o teste, foram disponibilizados três recursos de alimento, em uma combinação dois a dois na arena, para cada inseto, sendo dois recursos de alimento A e um recurso de alimento B. Os recursos alimentares, foram alocados em recipientes cilíndricos de plástico presos ao disco rotatório (4 cm diâmetro e 4 cm de

altura) sendo os mesmos trocados de posição 5 minutos após alimentação. Na primeira etapa, foram utilizadas fêmeas adultas da mesma coorte, com um a três dias após a muda pré- imaginal, em seis grupos experimentais (n=10). Foram utilizadas apenas fêmeas pelo fato de que estas se alimentam mais em relação aos machos, elas necessitam de mais alimento para a produção dos ovos. Os grupos foram submetidos a testes com seis combinações de alimento, sendo: aveia e trigo (combinação 1), aveia e milho (combinação 2), milho e mandioca (combinação 3), milho e trigo (combinação 4), aveia e mandioca (combinação 5) e trigo e mandioca (combinação 6). Ao todo, foram utilizados 60 grilos, alocados individualmente na câmara de teste com combinações dos recursos alimentares. Foi estabelecido um intervalo de tempo de quinze minutos (900 segundos) para cada inseto, dos quais os primeiros cinco minutos (300 segundos) foram para habituação ou exploração do ambiente da câmara de teste, e os 10 minutos (600 segundos) restantes, foram para alimentação. Para garantir rápido acesso aos alimentos os insetos foram submetidos a jejum de 24 horas antes dos testes.

Os recursos alimentares testados foram selecionados com base no seu baixo preço atual no mercado, alta disponibilidade no Brasil, e uso histórico em dietas de insetos ou rações para animais em geral. Os dados obtidos na primeira etapa foram utilizados para estimar a preferência alimentar pelos grilos. Na segunda etapa foi selecionado o recurso alimentar que se destacou entre os demais, ao qual foi adicionado melado de cana e novamente submetido aos grilos. Foi feita uma solução a partir da diluição de 10g de melado de cana em 50 mL de água destilada, sendo que desta foi retirado 1 mL de solução para 5 g de alimento. Foram igualmente utilizadas fêmeas adultas de um a três dias após a muda imaginária.

Em paralelo, foi realizado um experimento montado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial do tipo 4x2 (4 farinhas: aveia, milho, trigo e mandioca e 2 doses de melado de cana: 0 e 2ml) totalizando 8 tratamentos com quatro repetições cada. Foram alocadas 32 fêmeas adultas com 3- 7 dias após a muda pré-imaginal em copos plásticos descartáveis contendo as farinhas. Foram efetuadas pesagens 24 horas após exposição dos insetos às farinhas e, posteriormente, pesagens de 12 em 12 horas até 72 horas. Portanto, a variável testada foi o peso de alimento consumido, que consistiu na diferença entre o peso

inicial do alimento (antes da exposição) e o peso após transcorridas 24 horas de contato dos animais com o alimento.

### 3.2.3. Análise de dados

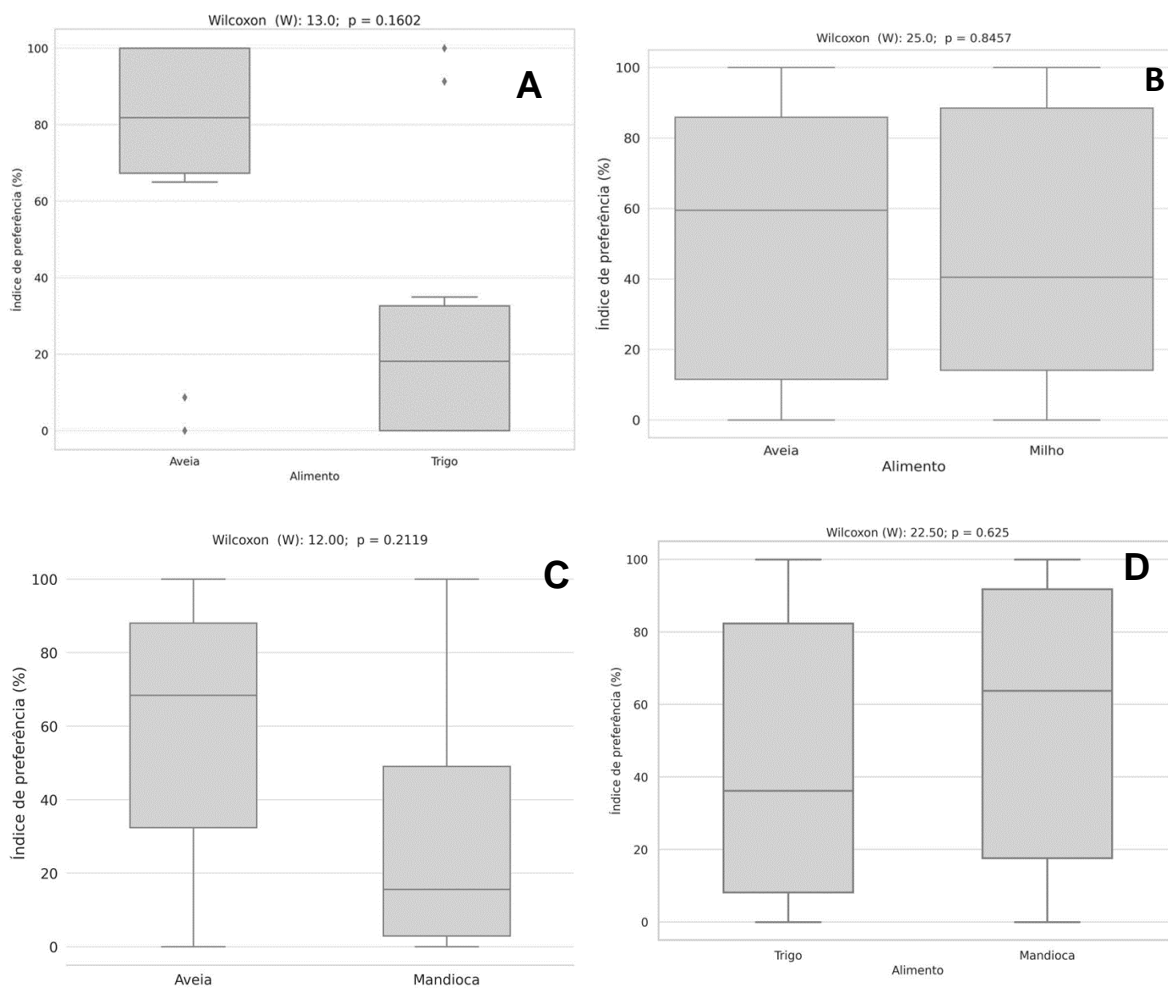
Foi realizado o teste de comparação por grupos, sendo a preferência medida como Índice de Preferência definido por  $tp/(tp+tv) \times 100$  onde  $tp$  corresponde ao tempo gasto explorando o alimento A e  $tv$  o tempo gasto explorando o alimento B. Foi utilizado o teste de Wilcoxon (WCX test) para comparar a preferência.

Para o experimento em paralelo, inicialmente os dados de preferência alimentar foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Quando não atenderam aos critérios de normalidade, foram transformados em  $\sqrt{x} + 0,5$  para contemplar às premissas da ANOVA, pelo teste de F com risco de erro de tipo I,  $\alpha = 0,05$ , para verificação das hipóteses de igualdade de tratamento. Em seguida, as médias obtidas nos diferentes tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando software R (R Development Core Team, Versão 4.2.3, 2023).

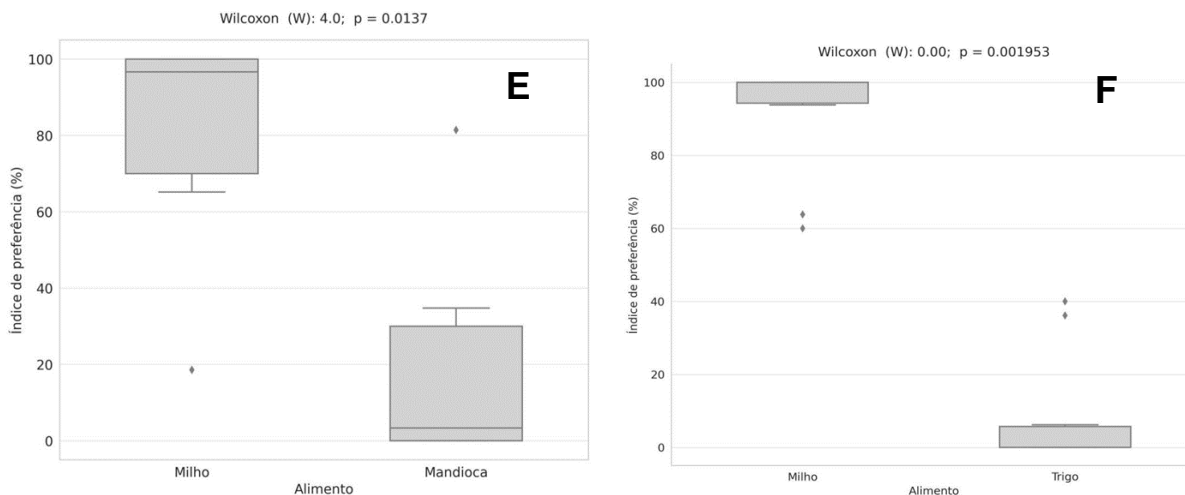
## 3.3. RESULTADOS

Os resultados mostram que, na primeira etapa, não houve diferenças significativas entre as combinações aveia-trigo (combinação 1), aveia-milho (combinação 3), aveia-mandioca (combinação 5) e trigo-mandioca (combinação 6) com os resultados do teste de Wilcoxon (W): sendo 13,0; [p=0,1602], 25,0; [p=0,8457], 12,0; [p= 0,2119] e 22,5; [p= 0,625] respectivamente (Figura 1).

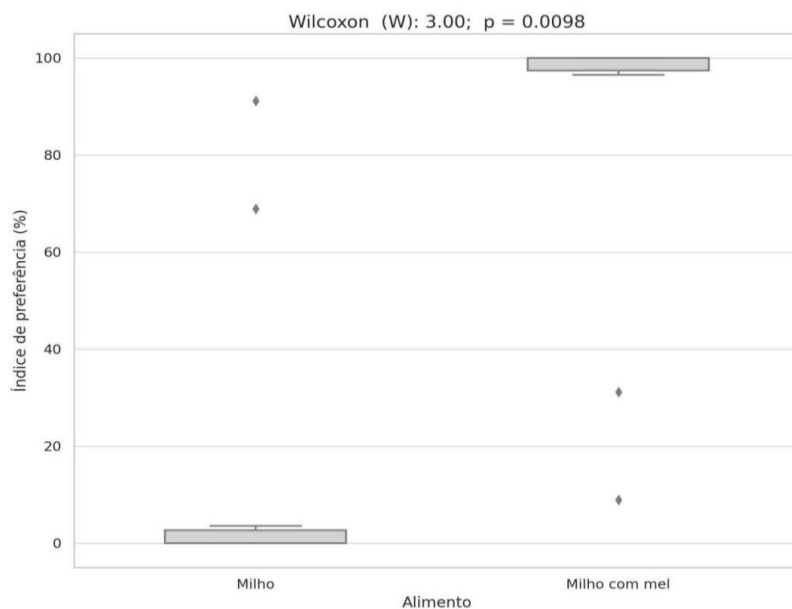
Houve, contudo, diferenças significativas para as combinações milho-mandioca (combinação 2) com Wilcoxon (W):4,0; [p= 0,0137] e milho-trigo (combinação 4) com Wilcoxon (W): 0,00; [p= 0,0019] (Figura 2).



**Figura 1.** Índices de preferência alimentar de *Gryllus assimilis* em laboratório: A- combinações 1(aveia-trigo); B- combinação3 (aveia- milho); C-combinação 5(aveia - mandioca); e D-combinação 6 (trigo-mandioca).



**Figura 2.** Índices de preferência alimentar de *Gryllus assimilis* em laboratório: E- Combinação 2 (milho-mandioca) e F- combinação 4 (milho-trigo).



**Figura 3.** Índice de preferência alimentar de *Gryllus assimilis* em laboratório, combinação milho com e sem melado de cana.

Na segunda fase, com a adição de solução aquosa de melado de cana, os resultados mostraram diferenças significativas para milho com melado de cana, Wilcoxon (W): 3,0; [p= 0,0098] (Figura 3).

**Tabela 1.** Índices de preferência alimentar (IPA) de *Gryllus assimilis* em seis combinações envolvendo farinhas vegetais de aveia, trigo, milho e mandioca.

Índices de preferência alimentar <sup>1</sup>											
1ª Combinação		2ª Combinação		3ª Combinação		4ª Combinação		5ª Combinação		6ª Combinação	
Aveia	Trigo	Milho	Mandioca	Aveia	Milho	Milho	Trigo	Aveia	Mandioca	Trigo	Mandioca
74,29	25,71	93,33	6,67	0,00	100,00	100,00	0,00	26,78	73,22	96,77	3,23
100,00	0,00	18,56	81,44	65,02	34,98	100,00	0,00	49,35	50,65	36,06	63,94
100,00	0,00	65,22	34,78	100,00	0,00	100,00	0,00	55,56	44,44	0,00	100,00
65,03	34,97	100,00	0,00	71,71	28,29	100,00	0,00	100,00	0,00	0,00	100,00
74,92	25,08	68,91	31,09	53,98	46,02	93,83	6,17	0,00	0,00	36,36	63,64
0,00	100,00	100,00	0,00	46,06	53,94	95,60	4,40	88,24	11,76	87,44	12,56
100,00	0,00	100,00	0,00	90,62	9,38	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	100,00
88,76	11,24	100,00	0,00	100,00	0,00	60,00	40,00	100,00	0,00	67,11	32,89
8,70	91,30	100,00	0,00	0,00	100,00	63,83	36,17	81,25	18,75	100,00	0,00
100,00	0,00	73,33	26,67	0,00	100,00	100,00	0,00	87,50	12,50	32,64	67,36
71,17	28,83	81,94	18,06	52,74	47,26	91,33	8,67	58,87	31,13	45,64	54,36

<sup>1</sup>IPA= (Tempo de alimentação em uma das farinhas /o tempo total da combinação) x100].

**Tabela 2.** Valores médios em gramas do consumo de *Gryllus assimilis* de quatro farinhas vegetais (aveia, trigo, milho e mandioca, com e sem melado de cana) em diferentes períodos (24h, 36h, 48h, 60h e 72 h).

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tratamento	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h
Aveia	0,74 ± 0,01 b	0,73 ± 0,00 b	0,72 ± 0,00 a	0,72 ± 0,00 a	0,73 ± 0,00 a
Trigo	0,73 ± 0,00 b	0,74 ± 0,01 b	0,75 ± 0,00 a	0,74 ± 0,01 a	0,74 ± 0,00 a
Milho	0,74 ± 0,02 b	0,73 ± 0,00 b	0,73 ± 0,00 a	0,74 ± 0,01 a	0,73 ± 0,00 a
Mandioca	0,73 ± 0,01 b	0,73 ± 0,00 b	0,72 ± 0,00 a	0,72 ± 0,00 a	0,73 ± 0,01 a
Aveia + mel	0,90 ± 0,05 ab	0,78 ± 0,02 b	0,75 ± 0,01 a	0,75 ± 0,01 a	0,74 ± 0,01 a
Trigo + mel	0,91 ± 0,03 ab	0,82 ± 0,01 a	0,75 ± 0,01 a	0,72 ± 0,00 a	0,72 ± 0,00 a
Milho + mel	0,95 ± 0,09 a	0,81 ± 0,00 a	0,77 ± 0,02 a	0,76 ± 0,01 a	0,73 ± 0,01 a
Mandioca + mel	0,87 ± 0,00 ab	0,75 ± 0,00 b	0,74 ± 0,00 a	0,72 ± 0,00 a	0,75 ± 0,00 a
CV %	10,12	3,35	3,24	3,32	2,92
F	5,17	7,50	1,80	1,86	0,63
P	< 0,0001	< 0,0001	0,1345	0,1206	0,7280

### 3.4. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste experimento diferem dos encontrados por Morales-Ramos *et al.* (2020), que estudaram a seleção de ingredientes alimentares e subprodutos agrícolas pelo grilo doméstico *Acheta domesticus* os autores verificaram que os grilos tiveram preferência pelas dietas que continham farelo de trigo, enquanto que *G. assimilis* tem preferência por farinha de milho, principalmente quando incorporado ao melado de cana. Isto pode ter sido pelo fato de os grilos serem omnívoros, com a seleção de alimentos pelos mesmos sendo um processo complexo que envolve sinais visuais, olfativos e nutricionais (Kuo; Fisher, 2022; Runyambo *et al.*, 2023). Assim, provavelmente as farinhas apresentam melhor situação olfativa em relação aos sub produtos agrícolas.

Apesar de não haver diferenças significativas nas combinações descritas na seção de resultados, é possível observar, através dos índices de preferência alimentar apresentados na Tabela 1, que houve uma tendência favorável para aveia nas combinações em que ela fez parte, excetuando-se a combinação aveia-milho, na qual a preferência foi praticamente de 1/2 para ambos alimentos.

*Gryllus assimilis* mostrou preferência pela farinha de milho, quando a mesma foi testada conjuntamente às farinhas de mandioca. Para entender a preferência alimentar, é preciso considerar que as médias de consumo e utilização de determinado alimento, são influenciadas pela fisiologia e o comportamento de seleção da dieta. Além disso, o consumo e utilização de alimentos são relacionados a qualidade do alimento consumido e com seu efeito no crescimento e desenvolvimento de insetos (Parra *et al.* 2009). Considerando que os indivíduos utilizados nos testes foram fêmeas adultas, deve-se considerar que nesta etapa os órgãos reprodutivos encontram-se amadurecidos e por tanto necessitam de níveis acrescidos de proteína para a manutenção dos ovos (crescimento e desenvolvimento). Nutricionalmente, o milho fornece, em média, 75-82% da energia metabolizável e 20% da proteína (Boen *et al.* 2007; Silva *et al.* 2023; Batista *et al.* 2023). Estes níveis são consideravelmente altos em relação aos demais alimentos utilizados no teste (Tabela1).

A farinha de trigo mostrou ser a menos preferida por *G. assimilis* de entre as demais. A farinha de mandioca possui alto valor energético, rico em amido, contém



fibras e alguns minerais como potássio, cálcio, fósforo, sódio e ferro, obtido pela ligeira torração da raladura das raízes de mandioca previamente descascadas. No entanto, o processamento, com alta temperatura e carga no forno de secagem, a intensidade da prensagem e a fermentação da mandioca antes da secagem, fazem com que os seus componentes nutricionais sejam perdidos tornando-se assim menos atraente (Dias e Leone, 2006).

### **3.5. CONCLUSÃO**

Com o presente estudo foi possível concluir que o *G. assimilis* em condições de laboratório, tem preferência alimentar pela farinha de milho, em especial quando adicionada à solução aquosa de melado de cana, apresenta melhores resultados dado ao fato de o melado de cana ser um fagoestimulante. Desta forma ela pode ser utilizada como atrativo alimentar para a produção de iscas tóxicas para o controle de grilos. Apresentar na secção de discussão

#### 4. Capítulo 2. Eficácia de fungos entomopatogênicos para uso em iscas tóxicas visando o controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae)

##### RESUMO

Os fungos entomopatogênicos são importantes agentes de controle biológico e vem sendo objeto de pesquisa em todo o mundo a mais de 100 anos. O controle biológico usando entomopatógenos, incluindo os fungos entomopatogênicos, oferece uma alternativa relativamente adequada para o manejo de pragas. Sabe-se que os fungos entomopatogênicos infetam e causam epizootias em uma ampla gama de ordens de insetos, incluindo Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera. O fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. (Ascomycota: Clavicipitaceae) tem ocorrência na natureza, parasitando insetos em vários locais por todo o país, e seu uso como agente de controle biológico em áreas infestadas pelas pragas tem se tornado bastante comum. O fungo entomopatogênico *Beaoveria bassiana*, tem sido cada vez mais utilizado para conter surtos de insetos e tem sido frequentemente relatado como um agente de controle biológico eficaz de inseto. O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia dos fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae*, *Boveria bassiana* e *Isária fumosorosea* sobre a mortalidade de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) em ambiente de laboratório. Os testes foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. Foram avaliadas duas cepas de *B. bassiana* e uma cepa cada de *M. anisopliae* e *I. fumosorosea*. A maior porcentagem de mortalidade de *G. assimilis* foi observada 7 dias após o tratamento com *M. anisopliae* 0,15g que causou mortalidade de mais da metade dos insetos.

**Palavras chaves:** biocontrole, bioformulações, insetos, microbiológicos.

## ABSTRACT

Entomopathogenic fungi are important biological control agents and have been the subject of research around the world for more than 100 years. Biological control using entomopathogens, including entomopathogenic fungi, offers a relatively suitable alternative for pest management. Entomopathogenic fungi are known to infect and cause epizootics in a wide range of insect orders, including Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, and Hymenoptera and Orthoptera. The fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. (Ascomycota: Clavicipitaceae) occurs in nature, parasitizing insects in various locations throughout the country, and its use as a biological control agent in areas infested by pests has become quite common. The entomopathogenic fungus *Beaoveria bassiana* has been increasingly used to contain insect outbreaks and has been frequently reported as an effective insect biological control agent. The objective of the present study was to evaluate the effectiveness of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Boveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* on the mortality of *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) in a laboratory environment. The tests were carried out in a completely randomized design, with 4 replications. Two strains of *B. bassiana* and one strain each of *M. anisopliae* and *I. fumosorosea* were evaluated. The highest percentage of *G. assimilis* mortality was observed 7 days after treatment with *M. anisopliae* 0.15g, which caused mortality in more than half of the insects.

**Key words:** biocontrol, bioformulations, insects, microbiological.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

Os fungos entomopatogênicos são importantes agentes de controle biológico e vem sendo objeto de pesquisa em todo o mundo a mais de 100 anos. Os primeiros testes com fungos entomopatogênicos foram realizados pelo russo Metschnikoff no século XIX, quando avaliou o potencial de *Metarhizium anisopliae* para o controle de uma espécie de besouro (Faria e Magalhães, 2001; Vega *et al.*, 2012).

O manejo de pragas nas áreas de produção depende principalmente do uso de pesticidas sintéticos (químicos), sendo este um dos métodos mais conhecidos para controlar pragas agrícolas e melhorar a produção (Anani *et al.*, 2020). No entanto eles interferem de forma negativa na atividade dos microrganismos do solo, limitando seus serviços biológicos na produção de certas características promotoras do crescimento das plantas, como sideróforos, nitrogênio, indol-3-acético, entre outros (Kumar e Kumar, 2019). Os pesticidas sintéticos chegam ao meio ambiente através de diferentes meios, como movimentos de vapor, descarte indiscriminado, deriva de gotículas, erosão e lixiviação. Com isso, algumas plantas não-alvo são encontradas, resultando em um declínio na capacidade fotossintética da planta e na produção de sementes (Hashimi *et al.*, 2020). Além disso, o acúmulo de pesticidas nos corpos de água, pode ser uma forma de transposição da vida aquática para os animais e humanos, e sua biomagnificação pode resultar em doenças mortais, como câncer, doenças renais, erupções cutâneas, diabetes, entre outras (Sabarwal *et al.*, 2018 ; Manfo *et al.*, 2020). Portanto, é importante a utilização e o desenvolvimento de estratégias alternativas que sejam favoráveis ao ambiente, econômicas, fiáveis e sustentáveis (Tupe *et al.* 2017).

O controle biológico usando entomopatógenos, como os fungos entomopatogênicos (EPF), oferece uma alternativa relativamente adequada para o manejo de pragas (Rodríguez *et al.*, 2002; Tupe *et al.*, 2017). Sabe-se que os EPF infectam e causam epizootias em uma ampla gama de ordens de insetos, incluindo Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera (Shah, Pell 2003; Islam 2021)

Esses fungos desenvolveram estilos de vida parasitários que podem ser explorados no controle biológico de pragas e doenças, e são a causa mais comum de

doenças microbianas em invertebrados. Além disso, compõem um grupo bastante mais diversificado, com quase 1.000 espécies, que desempenham um papel fundamental como fatores naturais de mortalidade de insetos e aracnídeos (carrapatos e ácaros) (Humber, 2008 ; Boomsma et al. 2014; Stone *et al.*, 2020 ). Ao contrário dos vírus, protozoários e bactérias, que requerem vias específicas de infecção (isto é, através da ingestão), a maioria dos fungos entomopatogênicos infetam os artrópodes pela penetração direta na cutícula do hospedeiro e, portanto, funcionam principalmente como patógenos de contato(Mascarin *et al* 2016).

Apesar do modo geral de infecção ser através do tegumento, há evidências de que *B. bassiana* pode infetar insetos por ingestão, particularmente insetos com aparelhos bucais mastigadores (Feng *et al.* 1994), como por exemplo o besouro da batata do colorado, *Lepitotarsa decemlineata* a formiga de fogo, *Solenopsis invicta* Buren (Siebeneicher *et al*, 1992); a lagarta do pinheiro, *Dendrolimus punctata* Walker (Long, Du, 1988); a barata alemã, *Blattella germanica* (L.) (Cai, Liu, 1988); a broca menor do milho, *Elasmopalpus Hgnosellus* (Zeller) (Mcdowell *et al*, 1990); a falça medeieira do repolho, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Ignoffo *et al*, 1982); o bicho-da-seda da amoreira, *Bpmyx- mori* L. (HUANG, 1988).

O fungo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. (Ascomycota: Clavicipitaceae) tem ocorrência na natureza, parasitando insetos em vários locais por todo o país. Tem se tornando bastante comum o uso desse agente de controle biológico em áreas infestadas pelas pragas ( Almeida *et al.*, 2020)

Os fungos entomopatogênicos são considerados importantes agentes biológicos de controle de pragas (Sharma *et al*, 2023). São organismos capazes de colonizar uma grande variedade de pragas e podem causar epizootias (doenças que podem causar a morte ou interferir na alimentação e reprodução de insetos e ácaros) (Rohrig, 2021). Geralmente infectam os insetos pela penetração ativa através da cutícula, sendo capazes de iniciar a invasão do hospedeiro independentemente de seus hábitos alimentares. Uma vez que a cutícula do inseto é a primeira barreira encontrada pelos fungos, eles sintetizam uma grande variedade de enzimas extracelulares envolvidas na degradação de proteínas, quitina e lipídios que são os principais componentes da cutícula do inseto (PEDRINI *et al.*, 2007; VEGA *et al.*, 2012)

## 4.2. ATERIAL E METODOS

### 4.2.1. Criação de *Gryllus assimillis*

As matrizes que deram origem a criação na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), são provenientes do Biotério de Invertebrados Terrestres do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A criação de *G. assimillis* foi realizada no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética (DEZG) do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), seguindo os protocolos de Limberger *et al.* (2021), em temperatura controlada de ( $25 \pm 2$  °C), humidade relativa  $65 \pm 10\%$  e fotoperíodo constante de (12 L: 12D). Para a alimentação, os grilos tiveram acesso *ad libitum* da ração comercial para gatos (Golden, PremieRpet® São Paulo Brasil) desde a eclosão de ovos, e tiveram acesso a água em algodão húmido renovado diariamente.

### 4.2.2. Formulações e tratamentos dos produtos bioinseticidas

Foram utilizadas formulações compostas pelos seguintes inseticidas microbiológicos preparadas a partir de concentrados emulsionáveis (CE) e pós molháveis (WP) de: (i) Boveril® Cana 30 g/kg (Koppert do Brasil Holding Ltda., Piracicaba/São Paulo, Brasil), contendo concentração de 30% do ingrediente ativo (IA) *Beauveria bassiana* cepa IBCB 66 ( $1,5 \times 10^9$  UFC/g); (ii) Boveril® WP 50 g/ kg (Koppert do Brasil Holding Ltda, Piracicaba/São Paulo, Brasil), contendo concentração de 50% do IA *B. bassiana*, (Bals.) Vuill., cepa PL63 ( $1 \times 10^8$  conídios viáveis/g); (iii) Metarril® WP E9 50gkg (Piracicaba/São Paulo, Brasil), contendo concentração de 50% do IA *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok cepa E9 ( $1,39 \times 10^8$  conídios viáveis/g). e (iv) Challenger® EC 85,0g/L (Piracicaba/São Paulo, Brasil), contendo concentração de 85,0% do IA *Isaria fumosorosea*, CEPA ESALQ 1296 ( $2,5 \times 10^9$  conídios viáveis/mL) (Tabela 1). Os fungos foram doados pela empresa Koppert Brasil Holding Ltda.

**Tabela3.** Inseticidas microbiológicos comerciais utilizados nos bioensaios laboratoriais contra *Gryllus assimillis*.

Ingrediente Ativo	Dose (c.p) <sup>a</sup>	Nome comercial	Grupo químico
<i>Beauveria bassiana</i> CEPA IBCB 66	1,2 g/L	Boveril® Cana 30 WP	Inseticida Microbiológico
<i>Beauveria bassiana</i> CEPA PL 63	1,2 g/L	Boveril® 50 WP PL63	Inseticida Microbiológico
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sorok. cepa E9	1,2 g/L	Metaril® 50 WP E9	Inseticida Microbiológico
<i>Isaria fumosorosea</i> CEPA ESALQ 1296	1,2 mL/L	Challenger® 85,0 EC	Inseticida Microbiológico

<sup>a</sup>Dose, g ou mL de c.p. (produto comercial)/1 litro de água. IBCB: Instituto Brasileiro de Controle Biológico; CE: Concentrado Emulsionável e WP: Pó Molhável.  
Tabela.

### 4.2.3. Bioensaio

#### 4.2.3.1. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de adultos de *Gryllus assimillis* por ingestão

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética (DEZG) do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizados com 13 tratamentos e 4 repetições, totalizando 52 unidade experimentas (UEs). Os produtos utilizados foram quatro Fungos Entomopatogênicos (Boveril® Cana (30 WP); Boveril® (50 WP)PL63); Metaril® WP E9 (50 WP) e Challenger® (85,0 (EC), com as seguintes concentrações em cada fungo: (5%, 10% e 15%) e água destilada como control negativo. Cada UE consistiu de recipiente plástico de 700 mL, perfurado na lateral de 1 cm de diâmetro, coberto com Tempa, com copo plástico descartável no interior (cortado a uma altura de 4 cm a partir da base) (4cm de diâmetro), contendo 5 g de ração comercial e as concentrações de cada produtos misturados. Foram colocados 4 adultos de *G. assimillis* não sexados de sete a dez dias após a muda préimaginal em cada UE, totalizando 208 indivíduos. Para promover

rápido acesso ao alimento, os adultos foram submetidos a jejum por um período de 24 horas.

Para o preparo das soluções primeiramente foi efetuada a pesagem e medição dos produtos na ordem de 0,05 g, 0,10 g e 0,15 g utilizando uma balança de precisão e 0,05ml, 0,1 ml e 0,15 ml para os pós molháveis e emulsão concentrada respectivamente. Em seguida foi feita a diluição dos respectivos produtos em 50 ml de água destilada. As soluções foram aspergidas sobre a superfície da dieta na razão de 2 ml de solução para 5 g de alimento, a qual foi de seguida submetida aos insetos. As avaliações foram realizadas diariamente durante um período de 8 dias.

#### **4.2.3.2. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de ninfas e adultos de *Gryllus assimilis* por contato.**

Este experimento foi conduzido com delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial do tipo 2x4x2 (dois intares de insetos, ninfas pré adultas e adultos, quatro cepas de fungos entomopatogênicos, duas concentrações de cada formulação de produto), além de testemunha, compondo-se 18 tratamento e 4 repetições. Ao todo foram 72 UEs. As UEs foram constituídas de recipientes plásticos de 700ml com tampa perfurados na lateral superior para permitir arejamento. No interior dos recipientes foram alocados 4 insetos totalizando 256 indivíduos dos quais 128 ninfas pré adultas e 128 adultos. As ninfas utilizadas no experimento foram utilizados quatro Fungos Entomopatogênicos (Boveril® Cana (30 WP); Boveril® (50 WPPL63); Metaril® WP E9 (50 WP) e Challenger® (85,0 (EC), com as concentrações de: 20g e 30g. Para o preparo das soluções seguiram-se os mesmos critérios do experimento anterior na pesagem e na diluição dos produtos. As suspensões foram pulverizadas sobre os insetos usando 2 ml de suspensão em cada unidade experimental. As avaliações foram realizadas durante 6 dias.

#### **4.2.3.3. Análise dos dados**

As avaliações foram realizadas até um período de oito dias após tratamento no primeiro experimento, e até seis dias após o tratamento no segundo experimento. Inicialmente os dados de mortalidade foram analisados quanto à normalidade pelo



teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Quando não atenderam aos critérios de normalidade, foram transformados em  $\sqrt{x} + 0,5$  para contemplar as premissas da ANOVA para cada período de avaliação após tratamento, os dados de mortalidade acumulada de *G. assimilis* foram submetidos à análise de variância (ANOVA), pelo teste F, identificando-se as possíveis interações entre os fatores (produtos e concentrações). Posteriormente, os dados foram submetidos à regressão polinomial, utilizando o software R (R Development Core Team 2023).

#### 4.4. Resultados

##### 4.4.1. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de adultos de *Gryllus assimilis* por ingestão em laboratório

Um dia após o tratamento (DAT), não houve interação significativa entre o tratamento com Boveril® cana e suas concentrações ( $F = 1,14$ ,  $F_{stat} = 1,10$ ,  $p = 0,3034$ ), contudo observou-se interações significativas entre o tratamento com Boveril WP® e suas concentrações ( $F = 6,47$ ,  $F_{stat} = 13,08$ ,  $p = 0,024402$ ); entre o tratamento com Metarril® e suas concentrações ( $F = 8,34$ ,  $F_{stat} = 4,53$ ,  $p = 0,01269$ ), e entre o tratamento com Challenger® e suas concentrações ( $F = 11,29$ ,  $F_{stat} = 6,99$ ,  $p = 0,005116$ ). Em especial a cepa Challenger® na concentração 10% apresentou mortalidade de *G. assimilis* com 18,75%, sendo o maior valor observado. A relação entre a mortalidade de *G. assimilis* para o tratamento Challenger® 10% foi ajustada pelo modelo quadrático de regressão, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) igual a 0,98 (Figura 4A).

Aos dois DAT, não houve interação significativa entre tratamento com Boveril® cana e suas concentrações ( $F = 1,16$ ,  $F_{stat} = 1,12$ ,  $p = 0,3000$ ). Porém, novamente houve interação significativa entre os tratamentos com Boveril WP® e suas concentrações, ( $F = 154,84$ ,  $F_{stat} = 84,39$ ,  $p < 0,0001$ ), entre o tratamento com Metarril® e suas concentrações ( $F = 5,22$ ,  $F_{stat} = 15,82$ ,  $p = 0,039756$ ); e entre o tratamento com Challenger® e suas concentrações ( $F = 9,28$ ,  $F_{stat} = 5,04$ ,  $p = 0,00935$ ). O maior valor para a mortalidade de *G. assimilis*, igual a 25%, foi observado

para a concentração 5% de Metarril® e para a concentração 10% de Challenger® (Figura 4B).

Aos três DAT, como para os dias anteriores, não houve interação significativa entre o tratamento com Boveril cana® e suas concentrações ( $F = 3,44$ ,  $F_{stat} = 2,509$ ,  $p = 0,08607$ ), sendo observadas interações significativas entre o tratamento Boveril® e as concentrações ( $F = 0,82$ ,  $F_{stat} = 72,29$ ,  $p = 0,03814$ ), entre o tratamento Metarril® e as concentrações ( $F = 9,77$ ,  $F_{stat} = 18,94$ ,  $p = 0,00801$ ); e entre o tratamento com Challenger® e suas concentrações ( $F = 53,56$ ,  $F_{stat} = 29,18$ ,  $p < 0,0001$ ), neste dia a maior mortalidade foi observada para o tratamento com Boveril® 5% sendo a mortalidade igual a 37,5%. Os tratamentos com Challenger 5% e Metarril® 15% também apresentaram mortalidades significativas, com cerca de 31,25% respectivamente. A análise de regressão se ajustou significativamente aos dados de mortalidade nas concentrações de 5% e 15% pelo modelo quadrático de regressão com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de 0,85 e 0,98 respectivamente. No geral, a mortalidade aumentou com o aumento das concentrações (Figura 4C).

Aos quatro DAT, houve interação significativa entre os tratamentos Boveril® cana e suas concentrações ( $F = 4,75$ ;  $F_{stat} = 4,75$ ;  $p = 0,02102$ ), entre Metarril® e suas concentrações ( $F = 20,2$ ;  $F_{stat} = 16,88$ ;  $p = 0,00123$ ) e Challenger e as concentrações ( $F = 35,56$ ;  $F_{stat} = 65,29$ ;  $p < 0,0001$ ), sendo que o tratamento com Boveril cana® e Boveril WP®, nas concentrações 10% e 15%, respectivamente, apresentaram a maior porcentagem de mortalidade, com cerca de 37,5%. Em contraste não houve interação entre o tratamento Boveril WP® e suas concentrações ( $F = 0,5103$ ;  $F_{stat} = 44,95$ ;  $p = 0,4876$ ) (Figura 4D).

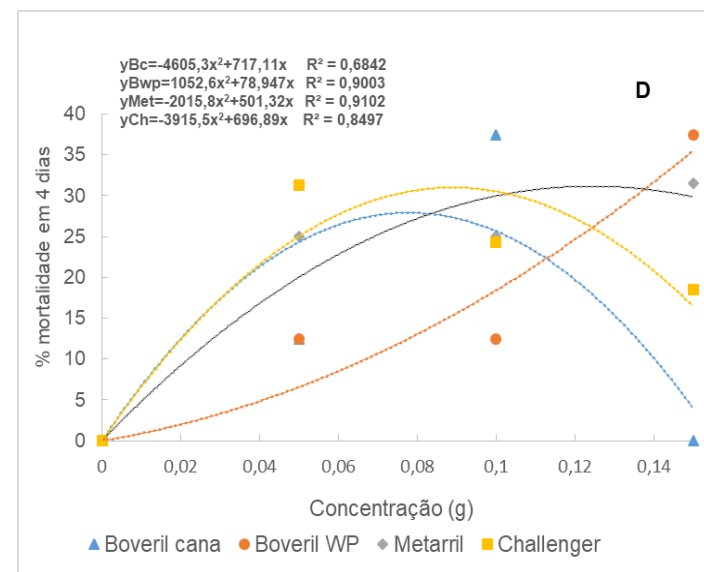
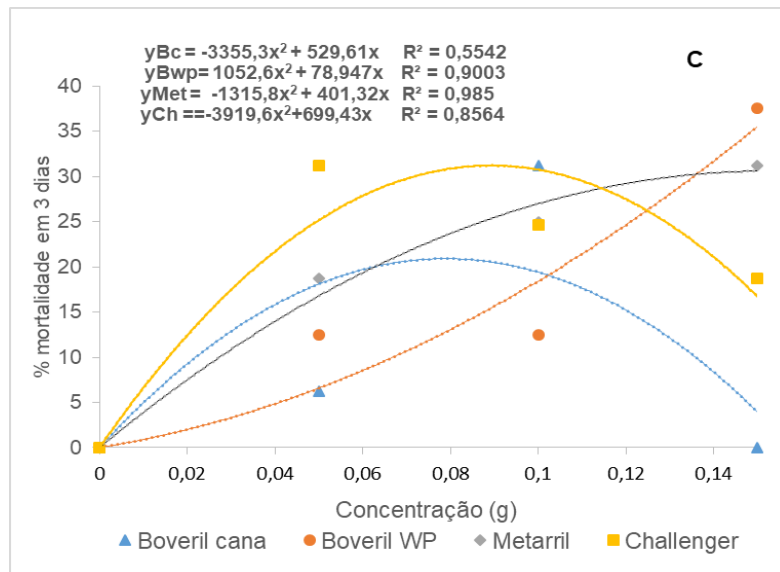
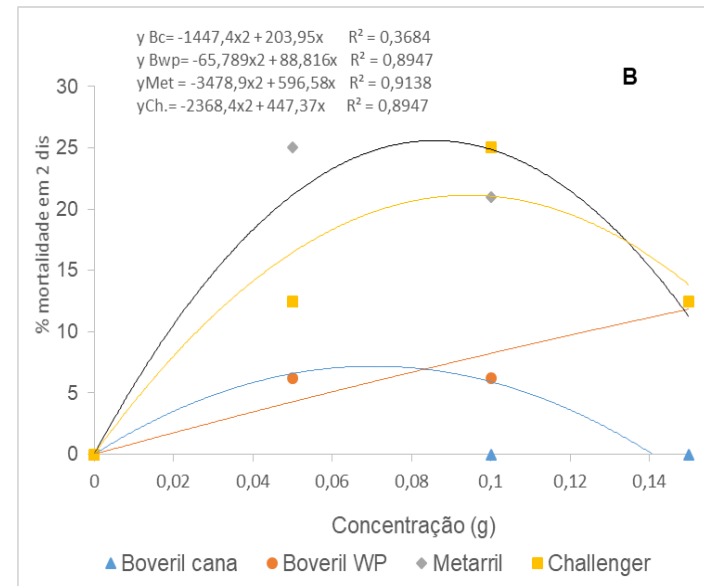
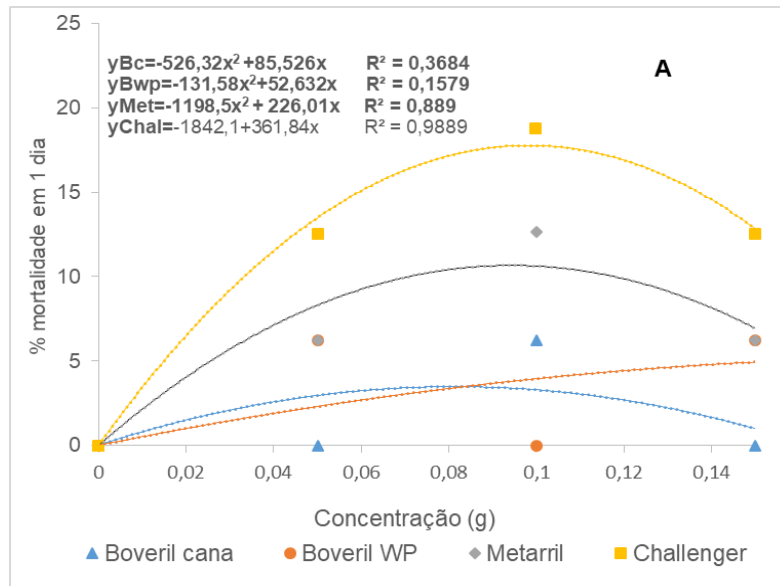
Aos cinco DAT, houve interações significativas entre tratamentos Boveril cana® e as concentrações ( $F = 9,86$ ;  $F_{stat} = 6,27$ ;  $p = 0,0078$ ), entre Metarril® e suas concentrações ( $F = 9,75$ ;  $F_{stat} = 8,57$ ;  $p = 0,008549$ ), e entre o Challenge® r e as concentrações ( $F = 51,83$ ;  $F_{stat} = 28,23$ ;  $p < 0,0001$ ), não havendo interação entre Boveril WP® e suas concentrações ( $F = 0,5578$ ;  $F_{stat} = 49,13$ ;  $p = 0,4684$ ). O tratamento com Boveril cana® (10%) apresentou maior porcentagem de mortalidade de *G. assimilis*, com 43,75%, seguido do tratamento com Boveril WP® (15%) com 37,5% de mortalidade. A análise de regressão se ajustou significativamente aos dados

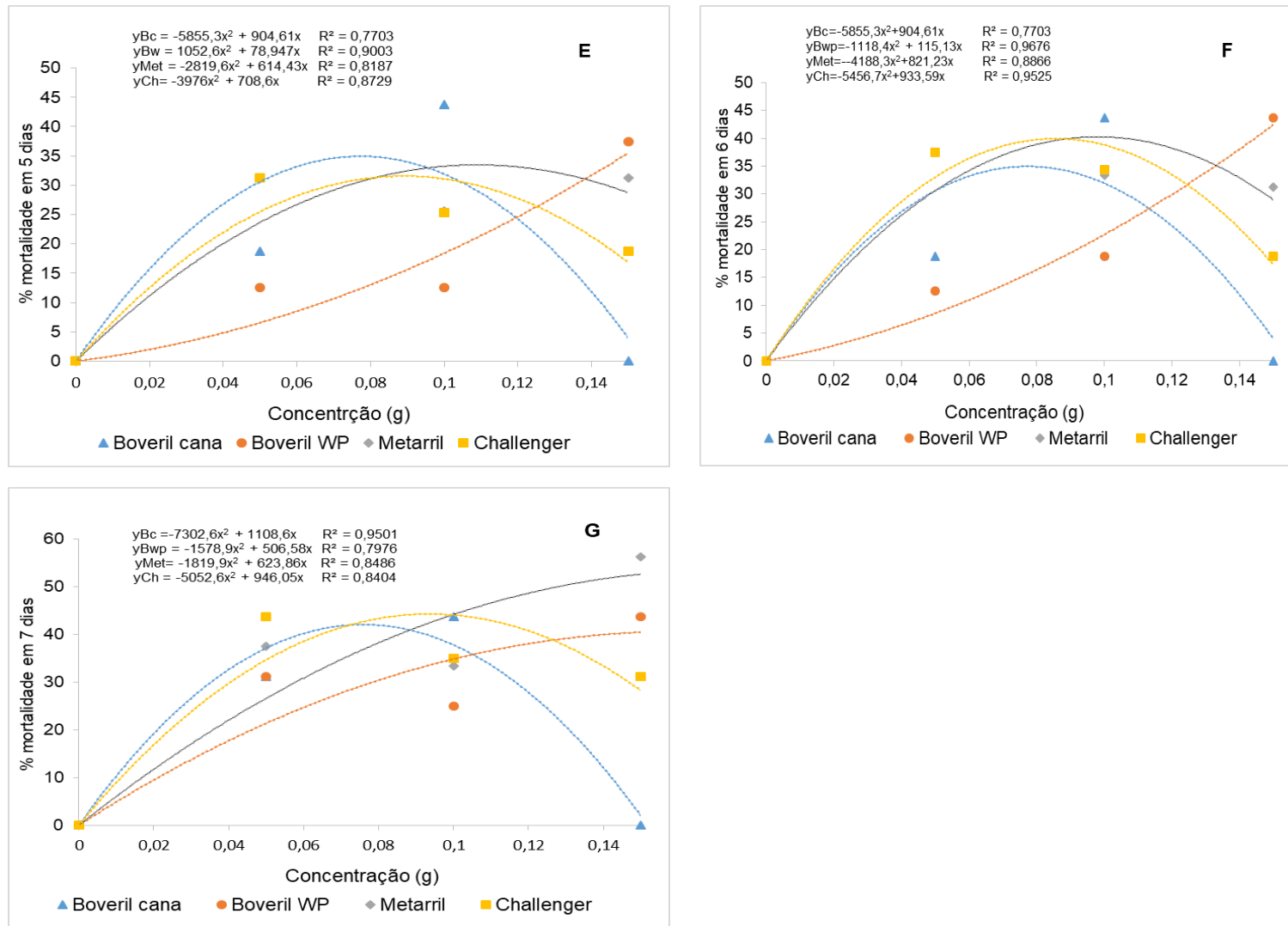
de mortalidade nas concentrações de 10% e 15% pelo modelo quadrático de regressão com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) de 0,77 e 0,90. (Figura 4E).

Aos seis DAT, as interações foram significativas para os tratamentos com Boveril cana® e suas concentrações ( $F = 9,74$ ;  $F_{stat} = 6,204$ ;  $p = 0,0080889$ ), com Metarril® e suas concentrações ( $F = 24,55$ ;  $F_{stat} = 16,73$ ;  $p = 0,000263$ ), e com Challenger® e suas concentrações ( $F = 24,27$ ;  $F_{stat} = 47,28$ ;  $p < 0,0001$ ). Não houve interação significativa entre o tratamento com Boveril WP® e as suas concentrações ( $F = 0,49$ ;  $F_{stat} = 58,59$ ;  $p = 0,4962$ ). O tratamento com Boveril WP® na concentração (15%) apresentou 43,75% de mortalidade de *G. assimilis*, sendo o maior valor observado, seguindo Metarril® e Challenger® na concentração de 5% com 37,5% de mortalidade, respectivamente. A análise de regressão se ajustou significativamente aos dados de mortalidade nas concentrações de 5%, 15% pelo modelo quadrático de regressão com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,95 e 0,96 (Figura 4F).

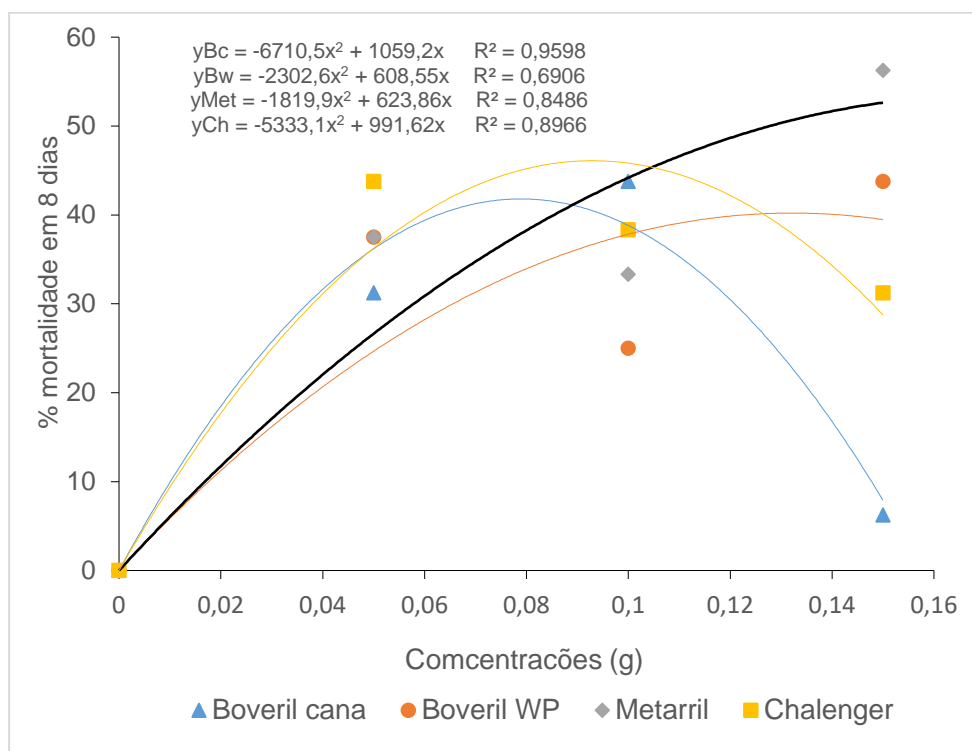
Aos sete DAT, houve interações significativas entre o tratamento Boveril cana® e as concentrações ( $F = 26,52$ ;  $F_{stat} = 15,68$ ;  $p = 0,0001567$ ), entre o tratamento Boveril WP® e as concentrações ( $F = 6,67$ ;  $F_{stat} = 31,1$ ;  $p = 0,0227356$ ), entre o Metarril® e as concentrações ( $F = 10,55$ ;  $F_{stat} = 24,43$ ;  $p = 0,005815$ ) e entre o tratamento Challenger e as concentrações ( $F = 46,42$ ;  $F_{stat} = 27,35$ ;  $p < 0,0001$ ), sendo que o Metarril® na concentração 15% apresentou maior porcentagem de mortalidade com 56,25%. A análise de regressão se ajustou significativamente aos dados de mortalidade na concentração de 15% pelo modelo quadrático de regressão com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,84 (Figura 4G).

Aos oito DAT, houve interação significativa entre o tratamento Boveril cana® ( $F = 23,85$ ;  $F_{stat} = 12,83$ ;  $p = 0,0002962$ ), entre Boveril cana® e as concentrações ( $F = 11,95$ ;  $F_{stat} = 16,5$ ;  $p = 0,0042406$ ), entre Metarril® e as concentrações ( $F = 10,85$ ;  $F_{stat} = 24,43$ ;  $p = 0,004815$ ) e entre Challenger® e as concentrações. O tratamento Metarril® na concentração 10% apresentou porcentagem de mortalidade igual a 37,33% (Figura 4H).



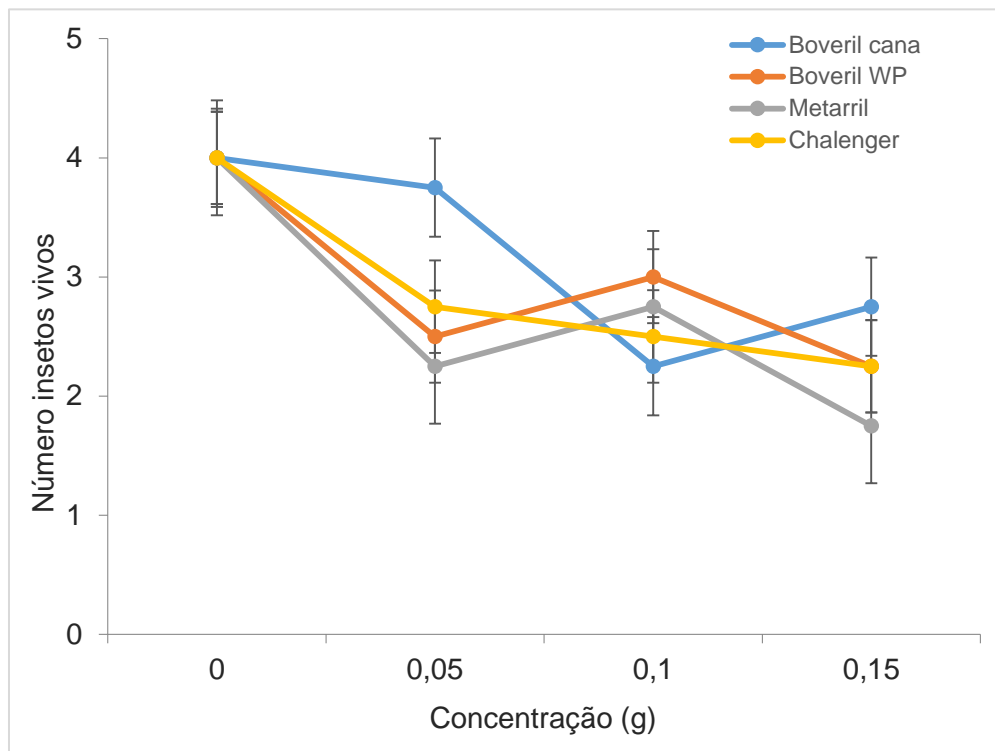


**Figura 4.** Mortalidade diária de adultos de *Gryllus assimilis* submetidos a diferentes concentrações de Boveril cana, Boveril WP, Metarril® e Chalanger® (5%, 10% e 15%) em condições de laboratório durante sete dias após tratamento.



**Figura 5.** Mortalidade acumulada (média EP) de adultos de *Gryllus assimilis* submetidos a diferentes concentrações de Boveril cana®, Boveril WP®, Metarril®, Challenger® (5%, 10% e 15%) em condições de laboratório até oito dias após tratamento.

Para os tratamentos com Metarril e Challenger, os resultados mostram uma diminuição gradual no número de insetos de *G. assimilis* após a aplicação dos produtos. No final do experimento, foi observado um percentual de mortalidade > 50%, para os tratamentos com Mertarril® e Boveril®. Para o tratamento com Challenger® com a terceira maior percentagem de mortalidade, foram observados 43,75% de mortalidade. Na concentração 0,15 g do tratamento com Metarril®, houve uma redução total do número de insetos vivos, de aproximadamente 43,75% no número médio de insetos vivos, enquanto para a mesma concentração, para o tratamento com Boveril cana®, houve uma redução média de 68,75 % ( Figura 5).



**Figura 6.** Número médio de adultos vivos de *Gryllus assimilis* após tratamento de oito dias em condições de laboratório.

#### 4.4.2. Efeito de fungos entomopatogênicos na mortalidade de ninfas e adultos de *Gryllus assimilis* por contato

##### Ninfas

Um dia após o tratamento a mortalidade de ninfas diferiu significativamente entre os tratamentos ( $F=15,10$ ;  $p=0,0001$ ) A cepa Boveril Wp<sup>®</sup> a 20g apresentou mortalidade de ninfas de *G. assimilis* superior de 50% com 88% seguida das cepas de Boveril<sup>®</sup> cana na concentração de 30g e de Challenger<sup>®</sup> 20g, com 57% e 51% respectivamente. As menores mortalidades foram apresentadas por Boveril Wp<sup>®</sup> e Challenger<sup>®</sup> 30g, com 39% e 48% respectivamente. A cepa Boveril cana<sup>®</sup> na concentração 20g e Metarril<sup>®</sup> nas quantidades de 20 e 30 gramas não causaram mortalidade (Tabela 4).

Aos dois DAT, houve diferenças significativas na mortalidade de ninfas de *G. assimilis* ( $F= 4,51$ ;  $p<0,00$ ). A cepa Boveril WP<sup>®</sup> na concentração de 20g causou uma mortalidade de 13% em detrimento das demais cepas que não causaram mortalidade (Tabela 4).

Aos três dias após a aplicação os tratamentos não mostraram diferenças significativas entre si ( $F= 3,38$ ;  $p=0,29927$ ) (Tabela 4).

Aos quatro dias após aplicação os tratamentos apresentaram diferenças significativas ( $F= 5,66$ ;  $P< 0,0002$ ) sendo que a cepa Boveril cana<sup>®</sup> 20g causou mortalidade acima de 50% na ordem de 58% em relação as demais cepas . as cepas Metarril<sup>®</sup> 20g Challenger<sup>®</sup> 30ge Boveril Wp<sup>®</sup> 20g causaram mortalidade inferiores a 50% (Tabela 4).

Aos cinco dias após a aplicação dos produtos os tratamentos não mostraram diferenças significativas ( $F=0,75$ ;  $P=0,6479$ ) (Tabela 5). Aos seis dias após a exposição aos fungos entomopatogênicos houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $F= 3,54$ ;  $P= 0,006$ ). A cepa Challenger 20g causou a maior mortalidade 22% seguida de Metarril 20g e Chalenger 30g com 13% (Tabela 4).



## Adultos

Um dia após a aplicação dos produtos, os resultados mostram que houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $F=4,89$ ;  $P<0,0008$ ). A maior mortalidade superior a 50% de adultos de *G. assimilis* foi causada pela cepa Boveril WP<sup>®</sup> 30. As cepas Boveril cana<sup>®</sup> e Boveril WP<sup>®</sup> 30g, causaram mortalidade de 26% e 22% respectivamente. A cepa Challenger<sup>®</sup> na quantidades de 20g e 30g causou mortalidade de cerca de 13% de adultos de *G. assimilis*. Boveril cana<sup>®</sup> 20g e Metarril<sup>®</sup> não causaram mortalidade (Tabela 5).

Aos dois DAT, os resultados mostraram diferenças significativas ( $F=3,54$  ;  $P<0,006$ ), sendo a cepa Boveril WP<sup>®</sup> 20g a que causou a maior mortalidade, de 13% de adultos (Tabela 5).

Aos quatro dias após a aplicação, novamente houve diferenças significativas ( $F=4,39$  ;  $P<0,001$  ) sendo que a maior mortalidade foi observada no tratamento Boveril cana<sup>®</sup> 30g que chegou a 51%. Em comparação, as mortalidades com Boveril cana<sup>®</sup> 20g e metarril 20g foram de cerca de com 26% e com Boveril WP<sup>®</sup> e Metarril<sup>®</sup> 30g foram de cerca de com 13% de mortalidade.

Aos cinco dias após a aplicação, verificaram-se diferenças significativas ( $F=7,05$ ;  $P<0,001$ ). A cepa Metarril<sup>®</sup>, na concentração de 20g, causou a mortalidade de 22% dos adultos, enquanto a cepa Challenger<sup>®</sup> na concentração de 20g causou mortalidade de 26% (Tabela 5.)

Aos seis dias também foram observadas diferenças significativas ( $F=3,10$  ;  $P<0,019$ ). A cepa Challenger na concentração 30g causou mortalidade de 35%, Metarril na concentração de 30g e Boveril WP<sup>®</sup> 20g causaram a mortalidade de cerca de 26% e 13% de mortalidade de adultos de *G. assimilis* foi causada pelas cepas Challenger<sup>®</sup> na concentração de 20g, Metarril na concentração de 20g e Boveril cana<sup>®</sup> na concentração de 30g (Tabela 5).

**Tabela 4.** Ninfas de *Gryllus assimilis* mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaio de contato tratada com inseticidas microbiológicos em diferentes períodos após a exposição.

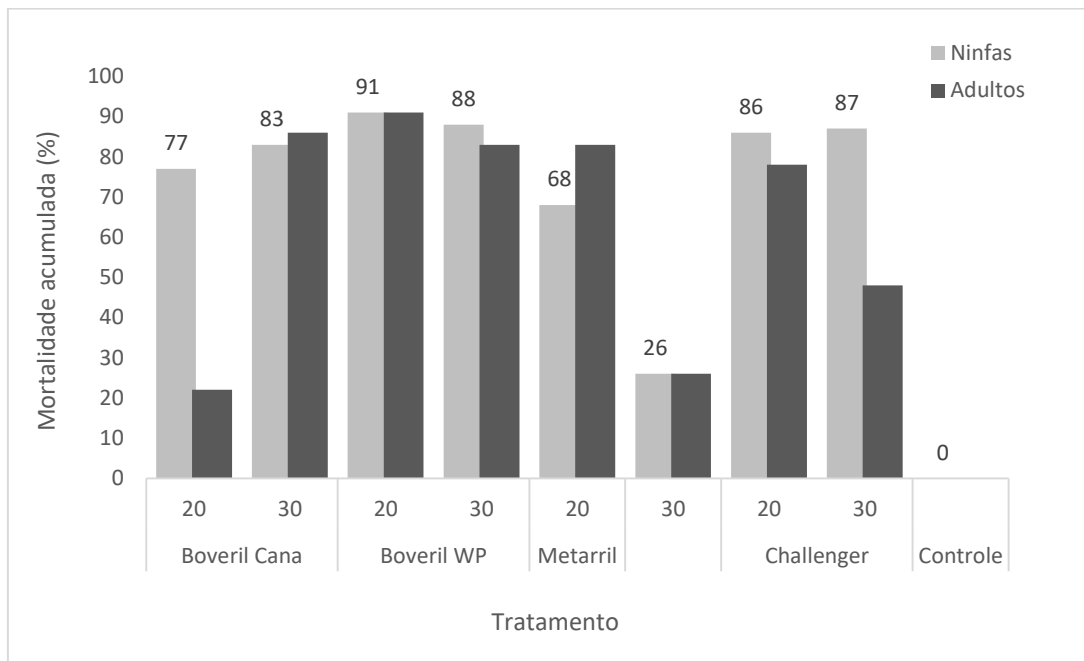
Tratamento	Concentração	Dia 1	Mc	Dia 2	Mc	Dia 3	Mc
Boveril Cana	20	0,71 ± 0,00 c	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0
	30	1,27 ± 0,08 ab	57	0,71 ± 0,00 b	0	0,84 ± 0,12 a	13
Boveril Wp	20	1,09 ± 0,07 bc	39	0,84 ± 0,06 a	13	0,84 ± 0,09 a	13
	30	1,58 ± 0,19 a	88	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0
Metarril	20	0,71 ± 0,00 c	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0
	30	0,71 ± 0,00 c	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,84 ± 0,06 a	13
Chalenger	20	1,21 ± 0,10 ab	51	0,71 ± 0,06 b	0	0,71 ± 0,00 a	0
	30	1,18 ± 0,03 b	48	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0
control	30	0,71 ± 0,00 c	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0
gl		8,27		8,27		8,27	
F		15,10		4,51		3,38	
p		< 0,0001		< 0,001		0,29927	
Tratamento	Concentração	Dia 4	Mc% <sup>1</sup>	Dia 5	Mc % <sup>1</sup>	6 dias	Mc % <sup>1</sup>
Boveril Cana	20	1,34 ± 0,17 a	0	0,84 ± 0,06 a	13	0,71 ± 0,00 b	0
	30	0,81 ± 0,06 b	13	0,71 ± 0,00 a	0	0,71 ± 0,00 b	0
Boveril WP	20	0,97 ± 0,06 ab	26	0,71 ± 0,06 a	0	0,71 ± 0,00 b	0
	30	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0	0,71 ± 0,00 b	0
Metaril	20	1,12 ± 0,16 ab	42	0,84 ± 0,06 a	13	0,84 ± 0,06 ab	13
	30	0,84 ± 0,06 b	13	0,71 ± 0,00 a	0	0,71 ± 0,00 b	0
Chalenger	20	0,71 ± 0,00 b	0	0,84 ± 0,06 a	13	0,93 ± 0,10 a	22
	30	0,97 ± 0,06 ab	0	0,71 ± 0,00 a	0	0,84 ± 0,06 ab	13
Controle		0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 a	0	0,71 ± 0,00 b	0
gl		8,27		8,27		8,27	
F		5,66		0,75		3,54	
P		< 0,0002		0,64798		< 0,006	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, letras minúsculas nas colunas, pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro tipo I. <sup>1</sup>Mortalidade corrigida em relação ao controle pela fórmula de Schneider-Orelli (1947):  $Ma=100x(Mt-Mc)/(100-Mc)$ , onde Ma=mortalidade corrigida, Mt=mortalidade no tratamento inseticida, Mc = mortalidade no controle. <sup>2</sup>Mortalidade acumulada.

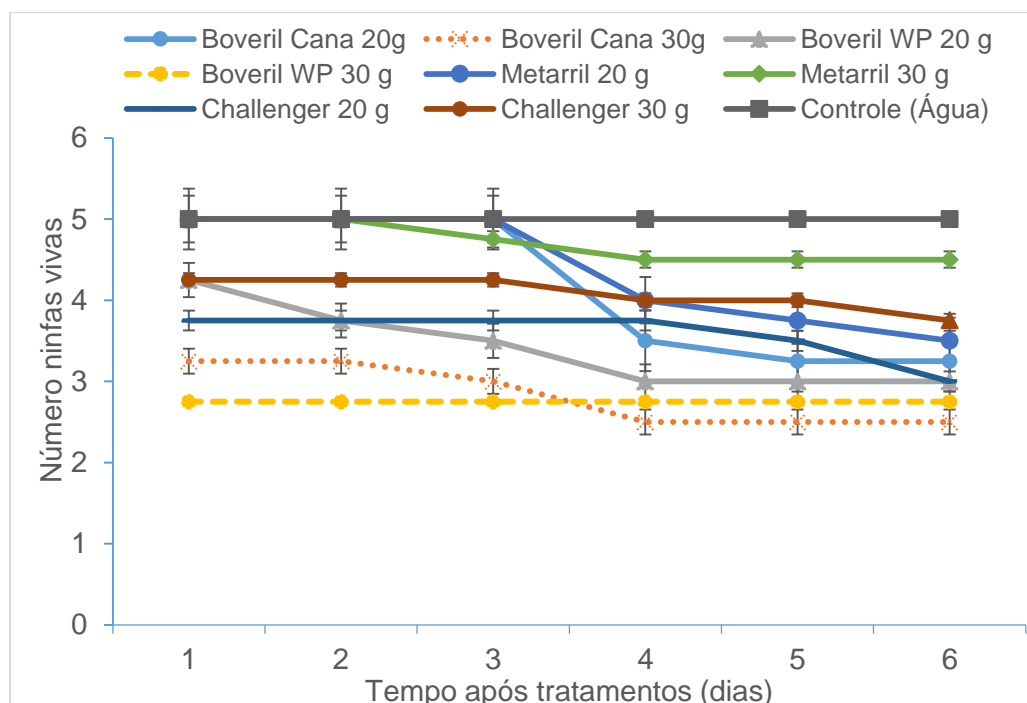
Tabela 5- Adultos de *Gryllus assimilis* mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaios de contato tratados com inseticidas microbiológicos em diferentes períodos de exposição.

Tratamento	Concentração	Dia1	Mc% <sup>1</sup>	Dia 2	Mc% <sup>1</sup>	Dia 3	Mc% <sup>1</sup>
Boveril Cana	20	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
	30	0,93 ± 0,10 ab	22	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
Boveril WP	20	0,97 ± 0,06 ab	26	0,84 ± 0,06 ab	13	0,84 ± 0,06 a	13
	30	1,27 ± 0,20 a	57	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
Metarril	20	0,71 ± 0,00 b	0	0,93 ± 0,10 a	22	0,71 ± 0,00 b	0
	30	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
Challenger	20	0,84 ± 0,06 b	13	0,84 ± 0,06 ab	13	0,71 ± 0,00 b	0
	30	0,84 ± 0,06 b	13	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
Controle		0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
gl		8 , 27		8 ,27		8 ,27	
F		4,89		3,54		4, 51	
p		< 0,0008		< 0,006		< 0,001	
Tratamento	Concentração	Dia 4	Mc% <sup>1</sup>	Dia 5	Mc% <sup>1</sup>	6 dias	Mc%
Boveril Cana	20	0,93 ± 0,01 ab	26	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
	30	1,21 ± 0,10 a	51	0,71 ± 0,00 b	0	0,84 ± 0,06 b	13
Boveril WP	20	0,84 ± 0,06 b	13	0,71 ± 0,06 b	0	0,97 ± 0,06 ab	26
	30	0,84 ± 0,06 b	13	0,71 ± 0,00 b	0	0,84 ± 0,06 b	13
Metarril	20	0,97 ± 0,14 ab	26	0,93 ± 0,21 a	22	0,84 ± 0,06 b	13
	30	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,97 ± 0,06 ab	26
Challenger	20	0,84 ± 0,06 b	13	0,97 ± 0,06 a	26	0,84 ± 0,06 b	13
	30	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0	1,05 ± 0,13 a	35
Controle		0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,71 ± 0,00 b	0
gl		8 , 27		8 , 27		8 , 27	
F		4,39		7,05		3,10	
P		< 0,001		< 0,001		< 0,0129	

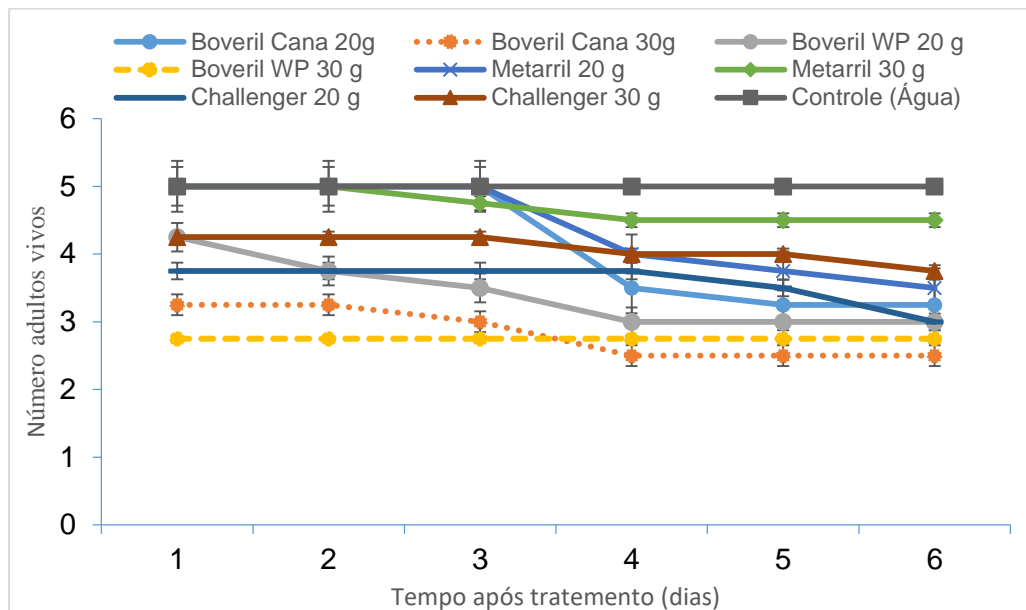
Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, letras minúsculas nas colunas, pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro tipo I. <sup>1</sup>Mortalidade corrigida em relação ao controle pela fórmula de Schneider-Orelli (1947):  $Ma=100x(Mt-Mc)/(100-Mc)$ , onde Ma=mortalidade corrigida, Mt=mortalidade no tratamento inseticida, Mc = mortalidade no controle. <sup>2</sup>Mortalidade acumulada



**Figura 7.** Mortalidade acumulada de ninfas pré adultas e adultos de *Gryllus assimilis* sob aplicação de quatro cepas de fungos entomopatogênicos (Boveril cana®, Boveril WP®, Metarril® e Challenger®) em duas quantidades 20g e 30g em oito dias de avaliação.



**Figura 8.** Ninfas de *Gryllus assimilis* vivas em bioensaio de contato tratadas com microbiológicos em diferentes períodos após a exposição. Os valores apresentam as médias ( $\pm$ SE) de quatro repetições.



**Figura 9.** Adultos de *Gryllus assimilis* vivos em bioensaiode contato tratatdos com inseticidas microbiológicos em diferentes períodos após a exposição. os valores representam as médias ( $\pm$ SE) e quatro repetições.

#### 4.5. Discussão

Quatro inseticidas microbiológicos a base de FEPs foram testados em diferentes concentrações. As curvas de mortalidade registradas ao longo do tempo em função das concentrações, para os adultos de *G. assimilis* tratados com FEPs é, geralmente, polinomial.

Os resultados apresentados mostram que os produtos à base de fungos entomopatogênicos são promissores como inseticida biológico contra grilos. A mistura de alimento (ração) com conídeos desses fungos causou a morte de adultos de *G. assimilis* em condições de laboratório.

Os inseticidas microbiológicos a base dos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são eficazes, no controle de insetos-praga. São dois dos agentes de controle microbiano mais promissores, especialmente para insetos que habitam no solo. Segundo Feng e colaboradores (1994), *B. bassiana* é um agente microbiológicos natural do solo que é patógeno para mais de 200 espécies de insetos (El-Garhy, Sayed *et al.*, 2012). A grande parte do sucesso deste FEP depende de sua

persistência no micro-ambiente em que a praga é encontrada e do direcionamento adequado do hospedeiro por uma cepa específica (EL-GARHY, SAYED *et al.*, 2012).

Konar e Paul (2005), em seus trabalhos avaliando a eficácia de alguns inseticidas granulares e biopesticidas contra o grilo-toupeira, *Gryllotalpa spp* (Orthoptera: Gryllotapidae) na batata cv. em campo, relataram que a pulverização dos biopesticidas *M. anisopliae*, a  $1,8 \times 10^9$  esporos por ml por 50 g/ha e *B. bassiana*, com contagem de  $10^8$  esporos por 1000 g/há, tiveram os melhores resultados em relação ao controle.

Os resultados obtidos neste experimento mostram que os maiores valores de mortalidade foram obtidos através da ingestão de ração com conídeos de *M. anisopliae* na concentração de 15%, seguida de *B. bassiana* na concentração 15%. Resultado semelhante foi encontrado por Pelizza e colaboradores (2019) estudando o efeito da aplicação de *Beauveria bassiana*, utilizando diferentes iscas, para o controle do gafanhoto praga *Dichroplus maculipennis* em condições de gaiola em campo, neste estudo observou-se que isca composta por farelo de trigo e conídios causaram mortalidade em gafanhotos. Estes resultados demonstraram que as misturas formadas a partir de (Boveril cana WP<sup>®</sup>, Boveril WP<sup>®</sup>, Metarril<sup>®</sup>, Challenger<sup>®</sup>) com ração, podem servir como isca tóxica, causando mortalidade de *G. assimilis*.

Sari e colaboradores (2018), em seu estudo sobre o tema, observaram que pó de grilo adicionado a um meio de crescimento fornece nutrição para o fungo patogênico de insetos *Metarhizium majus*. Da mesma forma, os meios adicionados com pó de grilo apresentaram maior viabilidade do que aqueles sem, sendo a maior viabilidade o farelo de arroz enriquecido com pó de grilo (83,38%). As menores viabilidades foram encontradas na borra de chá, sendo de 51,43% e 62,09% sem e com pó de grilo respectivamente. Estes dados corroboram com as observações referentes à virulência e à patogenicidade de *M. anisopliae* aos grilos feitas em nosso estudo.

Os fungos entomopatogênicos a base de *B. bassiana* CEPA IBCB 66 (Boveril Cana<sup>®</sup>); *B. bassiana* CEPA PL 63 (Boveril WP<sup>®</sup>); *M. anisopliae* (Metsch.) Sorok. cepa E9 (Metarril<sup>®</sup>) e *Isaria fumosorosea* CEPA ESALQ 1296 (Challenger<sup>®</sup>) infectam insetos de quase todas as ordens, as mais comuns sendo Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera e Hymenoptera (Ramanujam *et al.*, 2014; Maina *et al.*, 2018).

Eles possuem ação comprovada sobre *Cosmopolites sordidus*, Germar (Coleoptera: Curculionidae), *Dalbulus maidis*, DeLong and Wolcott (Hemiptera: Cicadellidae), *Gonipterus scutellatus*, Gyllenhal, 1833 (Coleoptera: Curculionidae), *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae), *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Pyralidae), *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) e *Helicoverpa armigera*, Hübner 1805 (Lepidoptera: Noctuidae) entre outros artrópodes (Lopes *et al.* 2007; Koppert, 2023).

A taxa de mortalidade, em geral, aumentou com a aplicação de maiores concentrações dos produtos utilizados. As médias de consumo dos alimentos apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos em relação às concentrações. Assim, os conídios do isolado de *M. anisopliae* (Metsch.) Sorok. cepa E9 (Metarril®50WP E9) utilizados em nosso estudo não foram repelentes a *G. assimilis*. A redução da quantidade de inseto no ensaio realizado está assim relacionada à alimentação da isca, associada à concentração de produtos utilizados (maior dose de conídios de *M. anisopliae* (Metsch.) Sorok. cepa E9) (Figura 8) por causar a mortalidade de mais de 50% de *G. assimilis*.

Podemos observar que os conídios dos produtos a base de *B. bassiana* e *M. anisopliae* não foram repelentes a *G. assimilis* e podem, portanto, ser facilmente adicionados a iscas para o controle deste inseto.

A maior mortalidade foi provocada pelo fungo *M. anisopliae* em relação a *B. bassiana* durante o maior espaço de tempo de observação. Os produtos comerciais, Boveril® cana, Boveril®Wp, Metarril® e Challenger nas concentrações de 5%, 10% e 15%, causaram mortalidade em adultos de *G. assimilis* por ação de ingestão que variando entre 6 a 56%. Os resultados destes produtos (Boveril®cana, Boveril®Wp) são semelhantes aos observados por Rocha e colaboradores (2012), com registro de 50% de mortalidade confirmada de adultos de *Metamasius hemipterus* (Coleoptera: Curculionidae) pelo produto Boveril®, exceto Metarril® que causou mortalidade  $\geq 50\%$ .

A eficiência mostrada pelo uso de, Metarril® em laboratório para o controle de *G. assimilis* tendo causado a mortalidade de mais de 50% da população, pode ser atribuída à especificidade do fungo (cepa ou linhagem) à determinadas ordens de insetos e às condições em que este estudo foi realizado, além das concentrações, e dos substratos utilizados (iscas).

#### 4.6. Conclusão

Os resultados apresentados neste capítulo mostram que os fungos entomopatogênicos *M. anisopleae*, *B. bassiana* e *I. Fumoso rosea* constituem de importante alternativa e que podem ser utilizados em iscas tóxicas para uso no controle de *G. assimilis*. Considerando o fato de que os grilos possuem hábito noturno, durante o dia permanecem escondidos de baixo de troncos, cascas de árvores, serrapilheira etc. esta mostra-se uma excelente alternativa de controle que seria ambientalmente favorável.

### 5. Capítulo 3. Avaliação do efeito de óleos essenciais no controle de *Gryllus assimilis* em condições de laboratório

#### Resumo

Os grilos são uma das diversas pragas que atacam a cultura de Eucalipto (Mirtácea), comendo raízes, folhas e caules tenros de mudas em viveiro e em plantações jovens até o segundo ano de vida. Ainda não existem recomendações de produtos para o seu controle, deste modo, olhando para alternativas de controle que sejam sustentáveis e que não prejudiquem o meio ambiente, o uso de óleos essenciais para o controle de *Gryllus assimilis* pode ser uma alternativa viável. Foi realizado um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com dezoito tratamentos e quatro repetições, totalizando 72 Unidades Experimentais (UE), utilizando quatro óleos essenciais a base de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*); gerânio (*Pelargonium graveolens*); neem (*Azadirachta indica*) e cedro (*Juniperus virginiana*). Para cada Óleo Essencial (OE), foram utilizadas três concentrações sendo: 10%, 15% e 20%. Foi utilizada água destilada e tween como controle. Em cada UE foram alocados 5 insetos adultos sendo três fêmeas e dois machos. Para o preparo das soluções, primeiramente foi efetuada a medição dos produtos na ordem de 0,05mL, 0,1mL e 0,15mL. Em seguida, foi feita a diluição dos respectivos produtos em 50 mL de água destilada e de seguida foi extraída dois mL de solução e aspergida e 5g de ração e oferecidas aos insetos. Após o período de avaliação de 264h, observou-se que o OE de cedro a 20% causou maior mortalidade acumulada de maior de 90% de adultos, seguida do OE de cravo da Índia tendo causado mortalidade de mais de 80% da população de *G. assimilis*.

**Palavras chaves:** grilo, inseticidas biológicos, metabólitos secundários, controle.



## Abstract

Cricket is one of several pests that attack Eucalyptus (Mirtacea) crops, eating roots, leaves and tender stems of seedlings in nurseries and in young plantations up to their second year of life. There are still no product recommendations for its control, therefore, looking at control alternatives that are sustainable and do not harm the environment, the use of essential oils to control *Gryllus assimilis* may be a viable alternative. An experiment was carried out in a completely randomized design, with eight treatments and four replications, totaling 72 Experimental Units (EU), using four essential oils based on clove (*Syzygium aromaticum*), geranium (*Pelargonium graveolens*), neem (*Azadirachta indica*) and cedar (*Juniperus virginiana*). For each Essential Oil (EO), three concentrations were used: 10%, 15% and 20%. Distilled water and tween were used as controls. In each UE, 5 adult insects were allocated, three females and two males. To prepare the solutions, the products were first measured in the order of 0.05mL, 0.1mL and 0.15mL. Then, the respective products were diluted in 50 ml of distilled water and then two ml of solution was extracted and sprinkled and 5g of food was offered to the insects. After the 264h evaluation period, it was observed that the cedar EO at 20% caused greater accumulated mortality of more than 90% of adults, followed by the Indian clove EO having caused mortality of more than 80% of the *G. assimilis* population.

**Key words:** cricket, biological insecticides, secondary metabolites, control

## 5.1. Introdução

Dentre as diversas pragas que atacam a cultura do eucalipto, pode-se destacar o *Gryllus assimilis* (Fabricius 1775)(Orthoptera: Grilidae), que causa danos em viveiros em campo, após o plantio, até o segundo ano de vida. Os grilos comem as raízes, folhas e caules tenros (Salvadori, 1999). O ataque é marcado por ser aleatório, e não em reboleira como fazem as lagartas-rosca. Também são capazes de perfurar embalagens (Gallo *et al.*, 2002).

Os sintomas dos danos causados por grilos em mudas de eucalipto podem ser caracterizados por raspagem, mastigação ou corte das mudas na região do coleto. Esta mastigação pode ser em apenas um ponto ou em pontos dispersos da muda, com a destruição da casca e, às vezes, o câmbio, dando o aspecto de um anel na parte atacada(Queiroz *et al.*, 2021).

Na agricultura, o controle de pragas é realizado, extensivamente, por meio de insumos sintéticos, devido a sua eficiência e praticidade. Todavia, a contínua utilização do controle químico com agrotóxicos não seletivos, sem a rotação de produtos, pode causar desequilíbrios, mediante a eliminação de insetos benéficos, explosões populacionais de pragas e, principalmente, a perda de eficácia de inseticidas mediante a seleção natural de linhagens de insetos resistentes a esses compostos químicos. Acrescenta-se, ainda os aspectos negativos relativos à contaminação do meio ambiente (solo, água, atmosfera e seres vivos), danos acidentais ocasionados pela má utilização de agrotóxicos e elevados custos(Marangoni *et al.*, 2012).

O uso excessivo de agroquímicos, ocasiona a seleção de indivíduos resistentes nas diferentes espécies de insetos (Oliveira *et al.*, 2023). É necessário assim encontrar alternativas para o controle de insetos que sejam sustentáveis e amigas do ambiente como por exemplo, a aplicação de óleos essenciais.

Os óleos essenciais (OEs), também conhecidos como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências, são misturas complexas de compostos naturais extremamente voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. São constituídos por componentes em diferentes concentrações, pertencendo a várias classes químicas,

entre eles: álcoois simples e terpênicos, éteres ou óxidos, aldeídos, cetonas, ésteres, aminas, amidas, fenóis, heterocíclicos, cumarinas e principalmente os terpenos (Heinzmann *et al.*, 2016; Santos, 2019; Maleck *et al.*, 2021).

Os efeitos dos inseticidas botânicos sobre os insetos pode ser variável, sendo tóxico ou repelente, causando esterilidade, modificando o comportamento ou o desenvolvimento, ou reduzindo a alimentação (Arnason *et al.*, 1990; Bell *et al.*, 1990).

A azadiractina, por exemplo, apresenta diversos efeitos endócrinos. O maior efeito é a modificação dos níveis de ecdisteróides na hemolinfa, por agir sobre os sítios de produção de ecdisteróides, como as células da epiderme e os oenócitos. Diversos outros efeitos da azadiractina podem ser observados em insetos como, por exemplo a alteração na diferenciação de tecidos (como os omatídeos e discos marginais das asas) e a melanização da cutícula (Moreira *et al.*, 2001).

Os OEs são um grupo complexo, produzidos a partir do metabolismo especial das plantas, apresentando uma constituição química complexa de monoterpenos, triterpenos e fenilpropanóides (Santos, 2019; Gomes *et al.*, 2018; Rabib *et al.*, 2019). Estudos de caracterização biológica com OEs, em especial com ação inseticida, são amplamente realizados em todo o mundo. A riqueza de resultados obtidos em ensaios antibacterianos traz otimismo aos pesquisadores para o desenvolvimento de novas biomoléculas voláteis capazes de se equiparar aos antibacterianos sintéticos atualmente no mercado (Maleck *et al.*, 2021). A utilização de óleos essenciais no controle de insetos tem aumentado por todo o globo, inclusive no Brasil, onde esses estudos têm se desenvolvido amplamente, principalmente por se tratar de um país com uma flora muito rica e diversa. Diversos estudos já evidenciaram a eficácia dos óleos essenciais como alternativa no controle de insetos, especialmente mosquitos. Isso se deve, principalmente, porque esses apresentam compostos biodegradáveis e não tóxicos, principalmente para espécies não-alvo, representando uma opção segura no controle desses vetores (Aciole, 2009). Neste contexto, este trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito de óleos essenciais no controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera Gryllidae) em condições de laboratório.

## 5.2. Materiais e métodos

### 5.2.1. Criação de *Gryllus assimillis*

As matrizes que deram origem a criação na Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), são provenientes do Biotério de Invertebrados Terrestres do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). A criação de *G. assimillis* foi realizada no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética (DEZG) do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), seguindo os protocolos de Limberger e colaboradores (2021), em temperatura controlada de  $25\pm 2$  °C, umidade relativa  $65\pm 10\%$  e fotoperíodo constante (12 L: 12D). Para a alimentação, os grilos tiveram acesso *ad libitum* a ração comercial para gatos (Golden, PremieRpet® São Paulo Brasil) desde a eclosão dos ovos e tiveram acesso a água em algodão húmido renovado diariamente.

### 5.2.2. Bio-ensaio: Efeito de óleos essenciais no controle de *Gryllus assimillis* (Orthoptera: Grilidae) em laboratório

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética (DEZG) do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizados, com 18 tratamentos e 4 repetições, totalizando 72 unidades experimentais (UEs). Os produtos (tratamentos) utilizados foram quatro óleos essenciais a base de: cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*); gerânio (*Pelargonium graveolens*); neem (*Azadirachta indica*) e cedro (*Juniperus virginiana*); com as concentrações de 10%, 15% e 20% para cada OE. O controle negativo para cada teste foi composto de tween e água destilada.

Cada UE consistiu de um recipiente plástico de 700 mL, perfurado na lateral para gerar um orifício de 1cm de diâmetro, coberto com Tempa, com copo plástico descartável no interior (cortado a uma altura de 4cm a partir da base) (4cm de diâmetro), contendo 5g de ração comercial e as concentrações de cada produto misturado. Foram colocados 5 adultos de *G. assimillis* não sexados, de sete a dez dias após a muda préimaginal em cada UE, totalizando 360 indivíduos. Para promover

rápido acesso ao alimento, os adultos foram submetidos a jejum por um período de 24 horas.

Para o preparo das soluções, primeiramente foi efetuada a medição dos produtos na ordem de 0,05mL, 0,1mL e 0,15mL. Em seguida, foi feita a diluição dos respectivos produtos em 50 mL de água destilada. As soluções foram aspergidas sobre a superfície da dieta na razão de 2 mL de solução para 5g de alimento, a qual foi em seguida oferecida aos insetos. As avaliações foram realizadas diariamente durante um período de 8 dias.

### **5.3. Análise dos dados**

Inicialmente, os dados de mortalidade e de insetos vivos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Quando não atenderam aos critérios de normalidade, foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ , para contemplar as premissas da ANOVA, pelo teste de F com risco de erro de tipo I,  $\alpha = 0,05$ , para verificação das hipóteses de igualdade de tratamento. Em seguida, as médias obtidas nos diferentes tratamentos foram comparadas pelo teste de *Tukey* ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de mortalidade dos tratamentos foram utilizados para calcular a mortalidade corrigida em relação ao controle pela fórmula de Schneider-Orelli (1947):  $Ma = 100 \times (Mt - Mc) / (100 - Mc)$ , onde:  $Mc$  = mortalidade corrigida,  $Mt$  = mortalidade no tratamento,  $Mc$  = mortalidade no controle. Essas análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, Versão 4.2.3, 2023).

### **5.4. Resultados**

Foram testados 4 óleos essenciais, a base de cravo, gerânio, neem e cedro, nas concentrações de 10%, 15% e 20% para cada óleo. De acordo com a análise de variância, observou-se que, após as primeiras 24 horas houve efeito de interação entre o tipo de óleo e a concentração em relação a mortalidade de *G. assimilis* ( $F=5,24$ ;  $P<0,0001$ ).

Foi observado que somente o óleo de cedro não causou mortalidade de adultos de *G. assimilis* nas primeiras 24 horas após exposição (HAE), atingindo a mortalidade máxima acumulada após 264 HAE (Tabela 6).

Setenta e duas horas após a aplicação dos óleos, observou-se diferenças significativas, embora tenha se verificado que a eficiência de controle foi baixa. O óleo essencial de gerânio a 10% apresentou mortalidade máxima acumulada somente às 264 HAE (Tabela 7) e nesse mesmo período, enquanto o OE de cravo gerou um total de 64% de mortalidade, uma eficiência de controle inferior aos demais (Tabela 7).

Os tratamentos correspondentes ao uso de 15% dos óleos de neem e de cedro apresentaram a menor mortalidade acumulada de *G. assimilis* com 45 e 50%, respectivamente (Tabela 7).

O OE de cravo a 15% foi o único capaz de causar mortalidade acumulada > 80% no final do biensaio (264 HAE) (Tabela 7) resultado semelhante foi encontrado por Soares e colaboradores, avaliando a ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em que observaram o OE de cravo causou 80% de mortalidade das lagartas a 5,0%, e 100% de mortalidade na concentração de 10,0% do óleo essencial. O OE cedro a 20%, às 264 HAE, apresentou maior mortalidade com 43%, atingindo a mortalidade acumulada  $\geq 90\%$  de adultos de *G. assimilis* (Tabela 7).

**Tabela 6.** Quantidade de insetos mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaios de ingestão em dieta (ração comercial) tratada com óleos essenciais em diferentes períodos após a exposição.

Tratamento	Concentrações	24	Mc% <sup>1</sup>	72	Mc%	120	Mc%
Cravo	10%	0,71 ± 0,00 b	12	0,96 ± 0,02 ab	13	0,83 ± 0,05 ab	0
	15%	0,71 ± 0,00 b	12	0,83 ± 0,05 bc	0	1,00 ± 0,12 a	17
	20%	0,71 ± 0,00 b	12	0,83 ± 0,05 bc	0	1,00 ± 0,02 a	17
Gerânio	10%	0,71 ± 0,00 b	12	1,00 ± 0,05 a	17	1,00 ± 0,05 a	17
	15%	0,71 ± 0,00 b	12	0,71 ± 0,00 c	12	0,71 ± 0,05 b	12
	20%	0,71 ± 0,00 b	12	0,83 ± 0,05 bc	0	0,71 ± 0,05 b	12
Neem	10%	0,71 ± 0,00 b	12	0,71 ± 0,00 c	12	0,71 ± 0,00 b	12
	15%	0,71 ± 0,00 b	12	0,83 ± 0,05 bc	0	0,71 ± 0,00 b	12
	20%	0,71 ± 0,00 b	12	0,71 ± 0,00 c	12	0,71 ± 0,00 b	12
Cedro	10%	0,71 ± 0,00 b	12	0,83 ± 0,05 bc	0	0,83 ± 0,05 ab	0
	15%	0,83 ± 0,05 a	0	0,83 ± 0,05 bc	0	0,96 ± 0,14 ab	13
	20%	0,83 ± 0,05 a	0	1,00 ± 0,04 a	17	0,83 ± 0,12 ab	0
Testemunha	água	0,83 ± 0,05 a	0	0,83 ± 0,05 bc	0	0,83 ± 0,05 ab	0
Tween 80%	---	0,71 ± 0,00	12	0,96 ± 0,02 ab	13	1,05 ± 0,05 a	22
gl		CV = 6.53 %		CV = 9.87 %		CV = 16.45 %	
F		5,24		8,10		4,92	
P		<0,0001		0,0007		0,0022	

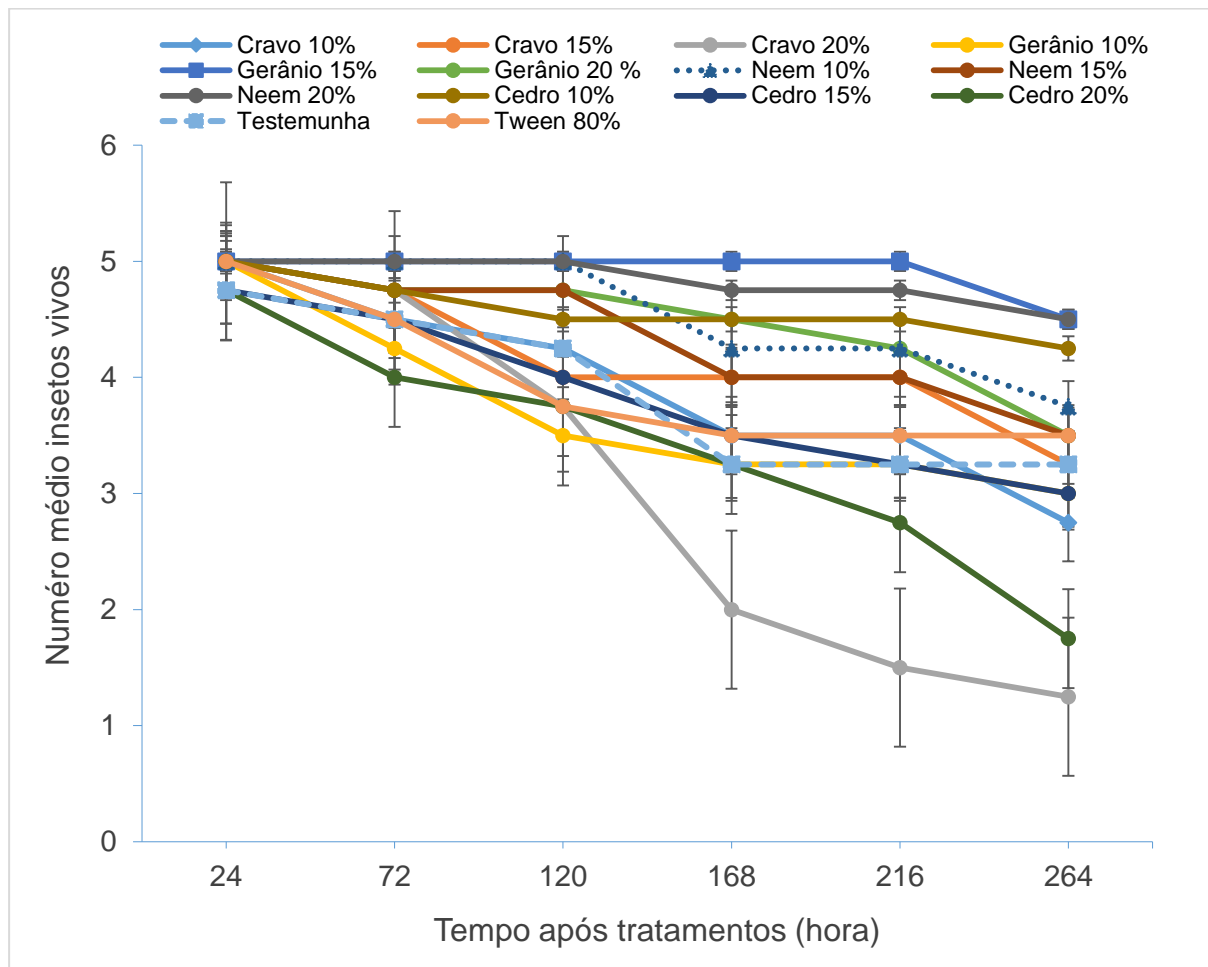
Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, letras minúsculas nas colunas, pelo teste de *Tukey* com 5% de probabilidade de erro tipo I. <sup>1</sup>Mortalidade corrigida em relação ao controle pela fórmula de Schneider-Orelli (1947):  $Ma=100x(Mt-Mc)/(100-Mc)$ , onde Ma=mortalidade corrigida, Mt=mortalidade no tratamento inseticida, Mc = mortalidade no controle. <sup>2</sup>Mortalidade acumulada

**Tabela 7.** Quantidade de adultos de *Gryllus assimilis* mortos e porcentagem de mortalidade (M%) em bioensaio de ingestão em dieta (Ração comercial) tratada com óleos essenciais em diferentes períodos após a exposição.

Tratamento	Concentrações	168	Mc% <sub>1</sub>	216	Mc%	264	Mc%	M.A. <sup>2%</sup>
Cravo	10%	1,05 ± 0,09 ab	0	0,71 ± 0,00 b	0	1,10±0,05 ab	39	64
	15%	0,71 ± 0,00 b	34	0,71 ± 0,00 b	0	0,92±0,06 ab	21	85
	20%	1,20 ± 0,15 a	15	0,83 ± 0,05 ab	12	0,92±0,05 ab	21	78
Gerânio	10%	0,83 ± 0,12 b	22	0,71 ± 0,00 b	0	0,92±0,05 ab	21	90
	15%	0,71 ± 0,00 b	34	0,71 ± 0,00 b	0	0,71±0,00 b	0	71
	20%	0,87 ± 0,05 b	18	0,71 ± 0,00 b	0	1,10±0,05 ab	39	82
Neem	10%	1,05 ± 0,05 ab	0	0,71 ± 0,00 b	0	1,00±0,02 ab	29	66
	15%	1,05 ± 0,12 ab	0	0,71 ± 0,00 b	0	0,92±0,02 ab	21	45
	20%	0,83 ± 0,05 b	22	0,71 ± 0,00 b	0	0,92±0,05 ab	22	80
Cedro	10%	0,71 ± 0,00 b	34	0,71 ± 0,00 b	0	0,93±0,05 ab	22	69
	15%	1,09 ± 0,12 ab	4	0,83 ± 0,12 ab	12	0,92±0,05 ab	21	50
	20%	0,93 ± 0,02 b	12	0,93 ± 0,02 a	22	1,14±0,25 a	43	95
Testemunha	água	1,05 ± 0,05 ab	0	0,71 ± 0,00b	0	0,71±0,00 b	0	0
Tween 80%	---	0,83 ± 0,12	22	0,71 ± 0,00 b	0	0,71±0,00 b	0	70
gl		CV = 18.97 %		CV = 10.21 %		CV = 17.84 %		
F		5,04**		2,62**		3,19**		
p		< 0,0001		0,0007		0,0022		

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, letras minúsculas nas colunas, pelo teste de *Tukey* com 5% de probabilidade de erro tipo I. <sup>1</sup>Mortalidade corrigida em relação ao controle pela fórmula de Schneider-Orelli (1947):  $Ma=100x(Mt-Mc)/(100-Mc)$ , onde Ma=mortalidade corrigida, Mt=mortalidade no tratamento inseticida, Mc = mortalidade no controle. <sup>2</sup>Mortalidade acumulada.





**Figura 10.** Quantidade de adultos de *G. assimilis* vivos em bioensaios de ingestão em dieta (ração comercial) tratada com inseticidas botânicos em diferentes períodos após a exposição. Os valores representam as médias ( SE) de 4 repetições.

## 5.5. Discussão

Os resultados observados mostram uma diminuição gradual no número de indivíduos vivos de *G. assimilis* em diferentes períodos após a exposição. Às 24h (Tabela 5), o número de indivíduos vivos foi maior na testemunha em relação aos tratamentos com diferentes concentrações, mas mostrou uma redução nos tratamentos utilizando OE de cedro a 15 e 20% e na testemunha.

O OE de cravo-da-índia tem como constituinte majoritário o eugenol, um fenilpropanóide muito utilizado na odontologia, sua atividade inseticida também foi relatada contra pragas de grãos armazenados (HUANG *et al.*, 2002). Ao longo do período de exposição, observou-se uma diminuição de insetos vivos de *G. assimilis* quando expostos à concentração de 10% e 15% deste óleo, sendo que no final de experimento (264 HAE), o OE de cravo 20% apresentou menor número médio de insetos vivos. Às 264 HAE, nos tratamentos com OE de cravo (10, 15 e 20%) e de cedro (10, 15 e 20%), foi observado diminuição do insetos vivos durante a exposição, e influenciada pelas concentrações aplicadas (Figura 10).

Alves, (2018) estudando a Identificação de moléculas com potencial biotecnológico a partir das interações naturais: parasitoide-hospedeiro e interação insetoplanta, observou que o OE de cedro foi o mais tóxico para *Ceratitis capitata* tanto para os machos quanto para as fêmeas. Em nosso estudo verificamos que os óleos de cravo e de cedro foram os que demonstraram maior atividade no bioensaio, com ambos exibindo maior mortalidade. O OE de Cravo é relatado como um dos compostos com atividade para causar morte de insetos por toxicidade aguda, além de provocar repelência, redução de alimentação (deterrência), inibição do crescimento e limitações no desenvolvimento e reprodução (Jairoce, 2016). O óleo de cravo é relatado como eficaz, com toxicidade para diversos insetos.

Como observado em outros casos, o aumento da toxicidade óleo de cravo da Índia e do óleo de cedro para os grilos pode ser devido a duas propriedades:

(a) são compostos saturados, (contendo ligações simples carbono-carbono fora do anel de benzeno); e

(b) a presença de compostos que funcionam como grupos hidroxila (Rice, Costa, 1994; Philips , Sims, 2010; Gaire et al., 2017).

Estas propriedades podem ter permitido que os óleos de Cravo da Índia e de Cedro penetrassem rapidamente no interior dos insetos através da cutícula e que estes sofressem uma desintoxicação lenta e interagissem de forma eficaz com os seus locais alvo (Rice, Costa, 1994; Philips , Sims, 2010).

## 5.6. Conclusão

Com os resultados apresentados no presente capítulo conclui-se que os óleos essenciais de cravo da Índia e de Cedro possuem propriedades tóxicas que causam mortalidade de *G. assimilis*, desta forma estes podem ser utilizados para o desenvolvimento de iscas tóxicas para uso alternativo no controle de grilos.

## 6. Considerações finais

De acordo com o trabalho realizado, no capítulo 1, avaliando atrativos alimentares para *G. assimilis* com vista em uso no desenvolvimento de iscas tóxicas, observou-se que o grilo do campo *G. assimilis* tem preferência pela farinha de milho, principalmente quando esta é incorporada a melado de cana.

No capítulo 2 avaliou-se a eficácia de fungos entomopatogênicos na mortalidade de ninfas pre-adultas e adultos de *G. assimilis* onde foi observado que o *Metarrizium anisoplae* apresenta a maior virulência na mortalidade de adultos de *G. assimilis* em relação aos demais fungos.

No capítulo 3. Avaliou-se o efeito de óleos essenciais sobre o *G. assimilis*, onde foi observado que os óleos essenciais de cravo da Índia e de cedro possuem propriedades tóxicas para os grilos causando a morte dos mesmos.

Podemos considerar que misturando farinha de milho incorporada a melado de cana, com coníferos de *Metarrizium anisoplae* ou óleos essenciais de cravo da Índia e de cedro pode compor uma isca tóxica que pode ser utilizada para

controlar grilos, esta seria uma ótima alternativa de controle de grilos, uma vez que estes tem hábito noturno, sendo que, durante o dia eles ficam abrigados de baixo de troncos e folhas de árvores e em galerias subterrâneas e saem durante a noite a busca de alimento.

## 7. Referências

ALMEIDA, J. E. M. De. Biofábricas para produção de micopesticidas no Brasil: oportunidades de negócio e inovações. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 2444-2557, 2020. <https://10.34188/bjaerv3n3-162>

ACIOLE, S. D. G. Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais das plantas amazônicas Annonaceae, Boraginaceae e de Mata Atlântica Myrtaceae como alternativa de controle às larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Dissertação de Mestrado em Biologia Humana e Ambiente**. Universidade de Lisboa 2009.

AFANDHI, A. *et al.* Performance and Virulence of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* Grown in Media Derived from Biodegradable Agricultural Wastes Enriched with Cricket Powder. **Journal of Agricultural Science**. V.5, n.2, p. 261-270, 2023. <http://doi.org/10.17503/agrivita.v45i2.4113>

ANANI O.A. *et al* “ Efeitos dos tóxicos dos pesticidas na segurança alimentar: desenvolvimentos atuais ” em *Inovações em Tecnologia de Alimentos* . edição. P. Mishra, **RR Mishra e CO Adetunji** (Nova York, NY: Springer), p. 313–321, 2020.

AYILARA, M.S. *et al.* Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. **Frontiers Microbiology** 14:1040901, 2023.

<https://doi:10.3389/fmicb.1040901>

Aguele, F.O.; Oke, E.O.; Abam, F.I.; Nnabodo, D.; Agbana, A.S. Biological and antioxidant activities, extraction methodology and prospects of essential oil from *Hyptis suaveolens* (L.): A review, **Cleaner Engineering and Technology**, v.17-100685, 2023.

BATISTA, L.F. *et al.* Energy values and metabolizability coefficients of maize kernels with different specific gravities. **Brazilian Animal Science**, 24, e-74343P, 2023.

<https://doi.org/10.1590/1809-6891v24e-74343E>

BOEN, T.R. *et al.* Avaliação do teor de ferro e zinco e composição centesimal de farinhas de trigo e milho enriquecidas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 43, 589-596, 2007.

<https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000400012>

BOLNICK, D.I. *et al.* The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. **The American Naturalist**, 16, 1-28, 2003. <https://doi/10.1086/343878>

BOOMSMA, J.J. *et al.* Evolutionary interaction networks of insect pathogenic fungi. **Annual Review of Entomology**, v. 59, p. 467-485, 2014. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162054>

Cheng, S. S., Liu, J. Y., Tsai, K. H., Chen, W. J., & Chang, S. T. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4395-4400, 2004.

Cigliano, M. M.; Braun, H.; Eades, D. C.; Otte, D. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Disponível em: <<http://Orthoptera.SpeciesFile.org>>. Accessed in February, 2024.

DIAS, L.T., LEONEL, M. Phisico-chemical characteristics of cassava flours from different regions of Brazil, *Ciência agrotecnologia*, 30, 692-700 2006.

EL-GARHY, SAYED et al. Efficiency of quick lime is a natural control bait against *Gryllotalpa Gryllotalpa* (Orthoptera: Gryllidae) under laboratory and field conditions. **Fayoum Journal of Agricultural Research and Development**, v. 26, n. 2, p. 96-105, 2012.

FARIA, M.R.DE; MAGALHÃES, B.P.O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil, **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. V. 22, p.65, 2001.

FENG, M.G.; POPRAWSKI, T.J.; KHACHATOURIANS, G.G. Production, rmulation, and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control:current status. **Biocontrol Science and technology**, v. 4, p. 3-34, 1994. <https://doi.org/10.1080/09583159409355309>

FILHO, A.C.P.M.; VENTURA, M.S.A.; MALAQUIAS, K.S.; CASTRO, C.F.S.; CHRISTOFOLI, M. Ipê ESSENTIAL OILS AND ISOLATED COMPOUNDS WITH ANTIBACTERIAL EFFEC, **Ipê Agronomic Journal** –V.7, N.1 , P.1 –7, 2023.

GAIRE, S. *et ai* . Propriedades inseticidas de óleos essenciais e alguns de seus constituintes na barata do Turquestão (Blattodea: Blattidae). *J.Econ. Entomol.* **110**, 584–592 (2017).

GOMES, P. R. B., SILVA, A. L. S., PINHEIRO, H. A., CARVALHO, L. L., LIMA, H. S., SILVA, E. F., SILVA, R. P., LOUZEIRO, C. H., OLIVEIRA, M. B.; FILHO, V. E. M. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 18, 597-604, 2018.

HASHIMI MH, HASHIMI R., RYAN Q. Toxic Effects of Pesticides on Humans, Plants, Animals, Pollinators and Beneficial Organisms **Asian Plant Research Journal** 5, 37–47, 2020. [10.9734/APRJ/2020/v5i430114](https://doi.org/10.9734/APRJ/2020/v5i430114)

HEINZMANN, B. M., SPITZER, V., & SIMÕES, C. M. O. ÓLEOS VOLÁTEIS. IN: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., de MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Artmed Editora, 2016.

HUANG, Y.; HO, S.H.; LEE, H.C.; YAP, Y.L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum*

(Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.403–412, 2002

HUMBER, R. A. Evolution of entomopathogenicity in fungi. **Journal of invertebrate pathology**, v. 98, n. 3, p. 262-266, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.02.017>

ISLAM, W. et al. Insect-fungal-interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests. **Microbial Pathogenesis**, v. 159, p. 105122, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105122>

JAIROCE, Carlos F. et al. Atividade inseticida do óleo essencial de cravo-da-índia sobre o caruncho-do-feijão e o gorgulho-do-milho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, p. 72-77, 2016. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v20n1p72-77>

Jang, Y., Yang, Y., Choi, D. & Ahn, Y. Toxicidade em fase de vapor de compostos de óleo de manjerona e seus monoterpênóides relacionados para *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *J. Agr. Química Alimentar*. **53**, 7892–7898 (2005).

JUCKER, C. et al. Impact of some local organic by-products on *Acheta domesticus* growth and meal production. **Journal of Insects as Food and Feed**, 8, 631-640, 2022.

<https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000400015>

KEPNER, R. L.; YU, S. J. Development of a toxic bait for control of mole crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae). **Journal of economic entomology**, v. 80, n. 3, p. 659-665, 1987.

KUO, C.; FISHER, B. L. A literature review of the use of weeds and agricultural and food industry by-products to feed farmed crickets (insecta; orthoptera; Gryllidae). **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2022.

KONAR, A.; SANTANUPAUL. Efficacy of some granular insecticides and biobiopesticides against mole cricket on potato. **Journal of Applied Zoological Researchers**, v. 16, n. 1 p. 59-60, 2005.

LIMA, R.R.DE; SILVA, F.P.da NIM (*Azadirachta indica*): UMA ABORDAGEM SOBRE USO COMO INSETICIDA NATURAL, REVISTA CIENTÍFICA ACERTTE, v.2, n.10, 2022.

LOPES R.B.; ALVES S.B.; PADULLA L.F.L.; PÉREZ C. A. Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 16, p. 27- 31, 2007.

MAGARA, H.J.O. et al. Edible crickets (Orthoptera) around the world: distribution, nutritional value, and other benefits. **Frontiers in Nutrition** 7, 537915, 2021. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.537915>

Maleck, M.; Dias, T.D.; da Cruz, I.L.S.; Serdeiro, M.T.; Nascimento, N.E.; Carraro, V.M. Óleos essenciais – um breve relato. *Revista TeccenJul./Dez.*; 14 (2): 43-49, 2021.

MASSON, M. V. et al. Bioecological aspects of the common black field cricket, *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) in the laboratory and in *Eucalyptus* (Myrtaceae) plantations. **Journal of Orthoptera Research**, 29, 83-89, 2020.

MARANGON, C.; MOURA, N.F.DE; GARCIA, F.M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, v.6, n.2, p. 95 a 112, 2012.

MORALES-RAMOS, J. A. et al. Self-selection of food ingredients and agricultural by-products by the house cricket, *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae): A holistic approach to develop optimized diets, **PLOS ONE**, 15, e0227400, 2020.

NASCIMENTO, AA. do et al. Óleo essencial dos botões florais do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*): extração, caracterização e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). 2012.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227400>

OLIVEIRA, J.G.A.DE; COCOZZA, F.D.M.; PAZ, C.D.DA; ARAÚJO, J.F.; REIS, H.S.DOS; BARBOSA, A.C.F., Applicability of essential oils in the control of diseases in plants of economic interest - a systematic review, 2023.

OKWECHE, S.I., EYO, K.I., EFFA, E. B. Food preference and nutrient composition of African cricket *Brachytrupes membranaceus* L. (Dury) in Cross River State, **Nigeria Wageningen Academic Publishers**. 2352-4588, 2022.

<https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0006>

OKWECHE, S.I., EYO, K.I., AND EFFA, E. B. Food preference and nutrient composition of African cricket *Brachytrupes membranaceus* L. (Dury) in Cross River State, Nigeria. **Journal of Insects as Food and Feed**, 8, 1501-1510, 2022.

<https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0006>

PARRA, R. M. P., PANIZZI, A.R., HADDAD, M. L. Índices nutricionais para medir o consumo e utilização de alimentos por insetos, 2009.

PEDRINI, N.; CRESPO, R.; JUÁREZ, M. P. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, n. 1-2, p. 124-137, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.08.003>

PELIZZA, S. et al. Application of *Beauveria bassiana* using different baits for the control of grasshopper pest *Dichroplus maculipennis* under field cage conditions. **Journal of King Saud University – Science**, v.31, p. 1511-155, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.02.014>



Phillips, AK, Appel, AG & Sims, SR Toxicidade tóxica de óleos essenciais para a barata alemã (Dictyoptera: Blattellidae). *J.Econ. Entomol.* **103**, 448–459 (2010).

QUEIROZ, D. L. de SOLIMAN, E. P. BURCKHARDT, D. Principais pragas em viveiros de mudas de eucalipto, LEMES, P. G.; ZANUNCIO, J. C. (ed.). Novo manual de pragas florestais brasileiras. Montes Claros: Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, cap. 14, p. 230-261, 2022.

Rice, PJ & Coats, JR Propriedades inseticidas de vários monoterpenóides para a mosca doméstica (Diptera: Muscidae), besouro da farinha vermelha (Coleoptera: Tenebrionidae) e lagarta da raiz do milho do sul (Coleoptera: Chrysomelidae). *J.Econ. Entomol.* **87**, 1172–1179 (1994).

RUNYAMBO, I., ANDIKA, D., WATAKO, A., MWONGA, S., MWERESA, C. Feeding preferences of the field cricket *Scapsipedus icipe* (Orthoptera: Gryllidae) for different species of *Commelina*, **European Journal of Entomology**, 120, 115–127, 2023. <http://doi:10.14411/eje.2023.014>

ROCHA, R. B. *Metamasius* spp. Horn (Coleoptera: Curculionidae) em helicônias (Zingiberales: Heliconiaceae): monitoramento, organismos associados e táticas de controle com *Beauveria bassiana* e inseticidas a base de nim.. 90 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2012.

ROHRIG, Bruna. Fungos entomopatogênicos no controle de pragas: o que são e como utilizá-los na lavoura. Blog Aegro, (2021). Disponível em: <https://blog.aegro.com.br/fungos-entomopatogenicos-no-controle-de-pragas/> Acesso em: 20, dez de 2022.

RODRÍGUEZ, J.A. Luna; LECUONA, Roberto Eduardo. Seleção de cepas de fungos entomopatogênicos nativos para o controle da tucura *Rhammatocerus pictus* (Bruner)(Orthoptera: Acrididae). **Revista de Pesquisa Agrícola**, v. 31, pág. 67-84, 2002.

SHAH, P. A.; PELL, J. K. Entomopathogenic fungi as biological control agents. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 61, n. 5, p. 413-423, 2003.

ROININEN, H. (2019). The plant-based by-product diets for the mass-rearing of *Acheta domesticus* and *Gryllus bimaculatus*, **PLoS ONE** v. 14, e0218830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218830>

RAMANUJAM, B. et al. Management of Insect Pests by Microorganisms. **Proceedings of Indian National Science Academy**, v. 80, n. 2, p. 455-471, 2014.

SARI, D. C. A. F., OETARI, A., & SJAMSURIDZAL, W. Cricket powder in the growth medium provides nutrition for the insect-pathogenic fungus *Metarhizium majus* UICC 295. 020150, 2018.

<https://doi.org/10.1063/1.5064147>

SHARMA,A.; SHARMA, S. YADAV, P. K. Entomopathogenic fungi and their relevance in sustainable agriculture: A review, **Cogent Food & Agriculture**, 9: 2180857, 2023. <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2180857>

SIEBENEICHER , S.R. , VINSON , S.B . & KENERLEY , C.M . Infectio n o f th e re d importe d fire an t b y Beauveria bassiana through variou s route s o f exposure . *Journal of Invertebrate Pathology* 59 , 280 285, 1992 .

SOUZA, T.I.B.D.de et al. Eficiência da infecti\vidade e mortalidade do fungo Beauveria Bassiana em adultos de Metamasius Hemipterus L.(Coleoptera Curculionidae). 2020.

STONE, L.B.L.; BIDOCHKA, M.J. The multifunctional lifestyles of Metarhizium: Evolution and applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 104, p. 9935-9945, 2020. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10968-3>

Salvadori, J. R. et al. Pragas da cultura do trigo Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Trigo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento1ª edição DOCUMENTOS 200, 2022.

SEVERIN, H.C. The Common Black Field Cricket, *Gryllus Assimilis* (FAB.) and Its Control, **Journal of Economic Entomology**, Volume 19, Issue 2, 1 April 1926, Pages 218–227, <https://doi.org/10.1093/jee/19.2.218>

SILVA, G.T. D. et al. Physical, chemical and morphological properties of starchextracted fromoats, **Brazilian Applied Science Review**, Curitiba, v, 728-743, 2023. <http://dx.doi.org/10.34115/basrv7n2-019b>

SOARES, C.S.A.; SILVA, M.; COSTA, M.B.; BEZERRA, CARLOS E.S. AÇÃO INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE A LAGARTA DESFOLHADORA THYRINTEINA ARNOBIA (STOLL) (LEPIDOPTERA: GEOMETRIDAE). **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.2, p. 154 – 157 abril/junho de 2011.

SORJONENID, J. M., VALTONEN, A., HIRVISALO, E., KARHAPA, M., LEHTOVAARA, V.J.,LINDGREN, J. MARNILA, P., MOONEY, P., K.I, M. M., SILJANDER-RASI, H., TAPIO, M., TUISKULA-HAAVISTO, M.,SOBRINHO, R. B.; MESQUITA, A. L. M.; MOTA, M.S.C.S. Óleos essenciais no controle de pragas do cajueiro: Essential oils in cashew pest control. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, 5(4), 4383–4398, 2022.

TUPE, S.G. et al. Development of Metarhizium anisopliae as a mycoinsecticide: from isolation to field performance. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 125, p. e55272, 2017. [10.3791/55272](https://doi.org/10.3791/55272)

VEGA, F. E.; MEYLING, N.V.; LUANGSA-ARD, J.J.;BLACKWELL, M. Fungal Entomopathogens, *Insect Pathology*. **Insect Pathology**, p. 171-220, 2012. [10.1016/B978-0-12-384984-7.00006-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384984-7.00006-3)

VILELLA, L. M. Produção de insetos para uso na alimentação animal. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Agronomia. Curso de Zootecnia: Bacharelado, 2018. Disponível em:

<http://hdl.handle.net/10183/180588>. Acesso em: 04 nov. 2023.

WEISSMAN, D. B., WALKER, T.J.; GRAY, D.A. (2009). The field cricket and two new sister species (Orthoptera: Gryllidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 102, 367-380. <https://doi.org/10.1603/008.102.0304>

WALKER, T. J. & MASAKI, S. Natural history. In *Cricket behavior and neurobiology* (ed. F. HUBER, T. E. MOORE & W. LOHER), pp. 1-42. Ithaca, NY: Cornell University Press. Waltz, E. C. 1982 Alternative mating tactics and the law of diminishing returns: the satellite threshold model. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 10, 75-83, 1989.

YAMANOTO, M. E.; LOPES, F. A. Comer ou não comer: :Uma abordagem evolutiva no estudo do comportamento alimentar. In J. Landeira-Fernandes, M.T.A. SILVA (Eds.), *Intersecções entre psicologia e neurociências*. p. 157-188, 2007. Rio de Janeiro: MedBook.