

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA



DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO DE ISCAS TÓXICAS NO CONTROLE DE *Gryllus (Gryllus)*
assimilis (ORTHOPTERA: GRYLLIDAE) EM LABORATÓRIO**

Viviane dos Santos Simplício

Pelotas, 2022

VIVIANE DOS SANTOS SIMPLÍCIO

**AVALIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE ISCAS TÓXICAS NO CONTROLE DE
Gryllus (Gryllus) assimilis (Fabricius, 1775) (ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Ciências.

Orientador: Dr. Flávio Roberto Mello Garcia

Coorientadora: Dr^a. Luiza Cristiane Fialho Zazycki

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S612a Simplício, Viviane dos Santos

Avaliação em laboratório de iscas tóxicas no controle de *Gryllus (Gryllus) assimilis* (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae) / Viviane dos Santos Simplício ; Flávio Roberto Mello Garcia, orientador ; Luiza Cristiane Fialho Zazycki, coorientadora. — Pelotas, 2022.

50 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Fungos entomopatogênicos. 2. Iscas formicidas. 3. *Metarhizium anisopliae*. 4. Óleo de Nim. 5. Terra de diatomáceas. I. Garcia, Flávio Roberto Mello, orient. II. Zazycki, Luiza Cristiane Fialho, coorient. III. Título.

CDD : 595.726

Viviane dos Santos Simplício

AVALIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE ISCAS TÓXICAS NO CONTROLE DE
Gryllus (Gryllus) assimilis (Fabricius, 1775) (ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestra em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Entomologia do
Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 22/09/2022

Banca examinadora:

.....
Prof. Dr. Flávio Roberto Mello Garcia (Orientador)

Doutor em Zoologia pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

.....
Prof. Dr. Alfredo Raúl Abot (Membro Titular)

Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Paraná

.....
Prof. Dr. Duane Barros da Fonseca (Membro Titular)

Doutor em Biologia pela University of Leicester (Reino Unido)

.....
Prof. Dr. Edison Zefa (Membro Titular)

Doutor em Zoologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

À minha avó (in memorian), minha mãe e aos professores Alfredo e Carolina, os quais foram fundamentais nessa etapa da minha vida, dedico essa dissertação.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço à Deus por não me deixar desistir ou desanimar.

Agradeço muito a minha mãe Lúcia Regina e meus irmãos Vitor Hugo e Bruna por todo apoio, incentivo e força que me deram mesmo à distância, sempre acreditando em mim e não me deixando desanimar durante essa trajetória.

Ao meu noivo Irineu, pelo companheirismo, incentivo e cuidado, estando comigo em todos os momentos em que precisei de apoio, mesmo que a distância.

Ao meu orientador professor Flávio Garcia, por toda ajuda, cuidado, incentivo, ensinamentos e orientações, esteve sempre ao meu lado em todos os momentos de decisões e execuções.

A minha coorientadora professora Luiza, pelas orientações e valiosas contribuições.

Ao professor Juliano Pazini pela parceria e contribuições de suma importância para a dissertação.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecologia de Insetos da UFPel, por toda ajuda, apoio e incentivos, foram sem dúvidas fundamentais durante o período em que estive em Pelotas.

Aos professores da Universidade Federal de Pelotas, os quais foram fundamentais para a conclusão do mestrado, levarei ensinamentos de cada um para a vida toda.

Aos professores Alfredo e Carol. Sempre acreditei que Deus coloca anjos em nossas vidas e os dois com certeza são, agradeço por todo incentivo, confiança, cuidado, apoio e por sempre acreditarem em mim.

E o meu agradecimento mais especial, a minha avó Maria Dalila. Eu sempre achei que ela estaria comigo no dia da minha apresentação, em mais essa comemoração, mas nossos planos nem sempre são os de Deus. Agradeço tanto a Dona Maria Dalila, mulher forte e guerreira, quem sempre esteve ao meu lado, sempre me apoiou e incentivou os meus estudos. Sei que de onde estiver, estará vibrando junto comigo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente, meus sinceros agradecimentos!

Resumo

SIMPLICIO, Viviane dos Santos. **Avaliação em laboratório de iscas tóxicas no controle de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae)**. 2022. 50f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS, 2022.

Gryllus assimilis (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae) é uma espécie de grilo primeiramente descrita na Jamaica, e com ampla distribuição na região Neotropical. Em plantios de eucalipto seus danos econômicos são recorrentes ao corte de folhas, mastigação de ramos e anelamento de coleto. Os tipos de controle utilizados para grilos são obsoletos e dependentes da existência de novas pesquisas voltadas a sua biologia e aspectos comportamentais. O objetivo do trabalho foi avaliar diferentes formulações de iscas tóxicas produzidas com terra de diatomáceas, óleo de nim, iscas formicidas e o produto comercial Metarril (*Metarhizium anisopliae*). Ao avaliar o efeito do óleo de nim na alimentação, observou-se redução na alimentação dos grilos nas maiores concentrações. De forma oposta ao óleo de nim, a presença de diferentes dosagens de terra de diatomáceas junto a farinha de milho não influenciou na alimentação dos grilos durante todo o experimento. Quanto a mortalidade, o uso do óleo de nim mostrou-se um método de baixa eficiência. Altas dosagens de terra de diatomáceas demonstraram maior eficiência na mortalidade dos grilos, ao contrário do produto Metarril, o qual com menores concentrações ocasionou maior mortalidade. Quanto ao consumo das iscas formicidas, as três iscas testadas foram atrativas, mas em relação a mortalidade, as iscas fipronil+sulfuramida apresentaram menor tempo letal após o consumo pelos grilos. Apesar de serem necessários mais estudos voltados ao controle de grilos com iscas formicidas, esse método se mostra promissor, em razão das iscas já serem utilizadas em plantios florestais, uma vez que, é o principal método de controle de formigas cortadeiras. Esse trabalho contribui de forma pioneira para que outros trabalhos com essa linha de pesquisa tenham maior embasamento para iniciar estudos com a espécie *G. assimilis* e seu controle com métodos menos nocivos ao ambiente e inimigos naturais, seja para área florestal ou agrícola.

Palavras-chave: Fungos Entomopatogênicos. Iscas Formicidas. *Metarhizium anisopliae*. Óleo de Nim. Terra de Diatomáceas.

Abstract

SIMPLICIO, Viviane dos Santos. **Laboratory evaluation of toxic baits in the control of *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae)**. 2022. 50f. Thesis (Master's degree). Postgraduate Program in Entomology, Institute of Biology, Federal University of Pelotas, Pelotas-RS, 2022.

Gryllus assimilis (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae) is a species of cricket first described in Jamaica, and widely distributed in the Neotropics. In eucalyptus plantations, its economic damages are recurrent due to cutting leaves, chewing branches and girdling the collar. The types of control used for crickets are obsolete and dependent on the existence of new research focused on their biology and behavioral aspects. The objective of this work was to evaluate different formulations of toxic baits produced with diatomaceous earth, neem oil, ant baits and the commercial product Metarril (*Metarhizium anisopliae*). When evaluating the effect of neem oil on the diet, a reduction in the crickets' diet was observed at the highest concentrations. In contrast to neem oil, the presence of different doses of diatomaceous earth together with corn flour did not influence the crickets' diet throughout the experiment. As for mortality, the use of neem oil proved to be a method of low efficiency. High doses of diatomaceous earth showed greater efficiency in the mortality of crickets, unlike the product Metarril, which with lower concentrations caused greater mortality. As for the consumption of ant baits, the three baits tested were attractive, but in terms of mortality, the fipronil+sulfuramide baits had a lower lethal time after consumption by crickets. Although more studies are needed to control crickets with ant baits, this method is promising, because the baits are already used in forest plantations, since it is the main method of controlling leaf-cutting ants. This work contributes in a pioneering way so that other works with this line of research have a better basis to start studies with the species *G. assimilis* and its control with methods that are less harmful to the environment and natural enemies, whether for forestry or agricultural areas.

Keywords: Entomopathogenic Fungi. Formicidal baits. *Metarhizium anisopliae*. Neem Oil. Diatomaceous Earth.

Lista de Figuras

Figura 1	Recipientes de criação de <i>Gryllus assimilis</i>	16
Figura 2	Ração utilizada na dieta de <i>Gryllus assimilis</i>	17
Figura 3	Meio de hidratação dos grilos.....	17
Figura 4	Concentrações utilizadas no experimento com óleo de nim.....	18
Figura 5	Dia 1 do experimento com concentrações de óleo de nim.....	21
Figura 6	Mortalidade de <i>Gryllus assimilis</i> em 1, 3, 5, 7, 9 e 11 dias após a ingestão de diferentes concentrações de óleo de nim.....	23
Figura 7	Mortalidade de <i>Gryllus assimilis</i> em 1, 3, 5, 7, 9 e 11 dias após a ingestão de diferentes concentrações de metarril.....	24
Figura 8	Mortalidade ocasionada em <i>Gryllus assimilis</i> pelo fungo <i>Metarhizium anisopliae</i>	24
Figura 9	Mortalidade de <i>Gryllus assimilis</i> em 1, 3, 5, 7, 9 e 11 dias após a ingestão de diferentes dosagens de terra de diatomáceas.....	25
Figura 10	Tratamentos químicos usados para o controle de <i>Gryllus assimilis</i>	35
Figura 11	Curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier para <i>Gryllus assimilis</i> após a ingestão de iscas formicidas com diferentes princípios ativos.....	37

Lista de Tabelas

Tabela 1	Consumo de farinha de milho com diferentes concentrações de óleo de nim.	22
Tabela 2	Consumo de farinha de milho com diferentes dosagens de terra de diatomáceas.	22
Tabela 3	Tempo letal médio (TL50) em horas de <i>Gryllus assimilis</i> após a ingestão de iscas granuladas formicidas.	38
Tabela 4	Análise de comparação múltipla de Holm-Sidak obtida pelo tempo letal médio das iscas formicidas no controle de <i>Gryllus assimilis</i> em laboratório.	38
Tabela 5	Consumo de iscas formicidas granuladas a base de fipronil, sulfuramida e fipronil+sulfuramida por <i>Gryllus assimilis</i> em laboratório.	39
Tabela 6	Mortalidade ocasionada por iscas formicidas a base de fipronil, sulfuramida e fipronil+sulfuramida em <i>Gryllus assimilis</i> após 8, 24 e 96 horas de consumo.	39

Sumário

1. Introdução geral.....	10
2 Capítulo 1 – Avaliação de métodos alternativos no controle de <i>Gryllus assimilis</i> (Orthoptera: Gryllidae) em laboratório	14
2.1. Introdução.....	14
2.2. Materiais e métodos.....	16
2.2.1. Criação em laboratório	16
2.2.2. Efeitos do consumo de diferentes concentrações do óleo de nim	18
2.2.3. Efeitos do consumo de diferentes dosagens da terra de diatomáceas	19
2.2.4. Efeitos de diferentes concentrações de metarril na mortalidade	20
2.2.5. Análise de dados	20
2.3. Resultados.....	21
2.3.1. Efeito do consumo de diferentes concentrações de óleo de nim na alimentação	21
2.3.2. Efeito do consumo de diferentes dosagens da terra de diatomáceas	22
2.3.3. Efeito do óleo de nim, metarril e terra de diatomáceas na mortalidade	23
2.4. Discussão	26
2.4.1. Efeito do óleo de nim e terra de diatomáceas na alimentação	26
2.4.2. Eficiência do óleo de nim, metarril e terra de diatomáceas na mortalidade.....	27
2.5. Considerações finais.....	30
2.6. Agradecimentos	31
3 Capítulo 2 – Iscas formicidas granuladas são eficientes no controle de <i>Gryllus assimilis</i>?	32
3.1. Introdução.....	32
3.2. Materiais e métodos.....	34
3.2.1. Criação em laboratório	34
3.2.2. Análise de sobrevivência.....	34
3.2.3. Eficiência de iscas formicidas granuladas no controle de <i>Gryllus assimilis</i>	36
3.3. Resultados.....	37
3.3.1. Avaliação do tempo letal de iscas formicidas no controle de <i>Gryllus assimilis</i>	37
3.3.2. Eficiência de iscas formicidas granuladas no controle de <i>Gryllus assimilis</i>	38
3.4. Discussão	39
3.5. Considerações finais.....	40
4. Referências bibliográficas	42

1. Introdução geral

Com o passar dos anos tornou-se perceptível o aumento de áreas reflorestadas com o gênero *Eucalyptus* spp. no Brasil. Essa expansão proporcionou um ganho de visibilidade para o mercado nacional e internacional no ramo da celulose, possibilitando o aumento de investimentos para a ampliação da pesquisa voltada à produção (GONÇALVES *et al.*, 2017).

Em 2020, o total de áreas reflorestadas com eucalipto no país foi de aproximadamente 7,47 milhões de hectares, representando cerca de 78% do total de áreas com árvores plantadas no Brasil. Os Estados brasileiros com maiores áreas ocupadas por eucalipto são Minas Gerais (27,6%), São Paulo (18,1%) e Mato Grosso do Sul (15,1%), respectivamente. A produtividade média dessas florestas foi de 36,8 m³/ha/ano. Por essa razão, as florestas brasileiras de eucalipto são vistas como as mais produtivas do mundo (IBÁ, 2021).

Contudo, as florestas de eucalipto como qualquer monocultura e por tratar de um plantio a longo prazo estão sujeitas a ataques de pragas, visto que, proporcionam condições favoráveis ao desenvolvimento e permanência de insetos-pragas e doenças (MAFIA *et al.*, 2017). Na rapidez em que as áreas com plantios de eucalipto estão se expandindo, diversos insetos que dependem de fontes vegetais (Myrtaceae) para sua sobrevivência, passam a utilizar esse ambiente como fonte de alimento e abrigo (CARRANO-MOREIRA, 2014).

Para os ortópteros, os plantios são mais que um recurso alimentar, pois esse ambiente também é seu local de refúgio contra predação e mudanças climáticas (BITTAR, 2013). Fatores como temperatura, precipitação e umidade também são importantes na dinâmica de suas populações, interferindo na duração e regularidade da fase de reprodução e ciclo biológico (SILVA *et al.*, 2010).

As populações de *Gryllus* spp. e *Anurogryllus* spp. (Orthoptera: Gryllidae) podem atingir status de pragas em plantios de eucalipto. As fases jovens e adultas são responsáveis por ocasionar danos em mudas de viveiro e pós-plantio (BARBOSA *et al.*, 2009; CASTEDO, 2018). No entanto, existem registros de danos em

sementeiras e em plantios jovens de um a dois anos (BARBOSA *et al.*, 2009; SILVEIRA *et al.*, 2014).

O primeiro registro de ocorrência de *Gryllus assimilis* foi na Jamaica, sendo descrita por Fabricius (1775) como *Acheta assimilis*. Contudo, em 1838 a espécie foi transferida para o gênero *Gryllus* e ao longo dos anos passou por várias modificações em sua classificação taxonômica (CIGLIANO *et al.*, 2022).

Os grilos são insetos com aparelho bucal mastigador. O primeiro par de asas é do tipo tégmina o segundo par do tipo membranosas. São insetos de tamanhos variados e coloração que alterna do marrom ao preto. As pernas anteriores são ambulatórias, enquanto que as posteriores são saltatórias (SANTOS *et al.*, 2008). As antenas são filiformes e longas, ultrapassando o comprimento do corpo. Esses apêndices sensoriais móveis são importantes para que os grilos sejam capazes de diferenciar texturas de objetos externos por meio do tato e assim emitir um alerta ao inseto quanto à estresses bióticos e abióticos (OKADA; AKAMINE, 2012).

Além da percepção tátil, as antenas também possibilitam que os grilos diferenciem objetos em movimento, que foram inicialmente percebidos pela visão. A informação visual assim como a sensorial é fundamental para a regulação do comportamento, pois a partir da percepção da luz polarizada os grilos são capazes de se orientar no ambiente (KHAVATOV; KHARITONOV; SOKOLOV, 2013).

A diferença entre os machos e as fêmeas é evidenciado pelo longo ovipositor das fêmeas. As ninfas são semelhantes aos adultos quanto a forma do corpo, cor e comportamento, a diferença percebe-se visualmente pela falta das asas e do ovipositor presentes nas fêmeas (GALLO *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2008).

Os grilos possuem reprodução sexuada (GALLO *et al.*, 2002). Como as fêmeas são atraídas pelo sinal acústico do macho (fonotaxia), a escolha de um parceiro saudável para o acasalamento ocorre com base nos sinais acústicos de atração e cortejo, feromônios de contato, comportamento agressivo e tamanho do macho (LEONARD; HEDRICK, 2009; REBAR; BAILEY; ZUK, 2009; PACHECO *et al.*, 2013).

Em criações de laboratório, o ciclo de vidas desses ortópteros são de aproximadamente cinco meses após a eclosão dos ovos, do qual três meses de período ninfal e dois meses de vida adulta. A incubação dos ovos dura em média 15 dias (LIMBERGER, 2018). Os grilos podem ser encontrados em diferentes ambientes como campos, pastagens, florestas e áreas urbanas. Para se proteger, constroem galerias no solo sobre pedras, troncos e cascas de árvores. Quanto à alimentação,

são ovívoros. Porém, cada espécie alimenta-se de acordo com sua preferência (GODÉ *et al.*, 2015).

No eucalipto, seus danos econômicos são recorrentes ao corte de folhas, mastigação de ramos e anelamento de coleto (GRODZKI, 1972; MASSON *et al.*, 2020; DE QUEIROZ *et al.*, 2021). Quando em grande densidade populacional, são capazes de destruir qualquer vegetação (agrícola ou florestal) desde que esteja ao seu alcance, visto que árvores já estabelecidas não são alvos fáceis, a menos que sejam defeituosas e o crescimento da copa esteja rente ao chão (GRODZKI, 1972).

Ao causar desfolhamento, pode ser confundido com lagartas desfolhadoras do eucalipto, contudo, a desfolha por grilos ocorre de maneira desuniforme, enquanto que de lagartas em geral ocorrem em reboleiras (SANTOS *et al.*, 2008). Os danos não são causados apenas por adultos, as ninfas também podem ser responsáveis por prejuízos significativos, sendo necessário o replantio das mudas, a fim de manter a homogeneidade do cultivar com a quantidade ideal de muda por hectare (MASSON *et al.*, 2020).

Os grilos ocasionam danos relevantes em mudas até 40 dias após o plantio, após esse período ocorre redução na intensidade dos prejuízos (BARBOSA *et al.*, 2009). No geral, os danos causados por grilos localizam-se no terço inferior das mudas (MASSON *et al.*, 2020).

O plantio das mudas é realizado preferencialmente próximo ou durante o período chuvoso de cada região (SILVA, 2011; CALDEIRA *et al.*, 2015), de forma que os custos com irrigações sejam menores. Contudo, solos úmidos e ambientes com menor luminosidade estabelecem condições ideais para o desenvolvimento das fases do ciclo de vida dos grilos, visto que durante a seca o estresse térmico pode ocasionar a queda da densidade populacional desses insetos devido as altas temperaturas (GRODZKI, 1972; BARBOSA *et al.*, 2009; BITTAR, 2013).

Durante o dia esses insetos permanecem escondidos em cavidades no solo, serapilheira, pedras e madeiras. Ao anoitecer, caules, folhas, raízes e ramos jovens de eucalipto tornam-se alvos de ninfas e adultos (AVEIRO; CERCAL, 2007; CASTEDO, 2018).

Os tipos de controle utilizado para grilos são obsoletos e dependentes da existência de novas pesquisas voltadas a sua biologia e aspectos comportamentais (BERTRAM; ROOK, 2012; MASSON *et al.*, 2020), pois estudos sobre a ecologia desse inseto na cultura do eucalipto são escassos. Logo, os objetivos do presente estudo foram:

- a) Avaliar o efeito do uso da terra de diatomáceas e óleo de nim na alimentação de *G. assimilis*;
- b) Avaliar diferentes formulações de iscas produzidas com terra de diatomáceas, óleo de nim e o produto comercial Metarril (*Metarhizium anisopliae*) para o controle de *G. assimilis*;
- c) Avaliar a aceitabilidade das iscas formicidas a base de fipronil, sulfuramida e fipronil+sulfuramida;
- d) Avaliar o tempo letal de controle das iscas formicidas.

2 Capítulo 1 – Avaliação em laboratório de métodos alternativos no controle de *Gryllus assimilis* (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae)

2.1. Introdução

Os agricultores sofrem grandes perdas econômicas em razão das atividades dos insetos sobre as plantas, seja para alimentação, reprodução ou refúgio. Uma gama de insetos se alimentam de diversas espécies de plantas cultivadas pelo homem, como por exemplo o gênero *Eucalyptus* (ABDELBAĞI *et al.*, 2019).

Conhecidos popularmente como grilo-comum ou grilo-preto, insetos da espécie *Gryllus assimilis* (Fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae) são responsáveis por ocasionar danos em mudas de eucalipto. A espécie está presente tanto em viveiros quanto no campo, próximas das mudas recém-plantadas. Adultos e ninfas podem provocar danos que exigem o replantio das mudas, uma vez que, ao possuírem aparelho bucal mastigador são capazes de causar o desfolhamento, quebra de coleto por anelamento, raspagem de coleto e raízes, o que geralmente pode levar à morte das mudas (MASSON *et al.*, 2020).

Para *Eucalyptus* spp. não existe recomendação de controle de grilos pelo uso de inseticidas químicos sintéticos (AGROFIT, 2022). Em razão disso, a única forma de controle é com a utilização de iscas tóxicas. No entanto, como alternativa ao uso de produtos químicos sintéticos para o controle de pragas, atualmente já é empregado o uso de inseticidas botânicos, biológicos e pós inertes.

Os inseticidas botânicos são o grupo de agrotóxicos biodegradáveis de menor toxicidade para mamíferos e maior seletividade a insetos com status de praga (MAMADOU; SARR, 2009; HOSNY, 2012). *Azadirachta indica* (A. Juss) mais conhecida como Nim é uma das espécies vegetais mais promissoras no controle de pragas (MAUTE *et al.*, 2016). O principal componente do óleo de nim é a azadiractina, responsável por causar deformações na muda, interrupção de crescimento, interferir na fecundidade, provocar repelência e efeito antialimentação (MORGAN, 2009; SCUDELER; DOS SANTOS, 2013).

A terra de diatomáceas é um pó inerte obtido de rochas formadas a partir da parede celular de fitoplâncton unicelular de água doce ou salgada após a sua morte (KORUNIC, 1998; ERTÜRK *et al.*, 2020). É frequentemente usado contra pragas de grãos armazenados, em virtude da durabilidade de seu controle e seus constituintes serem atóxicos para mamíferos (NWAUBANI *et al.*, 2014). A terra de diatomáceas atua por mecanismos físicos com a abrasão da cutícula, adsorção da camada externa de cera presente na cutícula e a dessecação dos insetos (KORUNIC, 1998; GAD *et al.*, 2021).

Outra forma de controle promissora é com o uso de fungos entomopatogênicos, como o *Metarhizium anisopliae* (CEPA ESALQ E9). A eficiência de controle com esses microorganismos foi provada durante anos de pesquisa, além de não existir qualquer relato de resistência (HALDER *et al.*, 2017). Controles alternativos aos químicos podem proporcionar menor impacto sobre os inimigos naturais, toxicidade mínima sobre mamíferos, rápida degradação no ambiente, além de não interferir no desenvolvimento das plantas (ISMAN, 1997; MOLLASHAHI *et al.*, 2017).

O objetivo do trabalho foi avaliar em laboratório a eficiência de métodos alternativos para o controle de *G. assimilis*, incluindo óleo de nim, fungo entomopatôgeno e terra de diatomáceas.

2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Criação em laboratório

Os casais utilizados para iniciar a criação dos grilos na Universidade Federal de Pelotas (UFPel) foram obtidos do Biotério de Invertebrados Terrestres da Universidade Federal de Rio Grande. Na UFPel, a criação iniciou em fevereiro de 2021 no laboratório de Biologia dos insetos com a supervisão do laboratório de ecologia de insetos (LBEI).

O ambiente de criação foi totalmente higienizado, e os grilos mantidos em temperaturas entre 25 a 28°C, umidade relativa de 70 a 80% e fotofase de 12 h. Os grilos foram criados em recipientes de plástico de 20 L forrados lateralmente com telas. Dentro dos recipientes foram alocados caixas de ovos de papelão, como abrigo aos grilos (Figura 1).



Figura 1. Recipientes de criação de *Gryllus assimilis*.

Os grilos foram alimentados com ração para gatos castrados Golden® (sabor salmão) (Figura 2), composta por farinha de vísceras de frango, farinha de salmão, farelo de glúten de milho, glúten de trigo, proteína isolada de suíno, milho integral moído, quirera de arroz, polpa de beterraba, gordura de frango, óleo de peixe e levedura seca de cervejaria. A ração foi triturada para facilitar a ingestão pelos grilos.

Os experimentos foram realizados com grilos machos e fêmeas adultos.



Figura 2. Ração utilizada na dieta de *Gryllus assimilis*.

Em placas de Petri foi adicionado algodão umedecido com água destilada para a hidratação dos grilos (Figura 3).



Figura 3. Meio de hidratação dos grilos.

2.2.2. Efeitos do consumo de diferentes concentrações do óleo de nim

O óleo de nim foi adquirido de forma comercial. O produto Original Nim possui 0,12% p/p de *A. indica* (ORIGINAL NIM, 2022). Os insetos foram colocados em recipientes redondos de plástico com capacidade de um litro com aberturas para troca de ar e umidade. Em cada gaiola foi colocado apenas um indivíduo e para a falta de umidade não influenciar nos resultados, principalmente no experimento com a terra de diatomácea, a cada dois dias algodões embebidos com água destilada foram renovados e oferecidos aos grilos em todos os tratamentos.

Para os testes, foram utilizados 180 grilos, 90 machos com média de 10 dias após tornar-se adulto e 90 fêmeas com média de 15 dias. Foi utilizado 10 mL de nim em 1000 mL de água (1%) como concentração base para os tratamentos e como controle positivo foi utilizado fipronil a 1,5%. Utilizou-se o tratamento com o óleo de nim (N5%; N10%; N20% e N30%), mais o controle positivo (F1,5%) e o controle negativo (água destilada), todos os tratamentos com 30 repetições (Figura 4).

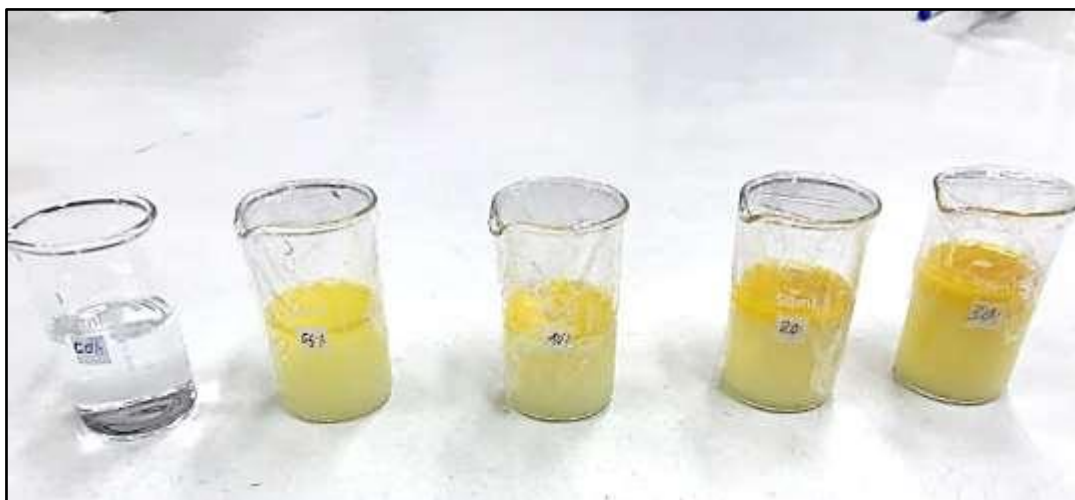


Figura 4. Concentrações utilizadas no experimento com óleo de nim.

As concentrações foram misturadas a 500 mg de farinha de milho e oferecidos aos grilos em placas confeccionadas a partir de copos de plástico transparentes descartáveis de 200 mL. No controle negativo foi oferecido apenas a farinha de milho misturada em água destilada. Os tratamentos foram usados ainda úmidos e permaneceram à disposição dos grilos por 10 dias.

A partir do consumo, foram realizados dois testes: (1) mortalidade a cada 24 h, sendo considerados mortos os grilos que não apresentaram movimento ao toque com uma pinça; (2) efeitos das diferentes concentrações do óleo de nim na alimentação dos grilos, sendo todos os tratamentos pesados em balança analítica antes e após o experimento, a fim de identificar se houve diferença no consumo.

2.2.3. Efeitos do consumo de diferentes dosagens da terra de diatomáceas

O pó inerte utilizado no experimento foi a terra de diatomáceas, obtida da empresa Aimirim Plantas e Jardim. A terra de diatomáceas é composta por Dióxido de Silício (SiO_2 – 84 a 97%), Óxido de Alumínio (Al_2O_3 – 3 a 7%), Óxido Férrico (Fe_2O_3 – 0,3 a 1,5%) e traços de outros minerais (AIMIRIM, 2022). Para esse experimento foi utilizada a metodologia para arranjo dos recipientes do teste anterior. No experimento utilizou-se 150 grilos, 75 machos e 75 fêmeas, ambos com média de sete dias de idade pós-imaginal.

Inicialmente foi realizado um experimento piloto para testar se os grilos se alimentariam da mistura terra de diatomácea + farinha de milho nas proporções de 1:1, 1,5:1, 2:1 e 2,5:1. A partir desse teste foram escolhidos os tratamentos. As dosagens de terra de diatomáceas misturadas a 400 mg de farinha de milho foram 400, 600, 800 e 1000 mg. No controle positivo foi usado o fipronil a 1,5% e para o controle negativo foi usado apenas a farinha de milho (400 mg). Para cada tratamento foram realizadas 30 repetições.

Em razão do uso da terra de diatomácea ser com o pó seco, os tratamentos oferecidos não continham umidade. Os tratamentos permaneceram para a alimentação durante 10 dias. A partir disso, foram realizados dois testes: (1) mortalidade a cada 24 h, sendo considerados mortos os grilos que não apresentaram movimento ao toque com uma pinça; e (2) avaliação dos efeitos das diferentes dosagens de terra de diatomáceas na alimentação, sendo todos os tratamentos pesados antes e após o experimento, a fim de identificar se houve diferença no consumo.

2.2.4. Efeitos de diferentes concentrações de METARRIL® na mortalidade

Para o experimento, foi utilizado o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* na forma de produto comercial METARRIL® WP E9. Para esse experimento foi utilizada a metodologia para arranjo dos recipientes do teste anterior. No experimento utilizou-se 180 grilos, 90 machos e 90 fêmeas, ambos com média de 20 dias de idade pós-imaginal.

Um experimento piloto foi realizado para verificar se os grilos se alimentariam da mistura metarril + farinha de milho. Ao diluir o pó metarril em água destilada para misturar na farinha de milho foi necessário ter o cuidado para que o tratamento ficasse úmido e não líquido, assim, a quantidade de farinha de milho foi sempre superior ao de metarril. A partir disso, foram realizadas as diluições de 500, 800, 1000 e 1200 mg do metarril em 2,5, 4, 5 e 6 mL de água destilada, respectivamente. Após a diluição, foram misturados a 3000, 5000, 6000 e 7000 mg de farinha de milho.

Para o controle positivo foi usado o fipronil a 1,5% e para o controle negativo misturou-se 1000 mg de farinha de milho a 5 mL de água destilada. Cada tratamento teve o total de 30 repetições. Os tratamentos foram oferecidos aos grilos após a mistura do metarril com a farinha de milho, ainda úmidos e permaneceram para a alimentação durante 10 dias.

Com o metarril foi avaliado a mortalidade dos grilos cada 24 h, sendo considerados mortos os grilos que não apresentaram movimento ao toque com uma pinça. Os grilos mortos foram levados a BOD com temperatura, umidade e luminosidade controladas, para confirmação da morte pelo fungo *Metarhizium anisopliae*.

2.2.5. Análise de dados

Os dados foram testados quanto a sua normalidade e homocedasticidade, pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett. A partir disso, foram submetidos a análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis em um nível de significância de 5%. Também foi realizada a análise de comparação de médias pelo teste de Dunn com ajuste de Bonferroni. As análises foram realizadas por meio do *software* R (R CORE TEAM, 2019).

2.3. Resultados

2.3.1. Efeito do consumo de diferentes concentrações de óleo de nim na alimentação

Ao iniciar o experimento, foi possível observar que todos os tratamentos foram atrativos aos grilos, visto que, os indivíduos utilizados em todas as concentrações se alimentaram rapidamente (Figura 5). As concentrações de 20 e 30% foram as menos consumidas quando comparadas com as concentrações 5 e 10% (Tabela 1).

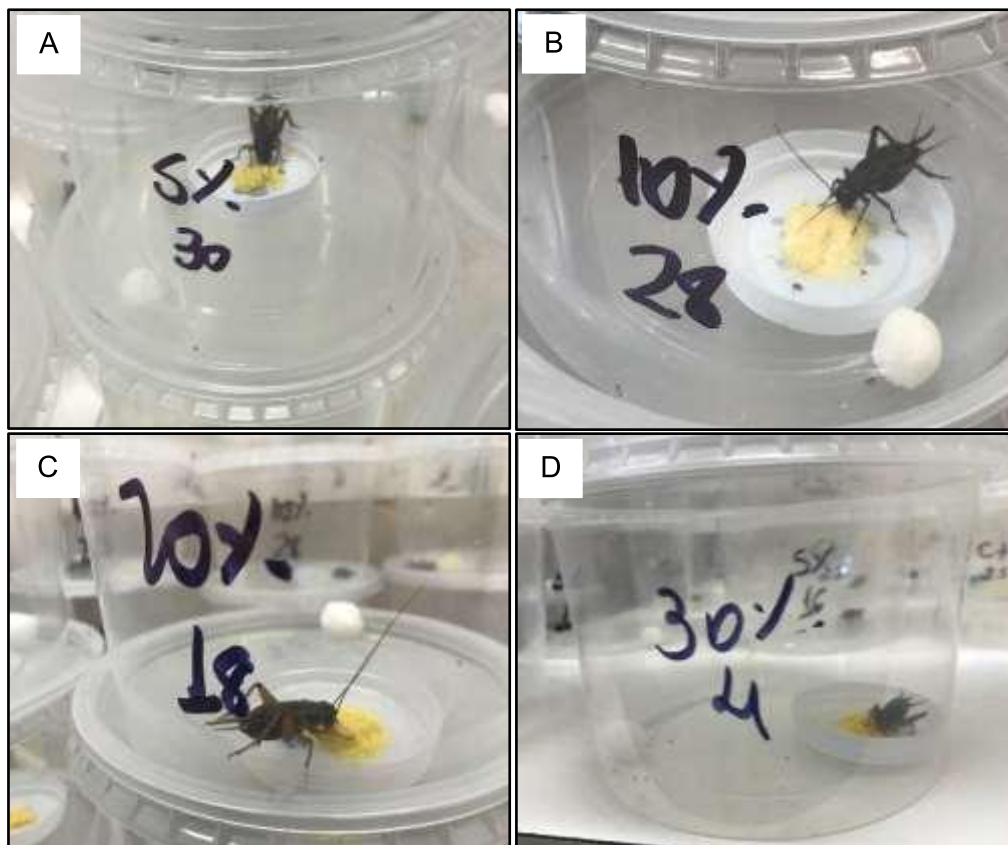


Figura 5. Dia 1 do experimento com concentrações de óleo de nim. A: 5% óleo de nim; B: 10% óleo de nim; C: 20% óleo de nim; D: 30% óleo de nim.

Tabela 1. Consumo médio (\pm EP) de farinha de milho com diferentes concentrações de óleo de nim.

Tratamentos	Consumo (mg)
Controle	477,07 \pm 17,66 a
Nim 5%	384,64 \pm 12,19 b
Nim 10%	389,23 \pm 15,01 b
Nim 20%	274,59 \pm 18,88 c
Nim 30%	205,16 \pm 26,67 d
Fipronil 1,5 %	85,68 \pm 5,33 e

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pela análise de Kruskal-Wallis e pós teste de Dunn com ajuste de Bonferroni a 5% de significância.

Baixas concentrações de nim demonstraram não possuir potencial de interferência na alimentação dos grilos, uma vez que, o consumo das concentrações 5 e 10% ficou abaixo apenas do controle, assim como, concentrações acima de 20% revelaram reduzir a alimentação. Ao combinamos concentrações mínimas (5% e 10%) e máximas (20% e 30%) nota-se que não existe diferença no consumo dos tratamentos. No entanto, quando há variação nas combinações, percebe-se que houve diferença no consumo entre as concentrações 5%-20%, 5%-30, 10%-20%, 10%-30%.

2.3.2. Efeito do consumo de diferentes dosagens da terra de diatomáceas

A presença da terra de diatomácea junto à farinha de milho não influenciou na alimentação, visto que, o consumo dos grilos mostrou-se similar em todos os tratamentos. Quando comparados entre si, não houve diferença significativa entre as diferentes dosagens de terra de diatomáceas. No entanto, quando estes tratamentos foram comparados com os controles positivo e negativo foram observadas diferenças significativas (Tabela 2).

Tabela 2. Consumo médio (\pm EP) de farinha de milho com diferentes dosagens de terra de diatomáceas.

Tratamentos	Consumo (mg)
Controle	1004,21 \pm 48,14 a
TD 1000	547,05 \pm 43,93 b
TD 400	545,87 \pm 20,86 b
TD 800	540,66 \pm 38,05 b
TD 600	512,27 \pm 35,79 b
Fipronil 1,5%	295,72 \pm 51,43c

TD - Terra de Diatomáceas. Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pela análise de Kruskal-Wallis e pós teste de Dunn com ajuste de Bonferroni a 5% de significância.

2.3.3. Efeito do óleo de nim, Metarril e terra de diatomáceas na mortalidade

O uso do óleo de nim como forma de controle de *G. assimilis* em laboratório, mostrou-se um método de baixa eficiência (Figura 6), visto que a mortalidade durante os 10 dias de experimento foi de apenas 3,3% (N5 e N30%).

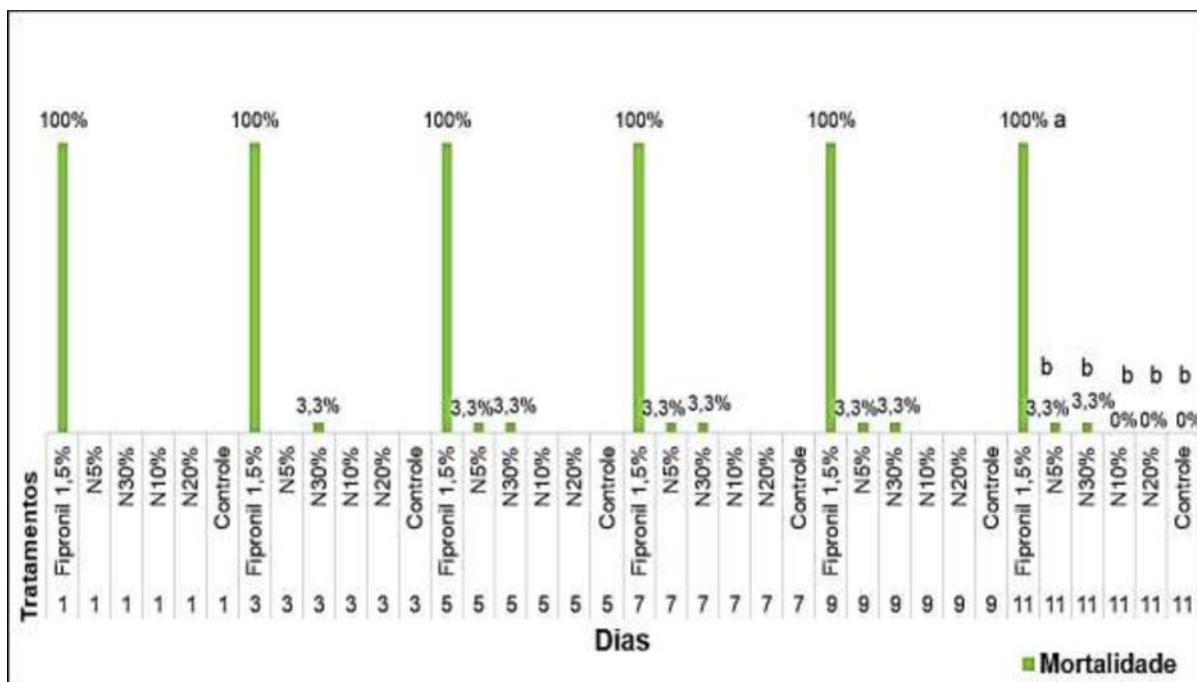


Figura 6. Mortalidade de *Gryllus assimilis* em 1, 3, 5, 7, 9 e 11 dias após a ingestão de diferentes concentrações de óleo de nim.

Quanto ao Metarril, as menores concentrações entre os tratamentos (M800 e M500), ocasionaram as maiores mortalidades 43,3 e 30%, respectivamente. Por outro lado, observou-se que o aumento da concentração foi inversamente proporcional à mortalidade, fato evidenciado pelos tratamentos M1200 e M1000, responsáveis por cerca de 23,3 e 10% de mortalidade (Figura 7 e 8).

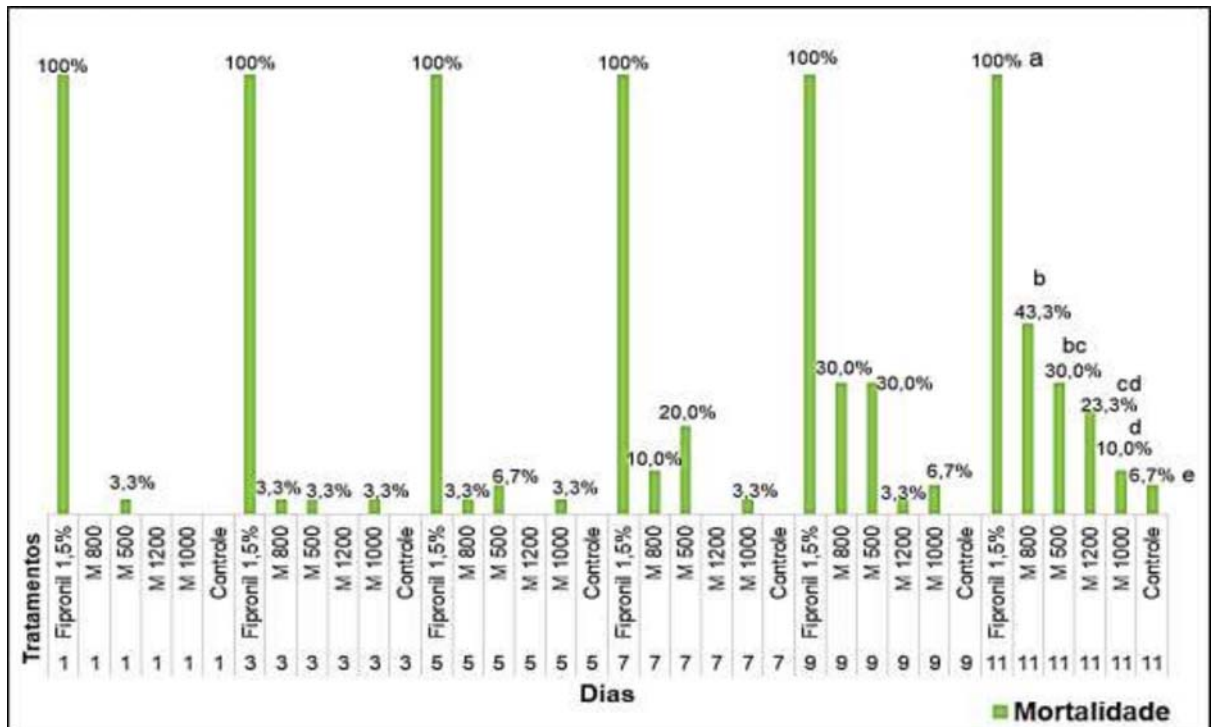


Figura 7. Mortalidade de *Gryllus assimilis* em 1, 3, 5, 7, 9 e 11 dias após a ingestão de diferentes concentrações de metarril.

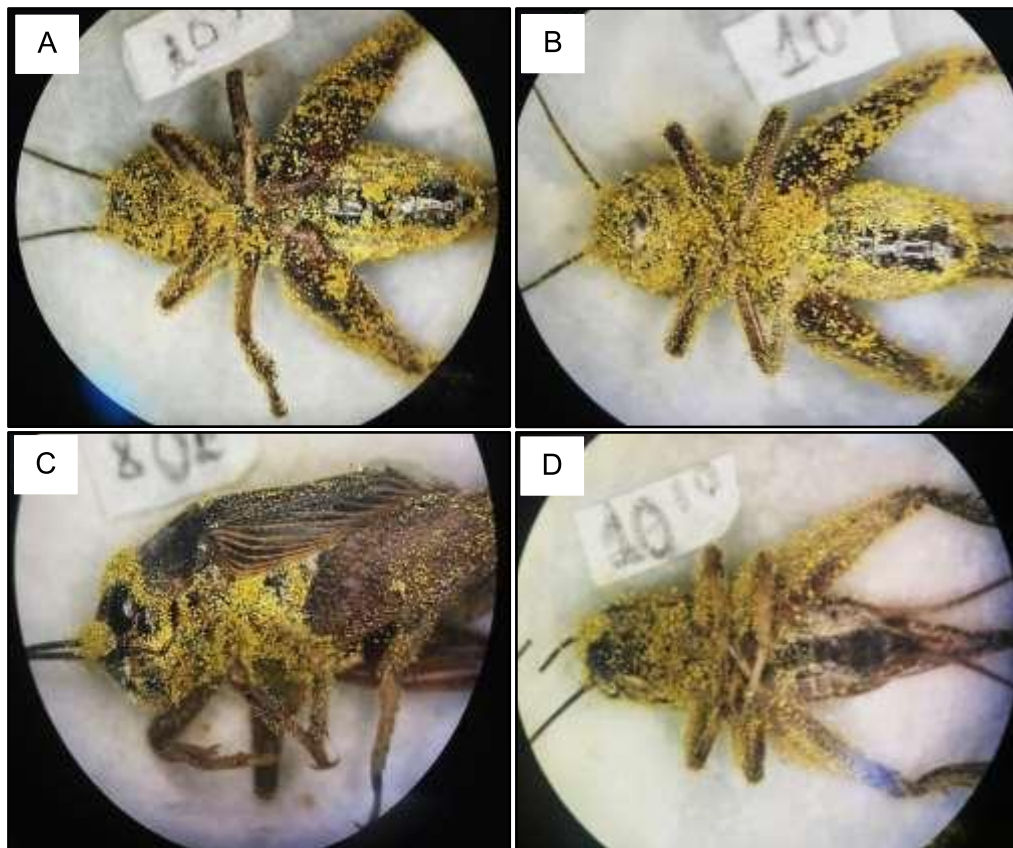


Figura 8. Mortalidade ocasionada em *Gryllus assimilis* pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. A: 500 mg de metarril; B: 800 mg de metarril; C: 1000 mg de metarril; D: 1200 mg de metarril.

Com o uso da terra de diatomáceas, todos os tratamentos ocasionaram mortalidade a partir do quinto dia de experimento. No entanto, apenas as menores dosagens revelaram resultados expressivos, sendo a dosagem de 600 mg a mais eficiente com 29,97% de mortalidade e a dosagem de 400 mg de terra de diatomáceas a menos eficiente, responsável por somente 13,32% das mortes (Figura 9).

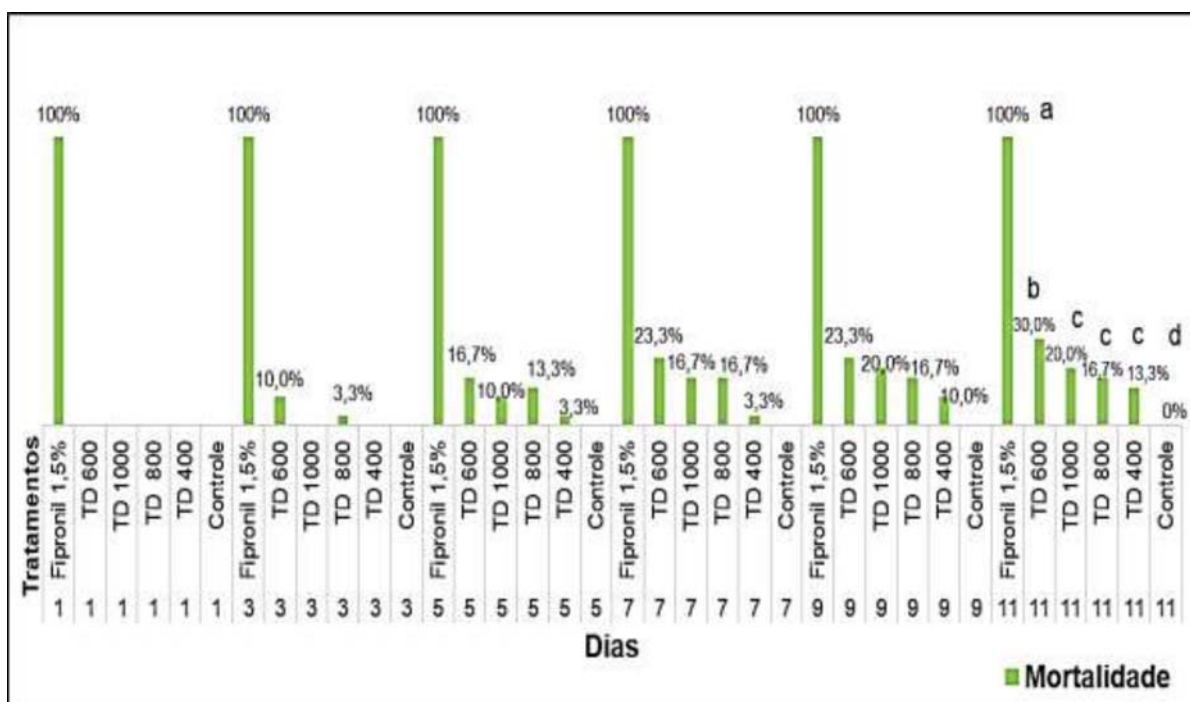


Figura 9. Mortalidade de *Gryllus assimilis* em 1, 3, 5, 7, 9 e 11 dias após a ingestão de diferentes dosagens de terra de diatomáceas.

2.4. Discussão

2.4.1. Efeito do óleo de nim e terra de diatomáceas na alimentação

A azadiractina presente em abundância no óleo de nim pode exercer efeito antialimentar nos insetos (KHAN *et al.*, 2015; KAMARAJ *et al.*, 2017). Nos tratamentos com o óleo de nim, com o aumento da concentração adicionado a farinha de milho, ocorre redução na ingestão do alimento. Isto possivelmente está relacionado ao efeito antialimentação ocasionado pelo óleo de nim, visto que, em concentrações menores (5 e 10%) não houve diferença significativa no consumo dos tratamentos.

Esse efeito ocorre devido a azadiractina induzir uma onda antiperistáltica nos insetos, causando uma sensação semelhante a vômito. Com isso, após a alimentação da planta tratada com nim e o início de seus efeitos, o inseto cessa sua alimentação, podendo ocorrer também o bloqueio da capacidade de ingestão do alimentor (VIJAYALAKSHMI *et al.*, 1985).

A redução na quantidade ingerida dos tratamentos ocorreu à medida em que houve o aumento da concentração do óleo de nim, assim como, na avaliação realizada por Abdelbagi *et al.* (2019) com diferentes concentrações (1, 5, 10 e 20%) em ninfas de 2º a 5º instar de *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae), onde a ingestão do alimento foi inversamente relacionada ao aumento das concentrações.

O óleo de nim testado em adultos da espécie *G. assimilis* agiu de forma eficiente com a atividade antialimentar apenas para concentrações superiores a 20%. Bioensaios alimentares com grilos de campo (*Gryllus pennsylvanicus* Burmeister), demonstraram que o consumo de folhas de milho tratadas com extrato de nim não ultrapassavam 20% em concentrações superiores a 10% (ADLER; UEBEL, 1984).

Para o gafanhoto da Carolina *Dissosteira carolina* L., o aumento da concentração da azadiractina (1 a 50%) potencializou o efeito antialimentar causado pelo extrato de nim (ADLER; UEBEL, 1984). Bashir e Shafie (2014), evidenciaram que a concentração de 5% de nim foi suficiente para induzir o efeito antialimentar em ninfas de 3º instar de gafanhotos do deserto, reduzindo 79,6% da alimentação.

Testes laboratoriais com Azadirex® sobre a espécie *Schistocerca americana* (Orthoptera: Acrididae) demonstraram que o produto reduz a alimentação em plantas atacadas por gafanhotos tratadas com o produto. No entanto, as condições imprevisíveis de campo podem reduzir o efeito antialimentar do produto (CAPINERA; FROEBA, 2007). A partir disso, percebe-se a importância de testes com o produto da Original Nim em campo, para avaliar sua eficiência em condições não controladas.

Apesar de estatisticamente não ter ocorrido diferença significativa no consumo dos tratamentos com terra de diatomáceas nesse estudo, Fernández-Arhex *et al.* (2013) observaram a redução na alimentação de gafanhotos adultos expostos a terra de diatomácea (STEFANAZZI *et al.*, 2012).

Assim como com *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae), os dados de Assis *et al.* (2010) revelaram que a terra de diatomácea quando aplicada sobre plantas alvos pode reduzir a alimentação desse inseto quando praga. Contudo, ao contrário do nim, são necessários mais estudos envolvendo o efeito antialimentar que a terra de diatomáceas pode exercer nos insetos, na literatura são escassos estudos nessa linha de pesquisa.

2.4.2. Eficiência do óleo de nim, metarril e terra de diatomáceas na mortalidade

Quanto a mortalidade, os resultados com o uso do óleo de nim não foram satisfatórios. Dez dias após a ingestão do óleo de nim, as maiores taxas de mortalidade foram de 3,3% para os tratamentos N5 e N30%. Resultados semelhantes foram evidenciados para o controle de *Alphitobius diaperinus*, com média de mortalidade com o uso do extrato de nim de 7% (FERREIRA *et al.*, 2018). Os testes com óleo de nim para o controle do cascudinho também não foi eficiente (GIOLO *et al.*, 2013).

Diferentes concentrações de óleo de nim foram testadas em gafanhotos do deserto (1, 5, 10 e 20%) e todas as concentrações ocasionaram significativas mortes quando comparadas ao tratamento controle, sendo que quanto maior a concentração, maior foi a mortalidade dos gafanhotos. Porém, dependendo da dose, somente após o 12º dia ocorreu a mortalidade total dos indivíduos (ABDELBAĞI *et al.*, 2019). No entanto, para o controle de *G. assimilis* em laboratório o nim não foi eficiente, mesmo tratando-se de insetos com mesmo grau de parentesco.

Ao avaliar diversas concentrações de extrato de nim (0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 100%) sobre a mortalidade de *Gryllus bimaculatus*, somente a concentração 100% contribuiu com alta mortalidade em 48 h. Anggrahini *et al.*, (2020) concluíram que apenas com o aumento dos níveis de concentrações do óleo de nim é possível uma rápida e eficiente mortalidade dos grilos.

O nim é conhecido como um inseticida natural de amplo espectro. Seu potencial de controle das importantes pragas agrícolas fitófagas é evidenciado ao longo dos anos (Schmutterer, 1990; ROYCHOUDHURY, 2016). Contudo, neste experimento realizado em laboratório, o óleo de nim demonstrou eficiência inferior ao esperado.

Metarhizium spp. é um grupo de fungos entomopatogênicos mais promissor no controle biológico de ortópteros (LOMER *et al.*, 1997; KEYSER *et al.*, 2017). Neste estudo, um comportamento perceptível dos grilos desde a criação é o intenso contato com o alimento, de modo que, meios de controle por contato podem ser realizados utilizando o alimento como atrativo. O contato direto com o alimento possivelmente pode ter relação ao fato de que as menores dosagens (500 e 800 mg) foram as mais eficientes no experimento, ocasionando 43,3 e 30 % de mortalidade.

Vários estudos realizados no Brasil com o *Metarhizium anisopliae* demonstram o potencial de controle que esse fungo exerce sobre os ortópteros, reduzindo consideravelmente as populações (MAGALHÃES, 1997; MAGALHÃES *et al.*, 2000; FARIA *et al.*, 2002). Contudo, o controle biológico em relação ao controle químico age de forma mais lenta, de forma que, a maior mortalidade (43,3%) foi alcançada apenas após 10 dias do consumo com o Metarril.

Alta taxa de mortalidade de *G. assimilis* por contato com o produto Metarril foi alcançada de forma rápida e eficiente quando comparado ao estudo de Silva *et al.* (2005), que testaram a dose de $3,8 \times 10^{12}$ conídios viáveis/hectare de *M. anisopliae* em gafanhotos adultos (*Rhammatocerus schistocercoides*) e mesmo após 19 dias da pulverização, a maior mortalidade alcançada foi de 31%. No entanto, pulverizações na dose de 1×10^8 esporos/ml de *M. anisopliae* (ICAR-NBAIR Ma-4 e Ma-35) apresentaram 90% de mortalidade do gafanhoto *Poecilocus pictus* Fabricius cinco dias após a aplicação (RAMANUJAM *et al.*, 2022).

Ao manter os grilos expostos diariamente à terra de diatomáceas observou-se que quanto maior o contato do pó com os grilos, maior a taxa de mortalidade, uma vez que o mecanismo de ação da terra de diatomáceas é a abrasão do tegumento, causando a morte dos insetos por desidratação (KALMUS, 1944; WIGGLESWORTH,

1944; PINTO JÚNIOR *et al.*, 2005; MARTINS; OLIVEIRA, 2008; STADLER, *et al.* 2010).

Para os gafanhotos *Dichroplus vittigerum* (Blanchard) (Orthoptera: Acrididae), a exposição constante à terra de diatomáceas também evidenciou efeito inseticida, devido as mortes ocasionadas em testes laboratoriais (FERNÁNDEZ-ARHEX *et al.*, 2013). O tempo letal da terra de diatomácea varia dependendo da espécie, nesse experimento todas as formulações ocasionaram mortalidade a partir do 5º dia de exposição dos grilos. Para o gafanhoto da alfafa *Heteracris littoralis* (Rambur) (Orthopetra: Acrididae), a sobrevivência dos insetos expostos a terra de diatomácea não ultrapassou 13 dias (EBEID *et al.*, 2013).

Mesmo com as vantagens do uso da terra de diatomácea evidenciadas pelos estudos de avaliação de eficiência no controle de pragas, esse pó inerte pode ser influenciado de forma negativa pelas condições ambientais. A terra de diatomácea é eficaz somente em ambientes secos, tornando-se totalmente ineficaz em locais com alta umidade ou com presença de água (KORUNIC *et al.*, 2016). Portanto, para fazer o uso da terra de diatomácea é necessário a realização de um planejamento prévio, em razão da sua limitação de uso ao ar livre devido as condições climáticas.

2.5. Considerações finais

O óleo de nim em altas concentrações causou redução na quantidade consumida dos tratamentos, demonstrando efeito antialimentação nos testes desenvolvidos com *G. assimilis* em laboratório. Quanto à terra de diatomácea, ao analisar a taxa de mortalidade, quanto maior a dosagem de terra de diatomácea, maior a eficiência de controle sobre os grilos. Já o uso do Metarril demonstrou resultados opostos, visto que as menores concentrações ocasionaram maior mortalidade de *G. assimilis*.

O trabalho contribui de forma pioneira para que outros trabalhos com essa linha de pesquisa tenham maior embasamento para iniciar estudos com a espécie *G. assimilis* e seu controle com métodos menos nocivos ao ambiente e inimigos naturais, seja para área florestal ou agrícola.

2.6. Agradecimentos

Agradecemos a empresa Koopert Biological Systems por conceder insumos aos quais foram de grande importância para o projeto.

3 Capítulo 2 – Iscas formicidas granuladas são eficientes no controle de *Gryllus assimilis*?

3.1. Introdução

A superfamília Grylloidea abrange um grupo de insetos com grande diversidade, conhecidos como grilos. Esses insetos de hábito noturno apresentam ampla distribuição mundial, ocupando diferentes ambientes (DAVID; ZEFA; FONTANETTI, 2003; CIGLIANO *et al.*, 2022). O gênero *Gryllus* pertencente à família Gryllidae se destacando por apresentar 101 espécies descritas no mundo (CIGLIANO *et al.*, 2022).

Ao observar os grilos na natureza, percebe-se que estes insetos dependem de material vegetal vivo para sua alimentação. Como são insetos de hábitos noturno, durante o dia encontram-se escondidos em abrigos, e à noite saem em busca de alimento, podendo incluir em sua dieta mudas presentes em viveiros ou recém-plantadas. Os danos são caracterizados por desfolhamento, mastigação e corte de coleto (GRODZKI, 1972; DE QUEIROZ *et al.*, 2021).

Quanto ao desfolhamento nas fases de pós-plantio, os danos causados por formigas cortadeiras são semelhantes aos de *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae), de forma que, se não houver controle podem causar grandes prejuízos e necessidade de replantio das mudas (GRODZKI, 1972; MASSON *et al.*, 2020).

Para as formigas o controle químico ainda é o mais eficiente, contudo, em razão a fatores ambientais, econômicos e toxicidade a mamíferos, o método mais utilizado por oferecer melhor desempenho aliado a menor risco ambiental são as iscas granuladas (ZANUNCIO *et al.*, 1980; LOECK; NAKANO, 1984; CRUZ *et al.* 1984; BOARETTO; FORTI, 1997; ZANETTI *et al.*, 2004). Por outro lado, não se sabe se as iscas granuladas são eficientes para o controle de grilos em plantios de eucalipto.

Atualmente são comercializadas iscas formicidas granuladas com princípio ativo a base de fipronil, sulfuramida, fipronil+sulfuramida, entre outras (REIS *et al.*, 2015). O fipronil (5-amino-1-[2,6-dicloro-4- (trifluormetil) fenil]-4-[(trifluormetil) sulfinil]-1H-pirazol-3-carbonitrila) um inseticida pertencente ao grupo dos fenilpirazóis, age

como antagonista do receptor-GABA (ácido gama aminobutírico), inibindo as atividades do sistema nervoso central. Essa inibição é responsável por ocasionar uma hiperexcitação nos insetos e consequentemente sua morte (COUTINHO *et al.*, 2005).

As iscas a base de sulfuramida (N-ethylperfluoro-octane-1-sulfonamide) apresenta meia vida de 90 a 180 dias, período significativamente menor em relação ao dodecacloro com meia vida de 12 anos (PINHÃO *et al.*, 1993). Além disso, a sulfuramida não deixa resíduos no solo e dependendo da forma de aplicação e condições de uso, apresenta baixo risco ao meio ambiente (PITELLI, 2016). O modo de ação desse ativo é no processo de fosforilação oxidativa, interferindo e interrompendo a produção de Adenosina Trifosfato (ATP) (FORTI *et al.*, 1993).

As iscas formicidas granuladas são comercializadas em embalagens de 500g a 5kg de isca a granel ou em micro porta iscas de 5 a 10g. Seguindo as informações do fabricante, para garantir a eficiência de controle e minimizar o uso de produto químico em campo, é necessário que a aplicação das iscas seja de forma localizada (SIMÕES; LOPES, 2016).

Em razão da necessidade de minimizar o uso de produtos químicos no controle de pragas, visando a redução da exposição dos colaboradores à contaminação direta com inseticidas, um controle mais efetivo e com baixo impacto ambiental (NAGAMOTO *et al.*, 2004; 2007; REIS *et al.*, 2008), as iscas formicidas são ótimas no controle de insetos atraídos pelos grânulos. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o tempo letal e o consumo das iscas formicidas granuladas a base de fipronil, sulfuramida e fipronil+sulfuramida por *G. assimilis* em laboratório.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Criação em laboratório

As matrizes para iniciar a criação dos grilos utilizados nesse trabalho foram provenientes do Biotério de Invertebrados Terrestres da Universidade Federal de Rio Grande. Na UFPel, a criação teve início em fevereiro de 2021 no laboratório de Biologia dos insetos com a supervisão do laboratório de ecologia de insetos (LABEL).

O ambiente de criação foi totalmente higienizado, e os grilos foram mantidos em temperaturas entre 25 a 28°C, umidade relativa de 70 a 80% e fotofase de 12 h. Os grilos foram criados em recipientes de plástico de 20 L forradas lateralmente com telas para troca de ar e umidade. Dentro dos recipientes foram alocadas caixas de ovos de papelão, como abrigo aos insetos.

Os grilos foram alimentados com ração para gatos castrados Golden® (sabor salmão) (Figura 2), composta por farinha de vísceras de frango, farinha de salmão, farelo de glúten de milho, glúten de trigo, proteína isolada de suíno, milho integral moído, quirera de arroz, polpa de beterraba, gordura de frango, óleo de peixe e levedura seca de cervejaria.

A ração oferecida aos grilos foi triturada para facilitar sua alimentação. Juntamente com a ração, também foi disponibilizado diariamente algodão umedecido com água destilada. Para os experimentos, foram utilizados apenas machos e fêmeas adultas.

3.2.2. Análise de sobrevivência

As iscas formicidas granuladas foram adquiridas de forma comercial. Para os testes foram usadas iscas formicidas com diferentes princípios ativos, como a Grão Verde (fipronil 0,01%), Grão Verde FS (fipronil 0,01% + sulfuramida 0,01%) e a Mirex-SD (sulfuramida 0,2%). No experimento foram utilizados recipientes de plástico de um litro com aberturas para troca de ar e umidade. Em cada gaiola foi colocado apenas um indivíduo, juntamente com algodão umedecido com água destilada para que a falta

de umidade não influenciasse no resultado do experimento. No experimento foi utilizado 150 grilos, 75 machos e 75 fêmeas ambos com média de 20 dias de pós-muda imaginal.

Com as iscas foram utilizados três tratamentos, isca fipronil, isca fipronil+sulfuramida e isca sulfuramida. Como controle positivo foi utilizado o fipronil a 1,5% e como controle negativo apenas a farinha de milho. Para os tratamentos controle positivo e negativo foram pesados 500 mg de farinha milho. Quanto as iscas, foram pesadas 120 mg de cada tratamento. Para cada tratamento houve 30 repetições. Todos os tratamentos foram oferecidos em placas de plástico e permaneceram para a alimentação até a morte do último grilo dos tratamentos com controle químico (Figura 10).



Figura 10. Tratamentos químicos usados para o controle de *Gryllus assimilis*. A: Isca Fipronil; B: Isca Sulfuramida; C: Isca Fipronil+Sulfuramida, D: Fipronil 1,5% (misturado a farinha de milho); E: Farinha de milho (controle).

A partir disso, foi observado a mortalidade dos grilos as 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 24, 48, 72 e 96 h após a ingestão das iscas, com o objetivo de avaliar o tempo letal dos tratamentos. Foram considerados mortos os grilos que não apresentaram movimento ao toque com uma pinça.

3.2.3. Eficiência de iscas formicidas granuladas no controle de *Gryllus assimilis*

O experimento seguiu a metodologia descrita acima. Para averiguar diferença significativa na quantidade ingerida entre os tratamentos, as placas foram pesadas antes e após serem oferecidas aos grilos. A eficiência de controle das iscas foi avaliada através da mortalidade dos grilos as 8, 24 e 96 h após a ingestão. Foram considerados mortos os grilos que não apresentaram movimento ao toque com uma pinça.

3.2.4. Análise de dados

Os dados foram testados quanto à normalidade e homocedasticidade e submetidos a análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Também foi realizada a análise de comparação de médias pelo teste de Dunn com ajuste de Bonferroni. A análise de sobrevivência foi avaliada pelo teste não paramétrico de Kaplan-Meier ($p < 0,05$) o qual possibilitou a geração de curvas de sobrevivência do início ao fim do experimento. Também foi realizada uma análise de comparação múltipla pelo teste de Holm-Sidak ($p < 0,05$). O tempo letal médio (TL50) foi encontrado através da Análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, onde foi observado o valor médio no que se refere ao tempo em que os tratamentos levaram para matar 50% da população. As análises foram realizadas por meio *software* R (R CORE TEAM, 2019).

3.3. Resultados

3.3.1. Avaliação do tempo letal de iscas formicidas no controle de *Gryllus assimilis*

A figura 11 representa a curva da função de sobrevivência obtida pela estimativa de Kaplan-Meier. A sobrevivência foi menor com a isca fipronil+sulfuramida (FS) e maior com a isca sulfuramida. Também é possível observar na figura 11 a rapidez nas mortes ocasionadas pelo tratamento FS após a ingestão, com a redução da probabilidade de sobrevivência em razão do tempo. Da mesma forma, observa-se a redução gradativa na mortalidade causada pela isca sulfuramida.

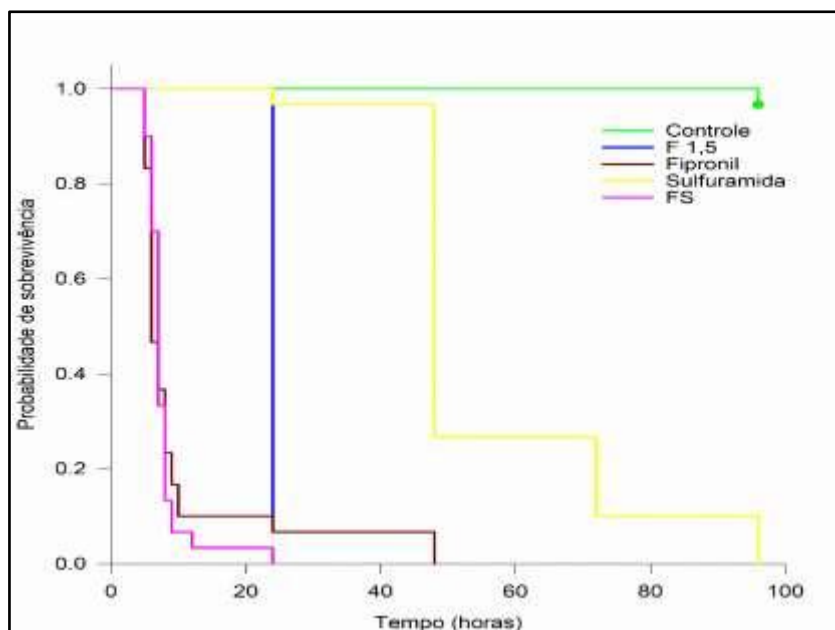


Figura 11. Curvas da função de sobrevivência de Kaplan-Meier para *Gryllus assimilis* após a ingestão de iscas formicidas com diferentes princípios ativos.

Os grilos que consumiram iscas formicidas com a sulfuramida como princípio ativo apresentaram maior tempo de sobrevivência (56 h), enquanto para os indivíduos que consumiram as iscas com fipronil, o tempo letal foi de 10,1 h. Embora a eficiência das iscas sulfuramidas possa ter sido inferior quando comparadas com as iscas fipronil, ao combinarmos os princípios ativos, o tempo letal da isca fipronil+sulfuramida foi de 7,7 h (Tabela 3).

Tabela 3. Tempo letal médio (TL50) em horas de *Gryllus assimilis* após a ingestão de iscas granuladas formicidas.

Tratamentos	TL50	IC 95%
Isca Fipronil+Sulfuramida	7,67 ± 0,62	6,45 – 8,88
Isca Fipronil	10,07 ± 1,98	6,17 - 13,96
Fipronil 1,5%	25,60 ± 1,12	23,42 - 27,78
Isca Sulfuramida	56,00 ± 3,12	49,89 - 62,11
Controle	96,00 ± 0,0	--

Tempo letal obtidos através da análise de Kaplan-Meier, com um intervalo de confiança (IC) de 95%.

Com o teste de Holm-Sidak nota-se diferença significativa entre o tempo letal (TL 50) das iscas formicidas no controle de *G. assimilis* ($P < 0,05$), evidenciando que houve variação no efeito dos diferentes princípios ativos (fipronil, sulfuramida e fipronil+sulfuramida). Apenas a comparação do tempo letal das iscas fipronil e iscas fipronil+sulfuramida não foi significativa ao nível de 5% (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de comparação múltipla de Holm-Sidak obtida pelo tempo letal médio das iscas formicidas no controle de *Gryllus assimilis* em laboratório.

Combinações	Valor P
Controle - Isca Fipronil	<0.05*
Controle - Isca Fipronil	<0.05*
Isca Sulfuramida - Isca Fipronil+Sulfuramida	<0.05*
Controle - Isca Sulfuramida	<0.05*
Controle - Fipronil 1,5%	<0.05*
Fipronil 1,5% - Isca Fipronil+Sulfuramida	<0.05*
Isca Fipronil - Isca Sulfuramida	<0.05*
Fipronil 1,5% - Isca Sulfuramida	<0.05*
Fipronil 1,5% - Isca Fipronil	<0.05*
Isca Fipronil - Isca Fipronil+Sulfuramida	0.726^{NS}

^{NS}: Não significativo a 0,05 de significância; *: Significativo a 0,05 de significância.

3.3.2. Eficiência de iscas formicidas granuladas no controle de *Gryllus assimilis*

Ao avaliar o consumo das iscas, nota-se que houve diferença significativa apenas entre o consumo das iscas com o controle negativo e controle positivo (Fipronil 1,5%). Com isso, a eficiência das iscas não está relacionada a quantidade ingerida, visto que, não houve diferença significativa no consumo entre as iscas formicidas (Tabela 5).

Tabela 5. Consumo médio (\pm EP) de iscas formicidas granuladas a base de Fipronil, Sulfuramida e Fipronil+Sulfuramida por *Gryllus assimilis* em laboratório.

Tratamentos	Consumo
Controle	224,60 \pm 14,39 a
Fipronil 1,5%	112,90 \pm 9,93 b
Isca Fipronil+Sulfuramida	21,29 \pm 10,66 c
Isca Fipronil	10,79 \pm 1,11 c
Isca Sulfuramida	10,64 \pm 1,56 c

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pela análise de Kruskal-Wallis e pós teste de Dunn com ajuste de Bonferroni a 5% de significância.

Mesmo consumindo quantidades similares, as iscas fipronil e fipronil+sulfuramida demonstraram maior eficiência quando comparadas com as iscas sulfuramida, visto que, causaram alta mortalidade oito horas após o consumo das iscas pelos grilos (Tabela 6).

Tabela 6. Mortalidade ocasionada por iscas formicidas a base de Fipronil, Sulfuramida e Fipronil+Sulfuramida em *Gryllus assimilis* após 8, 24 e 96 horas de consumo.

Tratamentos	Mortalidade		
	8 horas	24 horas	96 horas
Isca Fipronil+Sulfuramida	86,66 \pm 6,31 a	100,00a	100,00 \pm 0 a
Isca Fipronil	70,00 \pm 8,51 a	93,33 \pm 4,63 a	100,00 \pm 0 a
Fipronil 1,5%	0 \pm 0 b	93,33 \pm 4,63 a	100,00 \pm 0 a
Isca Sulfuramida	0 \pm 0 b	3,33 \pm 3,33 b	100,00 \pm 0 a
Controle	0 \pm 0 b	0 \pm 0 b	0 \pm 0 b

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si pela análise de Kruskal-Wallis e pós teste de Dunn com ajuste de Bonferroni a 5% de significância.

Após 24 h do consumo, apenas o tratamento com a isca fipronil+sulfuramida atingiu 100% de mortalidade dos indivíduos. Contudo, os tratamentos com a isca fipronil e com o fipronil 1,5% também demonstraram eficiência no controle. Porém, a mortalidade das iscas a base de sulfuramida ainda foi baixa nesse período. Somente após 96 h do consumo, as iscas sulfuramida demonstraram bons resultados no controle dos grilos.

3.4. Discussão

A eficácia das iscas granuladas é influenciada por alguns fatores, sendo um deles a palatabilidade (BARBARA; CAPINERA, 2003). No experimento, foi possível observar que as iscas a base de fipronil, sulfuramida e fipronil+sulfuramida tiveram boa aceitabilidade pelos grilos, demonstrando alta atratividade, assim como para as formigas cortadeiras (ZANUNCIO *et al.*, 1996; ZANETTI *et al.*, 2004; SANTOS, 2010; BUZANINI *et al.*, 2015).

Todas as iscas testadas demonstraram alto potencial de controle dos grilos, visto que todos os tratamentos alcançaram 100% de mortalidade. Quanto ao consumo, as quantidades ingeridas foram similares entre os três princípios ativos presentes nas iscas, indicando que não houve efeito repelente nos tratamentos (BLANK *et al.*, 1985).

Contudo, ao compararmos o tempo letal, observam-se diferenças no tempo de sobrevivência dos grilos ao consumirem as diferentes iscas, visto que, o tempo letal (TL 50) das iscas a base de fipronil, fipronil+sulfuramida e sulfuramida foram de 10, 7 e 56 h, respectivamente. Resultado semelhante ocorreu no experimento de Wakgari (1997) que ao comparar a eficiência de iscas a base de farelo de trigo para o controle de *Schistocerca gregaria*, observou que o tempo letal dos gafanhotos para diflubenzuron e teflubenzuron mostrou-se constante durante o experimento, contudo para fenitrothion o mesmo não ocorreu.

As iscas são um dos meios de controle de pragas mais adequados, devido ao seu custo relativamente baixo e alta eficiência. Quando aplicadas de forma correta são específicas para o inseto alvo e de baixo impacto ambiental (WAKGARI, 1997; TOLLERUP *et al.*, 2004; DELLA LUCIA *et al.*, 2014). Além do fato de não haver a liberação para uso de nenhum inseticida químico para o controle de *G. assimilis* e levando em consideração a taxa de mortalidade dos tratamentos testados nesse experimento, as iscas formicidas granuladas que já são comercializadas possuem um alto potencial de controle desse inseto.

3.5. Considerações finais

As iscas formicidas granuladas a base de fipronil e fipronil+sulfuramida apresentaram alto potencial de controle em curto período de tempo. Embora as iscas formicidas com sulfuramida necessitam de maior tempo para atingir alta mortalidade, também são eficazes no controle de *G. assimilis*. Apesar de serem necessários mais estudos voltados ao controle de grilos com iscas formicidas, esse método se mostra muito promissor, em razão das iscas já serem utilizadas em plantios florestais, visto que é o principal método de controle de formigas cortadeiras.

4. Referências bibliográficas

ABDELBAĞI, A. O.; EL AMIN, M. N. E. H.; HAMMAD, A. M. A. Evaluation of the systemic action of neem (*Azadirachta indica* A. juss) seed products against the desert locust immature *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). **African Journal of Agricultural Research**, v.14, p.1472-1486, 2019.

ADLER, V. E; UEBEL, E. C. Antifeedant bioassays of neem extract against the Carolina grasshopper, walkingstick, and field cricket, Journal of Environmental Science and Health. Part A: **Environmental Science and Engineering**, v. 19, p. 393–403, 1984.

AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 08 Fev. 2022.

AIMIRIM, Plantas e Jardim. Disponível em:<<https://www.lojaaimirim.com.br/terracediatomceasdefensivonaturalsuculentas-25kg/prod-8827400/>>. Acesso em: 27 Mar. 2022.

ANGGRAHINI, S. D.; PUJIATI, P.; WIDYANTO, J. Penyusunan e-book berbasis riset uji efektivitas insektisida dari buah bintaro (*Cerbera odollam*) e daun mimba (*Azadirachta indica*) terhadap mortalitas e waktu lethal jangkrik (*Gryllus bimaculatus*). In: **Prosiding Seminário SIMBIOSE Nasional**, 2020, p. 343-348. Disponível em: <<http://prosiding.unipma.ac.id/index.php/simbiosis/article/view/1776/1517>>. Acesso em: 25 Mar. 2022.

ASSIS, F. A.; MORAES, J. C.; NASCIMENTO, A. M.; FRANÇOSO, J. Efeitos da terra diatomácea sobre *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) em batata inglesa. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 482-486, 2011.

AVEIRO, A. V. D.; CERCAL, M. L. P. M. Eucalipto - DOSSIÊ TÉCNICO. **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas – SBRT**, v. 29, p. 37, 2007.

BARBOSA, L. R.; IEDE, E. T.; SANTOS, F. Caracterização de danos de *Gryllus* sp. em plantas de eucalipto, em laboratório. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.59, p. 63-63, 2009.

BASHIR, E. M.; EL SHAFIE, H. A. Toxicity, antifeedant and growth regulating potential of three plant extracts against the Desert Locust *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera: Acrididae). **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 4, p. 959, 2014.

BERTRAM, S. M; ROOK, V. Relationship between condition, aggression, signaling, courtship, and egg laying in the field cricket, *Gryllus assimilis*. **Ethology**, v.118, p.360–372, 2012.

BITTAR, A. C. **População e danos de gafanhoto desfolhador (Acrididae) em helicônias sob diferentes níveis de sombreamento em Santo Antônio de Pádua, RJ**. Dissertação (Mestrado em Agricultura Orgânica) Instituto de Agronomia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2013.

BLANK, R. H.; BELL, D. S.; OLSON, M. H. Insecticide baits for control of the black field cricket (*Teleogryllus commodus*). New Zealand, **Journal of Experimental Agriculture**, v.13, n.3, p. 263-269, 1985.

BOARETTO, M. A. C.; FORTI, L. C. Perspectivas no controle de formigas cortadeiras. Departamento de Defesa Fitossanitária da FCA/UNESP. **Série técnica IPEF**, v.11, n.30, p 31-46, 1997.

BUZANINI, A. C.; BRANDÃO-FILHO, J. U. T.; BELANI, R.; MARAUS, P. F.; SANTOS, S. S. Eficiência da isca formicida fipronil 0,03 g.kg-1 no controle da formiga-caiapó (*Acromyrmex subterraneus subterraneus* Forel, 1893) em condições de campo. In: **Encontro Internacional de Produção Científica UniCesumar**. n. 9, p. 4-8, 2015.

CALDEIRA, M. V. W.; GONÇALVES, E. O.; WENDLING, I.; MARTINS, R. C. C. Produção de mudas. In: SCHUMACHER, M. V.; VIEIRA, M. Silvicultura do eucalipto no Brasil. Santa Maria, **Editora UFSM**, p. 49-82, 2015.

CAPINERA, J. L.; FROEBA, J. G. Behavioral Responses of *Schistocerca americana* (Orthoptera: Acrididae) to Azadiractin (Neem)-Treated Host Plants. **Journal Economic Entomology**, v. 100, p. 117-122, 2007.

CARRANO-MOREIRA, A. F. (Ed) Manejo integrado de pragas florestais: fundamentos ecológicos, conceitos e táticas de controle. **Technical Books**, p. 349, 2014.

CASTEDO, C. C. B. Especies de Orthoptera que atacan plantaciones de *Eucalyptus* recién implantadas en el Distrito de Areguá, Departamento Central, Paraguay. **Boletín del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay**, v .2, p. 67-72, 2018.

CIGLIANO, M. M.; BRAUN, H.; EADES, D. C.; OTTE, D. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Disponível em :<<http://orthoptera.speciesfile.org/>>. Acesso em: 21 Mar. 2022.

COUTINHO, C. F. B.; TANIMOTO, S. T.; GARBELLINI, G. S.; TAKAYAMA, M.; AMARAL, R. B.; MAZO, J. H.; MACHADO, S. A. S. Pesticidas: Mecanismo de Ação, degradação e toxidez. Pesticidas: Revista de ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v.15, p 65-72, 2005.

DAVID, J. A. D. O.; ZEFA, E.; FONTANETTI, C. S. Cryptic species of *Gryllus* in the light of bioacoustic (Orthoptera: Gryllidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n.1, p. 75-80, 2003.

DE QUEIROZ, D. L.; SOLIMAN, E. P.; BURCKHARDT, D. Principais pragas em viveiros de mudas de eucalipto. **NOVO MANUAL DE PRAGAS FLORESTAIS BRASILEIRAS**. Embrapa Florestas, p. 230-261, 2021.

DELLA LUCIA, T. M.; GANDRA, L. C.; GUEDES, R. N. Managing leaf-cutting ants: peculiarities, trends and challenges. **Pest Management Science**, v. 70, n. 1, p. 14-23, 2014.

EBEID, A. R.; RAHMAN, A. A.; GESRAHA, M. A. Impact of Diatomaceous Earth (Silica nano-particles) on Alfalfa Grasshopper, *Heteracris littoralis* (Rambur)(Orthoptera: Acrididae) under Laboratory Conditions. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 23, p. 325, 2013.

ERTÜRK, S.; ATAY, T.; TOPRAK, U.; ALKAN, M. The efficacy of different surface applications of wettable powder formulation of Detech® diatomaceous earth against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 89, p. 101, 2020.

FARIA, M. R.; MAGALHÃES, B. P.; ALVES, R. T.; SCHMIDT, F. G. V.; SILVA, J. B. T.; FRAZÃO, H. Effect of two dosages of *Metarhizium var. acridum* against *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 9, 2022.

FERNÁNDEZ-ARHEX, V.; BUTELER, M.; AMADIO, M. E.; ENRIQUEZ, A.; PIETRANTUONO, A. L.; STADLER, T.; BRUZZONE, O. The effects of volcanic ash from Puyehue-Caulle range eruption on the survival of *Dichroplus vittigerum* (Orthoptera: Acrididae). **Florida Entomologist**, v. 96, p. 286-288, 2013.

FERREIRA, A. G.; MARTINS, J. K. D.; SANTOS, W. P.; RODRIGUES, D. O.; DO CARMO, M. C. Uso de extratos aquosos (nim, eucalipto e fumo) no controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*). **AGRARIAN ACADEMY**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.5, n.9. p. 437, 2018.

FILHO, O. P.; DORVAL, A.; FILHO, B. E. A entomofauna associada à Teca, *Tectona grandis* L. f. (Verbenaceae), no Estado de Mato Grosso. **Revista Científica Eletônica de Engenharia Florestal**. Piracicaba, n. 12, p. 58, 2006.

FORTI, L. C.; PINHÃO, M. A. S.; YASSU, W. K.; PRETTO, D. R.; NAGAMOTO, N. S. Pesquisas com Sulfluramida, no período de 1989 a 1993, para o controle de *Atta* spp. Anais do IV International Symposium on Pest Ants – XI Encontro de Mirmecologia. Belo Horizonte, MG, p.23, 1993.

GAD, H. A.; AL-ANANY, M. S.; ATTA, A. A.; ABDELGALEIL, S. A. Efficacy of low-dose combinations of diatomaceous earth, spinosad and *Trichoderma harzianum* for the control of *Callosobruchus maculatus* and *Callosobruchus chinensis* on stored cowpea seeds. **Journal of Stored Products Research**, v. 91, p. 101-778, 2021.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; OMOTO, C. Entomologia agrícola. **Piracicaba, FEALQ**, (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 10), p. 920, 2002.

GIOLO, R.; SENÔ, K. C. A.; FREITAS, A. L.; COSTA, B. O. G.; PELOSI NETTO, F. J. Extrato aquoso de *Azadirachta indica* A. Juss no controle de *Alphitobius diaperinus* Panzer. **Nucleus**, v. 10, p. 165-172, 2013.

GONÇALVES, J. C.; OLIVEIRA, A. D.; CARVALHO, S. P. C.; GOMIDE, L. R.; Análise econômica da rotação florestal de povoamentos de eucalipto utilizando a simulação de Monte Carlo. **Ciência Florestal**, v. 27, n. 4, p. 1339-1347, 2017.

GRODZKI, R. M. *Gryllus assimilis*: Danos causados e métodos de combate. **Revista Floresta**, v, 4, p.34–37, 1972.

GUERRA, P. A.; POLLACK, G. S. A life history trade-off between flight ability and reproduction behavior in male field crickets (*Gryllus texensis*). **Journal of Insect Behavior**, v.20, p. 377–387, 2007.

HALDER, J.; KUSHWAHA, D.; RAI, A. B.; SINGH, A.; SINGH, B. Potential of entomopathogens and neem oil against two emerging insect pests of vegetables. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 87, p. 220, 2017.

HOSNY, A. K. H. **Biological and Chemical Control of Desert Locust and Grasshoppers in Egypt**. (Doctor of Philosophy In Agricultural Sciences) Faculty of Agriculture, Cairo University, 2012.

IBÁ – Indústria Brasileira de Árvores. Relatório Anual IBA 2021. São Paulo. 2021. Disponível em: < <https://iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/relatorioiba2021-compactado.pdf>>. Acesso em: 16 Jan. 2022.

ISMAN, M. B. Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. **Phytoparasitica**, v. 25, p. 339-344, 1997.

KALMUS, H. Action of inert dusts on insects. **Nature**. v. 153, p. 714-715, 1944.

KAMARAJ, C.; GANDHI, P. R.; ELANGO, G.; KARTHI, S.; CHUNG, I. M.; RAJAKUMAR, G. (2017). Novel and environ-mental friendly approach; impact of neem (*Azadirachta indica*) gum nano formulation (NGNF) on *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Spodoptera litura* (Fab.). **International Journal of Biological Macromolecules**, v.107, p. 59-69, 2017.

KEYSER, C. A.; FERNANDES, É. K.; RANGEL, D. E.; FOSTER, R. N.; JECH, L. E.; REUTER, K. C.; ROBERTS, D. W. Bioensaios de laboratório e ensaios em gaiola de campo de *Metarhizium* spp. isolados com grilos mórmons (*Anabrus simplex*) coletados em campo. **BioControl**, v. 62, p. 257-268, 2017.

KHAN, J.; ANJUM, S.; KHAN, I.; REHMAN, F. U.; KHAN, A. Larvicidal and development retarding effects of hexane crude extract of *Otostegia limbata* on 3rd instar larvae of *Drosophila melanogaster* meign (Diptera: Drosophilidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, p. 06-09, 2015.

KORUNIC, Z. K. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. **Journal of Stored Products Research**, v. 34, n. 2-3, p. 87-97, 1998.

KORUNIĆ, Z. K.; ROZMAN, V.; LIŠKA, A.; LUCIĆ, P. A review of natural insecticides based on diatomaceous earths. **Poljoprivreda**, v. 22, p. 10-18, 2016.

LIMBERGER, G. M. **Análise morfofisiológica associada à reprodução e envelhecimento de *Gryllus assimilis* (fabricius, 1775) (Orthoptera: Gryllidae)**. 2018. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas: Fisiologia Animal Comparada) - Curso de Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande, 2018.

LOMER, C. J.; PRIOR, C.; KOOYMAN, C. Development of *Metarhizium* spp. for the control of grasshoppers and locusts. **The Memoirs of the Entomological Society of Canada**, v. 129, n. S171, p. 265-286, 1997.

MAFIA, R. G.; LOUREIRO, E. B.; SILVA, J. B.; SIMÕES, J. A. C.; ZARPELON, T. G.; JUNIOR, N. B.; DAMACENA, M. B. A New light trap model as an alternative for controlling pests in *Eucalyptus* plantations. **Neotropical Entomology**, v. 47, p. 326-328, 2018.

MAGALHÃES, B. P. Microbial control of grasshopper in Brasil with the use of entomopathogenic fungi. In: MARTINS, M. T. et al (eds). **Progress in Microbial Ecology**. Santos –SP, SBM/ICOME, p. 429-33, 1997.

MAGALHÃES, B. P.; LECOQ, M.; FARIA, M. R.; DE SCHMIDT, F. G. V.; GUERRA, W. D. Field trial with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* against bands of the grasshopper *Rhammatocerus schistocercoides* in Brasil. **Biocontrol Science and Technology**, v. 10, n. 4, p. 427-441, 2000.

MAMADOU, A.; SARR, M. Impact of two Insecticides used in the control of the Desert Locust on *Psammotermes hybostoma* Desneux (Isoptera: Rhinotermitidae) in Niger. **African Entomology**, v. 17, p. 147-153, 2009.

MARTINS, T. Z.; OLIVEIRA, N. C. Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) no milho pipoca (*Zea mays* L) tratado com terra de diatomácea. **Campo Digital**, Campo Mourão, v.1, p.79-85, 2008.

MASSON, M. V.; DE SOUZA TAVARES, W.; ALVES, J. M.; FERREIRA-FILHO, P. J.; BARBOSA, L. R.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C. Bioecological aspects of the common black field cricket, *Gryllus assimilis* (Orthoptera: Gryllidae) in the laboratory and in *Eucalyptus* (Myrtaceae) plantations. **Journal of Orthoptera Research**, v. 29, p. 83-89, 2020.

MAUTE, K.; FRENCH, K.; STORY, P.; BULL, C. M.; HOSE, G. C. Effects of two locust control methods on wood-eating termites in arid Australia. **Journal of Insect Conservation**, v. 20, p. 107-118, 2016.

MOLLASHAHI, H.; MIRSHEKARI, A.; GHORBANI, M.; TARRAH, A. Insecticidal effect of the fruit extract bitter melon (*Citrullus colocynthis*) on locust *Chrotogonus trachypterus* (Orth: Pyrgomorphidae). **Biosciences Biotechnology Research Asia**, v. 14, p. 1285-1289, 2017.

MORGAN, E. D. Azadirachtin, a scientific gold mine. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 4096-4105, 2009.

NAGAMOTO, N. S.; FORTI, L. C.; ANDRADE, A. P. P.; BOARETTO, M. A. C.; WILCKEN, C. F. Method for the evaluation of insecticidal activity over time in *Atta sexdens rubropilosa* workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Chicago, v. 44, n. 2, p. 413–432, 2004.

NAGAMOTO, N. S.; FORTI, L. C.; RAETANO, C. G. Evaluation of the adequacy of dixubenzuron and dechlorane in toxic baits for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) based on formicidal activity. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 80, n. 1, p. 9–13, 2007.

ORIGINAL NIM. Disponível em: <<https://originalnim.com.br/sobre-oleo-de-neem-oleo-de-nim-original-nim-azadiractina/>>. Acesso em: 12 Fev. 2022.

PINHÃO, M. A. S.; FORTI, L. C.; YASSU, W. K.; NAGAMOTO, N. S. Mirex-S (sulfluramid): urna sulfona fluoroaliftica para o controle de *Atta* (Hymenoptera: Formicidae). **Anais do 14º Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Piracicaba, São Paulo, p. 511, 1993.

PINTO JÚNIOR, A. R.; LAZZARI, F. A.; LAZZARI, S. M. N. Controle de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera:Bruchidae) com diferentes doses de terra de diatomácea (dióxido de sílica). **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v.3, p.75-79, 2005.

PITELLI, R.A. Estudos ambientais relativos ao uso da sulfluramida no controle de formigas cortadeiras em cultivos de eucalipto. In: **6º Workshop de Formigas Cortadeiras**. Piracicaba, 2016.

POLLACK, G. S.; KIM, J. S. Fonotaxia seletiva para alta taxa de pulso sonoro no grilo *Gryllus assimilis*. **Journal of Comparative Physiology**, v. 199, n. 4, p. 285-293, 2013.

R CORE TEAM (2019). R: A language and environment for statistical computing 2019. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 20 Dez. 2022.

RAMANUJAM, B.; KANDAN, A.; POBRESHA, B.; SHYLESHA, A.; GANDHI, G.; MOHAN, M. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on Aak grasshopper, *Poekilocerus pictus* Fabr. (Orthoptera: Acrididea). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 42, n. 2, p. 2023-2026, 2022.

REIS, M. A.; RODRIGUEZ, C. J. P. A.; ZANETTI R.; FERNANDES, B. V.; REIS, J. M. R. Mechanized systematic application of granulated ants baits in eucalyptus plantations in maintenance phase. **Cerne**, v. 2, n. 3, p. 423-428, 2015.

REIS, M. A.; ZANETTI, R.; SCOLFORO, J. R. S.; FERREIRA, M. Z.; ZANUNCIO J. C. Sampling of leaf-cutting ant nests (Hymenoptera: Formicidae) in eucalyptus plantations using quadrant and Prodan methods. **Sociobiology**, Chicago, v. 51, n. 1, p. 21-29, 2008.

ROYCHOUDHURY, R. Neem Products. **Ecofriendly Pest Management for Food Security**, Academic Press, cap. 18, p. 545–562, 2016.

SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; PIRES, E. M. Pragas do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, n. 242, p. 43-64, 2008.

SANTOS, M. P. A. Avaliação do formicida citromax à base de fipronil no combate às saúvas (*Atta sexdens*). **Revista Controle Biológico** (BE-300), vol.2. 2010.
Disponível: < http://www.ib.unicamp.br/profs/eco_aplicada/>. Acesso em: 13 Mar. 2022.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree: *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v. 35, p. 271–297, 1990.

SCUDELER, E. L.; DOS SANTOS, D. C. Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). **Micron**, v. 44, p. 125-132, 2013.

SILVA, F. R. J.; MARQUES, M. I.; BATTIROLA, L. D.; LHANO, M. G. Fenologia de *Cornops aquaticum* (Bruner) (Orthoptera: Acrididae) em *Eichhornia azurea* (Pontericaceae) no Norte do Pantanal de Mato Grosso. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 535-542, 2010.

SILVA, J. B. T.; LECOQ, M.; FOUCART, A.; FARIA, M. R.; SCHMIDT, F. G. V.; ALVES, R. T.; FRAZÃO, H. Testes de campo com o fungo *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, com ênfase no efeito sobre gafanhotos não-alvo e comparação com Fenitrothion. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-**Comunicado Técnico 139**, Brasília – DF. ISSN 9192-0099, 2005.

SILVA, J. C. Manual Prático do fazendeiro florestal: produzindo madeira com qualidade. 3º Edição, **Editora Viçosa**, Minas Gerais, p. 106, 2011.

SILVEIRA, J. A.; SOUTO, H. N.; MIRANDA FILHO, R.; FERREIRA, Q. C.; RIBEIRO, F. A. Levantamento preliminar qualitativo das ordens e das espécies de invertebrados em diferentes estágios de crescimento de eucalipto *Eucalyptus grandis*, no município de Monte Carmelo – MG. **Revista GETEC**, v. 3, p. 74–82, 2014.

SIMÕES, M.F.S; LOPES, T.C. Saúva Club. Formigas Cortadeiras. **Aplicativo**. 2016.

STADLER, T.; BUTELER, M.; WEAVER, D. K. Nanoinsecticidas: Nuevas perspectivas para el control de plagas. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**. Argentina, v. 69, n. 3-4, p. 149-156, 2010.

STEFANAZZI, N.; STADLER, T.; BUTELER, M.; FERRERO, A. A. Actividad fagodisuasiva y efectos sobre la fisiología nutricional de nanoinsecticidas en insectos plaga del grano almacenado. **2ª Reunion Conjunta de Sociedades de Biología de la Republica Argentina**. San Juan. 2012.

TOLLERUP, K. E.; RUST, M. K.; DORSCHNER, K. W.; PHILLIPS, P. A.; KLOTZ, J. H. Low-toxicity baits control ants in citrus orchards and grape vineyards. **California Agriculture**, v. 58, n. 4, p. 213-217, 2004.

VIJAYALAKSHMI, K.; GAUR, H. S.; GOSUREMI, B. K. Neem for the control of plant parasitic nematodes. **Neem Newsletter**, v. 2, p. 35-42, 1985.

WAKGARI, W. A comparison of efficacies of bran-based baits containing diflubenzuron, teflubenzuron, and fenitrothion against desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). **International Journal of Pest Management**, v. 43, n. 2, p.163-167, 1997.

WIGGLESWORTH, V. B. Action of inert dusts on insects. **Nature**, v.153, p. 493-494, 1944.

ZANETTI, R.; DIAS, N.; REIS, M.; SOUZA-SILVA, A.; MOURA, M. A. Eficiência de iscas granuladas (sulfluramida 0, 3%) no controle de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 4, p. 878-882, 2004.

ZANUNCIO, J. C.; CRUZ, A. P.; SANTOS, D. F.; OLIVEIRA, M. A. Eficiência da isca mirex-s (sulfuramida 0,3%) no controle de *Atta cephalotes* (Hymenoptera: formicidae) em três dosagens. **ACTA AMAZÔNICA**, v. 26, p. 115-120, 1996.