

Efeito de bioinseticidas formulados a partir de fungos entomopatogênicos sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em laboratório

Effect of bioinsecticides formulated from entomopathogenic fungi on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in laboratory

Efecto de bioinseticidas formulados a partir de hongos entomopatógenos en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) en laboratorio

Recebido: 29/07/2022 | Revisado: 16/08/2022 | Aceito: 17/08/2022 | Publicado: 25/08/2022

Cristiano Sikorski

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5971-3836>
Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil
E-mail: sikorski.cristiano@hotmail.com

Alex Sandro Poltronieri

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4906-5273>
Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil
E-mail: alex.poltronieri@ufsc.br

Resumo

O gorgulho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas do milho armazenado. O uso de inseticidas sintéticos é a principal estratégia para o seu manejo, podendo ocasionar efeitos indesejados como a seleção de insetos resistentes e resíduos. Nesse cenário, a busca por produtos menos impactantes é desejável. Este trabalho avaliou a ação letal e subletal de bioinseticidas formulados a partir de *Beauveria bassiana* (Boveril[®]), *Metarhizium anisopliae* (Metarril[®]) e *Isaria fumosorosea* (Octane[®]) sobre *S. zeamais*. As avaliações do efeito letal revelaram que pós 240 horas da exposição por contato direto a uma concentração de $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹, Boveril[®] causou uma mortalidade de 77%, sendo superior à verificada para Metarril[®] (10,8%) e Octane[®] (9,4%). O contato residual com $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹ causou uma mortalidade máxima de 5% para os bioinseticidas avaliados. A avaliação de efeitos subletais não indicou diferenças significativas nas taxas instantâneas de crescimento (r_t) das populações de *S. zeamais* mantidas por 90 dias em substrato pulverizado com $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹ de cada um dos bioinseticidas e um controle onde foi empregado água destilada esterilizada. No teste de atratividade com chance de escolha, o tratamento Boveril[®] apresentou 11,2% de insetos, indicando possível repelência, não ocorrendo diferenças entre os demais bioinseticidas e o controle formado por água destilada esterilizada. Boveril[®] foi mais promissor entre os bioinseticidas testados, apresentando uma provável repelência e causando uma mortalidade significativa de *S. zeamais* via contato direto.

Palavras-chave: Controle Biológico; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; *Isaria fumosorosea*; Grãos Armazenados.

Abstract

The weevil *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) is one of the main pests of stored corn. The use of synthetic insecticides is the main strategy for its management, which can cause unwanted effects such as the selection of resistant insects and residues. In this case, the search for less impactful products is desirable. This work evaluated the lethal and sublethal action of bioinsecticides formulated from *Beauveria bassiana* (Boveril[®]), *Metarhizium anisopliae* (Metarril[®]) and *Isaria fumosorosea* (Octane[®]) over *S. zeamais*. The lethal effect evaluations revealed that after 240 hours of exposure by direct contact at a concentration of 1.0×10^7 conidia.mL⁻¹, Boveril[®] caused a mortality of 77%, being higher than that verified for Metarril[®] (10.8 %) and Octane[®] (9.4%). Residual contact with 1.0×10^7 conidia.mL⁻¹ caused a maximum mortality of 5% for the evaluated bioinsecticides. The evaluation of sublethal effects didn't indicate significant differences in the instantaneous growth rates (r_t) of *S. zeamais* populations held for 90 days in substrate sprayed with 1.0×10^7 conidia.mL⁻¹ of each of the bioinsecticides and a control where sterilized distilled water was used. In the conventional choice attractiveness test, the Boveril[®] treatment presented 11.2% of insects, indicating possible repellency, with no differences between the other bioinsecticides and the control formed by sterilized distilled water. Boveril[®] was the most promising among the tested bioinsecticides, showing a probable repellency and causing a significant mortality of *S. zeamais* via direct contact.

Keywords: Biological Control; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; *Isaria fumosorosea*; Stored Grains.

Resumen

El gorgojo *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) es una de las principales plagas del maíz almacenado. El uso de insecticidas sintéticos es la principal estrategia para su manejo, lo que puede ocasionar efectos no deseados como la selección de insectos resistentes y residuos. En este escenario, es deseable la búsqueda de productos de menor impacto. Este trabajo evaluó la acción letal y subletal de bioinsecticidas formulados a partir de *Beauveria bassiana* (Boveril[®]), *Metarhizium anisopliae* (Metarril[®]) e *Isaria fumosorosea* (Octane[®]) sobre *S. zeamais*. Las evaluaciones del efecto letal revelaron que después de 240 horas de exposición por contacto directo a una concentración de $1,0 \times 10^7$ conidios.mL⁻¹, Boveril[®] provocó una mortalidad del 77 %, siendo superior a la verificada para Metarril[®] (10,8 %) y Octane[®] (9,4%). El contacto residual con $1,0 \times 10^7$ conidios.mL⁻¹ provocó una mortalidad máxima del 5% para los bioinsecticidas evaluados. La evaluación de efectos subletales no indicó diferencias significativas en las tasas de crecimiento instantáneo (r_i) de las poblaciones de *S. zeamais* mantenidas por 90 días en sustrato rociado con $1,0 \times 10^7$ conidios.mL⁻¹ de cada uno de los bioinsecticidas y un control donde se utilizó agua destilada esterilizada. En la prueba de Prueba de elección de atractivo, el tratamiento Boveril[®] presentó 11,2% de insectos, indicando posible repelencia, sin diferencias entre los demás bioinsecticidas y el testigo formado por agua destilada esterilizada. Boveril[®] fue el más prometedor entre los bioinsecticidas probados, mostrando una probable repelencia y provocando una mortalidad significativa de *S. zeamais* por contacto directo.

Palabras clave: Control Biológico; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; *Isaria fumosorosea*; Granos Almacenados.

1. Introdução

O milho (*Zea mays*) é uma das plantas mais cultivadas no Brasil, com uma produção de 115,2 milhões de toneladas na safra 2021/2022 (Conab, 2022). O seu armazenamento é uma das etapas mais importantes para sua conservação, entretanto um dos fatores críticos no armazenamento é ocorrência de insetos-praga. O gorgulho *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) é uma das pragas mais importantes do milho armazenado, apresentando elevado potencial biótico e capacidade de atacar grãos tanto no campo quanto em armazéns ou silos (Lorini *et al.*, 2015).

O controle químico é uma das principais estratégias para o manejo de *S. zeamais*. Entre os produtos mais utilizados estão os inseticidas pertencentes aos grupos químicos dos piretroides, organofosforados, além de fumigantes como fosfeto de alumínio e magnésio (Agrofit, 2021). Entretanto, o uso destes produtos pode causar efeitos indesejados como persistência ambiental, resíduos em grãos, contaminação humana, seleção de insetos resistentes e elevação de custos devido ao uso recorrente de tratamentos fitossanitários (Andrade JR. *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2003; Daglish, 2004; Pereira *et al.*, 2009; Pimentel *et al.*, 2009).

O controle biológico por meio de fungos entomopatogênicos (FE) é uma ferramenta promissora no manejo de *S. zeamais* em grãos armazenados. Dentre os FE com potencial para o manejo do gorgulho está *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok, e *Isaria fumosorosea* (Wize) (Rondelli *et al.*, 2012; Potrich *et al.*, 2006, Agostini *et al.*, 2015). Embora trabalhos reportarem a ação de FE em pragas de grãos armazenados, a grande maioria avalia isolados obtidos a partir de culturas monospóricas. Apesar de importante para identificação e seleção de *strains* promissores de FE, esses resultados não refletem a ação de produtos formulados. Além disso, os resultados focam na ação letal causada por FE não considerando a ação subletal sobre os insetos. Efeitos subletais comprometem parâmetros biológicos, fisiológicos, comportamentais e demográficos que afetam o indivíduo, causando o declínio da população (Desneux *et al.*, 2007; França *et al.*, 2017), sendo tão importantes para avaliação da eficiência de um FE quanto a avaliação de efeitos letais.

Diante da lacuna de informações sobre os efeitos letais e subletais de produtos formulados a partir de FE sobre *S. zeamais*, este trabalho avaliou a ação letal e subletal de bioinsecticidas formulados a partir de *Beauveria bassiana* (Boveril[®]), *Metarhizium anisopliae* (Metarril[®]) e *Isaria fumosorosea* (Octane[®]) sobre *S. zeamais* em laboratório.

2. Material e Métodos

2.1 Criação de *Sitophilus zeamais* em laboratório

Para obter uma população, 200 adultos previamente identificados como *S. zeamais*, foram inoculados em gaiolas plásticas (2000 mL), contendo 500g de milho. A criação foi mantida em condições controladas de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, Umidade Relativa (UR): 70% e fotofase de 12h.

2.2 Bioinseticidas

Foram empregados os bioinseticidas formulados a partir de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea*, disponibilizados como Pó Molhável (WP) e Suspensão Concentrada (SC) pela Koppert Biological Systems (<https://www.koppert.com.br>) (Tabela 1).

Tabela 1. Bioinseticidas comerciais formulados a partir de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea* sendo disponibilizado comercialmente como Pó Molhável (WP) e Suspensão Concentrada (SC).

Nome comercial	Ingrediente ativo	Concentração
Boveril® WP	<i>Beauveria bassiana</i>	$1,00 \times 10^8$ conídios viáveis g^{-1}
Metarril® WP	<i>Metarhizium anisopliae</i>	$1,39 \times 10^8$ conídios viáveis g^{-1}
Octane® SC	<i>Isaria fumosorosea</i>	$2,50 \times 10^9$ conídios viáveis mL^{-1}

Fonte: Autores.

2.3 Bioensaios

2.3.1 Contato direto

A avaliação da patogenicidade por contato direto foi adaptada de Potrich *et al.*, (2006). Adultos não sexados de *S. zeamais*, com até 15 dias de vida, foram pulverizados com 1 ml de uma suspensão contendo $1,0 \times 10^7$ conídios. mL^{-1} de cada um dos bioinseticidas e um controle formado por água destilada esterilizada. Após a pulverização, os insetos foram acondicionados em placas de Petri com 10 g de milho e mantidos em condições controladas ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: 70% e fotofase de 12h).

As avaliações de mortalidade ocorreram em intervalos de 24 h durante 10 dias. Durante as vistorias, os insetos foram estimulados com o auxílio de um pincel de cerdas finas e observados. Aqueles que não reagiram ao estímulo foram considerados mortos. Os insetos mortos foram individualizados em câmara úmida e mantidos a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: 70% e ausência de luz por 15 dias, para extrusão do patógeno e confirmação do agente causal. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo formado por quatro tratamentos (Boveril®, Metarril®, Octane® e controle) e 10 repetições. Cada repetição foi formada por uma placa de Petri contendo 10 g de milho com 10 adultos de *S. zeamais*.

2.3.2 Contato residual

A avaliação da patogenicidade por contato residual foi adaptada de Pimentel *et al.* (2015). Para isso, 4,0 Kg de grãos foram divididos em duas porções de 2,0 Kg. Cada porção foi distribuída de modo homogêneo em uma bandeja plástica (50×30 cm), obtendo-se uma camada uniforme. As massas de grãos foram pulverizadas, uma com 2,0 mL ou 6,0 mL de uma solução contendo $1,0 \times 10^7$ conídios. mL^{-1} de cada um dos bioinseticidas e um controle (água destilada esterilizada), correspondendo a uma aplicação de 1,0 e 3,0 litros de calda em uma massa de 1000 Kg de grãos. As pulverizações foram

realizadas por meio de um pulverizador manual a uma distância de 20 cm da massa de grãos. Durante a pulverização, a massa de grãos foi vigorosamente homogeneizada por cinco minutos. Após a homogeneização, 50 g de grãos de milho foram acondicionadas em gaiolas plásticas (50 mL). Em cada gaiola foram inoculados 10 insetos adultos, não sexados, de *S. zeamais*, com até 15 dias de idade. Após a inoculação dos adultos, as gaiolas foram mantidas em condições controladas ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: 70% e fotofase de 12h). A metodologia de avaliação da mortalidade e o delineamento experimental adotados foram os mesmos adotados para a avaliação de mortalidade do contato direto, reportados anteriormente.

2.3.3 Taxa instantânea de crescimento (r_i)

O efeito subletal dos bioinseticidas foi avaliado considerando os parâmetros demográficos de *S. zeamais*, de acordo com metodologia adaptada de Pereira *et al.* (2009). Para isso, uma massa contendo 2,0 Kg de grãos de milho foi previamente pulverizada com uma concentração de $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹, conforme descrito anteriormente, de cada um dos bioinseticidas, além de um controle formado por água destilada esterilizada. Após a pulverização a massa de grãos foi homogeneizada por cinco minutos e posteriormente foram acondicionadas 50 g em uma gaiola plástica (50 ml). Após uma hora da pulverização, foram introduzidos 11 adultos não sexados de *S. zeamais*, com até quinze dias de vida, no interior de cada gaiola. As gaiolas foram mantidas em condições controladas ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: 70% e fotofase de 12h). Após 90 dias foram iniciadas as avaliações sobre os parâmetros de desenvolvimento populacional de *S. zeamais*. Para isso foi utilizada a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), descrita por Stark *et al.* (1997) e Walthall e Stark (1997):

$$r_i = \frac{[\ln(N_f - N_0)]}{\Delta t}$$

Onde: r_i = Taxa instantânea de crescimento, N_0 = Número inicial de indivíduos, N_f = Número final de indivíduos e Δt = Período de duração do experimento.

Os valores de N_f de cada gaiola foram transformados pela somatória de 0,1 na presença de N_f igual a zero e N_f maior que zero num mesmo tratamento, pois quando N_f é igual a zero não é possível estimar a taxa instantânea de crescimento (r_i) (Stark & Banken, 1999). Este experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo formado por quatro tratamentos e dez repetições. Cada repetição foi formada por uma gaiola (50 ml) contendo 50 g de milho previamente tratado com cada um dos quatro tratamentos e 11 adultos de *S. zeamais*.

2.3.4 Teste de atratividade (com chance de escolha)

Para realização deste bioensaio foi empregada uma metodologia adaptada de Guzzo *et al.* (2002) e Nunes & Rizental (2015). Para isso, uma gaiola plástica (50 ml) teve fixada ao seu redor, de modo equidistante, quatro gaiolas (50 ml). Cada uma das quatro gaiolas se ligava a gaiola central por meio de um tubo transparente com 2 cm de comprimento e 0,5cm de Ø. No interior de cada gaiola lateral foi acondicionado 10g de milho previamente pulverizado com 1,0 ml de uma solução contendo $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹ de Boveril[®], Metarril[®], Octane[®], além de um controle onde foi empregado água destilada esterilizada. Posteriormente 20 adultos de *S. zeamais*, não sexados, foram liberados no interior da gaiola central. As gaiolas foram mantidas em condições controladas ($26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR: 70% e fotofase de 12 h).

Após 24 h efetuou-se a contagem dos adultos de *S. zeamais* em cada uma das massas de grãos. Este experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo formado por quatro tratamentos e dez repetições. Cada repetição foi formada por cinco gaiolas (uma gaiola central interligada com quatro gaiolas laterais).

2.4 Análises Estatísticas

A mortalidade de *S. zeamais*, expostos via contato direto ou residual aos bioinseticidas Boveril[®], Metarril[®], Octane[®] foi corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Posteriormente os dados foram transformados por arcsen da raiz quadrada para normalização das distribuições e homogeneidade das variâncias (Haddad & Vendramin, 2000). Os dados de mortalidade transformados e o percentual de adultos de *S. zeamais* obtidos no teste de atratividade (com chance de escolha) foram submetidos a análise de variância (One-Way ANOVA) e as interações significativas pelo teste *F* tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) (ZAR, 2009).

As diferenças entre as taxas instantâneas de crescimento (r_i) de *S. zeamais* expostos aos bioinseticidas foram comparadas por meio de Modelos Lineares Generalizados ($p < 0,05$). Os valores de r_i também foram comparados entre os tratamentos: r_i positivo = houve crescimento populacional; r_i zero = estabilidade populacional; r_i negativo = população em declínio com provável extinção (Walthall; Stark, 1997 & Hall, 1964). Para todas as análises foi usado o programa estatístico Minitab 18.0 (Statte College, PA).

3. Resultados

O contato direto de *S. Zeamais* indicou que Boveril[®] foi o bioinseticida mais letal entre os produtos avaliados. Após 24h da exposição, Boveril[®] causou uma mortalidade 92% superior a verificada para Metarril[®] e 79% superior a causada por Octane[®] (Tabela 2). Após 240h Boveril[®] registrou uma mortalidade de 77%, com um incremento de 69% quando comparado a primeira avaliação (Tabela 2). Metarril[®] causou uma mortalidade de 1,8% após 24h da exposição, sendo que após 240h a mortalidade foi de 10,8%, com um incremento de 83% (Tabela 2). Do mesmo modo, Octane[®] causou uma mortalidade de 5% após 24h e de 9,4% após 240h da exposição, acumulando uma mortalidade entre a primeira e última avaliação de 41,7% (Tabela 2). Apesar do aumento significativo na mortalidade de *S. zeamais* após 240h da exposição, Boveril[®] se destacou sobre os demais bioinseticidas com uma mortalidade 86% superior a Metarril[®] e 88,8% superior a Octane[®] (Tabela 2).

Tabela 2 - Mortalidade (%) (\pm Erro Padrão da Média) de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) expostos via contato direto a $1,0 \times 10^7$ esporos mL⁻¹ dos bioinseticidas Boveril[®] (*Beauveria bassiana*), Metarril[®] (*Metarhizium anisopliae*) e Octane[®] (*Isaria fumosorosea*).

Horas após exposição	Tratamento			F	p-valor
	Boveril [®]	Metarril [®]	Octane [®]		
24	23,8 ($\pm 6,0$) a*	1,8 ($\pm 1,2$) b	5,0 ($\pm 2,7$) b	9,38	0,001
48	31,7 ($\pm 9,5$) a	1,8 ($\pm 1,2$) b	6,0 ($\pm 2,7$) b	7,92	0,002
72	52,9 ($\pm 7,6$) a	3,3 ($\pm 1,7$) b	7,0 ($\pm 2,6$) b	33,70	< 0,001
96	63,6 ($\pm 8,0$) a	6,2 ($\pm 1,8$) b	7,0 ($\pm 2,6$) b	43,42	< 0,001
120	63,6 ($\pm 8,5$) a	7,0 ($\pm 1,7$) b	7,8 ($\pm 2,5$) b	42,87	< 0,001
144	70,3 ($\pm 9,0$) a	6,2 ($\pm 1,8$) b	7,8 ($\pm 3,0$) b	42,81	< 0,001
168	73,3 ($\pm 9,0$) a	7,0 ($\pm 2,1$) b	8,6 ($\pm 3,1$) b	50,76	< 0,001
192	77,0 ($\pm 7,7$) a	8,7 ($\pm 2,7$) b	8,6 ($\pm 3,1$) b	61,30	< 0,001
216	77,0 ($\pm 7,7$) a	10,8 ($\pm 3,0$) b	8,6 ($\pm 3,1$) b	58,36	< 0,001
240	77,0 ($\pm 7,7$) a	10,8 ($\pm 3,0$) b	9,4 ($\pm 2,9$) b	58,32	< 0,001

*Letras distintas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p -valor $< 0,05$). Fonte: Autores.

O contato residual causou uma baixa mortalidade de *S. zeamais*. O primeiro registro de mortalidade para Boveril[®]

ocorreu após 120h da exposição para a concentração 6 mL e após 168h para concentração 2 mL, não ultrapassando 1% até 240h após a exposição (Tabela 3). Metarril® teve um comportamento similar, com a mortalidade não superando 3% após 240h da exposição. Do mesmo modo, Octane® não apresentou uma mortalidade superior a 5% em avaliações até a última avaliação (Tabela 3).

Tabela 3 - Mortalidade (%) (\pm Erro Padrão da Média) de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) expostos via contato residual a $1,0 \times 10^7$ esporos.mL⁻¹ dos bioinseticidas Boveril® (*Beauveria bassiana*), Metarril® (*Metarhizium anisopliae*) e Octane® (*Isaria fumosorosea*).

Horas após exposição	Boveril®		Metarril®		Octane®		F	p-valor
	2 mL ¹	6 mL ²	2 mL	6 mL	2 mL	6 mL		
24	0,0 ($\pm 0,0$)*	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	-	-
48	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	0,8	0,555 ^{ns}
72	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,51	0,251 ^{ns}
96	0,0 ($\pm 0,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,5	0,251 ^{ns}
120	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,06	0,393 ^{ns}
144	0,0 ($\pm 0,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,0 ($\pm 0,0$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,27	0,289 ^{ns}
168	1,0 ($\pm 1,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,0 ($\pm 0,0$)	3,0 ($\pm 1,5$)	0,0 ($\pm 0,0$)	1,34	0,261 ^{ns}
192	1,0 ($\pm 1,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	3,0 ($\pm 1,5$)	0,0 ($\pm 0,0$)	3,0 ($\pm 1,5$)	1,0 ($\pm 1,0$)	1,17	0,334 ^{ns}
216	1,0 ($\pm 1,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	3,0 ($\pm 1,5$)	0,0 ($\pm 0,0$)	4,0 ($\pm 2,2$)	1,0 ($\pm 1,0$)	1,3	0,265 ^{ns}
240	1,0 ($\pm 1,0$)	1,0 ($\pm 1,0$)	3,0 ($\pm 1,5$)	2,0 ($\pm 2,0$)	5,0 ($\pm 2,2$)	2,0 ($\pm 1,3$)	0,9	0,488 ^{ns}

*Letras distintas na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p-valor <0,05).

¹ 2,0 mL de uma solução contendo $1,0 \times 10^7$ esporos.mL⁻¹ dos bioinseticidas Boveril®, Metarril®, e Octane® incorporados a uma massa de 2,0 kg de milho, correspondendo a uma aplicação de 1,0 litro de calda em uma massa de 1000 kg de grãos.

² 6,0 mL de uma solução contendo $1,0 \times 10^7$ esporos.mL⁻¹ dos bioinseticidas Boveril®, Metarril®, e Octane® incorporados a uma massa de 2,0 kg de milho, correspondendo a uma aplicação de 3,0 litros de calda em uma massa de 1000 kg de grãos.

^{ns} Não significativo (teste tukey, p \leq 0,05).

Fonte: Autores.

O desenvolvimento populacional do gorgulho não foi afetado pela exposição aos bioinseticidas. A ausência de diferenças significativas nas taxas instantâneas de crescimento (r_i) das populações de *S. zeamais* que se desenvolveram por 90 dias em massa de grãos tratados com Boveril®, Metarril® e Octane® indica que não houve comprometimento dos parâmetros populacionais do inseto (Tabela 4). Corrobora com essa justificativa o fato de que as populações apresentam um r_i positivo em todos os tratamentos, indicando o seu crescimento populacional (Tabela 4).

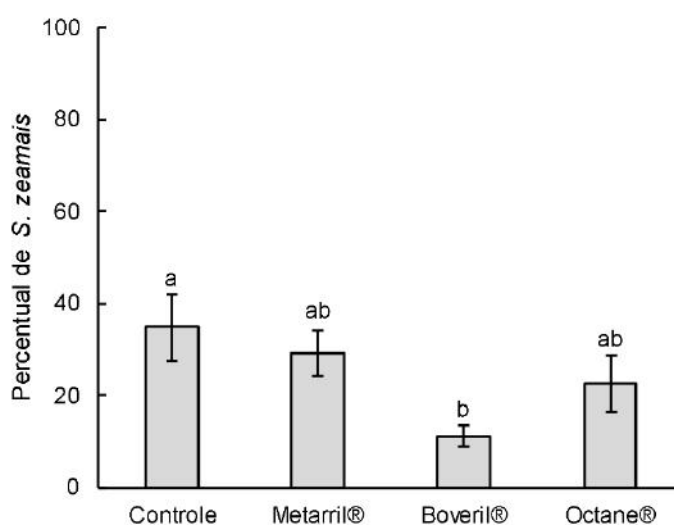
Tabela 4 - Número médio de adultos (\pm Erro Padrão da Média) por tratamento e taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) após 90 dias da inoculação de 11 adultos de *Sitophilus zeamais* em 50 g de grãos de milho.

Tratamento	Número médio	r_i
Controle	120,0 ($\pm 16,3$) a*	0,025 ($\pm 0,003$) a
Metarril®	101,2 ($\pm 11,7$) a	0,024 ($\pm 0,001$) a
Boveril®	146,2 ($\pm 22,6$) a	0,027 ($\pm 0,002$) a
Octane®	119,3 ($\pm 18,4$) a	0,025 ($\pm 0,002$) a
F-valor	0,73	0,25
p-valor	0,54	0,86

*Letras distintas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p-valor <0,05). Fonte: Autores.

Ocorreu uma atratividade diferenciada de *S. zeamais* pelas massas de grãos pulverizadas com cada um dos tratamentos. Não ocorreram diferenças significativas entre o percentual de insetos atraídos pelos tratamentos Controle (34,8%), Metarril® (29,3%) e Octane® (22,7%) (Figura 1). A massa de grãos tratada com Boveril® apresentou 11,2% de insetos, indicando uma possível repelência, quando comparada com o tratamento controle, ocorrendo uma diferença de 67,8% no número de insetos registrados entre as duas massas de grãos (Figura 1).

Figura 1. Percentual de adultos de *S. zeamais* em massa de grãos de milho pulverizados com os tratamentos Metarril® (*Metarhizium anisopliae*), Boveril® (*Beauveria bassiana*), Octane® (*Isaria fumosorosea*) e Controle (água destilada esterilizada) em teste com chance de escolha após 24 horas da liberação dos insetos em teste com chance de escolha após 24 horas da liberação dos insetos.



Fonte: Autores.

4. Discussão

O bioinseticida Boveril® foi o mais letal a *S. zeamais* após exposição por contato direto. A mortalidade de *S. zeamais* foi de 77% após 10 dias da exposição. Entretanto, essa mortalidade pode variar em função da patogenicidade do isolado, sendo reportado mortalidades entre 19,7% e 100% (Rondelli *et al.*, 2012; Adane *et al.*, 1996). Apesar de Metarril® ter causado uma mortalidade de 10,8%, isolados de *M. anisopliae* podem causar até 100% de mortalidade de *S. zeamais* após 10 dias da exposição (Tefera; Teshome, 2009). Do mesmo modo, a mortalidade causada por Octane® (9,4%) pode ser atribuída ao isolado de *I. fumosorosea* empregado na formulação do bioinseticida, pois há uma grande variação na mortalidade causada por isolados de *I. fumosorosea* sobre *Sitophilus granarius* (L.) e *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) (Agostini *et al.*, 2015; Mantzoukas *et al.*, 2019; Ak, 2019; Usanmaz-Bozhuyuk *et al.*, 2018).

Trabalhos para seleção de isolados de FE altamente patogênicos são amplamente realizados (Kassa *et al.*, 2002; Moino Jr. *et al.*, 2009), sendo que *B. bassiana* é o mais avaliado e utilizado no controle de insetos pragas de produtos armazenados (Rumbos & Athanassiou, 2017). A avaliação de bioinseticidas permite a seleção dos produtos mais letais, viabilizando o emprego de FE no manejo de *S. zeamais* em grãos armazenados. Nesse contexto, o patógeno pode ser transportado pela massa de grãos e por insetos infectados, aumentando o número de focos de infecção nas populações de *S. zeamais* em armazéns e silos.

A exposição via contato residual não afetou a sobrevivência de *S. zeamais*. A mortalidade do gorgulho não ultrapassou 5% após 10 dias sobre uma massa de grãos pulverizada com uma solução de $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹ de cada um dos

bioinseticidas. Nesse contexto, há a necessidade de que o artrópode seja exposto a uma concentração mínima efetiva de esporos para que o processo de infecção e morte ocorra (Mudrončeková *et al.*, 2013). O sucesso do processo de infecção do hospedeiro envolve uma série de fatores a serem superados pelo FE (Litwin *et al.*, 2020), estando isso ligado à sua virulência, a espécie do hospedeiro e o método de aplicação (Batta & Kavallieratos, 2017). Nesse contexto, Pimentel e Ferreira (2012) observaram a toxicidade de Boveril® e Metarril® sobre *S. zeamais* por meio das baixas concentrações letais (CL₅₀) e tempos letais (TL₅₀), reconhecendo tais bioinseticidas como uma alternativa ao controle químico do caruncho. Nesse contexto, a ausência de mortalidade pode estar associada não apenas a virulência do FE, a espécie do hospedeiro e modo de exposição, mas também ao emprego de uma concentração não efetiva, incapaz de ocasionar a mortalidade de *S. zeamais*. Além de não ser verificado o efeito letal por meio da exposição do gorgulho ao FE por contato residual, a concentração empregada não causou efeitos subletais, isto é, não afetaram o desenvolvimento populacional ou causaram repelência em *S. zeamais*.

A taxa instantânea de crescimento (r_i) e o número final de adultos de *S. zeamais* que se desenvolveram por 90 dias sob massa de grãos tratada com $1,0 \times 10^7$ conídios.mL⁻¹ de cada bioinseticida não apresentaram diferenças significativas do tratamento controle. A r_i mensura a capacidade de uma população crescer exponencialmente no tempo (HALL, 1964) permitindo avaliar efeitos subletais por meio da integração de parâmetros ecológicos e toxicológicos envolvendo artrópodes e pesticidas, proporcionando resultados realísticos sobre a ação tóxica de um pesticida em população de artrópodes (Walshall e Stark, 1997). Bioensaios avaliando a r_i são empregados para avaliação de efeitos subletais sobre *S. zeamais* causados por inseticidas sintéticos (Pereira *et al.*, 2009) e óleos essenciais (Araújo *et al.*, 2017). Entretanto FE também podem causar efeitos subletais, comprometendo parâmetros biológicos de insetos (Mweke *et al.*, 2018; Drobnjaková *et al.*, 2019). A não ocorrência de diferenças significativas entre as r_i pode ser devido ao uso de uma concentração não efetiva, proporcionando r_i positivo entre os tratamentos, o que é caracterizado como o aumento populacional de *S. zeamais* sobre as massas de grãos expostas aos diferentes bioinseticidas e controle.

O bioinseticida Boveril® apresentou potencial atividade repelente contra *S. zeamais*. FE podem liberar voláteis atraentes ou repelentes (Boucias; Lietze & Teal, 2012; Patocka, 2016; Bojke *et al.*, 2018), influenciando o comportamento de insetos. Nesse contexto, isolados de *B. Bassiana* e *M. anisopliae* podem apresentar ação repelente para várias ordens pertencentes a classe Insecta (Staples & Milner, 2000; Thompson & Brandenburg, 2005; Meyling & Pell, 2006; Ormond *et al.*, 2011), o que pode contribuir de modo significativo para que um bioinseticida formulado a partir de FE seja mais efetivo em sua função de evitar danos causados por insetos em grãos armazenados. Trabalhos tem mostrado que voláteis liberados por FE podem potencializar sua ação por apresentarem diferentes tipos de interação contra insetos praga de grãos armazenados (Mitina *et al.*, 2020). O fato de Boveril® apresentar uma possível ação repelente, torna evidente a necessidade da realização de estudos que avaliem as diferentes interações que este bioinseticida pode apresentar contra *S. zeamais*.

O controle biológico por meio de FE é uma alternativa promissora ao uso de inseticidas sintéticos no manejo de pragas de grãos armazenados como *S. zeamais* (Batta & Kavallieratos, 2017). FE ocorrem naturalmente na massa de grãos (Oduor *et al.*, 2000; Wakil *et al.*, 2014) e seu uso pode trazer benefícios como a não seleção de insetos resistentes, não contaminação da massa de grãos, sendo inócuos ao ambiente e aos organismos não alvo. Além disso, o emprego de formulações que viabilizam o uso agrícola de FE pode potencializar a ação do patógeno sobre pragas (Hidalgo *et al.*, 1998). Estes bioinseticidas podem ser utilizados em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) de grãos armazenados em interação com outras estratégias de manejo, como Terra Diatomácea (Riasat *et al.*, 2013) ou em mistura com inseticidas (Cherry *et al.*, 2007; Wakil *et al.*, 2012), óleos vegetais (Batta, 2016) ou extratos vegetais (Rehman *et al.*, 2020) de modo a se obter uma ação aditiva ou sinérgica.

5. Considerações Finais

Houve uma maior eficiência dos bioinseticidas quando os insetos foram expostos via contato direto, sendo que Boveril®

foi o mais letal e apresentou atividade repelente quando comparado ao controle. Deste modo, a realização de novos estudos são desejáveis para avaliar outros aspectos de bioinseticidas formulados a partir de FE sobre pragas de grãos armazenados de modo a viabilizar seu emprego isoladamente ou em interação com outras estratégias para o manejo de *S. zeamais*.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Koppert Biological Systems pelo fornecimento dos bioinseticidas.

Referências

- Abbott, W. S. (1925). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- Adane K., Moore D., & Archer S. A (1996) Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *J Stored Prod Res* 32:105–113.
- Agostini, T. T., Agostini, L. T., Duarte, R. T., Volpe, H. X. L., Salas, C., & Polanczyk, R. A. (2015) Eficiência de fungos entomopatogênicos para o controle de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) em condições de laboratório. *Comunicata Scientiae*, 6.
- Agostini, T. T. (2015). Eficiência de fungos entomopatogênicos para o controle de *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) em condições de laboratório. *Comunicata Scientiae*, 6(1), 90–96. https://www.researchgate.net/publication/275335035_Eficiencia_de_fungos_entomopatogenicos_para_o_controle_de_Sitophilus_oryzae_L_Coleoptera_Curculionidae_em_condicoes_de_laboratorio.
- AGROFIT. (2021). AGROFIT. https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.
- Ak, K. (2019) Efficacy of entomopathogenic fungi against the stored-grain pests, *Sitophilus granarius* L. and *S. oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Egyptian Journal of Biological Control*, 19. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0115-y>.
- Andrade Junior, A. S. de. (2003). *Sistemas de Produção 2: cultivo do feijão-caupi* (2nd ed., Vol. 1, p. 108) [Review of *Sistemas de Produção 2: cultivo do feijão-caupi*]. Embrapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/66591>.
- Araújo, A. M. N., D'Antonino, L. R., de Oliveira, J. V., Navarro, D. M. A., Silva Barbosa, D. R., Breda, M. O., de França, S. M. (2017) Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. *Journal Pest Science*, 90, 89-600.
- Batta, Y. A. (2016) Recent advances in formulation and application of entomopathogenic fungi for biocontrol of stored-grain insects. *Biocontrol Sci Technol.*, 26, 1171–1183.
- Batta, Y. A., Kavallieratos, N. G. (2017) The use of entomopathogenic fungi for the control of stored-grains insects. *International Journal of Pest Management*, 64, 77-87, 10.1080/09670874.2017.1329565.
- Barra, P., Rosso, L., Nesci, A., & Etcheverry, M. (2012). Isolation and identification of entomopathogenic fungi and their evaluation against *Tribolium confusum*, *Sitophilus zeamais*, and *Rhyzopertha dominica* in stored maize. *Journal of Pest Science*, 86(2), 217–226. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0460-z>.
- Bojke, A., Tkaczuk, C., Stepnowski, P., and Gołębowski, M. (2018) Comparison of volatile compounds released by entomopathogenic fungi, *Microbiol. Res.*, 214, 129.
- Boucias, D.G., Lietze, V., and Teal, P. (2012) Chemical signals that mediate insect-fungal interactions, in *Biocommunication of Fungi*, Witzany, G., Ed., Dordrecht: Springer, 305.
- Cherry, A. J., Abalo, P., Hell, K., Korie, S. (2007) Farm-scale trials to compare the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with pirimiphos methyl + deltamethrin and essential oil of lemon grass for protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Ann Appl Biol.*, 151, 1–10.
- Companhia Nacional de Abastecimento.CONAB. Indicadores da agropecuária. Levantamento de Safras. Brasília. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos?limitstart=0>.
- Daglish, G. J. (2004). Effect of exposure period on degree of dominance of phosphine resistance in adults of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Pest Management Science*, 60(8), 822–826. <https://doi.org/10.1002/ps.866>
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J.-M. (2007). The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52(1), 81–106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>.
- Drobnjaković, T., Prijović, M., Milenković, S., Marčić, D. (2019) Sublethal effects of a *Beauveria bassiana*-based mycopesticide on Dutch and Serbian populations of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biocontrol Science and Technology*, 29, 1-19.
- França, S. M. de, Breda, M. O., Barbosa, D. R. S., Araujo, A. M. N., & Guedes, C. A. (2017). The Sublethal Effects of Insecticides in Insects. *Biological Control of Pest and Vector Insects*. <https://doi.org/10.5772/66461>

- Guzzo, E. C. (2002). Identificação de Materiais de Milho Resistentes ao Ataque de Gorgulho *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae). *Arquivos Do Instituto Biológico*, 69(2), 69–73. http://www.biológico.sp.gov.br/uploads/docs/arq/V69_2/guzzo.pdf.
- Haddad, M. L., & Vendramim, J. D. (2000). Comparison of percentage data with cases of extreme values of 0 and 100% [Review of *Comparison of percentage data with cases of extreme values of 0 and 100%*]. *An. Soc. Entomol. Brasil*, 4(29), 835–837. <https://www.scielo.br/j/aseb/a/4sRvPDSBRkkwCNyM7BLXgvt/?format=pdf&lang=pt>.
- Hall, D. J. (1964). An Experimental Approach to the Dynamics of a Natural Population of *Daphnia galeata* Mendotae. *Ecology*, 45(1), 94. <https://doi.org/10.2307/1937111>
- Hidalgo, E., Moore, D. L., Patourel, G. (1998) The effect of different formulations of *Beauveria bassiana* on *Sitophilus zeamais* in stored maize. *J Stored Prod Res.* 34:171–179.
- Kassa, A., Zimmermann, G., Stephan, D., & Vidal, S. (2002) Susceptibility of *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) to entomopathogenic fungi from Ethiopia. *Biocontrol Science and Technology*, 12.
- Litwin, A., Nowak, M., & Różalska, S. (2020) Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Rev. Environ Sci Biotechnol*, 19, 23–42.
- Lorini, I. (2015). *Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas* (Embrapa, 1 Ed.). Embrapa. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/129311/1/Livro-pragas.pdf> (Original work published 2015).
- Mantzoukas, S., Lagogiannis I., Mpekiri, M., Pettas, I., & Eliopoulos, P. A. (2019) Insecticidal action of several isolates of entomopathogenic fungi against the granary weevil *Sitophilus granarius*. *Agriculture*, 9, 22210.3390/agriculture9100222.
- Meyling, N.V. & Pell, J.K. (2006) Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecol. Entomol.*, 31(2), 162.
- Mitina, G. V., Selitskaya, O. G., & Schenikova, A. V. (2020) Effect of volatile compounds of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. And *Lecanicillium muscarium* R. Zare et W. Gams on the behavior of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera, Dryophthoridae) and evaluation of the virulence of different strains of these fungi. *Entomological Review*, 100, 456–462.
- Moino JR., A., Alves, S. B., & Pereira, R. M. (2009) Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin isolates for control of stored grains pests. *Journal of Applied Entomology*, 122.
- Mudrončėková, S., Mazán, M., Nemčovič, M., & Šalamon, I. (2013) Entomopathogenic fungus species *Beauveria bassiana* (Bals.) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) used as micoinsecticide effective in biological control of *Ips typographus* (L.). *Journal of Microbiology, Biotechnology and food sciences*, 2, 2469–2472.
- Mweke, A., Ulrichs, C., Nana, P., Akutse, K. S., Fiaboe, K. K. M., Maniania, N. K., Ekesi, S. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Isaria* sp. for management of *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 111, 1587–1594.
- Nunes, M. P., & Rizental, M. (2015). Preferência Alimentar de *Sitophilus zeamais* (coleoptera: curculionidae) em Variedades de Milho Transgênico [Review of *Preferência Alimentar de Sitophilus zeamais (coleoptera: curculionidae) em Variedades de Milho Transgênico*]. *Connection Line*, 1(12), 84–89. <https://periodicos.univag.com.br/index.php/CONNECTIONLINE/article/view/206/459>.
- Oduor, G. I., Smith, S. M., Chandi, E. A., Karanja, L. W., Agano, J. O., & Moore, D. (2000) Occurrence of *Beauveria bassiana* on insect pest of stored maize in Kenya. *Journal of Stored Products Research*, 36, 177–185.
- Ormond, E. L., Thomas, A. P. M., Pell, J. K., Freeman, S. N., and Roy, H. E. (2011) Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*, *FEMS Microbiol. Ecol.*, 77(2), 229.
- Patocka, J. (2016) Bioactive Metabolites of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana*, *Mil. Med. Sci. Lett.*, 85(2), 80.
- Pimentel, M. A. G., Faroni, L. R. D'A., Guedes, R. N. C., Sousa, A. H., & Tótola, M. R. (2009). Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 45(1), 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.09.001>.
- Pimentel, M. A. G., & Ferreira, E. G. (2012) Toxicidade de produtos formulados à base de fungos entomopatogênicos para o caruncho-do-milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 11, 209–215. <http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v11n2p209-215>.
- Pereira, C. J. Pereira, E. J. G., Cordeiro, E. M. G., Della Lucia, T. M. C., Tótola, M. R., & Guedes, R. N. C. (2009) Organophosphate resistance in maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. *Crop protection*, 28, 168–173. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2008.10.001>.
- Potrich, Michele et al. (2006). Avaliação de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. para Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) [Review of *Avaliação de Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. e Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorok. para Controle de Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)*]. *Sociedade Entomológica Do Brasil*, 12(1), 1–9. <https://www.seb.org.br/biosay/arquivos/journals/1/articles/34/public/34-200-1-PB.pdf>
- Rehman, H., Rasul, A., Farooqi, M. A., Aslam, H. M. U., Majeed, B., Sagheer, M., & Ali, Q. (2020) Compatibility of some botanicals and the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.), against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Egyptian journal of Biological Pest Control*, 30, 1–7.
- Riasat, T., Wakil, W., Yasin, M., & Kwon, K. J. (2013) Mixing of *Isaria fumosorosea* with enhanced diatomaceous earth and bitterbarkomycin for control of *Rhizopertha dominica*. *Entomol Res.* 43:215–223.
- Ribeiro, B. M., Guedes, R. N. C., Oliveira, E. E., & Santos, J. P. (2003). Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 39(1), 21–31. [https://doi.org/10.1016/s0022-474x\(02\)00014-0](https://doi.org/10.1016/s0022-474x(02)00014-0)

- Rondelli, V. M., de Carvalho, J. R., Pratisoli, D., Polanczyk, R. A., de Alencar, J. R. D. C. C., Zinger, F. D., & Pereira, S. M. A. (2012). Selection of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. isolates for controlling *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae). *Idesia (Arica)*, 30(3), 97–102. <https://doi.org/10.4067/s0718-34292012000300013>.
- Rumbos, C. I., & Athanassiou, C. G. (2017) Use of entomopathogenic fungi for the control of stored-products insects: Can fungi protect durable commodities? *J. Pest Sci*, 90, 893-854.
- Staples, J.A. & Milner, R.J., (2000) A laboratory evaluation of the repellency of *Metarhizium anisopliae* conidia to *Coptotermes lacteus* (Isoptera: Rhinotermitidae), *Sociobiology*, 36(1), 133.
- Stark, J. D., & Banken, J. A. O. (1999). Importance of Population Structure at the Time of Toxicant Exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42(3), 282–287. <https://doi.org/10.1006/eesa.1998.1760>
- Stark, J. D., Tanigoshi, L., Bounfour, M., & Antonelli, A. (1997). Reproductive Potential: Its Influence on the Susceptibility of a Species to Pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37(3), 273–279. <https://doi.org/10.1006/eesa.1997.1552>.
- Teshome, A., & Tefera, T. (2009) Susceptibility of *sitophilus zeamais* (Mostch.) (Coleoptera: Curculionidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Sinet: Ethiop. J. Sci.*, 32, 21-28.
- Thompson, S. R. & Brandenburg, R. L. (2005) Tunneling responses of moles crickets (Orthoptera: Gryllotalpidae) to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, *Environ. Entomol.*, 34(1), 140.
- Usanmaz-Bozhuyuk, A., Kordaly, S., Kesdek, M., Simsek, D., Altinok, M. A., Altinok, M. A., Altinok, H. H., & Komaki, A. (2018) Mortality effects of six different entomopathogenic fungi strains on rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(6)
- Walthall, W. K., & Stark, J. D. (1997) Comparison of two populations-level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (r_m) and instantaneous (r_t) rates of increase. *Environmental Toxicology and Chemistry* v. 16, p. 1068-1073.
- Wakil, W., Riasat, T., & Ashfaq, M. (2012) Residual efficacy of thiamethoxam, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, and diatomaceous earth formulation against *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrychidae). *J Pest Sci.*, 85, 341–350.
- Wakil, W., Ghazanfar, M. U., & Yasin, M. (2014) Naturally occurring entomopathogenic fungi infecting stored grain insect species in Punjab, Pakistan. *Journal of Insect Science*, 14, 1-7.
- Zar, J. H. (2009). Two-Factor Analysis of Variance . In *Biostatistical analysis* (pp. 249–284). Pearson Prentice Hall.