

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ANTONIO ROBIS DE LIMA

**BIOPROSPECÇÃO DO FUNGO *Nomuraea rileyi* SOBRE *Spodoptera cosmioides*
(WALKER) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)**

CHAPADÃO DO SUL-MS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CÂMPUS DE CHAPADÃO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ANTONIO ROBIS DE LIMA

**BIOPROSPECÇÃO DO FUNGO *Nomuraea rileyi* SOBRE *Spodoptera cosmioides*
(WALKER) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)**

Orientadora Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, para obtenção do
título de Mestre em Agronomia, área
de concentração: Produção Vegetal.

CHAPADÃO DO SUL-MS
2015



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Câmpus de Chapadão do Sul



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

DISCENTE: Antonio Robis de Lima

ORIENTADOR (A): Prof. (a) Dr. (a) Elisangela de Souza Loureiro

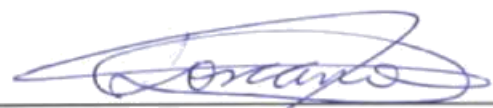
**Bioprospecção de isolados do fungo *Nomuraea rileyi* (Samson) sobre
Spodoptera cosmioides (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae)**



Prof.(a) Dr.(a) Presidente Elisangela de Souza Loureiro



Prof.(a) Dr.(a) Luis Gustavo Amorim Pessoa



Prof.(a) Dr.(a) Luciana Cláudia Toscano Maruyama

Chapadão do Sul, 14 de Dezembro de 2015.

- A Deus e ao meu anjo da guarda pela fé
que me mantem vivo;
- A minha saudosa mãe e família, que
soube entender a minha ausência nos
muitos momentos desde que ingressei no
mestrado, até a conclusão dessa
dissertação;
- A todas as pessoas envolvidas nesta
pesquisa
- Ao Programa de Pós-Graduação em
Agronomia por acreditar em mim.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro, pela oportunidade, confiança, e pela possibilidade de concluir este trabalho em suas orientações.

Ao Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa, pela contribuição e auxílio na realização neste trabalho.

A Profa. Dra. Maria Luiza Nunes Silva por fazer parte da banca de qualificação e pelas sugestões na melhoria deste trabalho.

A Profa. Dra. Luciana Cláudia Toscano pelo aceite de participar da banca examinadora da Defesa, pela contribuição e as sugestões propostas.

Ao Tiago Ledesma Taira, pela amizade, pelos conselhos e por ter aturado esse cara chato (Robis) que sou eu, pela confiança que foi depositada na minha pessoa desde o começo, que nenhum momento mediu esforços para me ajudar, agradeço de coração, que com certeza será uma amizade duradoura. Não tem palavras pela gratidão e por tudo.

Ao Prof. Dr. Cassiano Garcia Roque, coordenador do programa de pós-graduação, pela grande pessoa que é, por ter acreditado em mim, muita luz no seu caminho.

A minha mãe Claildes de Souza Lima, uma grande guerreira que desde de 1982, tem lutado constantemente para a minha criação, educação e que sempre me mostrou o caminho certo, apesar da minha grande teimosia de sempre querer estar longe, acredite é por uma causa importante. Durante todo esse tempo acredito que não foi fácil para ela, pois foram muitos esfregões nos tanques lavando roupa, muito chão limpo, muita paciência, só quem criou seus filhos sozinha sabe como é essa batalha, muitos anos de luta, muito obrigado minha Mãe.

A toda a família que sempre me apoiou e aos que não apoiaram também muito obrigado.

Ao Docentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia do CPCS/UFMS.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

A toda a equipe do Laboratório de entomologia do CPCS/UFMS que direta ou indiretamente me auxiliou no experimento (Técnico Laboratório Frederico, Franciele Muchalak, Alan Citron, Mateus Pereira de Brito Mateus, Maiara Amaral, Maicon José Nocchi.

A amizades conquistadas de Kenio Nogueira e esposa Marciane Souza, Anderson Abreu e sua Esposa Sarah, Miguel e Lara (família abençoada), Enio Manfro e esposa Ana, Rafaela Mochinski, Ludmar Barros, Felipe Roland, (O Master Goy), Daniel Splenger (O cara dos cogumelos) grande figura, Paulo Viana famoso (Marcão de CG), Vinicius Aguiro, ao Técnico da TI Luciano Vilela. Ao Cléo Adriano e família ao saudoso Sr Toninho (Pai do Cléo) esse o melhor churrasqueiro e bom de prosa, pensa..., onde foram bons momentos. Essa galera vai ficar para sempre marcada.

Ao colega de longa data Fernando André Silva Santos, pelos conselhos e duvidas nas pesquisas.

Ao pessoal da secretaria da Pós-Graduação Vilson Crescêncio e Sinomar Moreira pessoas muito prestativas.

Aos colegas do programa de mestrado aquele abraço.

Aos Docentes do Departamento de Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso meu muito obrigado pelo aprendizado na minha graduação e pelo incentivo e a grandes amizades construídas naquela instituição que foi um tempo de muita luta, apesar de todas as dificuldades venci aquela batalha, obrigado professores, por também acreditarem no meu potencial.

Ao Prof Marcos Bridi e Jane Bridi, grandes incentivadores desde a época do colégio interno, que foram meus primeiros difusores do conhecimento da área técnica, apesar de estarem longe sempre serão lembrados, também passei grandes momentos em suas companhias.

E a todos que direta ou indiretamente contribui para realização deste trabalho.

“Existe tempo certo para cada coisa, momento oportuno para cada propósito de baixo do sol: tempo de nascer, tempo para morrer, tempo de plantar e tempo de colher”

(Eclesiastes 3: 1-2)

RESUMO

LIMA, Antonio Robis. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul-MS. Bioprospecção do fungo *Nomuraea rileyi* sobre *Spodoptera cosmioides* (WALKER) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)

Orientadora: Elisângela de Souza Loureiro

A lagarta *Spodoptera cosmioides* tem aumentado sua ocorrência na cultura da soja e para o seu controle, uma alternativa aos métodos químicos é o controle microbiano, inserido dentro do controle biológico de pragas. A pesquisa objetivou verificar o comportamento de diferentes isolados do fungo *Nomuraea rileyi* em lagartas *S. cosmioides*. As lagartas utilizadas foram oriundas da 2^a geração, da criação estabelecida no Laboratório de Entomologia da UFMS/CPCS. Todas as fases de *S. cosmioides* foram mantidas em câmara climática a 25±1 °C, UR 70±10% e fotofase de 12 horas. Foram avaliados dois bioensaios distintos, ambos conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. O primeiro bioensaio consistiu na bioprospecção de isolados (UFMS 02, UFMS 03, UFMS 04, UFMS 05, UFMS 06, UFMS 07 e UFMS 08) para o controle populacional da lagarta *S. cosmioides*. Foi composto por oito tratamentos e 10 repetições, cada repetição com 5 lagartas padronizadas em 2mm de comprimento cada. Foi pulverizado 1mL de cada isolado na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios viáveis mL⁻¹ com auxílio da Torre de Potter. Os dados de mortalidade foram transformados $\arcsen(x/100)^{0,5}$ para realização da análise de variância e comparação das médias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. A mortalidade foi verificada diariamente durante 27 dias e avaliada por regressão linear e polinomial. A eficiência de controle foi calculada através da fórmula de Abbott. Verificou-se a mortalidade diariamente durante 27 dias. De modo geral, *N. rileyi* foi patogênico às larvas de *S. cosmioides*. O tratamento com o isolado UFMS 03, UFMS 08 e UFMS 02 apresentaram 89,5, 78,9, 73,7% de eficiência, respectivamente. O isolado UFMS 03 proporcionou tempo letal mediano (TL₅₀) em 14,7 dias, maior eficiência, com potencial como agente de controle biológico. O segundo bioensaio avaliou a patogenicidade do isolado UFMS 03 de *N. rileyi*, em diferentes concentrações, à lagarta *S. cosmioides* em condições de laboratório. Foi composto por seis tratamentos e 10 repetições, contendo cinco lagartas de *S. cosmioides*, padronizadas em 3 mm de comprimento cada. As lagartas *S. cosmioides* foram pulverizadas com auxílio de Torre de Potter utilizando 1 mL nas concentrações de $1,0 \times 10^{10}$, $1,0 \times 10^9$, $1,0 \times 10^8$, $1,0 \times 10^7$ e $1,0 \times 10^6$ conídios viáveis mL⁻¹. Os dados de mortalidade de lagartas e o tempo letal mediano obtido para cada concentração, foram submetidos à análise de regressão linear e polinomial. Para a avaliação da eficiência das concentrações utilizando-se a fórmula de Abbott. As concentrações de *N. rileyi* foram patogênicas às lagartas de *S. cosmioides* com eficiência variando de 66 a 98% de mortalidade. O isolado UFMS 03 mostrou-se eficiente, com destaque para a concentração $1,0 \times 10^8$ conídios mL⁻¹ apresentando 98% de eficiência, em menor tempo letal (14,11 dias). Esses resultados evidenciam o isolado UFMS 03 podendo ser utilizado no manejo de *S. cosmioides*.

Palavras-Chave: Controle Biológico. Controle Microbiano. Lagarta desfolhadora da soja.

ABSTRACT

LIMA, Antonio Robis. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul-MS. Bioprospecting fungus *Nomuraea rileyi* (Samson) in *Spodoptera cosmioides* (WALKER) (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE)

Adviser: Elisângela de Souza Loureiro

The *Spodoptera cosmioides* caterpillar has increased its occurrence in soybean and their control, an alternative to chemical methods is microbial control, inserted into the biological control of pests. The research aimed to investigate the behavior of different isolates of the fungus *Nomuraea rileyi* caterpillar *S. cosmioides*. Caterpillars of used were derived from the 2nd generation, the creation established in the Entomology Laboratory UFMS/CPCS. All phases of *S. cosmioides* were kept in a climatic chamber at 25 ± 1 °C, RH $70 \pm 10\%$ and photoperiod of 12 hours. We evaluated two different bioassays, both conducted in a completely randomized design. The first bioassay consisted of bioprospecting isolated (UFMS 02 UFMS 03 UFMS 04 UFMS 05, UFMS 06, 07 and UFMS UFMS 08) for population control caterpillar *S. cosmioides*. It was composed of eight treatments and 10 repetitions, each repetition with 5 caterpillars standardized in length 2mm each. Was sprayed 1mL of each isolated at a concentration of 1.0×10^9 viable conidia mL^{-1} with the help of Potter tower. Mortality data were transformed $\arcsin (x/100)^{0.5}$ to perform the analysis of variance and comparison of means by the Scott-Knott test at 5% significance. Mortality was recorded daily for 27 days and evaluated by linear and polynomial regression. The control efficiency was calculated using the Abbott formula. It has been mortality daily for 27 days. Generally, *N. rileyi* was pathogenic for larvae of *S. cosmioides*. Treatment with isolated UFMS 03, UFMS 08 and UFMS 02 showed 89.5, 78.9, 73.7% efficiency, respectively. Isolated UFMS 03 provided median lethal time (LT_{50}) in 14.7 days, higher efficiency with potential as a biological control agent. The second bioassay evaluating the pathogenicity of the isolate of *N. rileyi* UFMS 03, at different concentrations, the caterpillar *S. cosmioides* under laboratory conditions. It was composed of six treatments and 10 repetitions, containing five larvae of *S. cosmioides*, standard 3 mm in length each. Caterpillars *S. cosmioides* were sprayed with the aid of Potter tower using 1 mL at 1.0×10^{10} , 1.0×10^9 , 1.0×10^8 , 1.0×10^7 and 1.0×10^6 viable conidia mL^{-1} . The caterpillars mortality data and the median lethal time obtained for each concentration were subjected to analysis of linear and polynomial regression. To evaluate the efficiency of concentrations using the Abbott formula. The concentrations *N. rileyi* were pathogenic to larvae of *S. cosmioides* efficiently ranging 66-98% mortality. Isolated UFMS 03 was efficient, highlighting the concentration 1.0×10^8 conidia mL^{-1} having 98% efficiency in less lethal time (14.11 days). These results show isolated UFMS 03 can be used in the management of *S. cosmioides*.

Keywords: Biological Control. Microbial Control. Defoliating caterpillar soy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 CULTURA DA SOJA	13
2.2 Lagartas na cultura da soja	14
2.3 Biologia da <i>Spodoptera cosmioides</i>	19
2.4 Controle biológico	20
3.0 FUNGO <i>Nomuraea Rileyi</i>	24
3.1 Bioprospecção de fungo entomopatogênico	27
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	30
CAPITULO 01 - BIOPROSPECÇÃO DE ISOLADOS DO FUNGO <i>Nomuraea rileyi</i> (SAMSON) (ASCOMYCOTA: CLAVICIPITACEAE) NO CONTROLE DE <i>Spodoptera cosmioides</i> (WALKER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	46
RESUMO.	46
ABSTRACT.	46
INTRODUÇÃO	46
MATERIAL E MÉTODOS	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
CONCLUSÃO	51
LITERATURA CITADA.....	52
CAPITULO 02 O FUNGO ENTOMOPATOGENICO <i>Nomuraea rileyi</i> (SAMSON) (ASCOMYCOTA: CLAVICIPITACEAE) É VIRULENTO A LAGARTA DAS VAGENS?	58
RESUMO	58
ABSTRACT.	58
INTRODUÇÃO	58
MATERIAL E MÉTODOS	60
RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é considerada um dos principais produtos agrícolas brasileiro de exportação. O Estado de Mato Grosso do Sul, é um dos principais produtores, com uma área estimada em 2.300,5 milhões de hectares na safra 2014/2015, 8,5% superior à safra anterior, com uma produção de 7.177,6 toneladas e produtividade de 3.120 Kg/ha (CONAB, 2015 b).

Dentre os fatores que podem influenciar no rendimento e a qualidade da produção dessa cultura estão os insetos-praga, os quais podem causar perdas médias anuais de 7,7% na produção agrícola no Brasil, o que corresponde a redução de aproximadamente 25 milhões de toneladas de alimentos, fibras e biocombustíveis (GOULART et al., 2015).

Dentre o complexo de pragas que ataca a soja, destacam-se as lagartas desfolhadoras, pertencentes a família Noctuidae (LOURENÇÃO et al., 2010), com destaque para *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Além da soja, se alimenta de uma grande diversidade de plantas cultivadas de interesse econômico no Brasil como: aveia, aspargo, berinjela, beterraba, cafeeiro, cebola, milho, eucalipto, macieira, feijão, sorgo, tomate, trigo, fumo, linho, girassol, couve entre outras, além de plantas daninhas (BAVARESCO et al., 2001, 2003; PASTRANA, 2004; SPECH et al., 2004).

Nos últimos anos na cultura da soja, tem sido cada vez mais frequente (SANTOS et al., 2010) e, atualmente, ocorre de maneira generalizada (LIMA et al., 2015). *S. cosmioides* tem danificado diretamente as vagens de soja quando as plantas se encontram no estágio reprodutivo (PANIZZI; BUENO; SILVA, 2012).

De acordo com Araújo (2009), *S. cosmioides* juntamente com *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), formam o principal grupo de lagartas que atacam a cultura da soja, causando elevados prejuízos aos sojicultores da região dos cerrados. Quando o ataque ocorre nas folhas, o consumo é aproximadamente o dobro em relação ao consumo foliar de cada uma das demais espécies de lagartas desfolhadoras que também ocorrem na cultura (BUENO et al., 2011).

Os insetos do gênero *Spodoptera* ovipositam em diferentes espécies vegetais, podendo utilizar mais de 60 espécies de plantas como hospedeiras, para oviposição e alimentação caracterizando seu hábito polífago (SOARES; VIEIRA, 1998).

Ocorreram surtos desse inseto com danos elevados na cultura de macieira no Estado de Santa Catarina, chegando a porcentagem de 35,4% de frutos danificados (NORA et al., 1989). Segundo Bavaresco et al. (2003) no ano de 1999, *S. cosmioides* causou severos danos em áreas experimentais de cebola cultivada em casa de vegetação no Câmpus da Universidade Federal de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul.

O uso do controle químico ainda é a tática mais utilizada para o manejo de pragas, entretanto, o uso excessivo ocasiona efeitos adversos, como o impacto ambiental, mortalidade de inimigos naturais e, principalmente, seleção de populações de pragas resistentes aos inseticidas (BOIÇA JUNIOR et al., 2015).

O controle das principais pragas deve ser feito baseado nos princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP). O manejo de pragas neste sistema consiste em tomar a decisão de controlar a população baseado no nível de controle, no tamanho e número de insetos-praga assim como o seu estágio de desenvolvimento na cultura que se está manejando (BRASIL, 2011).

Portanto o MIP torna-se uma ferramenta imprescindível para o sucesso no cultivo, pois seus princípios estão baseados na redução significativa no uso de agroquímicos a partir do monitoramento de infestações e no uso de alternativas mais sustentáveis para o controle de insetos-praga como, por exemplo, o controle biológico (OLIVEIRA, 2013). Os fungos entomopatogênicos têm grande potencial como agentes de controle de insetos-praga constituem importante tática de controle de pragas em sistemas de Manejo Integrado de Pragas (COATES et al., 2002).

As principais vantagens do uso de microrganismos entomopatogênicos, para o controle de pragas são a especificidade e a seletividade desses agentes de controle, bem como a facilidade de multiplicação, dispersão e produção em meios artificiais além da ausência de poluição ambiental e toxicidade em homens e outros organismos não alvos (PAULA JÚNIOR, 2005).

De acordo com Barros et al. (2000) *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (Ascomycota: Clavicipitaceae) ocorre em mais de 32 espécies de insetos das ordens Coleoptera, Lepidoptera e Orthoptera. Cerca de 90% dos hospedeiros desse fungo

pertencem à ordem Lepidoptera, na qual encontram-se espécies pragas importantes para a condição do Brasil. Com condições favoráveis no Brasil, a ocorrência e os índices de controle natural com *N. rileyi* destaca essa espécie de fungo como um importante componente em programas de MIP.

Uma das principais vantagens da utilização do *N. rileyi* é sua variabilidade genética, no controle microbiano de insetos. O fungo entomopatogênico *N. rileyi* apresenta uma grande variabilidade genética, entre diferentes origens e os hospedeiros desse fungo (NUNES et al., 2010).

No entanto, o potencial de vários isolados que foram estudados para diversas pragas e várias técnicas utilizadas como a bioprospecção têm auxiliado o avanço dessa ferramenta de controle. A eficiência de isolados do fungo *N. rileyi* foi testado em diversos trabalhos com lepidópteros pragas, inclusive com *Spodoptera* spp (Lepidoptera: Noctuidae) obtendo resultados satisfatórios (SRISUKCHAYAKUL et al., 2005; VEGA AQUINO et al., 2010). Trabalho realizado por Chaudhari et al. (2015) testando a eficiência do isolado (Nr-Kc) de *N. rileyi* em *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) verificou-se 64,44% a 82,22% de mortalidade em diferentes ínstares.

Dentro deste contexto, a prospecção de fungos apresenta-se como uma perspectiva de suma importância, pelo fato de que os microrganismos podem ser cultivados, produzindo uma série de moléculas bioativas que podem atuar no combate a patógenos

Tendo em vista a importância de *S. cosmioides* nos últimos anos, devido aos prejuízos econômicos causados nas principais culturas de interesse econômico e ausência de inseticidas registrados para o controle deste inseto, o presente trabalho teve como objetivo selecionar e avaliar a virulência de isolados do fungo *N. rileyi* na mortalidade de lagartas de *S. cosmioides*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da soja

A soja é uma planta que pertence à família Fabaceae (Leguminosae), Subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero *Glycine*, espécie (*Glycine max* (L.) Merrill). A soja é cultivada atualmente é muito diferente dos ancestrais que lhe deram origem: espécies de plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia. Sua evolução começou com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais, entre duas espécies de soja selvagem, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China (EMBRAPA, 2004; CHUNG, SINGH. 2008).

No histórico de sua trajetória no Brasil, a soja foi levada por imigrantes japoneses para São Paulo e somente, em 1914, a soja foi introduzida no Estado do Rio Grande do Sul, local onde as variedades trazidas dos Estados Unidos, melhor se adaptaram às condições edafoclimáticas, principalmente em relação ao fotoperíodo (BONETTI, 1981). A implantação de programas de melhoramento de soja no Brasil possibilitou o avanço da cultura (KIIHL; GARCIA, 1989).

É uma das mais importantes culturas de interesse econômico no país e na economia mundial. Seus grãos são muito usados pela agroindústria (produção de óleo vegetal e rações para alimentação animal), indústria química e de alimentos, além de seu uso como fonte alternativa de biocombustível (COSTA NETO; ROSSI, 2000; SCHONINGER et al., 2010).

A expectativa de crescimento da produção nacional e da demanda mundial pode ser creditada aos fatores: aumento da população humana, a qual consumirá mais soja, principalmente via consumo de carnes, produzidas a partir dos farelos de soja e de milho e o aumento do poder aquisitivo da população urbana, destacadamente no continente asiático (DALL'AGNOL, 2008).

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) foi registrado, no levantamento realizado em junho deste ano, o segundo recorde de produtividade (3.016 Kg/ha) alcançado no país somente superado pelo obtido na safra 2010/11 (3.115 Kg/ha) (CONAB, 2015 a).

A área cultivada em Mato Grosso do Sul, na safra 2014/15, foi estimada em 2.300,5 milhões de hectares, 8,5% superior à safra anterior, com uma produção de 7.177,6 toneladas e produtividade estimada de 3.120 Kg/ha (CONAB, 2015 a).

Apesar deste desempenho expressivo na produção, a cultura da soja ainda tem sua produtividade limitada por diversos fatores abióticos e bióticos (RIFFEL et al., 2012) e está sujeita ao ataque de insetos-praga desde a germinação até a colheita, sendo esta uma das principais causas de perdas econômicas na produção agrícola (FRONZA, 2013). O conhecimento do impacto dos insetos no desenvolvimento e na produção da soja é de extrema importância para se adotar medidas de controle (OLIVEIRA, 2013).

Dentre os fatores que podem influenciar no rendimento e a qualidade da produção da soja, estão os patógenos e as pragas, com destaque para as lagartas desfolhadoras pertencentes à ordem Lepidoptera, com destaque para *Spodoptera cosmioides*, cuja infestação tem sido cada vez mais frequente nas últimas safras (SANTOS et al., 2010; OLIVEIRA, 2013; LIMA et al., 2015).

2.2 Lagartas na cultura da soja

Diversas espécies de insetos e ácaros se alimentam de folhas da cultura, sendo as lagartas (principalmente os noctuídeos) as pragas de maior importância (BUENO et al., 2012). Os danos das lagartas na cultura da soja, ocorre desde a desfolha parcial do limbo e das nervuras foliares até a destruição completa da planta (LOURENÇÃO et al., 2010).

Conhecida popularmente como lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) já foi a espécie mais abundante e de ocorrência frequente em todas as regiões do país onde a soja é cultivada. Quando pequena (até 1 cm) apresenta cor verde e possui quatro pares de pernas abdominais, sendo dois deles vestigiais e mais um par anal. Nessa fase, ela se locomove medindo palmos e, assim podendo ser confundida com lagarta-falsa medideira (Plusiinae como a *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (HOFFMANN et al., 1979; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

Lagartas de *A. gemmatalis* tem de cinco a sete ínstares larvais, sendo seis instares o mais comum. A duração de cada instar varia em decorrência de vários fatores, como a temperatura, a planta hospedeira e a qualidade do alimento (FUGI et al., 2005; MILANO et al., 2008). As maiores do que 1,5 cm são encontradas em formas verdes apresentando três linhas longitudinais brancas no dorso e quatro pares de falsas abdominais, além de um par anal (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

Cada lagarta de *A. gemmatalis* pode consumir de 85 cm² a 150 cm² de área foliar de soja até completar a fase larval (BUENO et al., 2011). Esta lagarta, manejada de forma errada, pode causar até 100% de desfolha, ocasionando perdas consideráveis, após seis ínstares larvais. Essas lagartas transformam-se em pupas, que apresentam coloração marrom, usualmente localizadas no solo (BUENO et al., 2012).

A lagarta falsa medideira pertence à família Noctuidae, subfamília Plusiinae, sendo que sua distribuição é restrita ao Hemisfério Ocidental, ocorrendo desde o norte dos Estados Unidos até o sul da América do Sul (ALFORD; HAMMOND, 1982). Até final da década de 1990, o complexo de Plusiinae era considerado como praga-secundária em soja, representando não mais que 10% da incidência da lagarta-da-soja (MOSCARDI, 1993). *C. includens* foi por muito tempo referido como *P. includens* e mesmo publicações recentes de 2010 e 2011 ainda continuam usando essa nomenclatura (BUENO et al., 2012).

Seus ovos são globulares, medem cerca de 0,5 mm de diâmetro e apresentam coloração creme-clara logo após a oviposição e marrom-clara próximo à eclosão, o desenvolvimento embrionário se completa em torno de 2,5 dias (PETERSON, 1964). O período pupal dura de 7 a 9 dias até a emergência dos adultos, as fêmeas depositam os ovos individualmente e de preferência na superfície inferior das folhas de soja, cada fêmea oviposita, em média, 700 ovos durante a sua vida (MASCARENHAS; PITRE, 1997).

As lagartas que eclodem são de coloração verde-clara, com listras longitudinais brancas e pontuações pretas, atingindo de 40 a 45 mm de comprimento em seu último estágio larval, último instar larval, esta lagarta se transforma em pupa, que ocorre sob uma teia, em geral na face abaxial das folhas (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

Com o surgimento da doença fúngica ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) Sidow a partir da safra 2001/2002, observou-se um aumento expressivo do uso de fungicidas para seu controle, conseqüentemente ocorreu reflexo negativo na população de fungos entomopatogênicos, os quais controlavam de forma natural *C. includens*, neste caso o fungo *N. rileyi*, acarretando no aumento das populações dessa lagarta (SOSA-GOMEZ et al., 2003).

No Brasil, nos últimos anos, a lagarta falsa-medideira, tem-se tornado um sério problema fitossanitário na cultura da soja, com vários surtos ocorrendo isolados ou associados à lagarta-da-soja (BERNARDI, 2012).

No primeiro e segundo ínstar apenas raspam as folhas, enquanto, a partir do terceiro ínstar, conseguem perfurá-las, deixando, entretanto, as nervuras centrais e laterais intactas, proporcionando aspecto característico de folhas rendilhadas (BUENO et al., 2007). O consumo total médio de folhas de soja por lagartas de *C. includens* é bastante variável, sendo encontrados valores de 64 cm² a 200 cm² (SANTOS et al., 2010).

Alguns outros noctuídeos como algumas espécies de *Spodoptera* têm também se destacado como desfolhadores importantes da cultura da soja desde 2003, aumentado sua ocorrência nas últimas safras (BUENO et al., 2010). Causando reduções importantes na produtividade e considerados de grande importância econômica devido às alterações no manejo das lavouras (BUENO et al., 2012).

Podem atacar a soja recém germinada, plântulas no início do desenvolvimento e até a fase reprodutiva (GAZZONI; YORINORI, 1995), com característica de se abrigar no interior da planta, desta forma fica protegida (HOFMANN-CAMPO et al., 2012).

As espécies *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) são consideradas pragas secundárias. Nos sistemas agrícolas praticados atualmente em que se cultiva soja, algodão e milho, a frequente sucessão de cultivos e práticas de manejo inadequadas, tem proporcionado contínua oferta de alimento aos insetos e propiciado a ocorrência de surtos populacionais de algumas espécies de lagartas (SANTOS et al., 2009).

A *S. eridania* é um inseto nativo dos trópicos norte-americanos. Nos Estados Unidos, ocorre principalmente nos Estados do Sudeste e Oeste, podendo chegar ao Kansas e Novo México. As lagartas são de coloração marrom, com uma faixa lateral

longitudinal amarela, que é interrompida por uma mancha escura no tórax (GALLO et al., 2002).

A postura é feita em massa de ovos, coberta com as escamas do corpo da mariposa, apresentando coloração esverdeada, o que a difere das demais espécies do mesmo gênero (HOFMANN-CAMPO et al., 2012). As lagartas de *S. eridania* são encontradas na parte mais baixa das plantas (“baixeiro”), sendo mais ativas durante o período noturno. Seu período larval, tem duração de 15 a 19 dias (SANTOS et al., 2005). Entre essas espécies de lagartas desfolhadoras a ocorrência de *S. eridania* tem sido mais frequente na cultura da soja (SOSA-GÓMEZ et al., 1993; SANTOS et al., 2005; QUINTELA et al., 2007).

Entre as causas para estes surtos em cultivos de soja, destaca-se a aplicação intensiva de produtos químicos de largo espectro, diminuindo a incidência de inimigos naturais (BAVARESCO et al., 2003). A alta densidade populacional e níveis de desfolha maiores que os níveis de controle (de 30 e 15% para as fases vegetativa e reprodutiva, respectivamente), tornou seu status nos últimos anos como uma praga importante nas regiões de cultivo nos cerrados e nas várzeas (FRAGOSO; SILVA, 2007). Esta espécie se desenvolve tanto em culturas comerciais como em plantas daninhas (DIAS et al., 2009).

Uma outra espécie de importância é a *S. frugiperda*, conhecida popularmente no milho como lagarta-do-cartucho, sendo encontrada nas Américas e em algumas ilhas da Índia. É uma praga polífaga, que ataca mais de 50 espécies de plantas distribuídas em mais de 20 famílias, especialmente gramíneas como o milho (CRUZ, 1995). É considerada uma das pragas mais importantes nas Américas, inclusive no Brasil, em função da disponibilidade de suas diversas plantas hospedeiras (PRATISSOLI et al., 2004; MARTINELLI et al., 2006).

Sua postura é em forma de massas, com média de 100 ovos por postura. O número de posturas por fêmea pode ser variável, sendo, em geral, de no máximo 13 e podendo fazer até oito posturas em um só dia. A fase de ovo tem duração de 3 dias a 25 °C (CRUZ, 1995). O período larval varia de 12 a 30 dias, sendo as lagartas inicialmente claras, passando para pardo-escuras a esverdeadas, até quase preta. Iniciam a alimentação pela casca dos próprios ovos e depois raspam as folhas mais novas da planta (GALLO et al., 2002).

Dependendo das condições ambientais favoráveis, esta praga chega a causar reduções significativas no rendimento do milho, podendo chegar na ordem de 34 e 40% (FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006). Segundo Toscano et al. (2012), quando as medidas de controle não são empregadas, os índices de produtividade podem ser totalmente comprometidos, podendo chegar a perdas de até 100%.

A espécie *S. cosmioides* que foi considerada a algum tempo atrás como de ocorrência esporádica na cultura da soja, nos últimos anos tem sido considerada uma das pragas-chave em certas regiões produtoras do cerrado brasileiro (SANTOS, 2007; SANTOS, 2010; LIMA et al., 2015).

Nas últimas safras novas ocorrências de pragas, tem sido o foco de muitos agricultores, se trata da ocorrência da lagarta *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) que tem atacado intensamente culturas como a soja, algodão e milho (CZEPAK et al., 2013), comprometendo a produção.

A lagarta *H. armigera* apresenta ampla distribuição geográfica, sendo registrada na Europa, Ásia, África, Oceania (GUO, 1997; VASSAL et al., 2008). Na safra 2012/13 foi identificada no Brasil, nos Estados da Bahia, Goiás, Mato Grosso e São Paulo (CZEPAK et al., 2013). É uma espécie polífaga, registrada como um inseto prejudicial em 181 espécies de plantas cultivadas e silvestres em pelo menos 45 famílias (SRIVASTAVA et al., 2010). As lagartas alimentam-se de folhas e caules das plantas, causando danos diretos e indiretos em mais de 100 espécies de plantas cultivadas e silvestres de 45 famílias (FITT, 1989; POGUE, 2004; ALI; CHOUDHURY, 2009).

A *H. armigera* tem atividade crepuscular e, por isso, a maioria da sua atividade é realizada durante a noite, permanecendo em repouso durante o dia (ARAÚJO, 1990). Cada fêmea, durante o período de oviposição, que é de cerca de 5,3 dias, pode colocar de 2.200 até 3.000 ovos sobre as plantas hospedeiras (NASERI et al., 2011). O período larval é de 13 a 25 dias, composto por 5 estádios. As lagartas variam da cor verde ao preto e com listras brancas longitudinais e, no último estágio as lagartas deixam a parte aérea e migram para o solo, onde empupam (CZEPAK et al., 2013).

2.3 Biologia da *Spodoptera cosmioidea*

A lagarta *S. cosmioidea* foi relatada em pesquisas a partir da década de 1980 (SPECHT et al., 1996; BAVARESCO et al., 2001). Em seu histórico foi descrita no gênero *Prodenia* Guennée, 1852, que foi considerada sinônimo de *Spodoptera latifascia* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) no início do século XX por HAMPSON (1909) até 1997. A partir desta data vários estudos sobre morfologia de sua genitália, feromônios e DNA de diversas espécies neotropicais do gênero, foi possível revalidar sua identidade, como espécies distintas (SILVAIN; LALLANNE-CASSOU, 1997).

S. cosmioidea é uma espécie que foi descrita por Walker em 1858 com holótipo coletado no Estado do Pará, Brasil e foi considerada sinonímia de *S. latifascia*, esta descrita por Walker em 1856 na Jamaica, até recentemente, quando descreveram as diferenças moleculares, morfológicas, fisiológicas e comportamentais que as separavam como espécies distintas (SILVAIN; LALLANNE-CASSOU, 1997; LALLANNE-CASSOU et al., 1999).

Ambas são membros de um complexo de espécies neotropicais, em que *S. latifascia* encontra-se estabelecida na América Central, Antilhas e Sul do Estados Unidos, enquanto *S. cosmioidea* é encontrada na América do Sul (LALLANNE-CASSOU et al., 1999).

O gênero *Spodoptera* Guenée é cosmopolita e composto por 30 espécies das quais 15 são pragas agrícolas polífagas (ZENKER et al., 2007). No Brasil, várias culturas são citadas como suas hospedeiras, entre as quais o algodoeiro, a soja, o pimentão, o tomateiro, a mamona, o feijão o caupi, o eucalipto, o abacaxizeiro, o arroz, a cebola, a mangueira, a berinjela, entre outras (BERTELS, 1953; SANTOS et al., 1980; GALLO et al., 2002).

De acordo com Gallo et al. (1988) e Gazzoni; Yorinori (1995), a *S. cosmioidea*, juntamente com *Spodoptera eridania* (Cramer), formam o principal grupo de lagartas que atacam vagens da soja. A espécie *S. cosmioidea*, na cultura da soja, tem sido considerada uma das pragas-chave em algumas regiões produtoras do cerrado brasileiro (SANTOS, 2007).

Segundo Santos et al. (2003) *S. cosmioidea* são mariposas pequenas que medem aproximadamente 40 mm de envergadura, de coloração parda com

desenhos brancos nas asas anteriores e asas posteriores brancas, nas fêmeas. Para os machos estes apresentam as asas anteriores amareladas com desenhos escuros, caráter através do qual se permite a diferenciação sexual da espécie.

Os ovos de *S. cosmioides* são colocados em ooplaca na parte inferior das folhas perto da nervura principal, são de coloração amarela e recobertos por escamas que a fêmea coloca para proteção dos mesmos. Essas massas de ovos são irregulares, com uma variação de 30 a 300 ovos (KING; SAUNDERS, 1984; SANTOS et al., 2003; SANTOS, 2007).

As lagartas possuem uma coloração que pode variar do amarelo-pálido a preto, com listas corpóreas longitudinais e reticulares de formas variadas (POGUE, 2002). As lagartas recém eclodidas possuem o corpo com coloração marrom-claro, possuindo cabeça preta. Nos primeiros estádios de crescimento, as lagartas apresentam tom pardo-negro-acinzentado, com 3 listras longitudinais alaranjadas, uma dorsal e duas laterais, com pontos brancos (ZENKER et al., 2007; ARAUJO, 2009).

As pupas de *S. cosmioides* apresentam características em comum em comparação no padrão aos outros noctuídeos, estas são encontradas solo, abrigadas dentro de um envoltório pouco elaborado, glabras, lustras, de coloração castanha, tendo cremaster pequeno, comprimento em torno de 15 a 30 mm e com largura variando de 4 a 5 mm (ANGULO; WEIGERT, 1975).

Quando o ataque da lagarta *S. cosmioides* ocorre nas folhas da soja, seu consumo é o dobro em relação ao consumo foliar de cada uma das demais espécies de lagartas desfolhadoras que também ocorrem na cultura (BUENO et al., 2011). Quando o ataque ocorre na soja em estágio danifica diretamente as vagens da soja (PANIZZI; BUENO; SILVA, 2012).

2.4 Controle biológico

O controle de pragas tem sido realizado quase que exclusivamente com o uso de agrotóxicos, gerando cada vez mais problemas de intoxicação humana e da fauna silvestre, resíduos nos alimentos, água e solo, o aparecimento de novas pragas e de populações resistentes a esses produtos (ALVES et al., 2008).

O termo controle biológico é definido como sendo a redução da população de um organismo alvo por outro organismo vivo (STIRLING, 1991). De acordo com Berti Filho; Ciociola (2002) e Freitas (2006) num agroecossistema equilibrado, os insetos-praga são controlados naturalmente por patógenos (vírus, bactérias, fungos, protozoários e nematoides), parasitoides ou predadores e seu efeito permite diminuir o uso de produtos fitossanitários químicos responsáveis por danos ao ambiente.

Quando comparado a outros países, o uso de controle biológico de pragas no Brasil é recente. Na busca por uma agricultura sustentável, o controle biológico é uma importante ferramenta a ser utilizada no manejo integrado de diferentes insetos-praga, uma vez que utiliza inimigos naturais para manter a população da praga abaixo dos níveis de dano econômico, evitando ao mesmo tempo prejuízos ambientais componente que assume importante papel dentro do programa integrado de pragas (ALVES, 1998).

Quando se trata de controle biológico, o uso de microrganismos no Brasil é um dos métodos que vem sendo empregado em grandes áreas. Entre os agentes de biocontrole de insetos, os fungos entomopatogênicos representam importante papel, principalmente no caso de insetos dotados de aparelho bucal sugador (hemíptera) (PEREIRA, 2003).

No Brasil, o controle biológico começou a ser empregado de maneira aplicada com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok (Ascomycota: Clavicipitaceae) e com o vírus entomopatogênicos *Baculovirus anticarsia*, no controle das cigarrinhas da cana e das pastagens e no controle da *A. gemmatilis* na soja, respectivamente (BROGLIO et al., 2006). Os fungos entomopatogênicos, vêm sendo estudados no Brasil desde 1923, quando então Pestana identificou duas espécies de cigarrinhas infectadas por *M. anisopliae* que ele chamou na ocasião de *Penicillium anisopliae* (REZENDE, 2009).

Quando se trabalha com controle microbiano, utilizando microrganismos entomopatogênicos, algumas vantagens devem ser levadas em consideração como: especificidade e seletividade desses agentes no controle de pragas, sua dispersão e produção em meios artificiais, a ausência de poluição ambiental e toxicidade a organismos não alvo e o homem (PAULA JUNIOR, 2005).

Atualmente, o controle das principais pragas deve ser feito baseado nos princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP). O manejo de pragas neste sistema

consiste em tomar a decisão de controlar a praga baseado no nível de controle, no tamanho e número de insetos-pragas assim como o seu estágio de desenvolvimento na cultura que se está manejando (BRASIL, 2011).

O controle biológico é um componente que assume importante papel dentro do programa integrado de pragas (ALVES, 1998), podendo ser considerado a base do manejo integrado de pragas (GALLO et al., 2002). Na prática, de acordo com o manejo empregado, o controle biológico é dividido em: Controle Biológico Natural, Controle Biológico Aplicado e Controle Biológico Clássico

O controle biológico natural, ocorre naturalmente nos diferentes agroecossistemas, sendo observado sempre que o ambiente não é impactado por práticas culturais. Esta modalidade pode ser favorecida quando práticas conservacionistas são realizadas com finalidade de conservar os inimigos naturais presentes ou quando se utilizam agrotóxicos seletivos no MIP (HOFMANN-CAMPO et al., 2012).

O controle biológico aplicado, com a utilização de bioinseticidas, consiste na importação de agentes de controle biológico de um país para outro, ou de uma região para outra, para o controle da praga-alvo, ou seja, busca-se geralmente na região de origem da praga-alvo, um agente biológico que seja efetivo no controle (SIMONATO et al., 2014). Um exemplo desse tipo de controle biológico é o *Baculovirus anticarsia* (AgMNPV), utilizado para o manejo da lagarta-da-soja *A. gemmatilis* (MOSCARDI et al., 2011).

O controle biológico clássico, refere-se à introdução e ao estabelecimento de inimigos naturais exóticos em áreas em que eles não ocorriam previamente (PARRA et al., 2002). O primeiro caso de sucesso de controle biológico clássico no mundo foi obtido com a introdução da joaninha *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) oriunda da Austrália, em 1889, para o controle da cochonilha *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Margarodidae) nos pomares de citros da Califórnia, EUA (HOWARTH, 1991).

Na década de 90 uma nova tática de manejo integrado de pragas na soja foi adotada, para o controle biológico de percevejos da soja com a utilização de parasitoides (CORRÊA-FERREIRA, 1993).

O controle biológico feito através da utilização do parasitoide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston, 1858), foi mais tarde incrementado com a utilização

também do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead, 1893; em função das mudanças ocorridas na pentatomofauna da soja ao longo do período, ambos utilizados para controle do percevejo da soja. (HOFMANN-CAMPO et al., 2012).

Entre a década de 80 e 90 um novo enfoque no controle de uma das principais pragas, a lagarta-da-soja, *A. gemmatilis*, controlada com o vírus AgMNPV, conhecido por baculovírus, que ocorria naturalmente, agrupado com sucesso no MIP e passou a ser o principal produto para o controle dessa lagarta. (HOFMANN-CAMPO et al., 2012).

Segundo Alves (1998) cada espécie de inseto é suscetível há pelo menos um microrganismo patogênico capaz de causar algum tipo de doença a esse inseto.

Estima-se que existam cerca de 1,5 milhão de espécies de fungos, sendo que destas apenas foram descritas cerca de 74 mil espécies (ESPOSITO; AZEVEDO, 2004).

As principais vantagens do uso de microrganismos entomopatogênicos para o controle de pragas são a especificidade e a seletividade desses agentes de controle, bem como a facilidade de multiplicação, dispersão e produção em meios artificiais, ausência da poluição ambiental e toxicidade em homens e outros organismos não alvos e não selecionarem populações de insetos resistentes (PAULA JÚNIOR, 2005). O controle de lagartas também considera a presença de patógenos, principalmente o fungo *N. rileyi*.

No entanto, o controle biológico no sentido amplo deve ser o primeiro item a ser considerado em qualquer planejamento de manejo integrado de pragas. As estratégias utilizadas para o controle biológico consistem na regulação do número de vegetais e animais por seus inimigos naturais, sendo realizado através da utilização racional de patógenos, visando à manutenção da população de pragas a níveis abaixo dos níveis de dano econômico (ALVES, 1998).

Ao lado de tantos outros métodos de controle, como culturais, físicos, de resistência de plantas a insetos, comportamentais (feromônios), que podem ser harmoniosamente integrados com métodos químicos (especialmente reguladores de crescimento e produtos químicos de última geração, pouco agressivos ao meio ambiente) (PARRA, 1998).

Portanto, é importante destacar que para realizar o controle biológico devemos saber sobre a biologia de um inseto, que é de fundamental importância para o

desenvolvimento de estratégias de manejo eficientes, dentro do MIP (PARRA, 2000).

3.0 FUNGO *Nomuraea Rileyi*

Os principais agentes entomopatogênicos relacionados ao controle microbiano de insetos são fungos, bactérias, vírus, protozoários e nematoides, com vários casos estudados. Segundo Alves (1998) os fungos foram os primeiros agentes a serem utilizados no controle microbiano, sua variabilidade genética é sua principal vantagem, alguns são patógenos de largo espectro, com capacidade de infectar seu hospedeiro em diversas fases como ovos, larvas, pupas e adultos.

Quando os fungos são comparados quanto ao modo de ação com bactérias, protozoários e os vírus, eles apresentam uma característica específica de infecção que ocorre pela sua penetração em seus hospedeiros não dependendo da ingestão para que possa iniciar sua infecção (FRANCESCHINI et al., 2001).

Diferente de outros agentes entomopatogênicos como bactérias, vírus ou protozoários, os fungos não necessitam serem ingeridos por seus hospedeiros para ocasionarem infecção. Sendo assim o modo de contágio dos fungos entomopatogênicos são auxiliados pela produção de enzimas que degradam a cutícula (CHARNLEY, 1984).

O fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (Ascomycota: Clavicipitaceae) se caracteriza por apresentar micélio septado e conidióforos com fiálides se originado do mesmo ponto. A espécie *N. rileyi* é dimórfica e apresentam colônias verdes, conídios elipsoides a cilíndricos, medindo 3,1 a 3,5 × 1,7 a 1,9 µm (ALVES, 1998; DEVI et al., 2003).

É um fungo patogênico cosmopolita que infecta naturalmente larvas de várias espécies, que atacam algumas culturas de importância econômica em muitas regiões do mundo, tendo importância comercial e grande potencial de controle. Seus hospedeiros são basicamente lepidópteros, apresentando uma certa preferência por representantes da superfamília Noctuoide e família Noctuidae (IGNOFFO et al.,

1975; SUWANNAKUT et al., 2005), podendo infectar mais de 30 espécies diferentes de lepidópteros desta família (SUJII et al.; 2002).

A relação de *N. rileyi* com seus hospedeiros, como em outros fungos entomopatogênicos, depende das condições ambientais como a temperatura, luz, umidade e radiação ultravioleta além das condições nutricionais do hospedeiro (ALVES et al., 1998).

O fungo *N. rileyi* foi utilizado em estudos relacionados a epizootias e seu modo de ação como agente de controle. Foram relatadas epizootias em lagartas da família Noctuidae nas culturas de algodão e soja, (BARBOSA et al.; 1997; EDELSTEIN, et al. 2004; COSTA et al.; 2015; LIMA et al.; 2015). Portanto tornando este agente entomopatogênico importante ferramenta de controle natural, principalmente na cultura da soja.

Trabalhos realizados por LOPES; BARROS (1995), avaliando a virulência dos conídios de três linhagens do fungo *N. rileyi*, armazenadas em temperatura a 4 °C, verificaram baixa taxa de mortalidade em *A. gemmatilis*. Kulkarni (1999) testando diferentes concentrações relatou que a concentração letal média contra o segundo instar de *S. litura* ($1,26 \times 10^5$ conídios mL⁻¹) foi relativamente menor que os valores de $5,8 \times 10^6$; $5,89 \times 10^6$ e $11,33 \times 10^5$ conídios mL⁻¹.

Yang et al. (2007) realizaram testes de mortalidade acumulada na China em *S. litura* na concentração 1×10^8 de conídios mL⁻¹ de *N. rileyi* o resultado foi de 62,10% de mortalidade. Em pesquisas realizadas por ALVES et al. (2008) verificou-se a eficiência de controle do *N. rileyi*, controlando 75 a 85% de *S. frugiperda*. Recentemente, trabalho realizado na Índia por Chaudhari et al. (2015) testando a eficiência de *N. rileyi* em *S. litura*, mostrou resultados de 82,22 e 64,44% de mortalidade em diferentes ínstares.

No entanto, outros trabalhos também têm sido realizados com o fungo *N. rileyi* com propósitos de melhor entendimento sobre sua dinâmica de ação, variabilidade genética entre outros aspectos. Pesquisas com período de contato e ação inicial foram realizados, evidenciando existir variação conforme o isolado de *N. rileyi* e a espécie hospedeira (MORROW; BOUCIAS, 1988).

O período de contato e ação inicial do patógeno com o hospedeiro até a sua morte dura em média de 6 a 8 dias, com variação entre linhagens e entre hospedeiros (BOUCIAS et al., 2000; SUWANNAKUT et al., 2005;

SRISUKCHAYAKUL et al., 2005). Pesquisas com o rDNA mitocondrial demonstraram que *N. rileyi* apresenta escassa variabilidade genética, sendo bem próximo dos representantes do gênero *Metarhizium* (BOUCIAS et al., 2000; SOSA-GÓMEZ et al., 2009).

A penetração direta na cutícula é o modo natural de entrada utilizada pela maioria dos fungos entomopatogênicos. O fungo penetra no inseto, frequentemente via tegumento, abrangendo dois processos principais: o físico, devido à pressão da hifa terminal que rompe as áreas membranosas ou esclerosadas e o químico, resultante da elaboração de enzimas (proteases, quitinases e lipases), as quais facilitam a penetração mecânica do fungo e o metabolismo do tubo germinativo (EL-SAYED et al., 1993; ALVES, 1998).

N. rileyi e outros fungos que normalmente não produzem apressório, podem formar uma massa mucilaginosa ao redor do tubo germinativo, a qual também teria função de adesão e de facilitar a produção de enzimas (ALVES, 1998; SRISUKCHAYAKUL et al., 2005). Esta substância mucilaginosa é higroscópica e pode criar um ambiente favorável para a secreção de enzimas extracelulares (BOUCIAS; PENDLAND, 1991).

Essa adesão dos conídios no tegumento do inseto pode estar relacionada à camada de microbastonetes. A germinação ocorrerá se as condições de umidade, oxigênio, pH e temperatura estiverem ideais. A velocidade do processo germinativo depende do isolado, das condições ambientais e do passado térmico do conídio. A germinação pode ser beneficiada pela presença de nutrientes como aminoácidos, esterol, hexoses, podendo ser afetada por substâncias químicas existentes na superfície do hospedeiro, como ácidos graxos (C6 a C12), lipídeos, fenóis e pela flora saprofítica presente na superfície do inseto (ALVES 1998).

Em uma extremidade do tubo germinativo ocorre uma dilatação das hifas, formando uma estrutura denominada apressório. É nesta fase que ocorrerá uma grande atividade metabólica neste local, caracterizada pela presença de mitocôndrias, ribossomos e outros componentes nucleares (SRISUKCHAYAKUL et al., 2005).

Após a penetração o processo de colonização se iniciará. A hifa penetra e se ramifica inicialmente no tegumento do inseto e na hemocela, com o objetivo de se proteger contra o sistema de defesa do inseto (encapsulação). Geralmente não

ocorre um grande crescimento hifal dentro do inseto antes de sua morte. Após a morte do inseto, o fungo irá crescer no interior do inseto e todos os tecidos serão penetrados pelas hifas filamentosas, a colonização dos diversos órgãos começando pelos corpos gordurosos, após sistema digestório e os tubos de Malpighi, sistema nervoso, os músculos e por fim a traqueia (ALVES, 1998).

O ciclo completo de infecção do fungo *N. rileyi* é de 8 a 12 dias a 25°C sendo que a germinação pode ocorrer em 12 horas e a invasão da hemocele em 24 horas. A colonização do hospedeiro dura cerca de 3 a 5 dias e a morte pode ocorrer entre 6 a 7 dias. Os conidióforos e conídios se formam após 8 a 12 dias do início da infecção (ALVES, 1998). Completando assim, o ciclo do fungo.

3.1 Bioprospecção de fungos entomopatogênicos

A prática de recolher, de avaliar e de comercializar material biológico é tão antiga quanto à civilização humana. Ha milhares de anos a humanidade busca novas formas de aprimorar a produção de alimentos e fazer outras descobertas que podem melhorar a qualidade de vida no planeta (PEREIRA, 2009).

A busca na natureza por recursos genéticos e bioquímicos para o desenvolvimento de produtos é descrita atualmente, por um novo termo “bioprospecção ou prospecção da biodiversidade” (LAIRD, 2007).

A bioprospecção pode ser definida como a exploração da biodiversidade a fim de se extraírem recursos genéticos e bioquímicos de valor econômico e social (BEATTIE, 2005). De acordo com Saccaro Junior (2011) a bioprospecção é uma busca sistemática por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes provenientes de seres vivos, que tenham potencial econômico e, eventualmente, levam ao desenvolvimento de um produto.

A bioprospecção está organizada baseada em quatro elementos que se fundamentam para as atividades de bioprospecção: as políticas macro, os levantamentos da diversidade biológica e os sistemas de gestão de informação, as transferências de tecnologia e o desenvolvimento de negócios (QUEZADA et al., 2005).

A utilização dos recursos da biodiversidade está baseada num novo paradigma, alicerçado na ciência e na tecnologia, com aplicação no processo produtivo das empresas (Lasmar, 2005), surgindo um regime internacional para tratar dos interesses e ganhos advindos da biodiversidade (ENRÍQUEZ, 2005).

Como a atividade de bioprospecção tem cunho econômico, demanda cuidados adicionais, como contratos de distribuição de benefícios, a fim de que haja uma repartição justa dos seus resultados. Existem três formas de contratos sobre os recursos genéticos: o contrato de prospecção *in situ*, o contrato de transferência de material e o contrato de uma organização de pesquisa (ANDRADE, 2006).

Para que a bioprospecção tenha credibilidade científica, política e econômica deve-se observar os seguintes princípios: princípio da prevenção dos recursos, equidade distributiva, participação pública, princípio da publicidade, princípio do controle público e o processo deve ser controlado pelos órgãos de fiscalização (SANTOS, 2008).

Segundo Sheidt et al. (2009) a bioprospecção tem como forte tendência propiciar intenso debate no interior da sociedade, sobre temas os mais diversos, que dizem respeito à sobrevivência das espécies e a do próprio planeta, ao aproximar o mundo biológico do mundo político, o mundo natural do mundo tecnológico.

A bioprospecção de isolados de um determinado fungo é de fundamental importância quando se quer implantar um programa de controle microbiano de pragas e representa a principal etapa para o desenvolvimento de bioinseticidas. Esse procedimento é sempre possível uma vez que existe uma grande variabilidade genética, podendo ser considerada uma das principais vantagens da utilização desses patógenos como agentes de controle de artrópodes (ALVES, 1998). São utilizados alguns parâmetros para diferenciar isolados, entre os quais destacam-se o crescimento e produção de conídios em diferentes meios de cultura, sensibilidade a produtos químicos, produção de exoenzimas e sobrevivência à luz ultravioleta (FRIGO; AZEVEDO, 1986; FENG; JOHNSON, 1990; SÓSA-GOMEZ et al., 1994).

Cerca de 80% das doenças têm como agentes etiológicos os fungos, pertencentes a cerca de 90 gêneros e mais de 700 espécies, a maioria dos gêneros de fungos entomopatogênicos foram relatados ocorre no Brasil, sendo que desses, mais de 20 incidem sobre pragas de importância econômica (ALVES, 1998). Na grande maioria os fungos atuam por contato e por ingestão, sua variabilidade

genética permite estudos de seleção de cepas ou isolados e avaliação dos mais virulentos para o controle de pragas (LEITE et al., 2003).

Dentro deste contexto, a bioprospecção de fungo entomopatogênico apresenta-se como uma perspectiva de suma importância.

São vários os relatos na literatura de trabalhos de seleção ou bioprospecção de isolados de fungos com vistas ao controle de diversas pragas no Brasil.

Trabalhos como o de (EL-SAYED et al.,) verificando os efeitos da fonte de cutícula e concentração sobre a germinação de conídios de dois isolados de *N. rileyi* em diferentes plusineos. A cinética da esporulação e viabilidade de conídios de *N. rileyi*, visando subsidiar o desenvolvimento de um modelo para simulação da ocorrência deste fungo em condições encontradas em regiões produtoras de soja no Brasil (SUJII et al., 2002).

Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) (ROHDE et al., 2006). E de seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Leptopharsa heveae* (Hemiptera: Heteroptera, Tingidae), os fungos entomopatogênicos *Sporothrix insectorum*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e *Isaria* spp (SILVA et al., 2012) A eficiência de Isolados de *M. anisopliae* para controle de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) (HAYASHIDA et al., 2014).

Por meio destes trabalhos obteve-se isolados e fungos promissores para serem utilizados com sucesso em programas de controle microbiano de pragas (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2001). Mas para *N. rileyi*, não há relatos na literatura especializada de bioprospecção. Este é o primeiro trabalho de bioprospecção de isolados dessa espécie para o controle de lagartas nas condições brasileiras.

Considerando a importância econômica e ambiental, buscou-se neste trabalho, contribuir com a seleção do melhor isolado e qual concentração mais eficiente na tentativa de se controlar o desenvolvimento e reprodução da lagarta *S. cosmioides* sob efeito do fungo *N. rileyi*.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ALI, A.; CHOUDHURY, R. A. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection**. Tunísia, v. 4, n. 1, p. 99-106, 2009.

ALFORD, A. R.; HAMMOND JUNIOR, A. N. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae), populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with loop lure-baited traps. **Journal of Economic Entomology**. Minneapolis, v.75, n. 4, p. 647-650, 1982.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, São Paulo, n.20, p.30-33, 2001.

ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: **Controle Microbiano de Insetos**, Alves, S. B. editor. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ – Piracicaba/SP. 1998. p. 289-371.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 414 p.

ANDRADE, P. P. Biodiversidade e Conhecimentos Tradicionais. **Revista Prismas**, Brasília, v. 3, n.1, p.03-32, 2006.

ANGULO, A. O.; WEIGERT, G. T. Estados inmaduros de lepidopteros noctuidos de importância económica en Chile y claves para su determinación (Lepidoptera: Noctuidae). Publicación Especial nº, 2. **Sociedad de Biología de Concepción**. Chile. 1975.

ARAÚJO, A. C. **Luta biológica contra *Heliothis armigera* no ecossistema agrícola “tomate de indústria”**. 1990 Dissertação para o Grau de Doutor em Entomologia, Universidade de Évora, Évora, 1990.

ARAUJO, C. R. **Aspectos biológicos de *Spodoptera cosmioides* nas cultivares de algodoeiro Delta OPAL e NuOPAL**. (Boolgard I). 2009. 42p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

BARBOSA, F. R.; FERNANDES, P. M.; MOREIRA, W. A.; SANTOS, G. Efeito de inseticidas na infecção natural da lagarta-da-soja por *Nomuraea rileyi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 32, n. 2, p. 133-136, 1997.

BARROS, N. M.; ROSSATO, M.; ONOFRE, S. B. *Nomuraea rileyi* como agente de controle microbiano da lagarta da soja. In: MELO I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, São Paulo: EMBRAPA Meio Ambiente. 2000. p. 231- 249.

BRASIL, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA Soja. **Sistemas de Produção: Tecnologias de Produção de Soja** - Região Central do Brasil 2012 e 2013. Londrina, Paraná. ed: 15, 262 p, 2011.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; FORETSI, J.; RINGENBERG, R. Efeito de fontes de carboidratos sobre o desempenho reprodutivo de *Spodoptera cosmioides* (Walk. 1858) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, v. 3, n. 7, p.177-180, 2001.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em cebola, mamão, soja e feijão. **Ciência Rural**. Santa Maria. v. 6, n. 33, 2003.

BEATTIE, A. J. New Products and Industries from Biodiversity. In: **Ecosystems and Human Well-being: Current State and Trends**. Coordinating: HASSAN, R., SCHOLES, R.; ASH, N. v. 1, 2005.

BERNARDI, O. **Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil**. 2012. 144f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

BERTELS, A. Pragas de solanáceas cultivadas. Agros. Pelotas v.6, n.4, p.154-160, 1953.

BERTI FILHO, E.; CIOCIOLA, A. I. Parasitóides ou Predadores? Vantagens e desvantagens. In: Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Bento, J. M. S. (2002). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole. p. 29-43, 2002.

BONETTI, L. P. Distribuição da soja no mundo: origem, história e distribuição. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J.C. (Ed.) **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, p. 1-6, 1981.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; BOTTEGA, D. B.; SOUZA, B. H. S.; RODRIGUES, N. E. L.; MICHELIN, V. Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina. v. 36, 2015.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. Attachment of mycopathogens to cuticle. In: The fungal spore and disease initiation in plants and animals. COLE, G. T. & HOCH, H. C. (eds.). **Plenun Press**. New York. 1991. p101-124.

BOUCIAS, D. G.; TIGANO, M. S.; SOSA-GOMEZ, D. R.; GLARE, T. R.; INGLIS, P. W. (2000). Genotypic properties of the Entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. **Biological Control**. Orlando, v.19, p.124-138, 2000.

BROGLIO, M. S. M. F.; SANTOS, A. J. N.; PEREIRA, B. J. L. Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Agrotécnica**, Lavras v, 30. p.1051-1055, 2006.

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J.R.P.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; OLIVEIRA, J.R.G.; CAMILLO, M.F. Sem barreira. **Revista Cultivar**, v. 93, p. 12-15, 2007.

BUENO, A. F.; BATISTELA, M. J.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. C. O. F., NISHIKAWA, M.; HIDALGO, G.; SILVA, L.; GARCIA, A.; CORBO, E.; SILVA, R. B. **Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, (Embrapa Soja. Circular Técnica, 79). 110, 2010.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 2, p. 170-174, 2011.

BUENO, A. F.; PANIZZI, A. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; GAZZONI, D. L.; HIROSE, E.; MOSCARDI, F.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; ROGGIA, S. Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds) **Soja: Manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa, Brasília, DF, 2012. p.859.

CHARNLEY, A. K. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: a speculative review. *Invertebrate Microbiol Interactions*. **Cambridge**, v.6, p.229-270, 1984.

CHAUDHARI, C. S.; CHANDELE, A. G.; POKHARKAR, D. S.; DETHE, M. D.; FIRAKE, D. M. Pathogenicity of Different Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson Against Tobacco Caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Section B: **Biological Sciences**. India, v.2, p.1-7, 2015.

CHUNG, G.; SINGH, R. J. Broadening the Genetic Base of Soybean: A Multidisciplinary Approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**. Boca Raton, v. 27, n.5, p. 295-341, 2008.

COATES, B. S.; HELLMICH, R. L.; LEWIS, L. C. Allelic variation of a *Beauveria bassiana* (Ascomycotina: Hyphocreales) minisatellite is independent of host range and geographic origin. **Genome**, Ottawa, v. 45, n.1, p. 125-132, 2002.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos v. 2 - Safra 2014/15, n. 10 - Décimo levantamento. 2015. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/cr/v42n12/a35812cr6569.pdf>>. Acesso em 9 de julho de 2015 a.

CONAB- COMAPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira de grãos v.2- Safra 2014/15, n.11- Décimo primeiro levantamento. 2015. Disponível em < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf>. Acesso em 24 de Agosto de 2015 b.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitóide de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) no controle de percevejos da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPQSO. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 11). 40p. 1993

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em fritura. **Química Nova**. Curitiba, v.23, p.4, 2000.

COSTA, V. H. D.; SOARES, A. M.; RODRIGUEZ, F. A. D.; ZANUNCIO, J. C.; SILVA, I. M.; VALICENTE, F. H. *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. **Florida Entomologist**. Washington, v. 98, n. 2, p.796-798, 2015.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas, Embrapa, CNPMS, 45p. Embrapa. CNPMS, 1995. (Circular Técnica, 21).

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiânia, v.43, p.110-113, 2013.

DALL'AGNOL, A.; ROESSING, C. A.; LAZZAROTTO, J. J. **O complexo agroindustrial da soja brasileira**. Circular Técnica- EMBRAPA Soja. Londrina, Paraná. ed: 43, 12 p, 2008.

DEVI, P. S. V.; PRASAD, Y. G.; CHOWDARY, D. A.; RAO, L. M.; BALAKRISHNAN, K. Identification of virulente isolates of the entomopathogenic fungus *N. rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **Mycopathologia**. n.156, p.365-373, 2003.

DIAS, N. S.; MICHELETTI, S. B.; TOURINHO, L. L.; RODRIGUES, V. M. Primeiro registro de ocorrência de *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: noctuidae) atacando crotalária no estado de Alagoas, Brasil. **Revista Caatinga**. Mossoró, v.22, n.1, p.1-3, 2009.

EDELSTEIN, J. D.; LECUONA, R. E.; TRUMPER, E. V. Selection of culture media and In vivo assessment of temperature-dependent development of *Nomuraea rileyi*. **Neotropical Entomology**. Londrina, v.33, n.6, p.737-742, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA. Tecnologias de produção de soja Região Central do Brasil 2004 (Sistema de Produção nº1). Disponível em <http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/SojanoBrasil.htm>. Acesso em 24 de Agosto 2015.

ENRÍQUEZ, G. V. Os caminhos da bioprospecção para o aproveitamento comercial da biodiversidade na Amazônia. **Revista Com Ciência**, Campinas. nº 64, 2005.

EL-SAYED, G. N.; IGNOFFO, C.M.; LEATHERS, T.D. Effects of cuticle source and concentration on germination of conidia of two isolates of *Nomuraea rileyi*. **Mycopathology**. v.113, p. 95-102. 1991.

EL-SAYED, G. N.; IGNOFFO, C. M.; LEATHERS, T. D.; GUPTA, S. C. Effects of cuticle and concentration on expression of hydrolitic enzymes by an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. **Mycopathologia**. v.122, p.149-152, 1993.

ESPOSITO, E. AZEVEDO, J. L. **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnologia**. Caxias do Sul: Educs, 2004. p.510p.

FARINELLI, R.; FORNASIERI FILHO, D. Avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho. **Científica**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.197-202, 2006.

FENG, M.; JOHNSON, J. B. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). **Environmental Entomology**, College Park, v.19, n.3, p.785-790, 1990.

FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 17-52, 1989.

FRAGOSO, D. B.; SILVA, R. Z. Na soja! **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Pelotas, v.94, p. 20-22, 2007.

FRANCESCHINI, M.; GUIMARÃES, A. P.; CAMASSOLA, M.; FRAZZON, A. P.; BARATTO, C. M.; KOGLER, V.; SILVA, M. V.; DUTRA, V.; NAKAZOTO, L.; CASTRO, L.; SANTI, L.; VAINSTEIN, M. H.; SCHRANK, A. Biotecnologia aplicada ao controle biológico. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, v.31, p.32-37, 2001.

FREITAS, F. A. **Aspectos biológicos e tabela de vida de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) com a presa *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) em soja resistente**. 2006. 141p. Tese (Doctor Scientiae) Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2006.

FRIGO, S. M.; AZEVEDO, J. L. Variabilidade para crescimento, conidiação e sobrevivência à luz ultra-violeta em *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.61, n.2, p.137-147, 1986.

FRONZA, E. **Virulência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson e sua relação com a estrutura e composição cuticular de larvas de lepidópteros-praga**. 2013. 93 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia), Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Caxias do Sul, 2013.

FUGI, C. G. Q.; LOURENÇÃO, A. L.; PARRA, J. R. P. Biology of *Anticarsia gemmatalis* on soybean genotypes with different degrees of resistance to insects. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 62, p. 31-35. 2005.

GALLO, D., O. NAKANO, S.; SILVEIRA NETO, R. P. L.; CARVALHO, G. C.; BATISTA, E.; BERTI FILHO, J. R. P.; PARRA, R. A.; ZUCCHI, S. B.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. 2a ed. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 649p. 1988.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GAZZONI, D. L.; YORINORI, J. T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: EMBRAPA - SPI. 128p. (Manuais de Identificação de Pragas e Doenças, 1). 1995.

GOULART, H. F.; LIMA, M. R. F.; MORAIS, R. K. S.; BERNARDO, V. B. Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. **Revista Virtual de Química**. v.7, p.1205-1224. 2015.

GUO, Y. Y. Progress in the researches on migrationregularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. **Acta Entomologica Sinica**, Beijing, v.40, n.1, p.1-6, 1997.

HAYASHIDA, E. K., S. O. KASSAB, E. S. LOUREIRO, C. ROSSONI, R. H. BARBOSA, A. S. SILVA ; D. P. COSTA, 2014. Isolados de *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) para Controle de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae), EntomoBrasilis v.7, n.1, p. 20-23, 2014.

HOFFMANN, C. B.; NEWMAN, G. G.; FOERSTER, L. A. Incidência estacional de doenças e parasitas em populações naturais de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Plusia* spp. em soja. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**. Londrina, v. 8, p. 115-124, 1979.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORREIA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GOMEZ, D. R.; PANIZI, A. R.; CORSO, I, C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Circular Técnica- EMBRAPA Soja. Londrina, Paraná. ed: 30, 67 p, 2000.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S., MORCADI, F. F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa Soja. Londrina, 2012. 859 p. 2012.

HOWARTH, F. G. Environmental impacts of classical biological control. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.36, p.485-509, 1991.

IGNOFFO, C. M., PUTTLER, B., MARSTON, N. L., HOSTETTER, D. L., DICKERSON, W.A. Seasonal incidence of the entomopathogenic fungus *Spicaria rileyi* associated with noctuid pests of soybeans. **Journal of Invertebrate Pathology. Califórnia**. v.25, n.1, p.135-137, 1975.

KIIHL, R. A. S.; GARCIA, A. **The use of the long-juvenile trait in breeding soybean cultivars**. In: WORLD SOYBEAN RESERACH CONFERENCE, v.4, p. 994-1000, 1989.

KING, A. B. S.; SAUNDERS, J. L. **The invertebrate pest of annual food crops in Central America**. London: Overseas Development Administration, 1984,166 p.

KULKARNI, N. S. **Utilization of fungal pathogen *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson in the management of Lepidopterous Pests**. Ph. D. Thesis, UAS, Dharwad, pp 96. 1999.

LAIRD, S. **Bioprospecting: securing a piece of the pie**. In: World Conservation, 2007.

LALANNE-CASSOU B.; SILVAIN, J. F.; MONTI, L.; MALOSSE, C. Mécanismes d'isolement reproducteur chez les espèces du complexe néotropical *Spodoptera latifascia*- *S. cosmioides*- *S. descoinsi*. **Annales de la Société Entomologique de France**. Paris, v. 35, Supp., p. 109-116, 1999.

LASMAR, J. D. **Valoração da biodiversidade: capacitação e inovação tecnológica na fitoindústria no Amazonas**. 228p. Tese (Doutorado em Ciência em engenharia da produção). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2005.

LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B. **Produção de fungos entomopatogênicos**. Ribeirão Preto: Livro Ceres. 92p, 2003.

LIMA, A. R.; LOUREIRO, S. L.; MUCHALAK, F.; TAIRA, T. L.; FERREIRA, F. N.; NOCCHI, M. J.; Ocorrência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson na *Spodoptera cosmioides* (Walk.) 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) em Chapadão do Sul-MS. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.9, n.2, p.57-59, 2015.

LOURENÇÃO, A. L.; RECO, P. C.; BRAGA, N. R.; VALLE, G. E.; PINHEIRO, J. B. Produtividade de genótipos de soja sob infestação da lagarta da soja e de percevejos. **Neotropical Entomology**. Londrina, v. 39, n. 2, p. 275-281, 2010.

LOPES, M. I. L.; BARROS, N. M. Virulence of stored conidia of *Nomuraea rileyi* fungi against soybean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. **Ciência Rural**, v. 25, n. 2, p. 197-200, 1995.

MARTINELLI, S.; BARATA, R. M.; ZUCCHI, M. I.; SILVA-FILHO, M. C. Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology**. Annapolis, v.99, p. 519-526, 2006.

MASCARENHAS, R. N.; PITRE, H. N. Oviposition responses of soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to varieties and growth stages of soybeans. **Environmental Entomology**. Annapolis, v. 26, p. 76-83, 1997.

MILANO, P.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Influência da temperatura na frequência de cópula de *Anticarsia gemmatilis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**. Londrina, v. 37, p. 528-535, 2008.

MORROW, B. J.; BOUCIAS, D. G.; HEATH, M. A. Loss of virulence in an isolate of an entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*, after serial in vitro passage. **Journal of Economic Entomology**. Minneapolis, v.82, n.2, p.404-407, 1988.

MOSCARDI, F. Soybean integrated pest management in Brazil. **FAO Plant Protection Bulletin**. Roma, v. 41, p. 91-100, 1993.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L.; CASTRO, M. E. B.; MOSCARDI, M. L.; SZEWCZYK, B. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: AHMAD, L.; AHMAD, F.; PICHTEL, J. (Ed.). **Microbes and microbial technology agricultural and environmental applications**. London: Springer, 2011. p. 415-445.

NASERI, B.; FATHIPOUR, Y.; MOHARRAMIPOUR, S.; HOSSEININAVEH, V. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 13, p. 17-26, 2011.

NORA, I.; REIS FILHO, W.; STUKER, H. Danos de larvas em frutos e folhas de macieira: mudanças no agroecossistema ocasionam o surgimento de insetos indesejados nos pomares. **Agropecuária Catarinense**. Florianópolis, v. 2, p. 54-55, 1989.

NUNES, F. R. A.; MARTINS, J. N.; FURLANETO, M. BARROS, N. M. Production of cuticle-degrading proteases by *Nomuraea rileyi* and its virulence against *Anticarsia gemmatilis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n 9, p. 1855-1859, 2010.

OLIVEIRA, F. R. **Prospecção de fungos para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2013. 69 p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia), Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F. A. C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 335-420.

PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 1015-1037, 1998.

PARRA, J. R. P. A biologia de insetos e o manejo de pragas: Da criação em laboratório à aplicação em campo. In: GUEDES, J. V. C., COSTA, I. D. DA & CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, 2000, cap. 1, p.1-29.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.1-16.

PAULA JUNIOR, T. J.; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. Controle Alternativo de Doenças de Plantas - Histórico. In: Venzon, M.; Paula Júnior, T. J.; Pallini, A. (Org.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa (MG): EPAMIG - CTZM, 2005, v., p. 135-162.

PASTRANA, J. A. Los lepidópteros argentinos: sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios. Buenos Aires: **Sociedad Entomológica Argentina**. Buenos Aires, 2004, 350p.

PERREIRA, M. W. **Caracterização Genética e Citológica de Fungos Entomopatogênicos Coletados no Noroeste do Paraná**. 2003. 73 p. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético Vegetal) Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

PEREIRA, A. M. **Condicionantes institucionais para bioprospecção no Brasil 2009**. 290p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Econômico), Instituto de Economia, Universidade de Campinas, Campinas, 2009.

PETERSON, A. Egg types among moths of the Noctuidae. **Florida Entomologist. Washington**, v. 47, p. 71-100, 1964.

POGUE, G. M. World revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) **Memoirs of the American Entomological society**. Philadelphia, v.43, v.1, p.202, 2002.

POGUE, G. M. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). **Annals of the Entomological Society of America**. Washington, v. 97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.

PRATISSOLI, D.; THULER, R. T.; PEREIRA, F. F.; REIS, E. F.; FERREIRA, A. T. Ação transovariana de Lufenuron (50 G/L) sobre adultos de *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 28, n. 1, p. 9-14, 2004.

QUEZADA, F.; ROCA, W.; SZAUER, M. T.; GÓMEZ, J. J.; LÓPEZ, R., **Biotecnología para el uso sostenible de la biodiversidad – capacidades locales y mercados potenciales**. Caracas, Venezuela, 2005.

QUINTELA, E. D.; TEIXEIRA, S. M.; FERREIRA, S. B.; GUIMARÃES, W. F. F.; OLIVEIRA, L. F. C.; CZEPAK, C. **Desafios do manejo integrado de pragas da soja em grandes propriedades no Brasil Central**. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão, 65p. (Comunicado Técnico, 149), 2007.

REZENDE, J. M. **Influência da qualidade de diferentes tipos de arroz e inibidores de proteinases no rendimento e na virulência de conídios do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Mestch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales)**. 2009. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

RIFFEL, C. T.; GARCIA, M. S.; SANTI, A. L.; BASSO, C. J.; DELLA FLORA, L. P.; CHERUBIN, M. R.; EITELWEIN, M. T. Densidade amostral aplicada ao monitoramento georreferenciado de lagartas desfolhadoras na cultura da soja. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 42, n. 12, p. 2112-2119, 2012.

ROHDE, C.; ALVES, L. F. A.; NEVES, P. M. O. J. N.; ALVES, S.; SILVA, E. R. L.; ALMEIDA, J. E. M. Seleção de Isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o Cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**. v. 35, n. 2, p. 231-240, 2006.

SACCARO JUNIOR, N. L. **A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada: Brasília, 2011.

SANTOS, W. J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. (Ed.). **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão, 2007. p.403-478.

SANTOS, A. S. R. Biodiversidade, Bioprospecção, Conhecimento Tradicional e o Futuro da Vida. 2008. Disponível Em: <<http://www.ccuec.unicamp.br/revista/infotec/artigos/silveira.html>>, Acessado em 11/11/2014.

SANTOS, G. P.; COSENZA, G. W.; ALBINO, J. C. Biologia de *Spodoptera latifascia* (Walk., 1856) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre folhas de eucalipto. **Revista Brasileira de Entomologia**. Curitiba, v.24, n.2, p.153-155, 1980.

SANTOS, W.J.; BARBOSA, C.A.S.; PEDROSA, M.B. Estudo do comportamento da falsa-medideira e ou mede-palmo na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no Oeste da Bahia. 2010. Disponível em:<http://circuloverde.com.br/art/safra_0809/algodao/relatoriofinalensaiosdeplusiasafra0809.pdf>. Acesso em: 22 dez. 2015.

SANTOS, W. J.; SANTOS, K. B.; SANTOS, R. B. Ocorrência, descrição e hábitos de *Spodoptera* spp. em algodoeiro no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, 4, 2003, Goiânia [Cd-Rom]. **Anais...** 2003.

SANTOS, K. B.; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 903-910, 2005.

SANTOS, K. B.; P. J. NEVES, A. M.; MENEGUIM, R. B.; SANTOS, W. J. SANTOS, G.; VILLAS BOAS, V.; DUMAS, E.; MARTINS, L. B.; PRAÇA, P. QUEIROZ, C. BERRY; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioidea* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**. Orlando 50: 157-163, 2009.

SANTOS, K. B.; MENEGUIM, A. M.; SANTOS, W. J.; NEVES, P. M. O. J.; SANTOS, R. B. Characterization of the damage of *Spodoptera eridania* (Cramer) and *Spodoptera cosmioidea* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) to structures of cotton plants. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 4, p. 626-631, 2010.

SCHONINGER, E. L.; LANGE, A.; SILVA, A. F.; LEMKE, A. F.; MONTEIRO, S.; SILVA, J. A. N. Atributos químicos do solo e produtividade da cultura de soja em área de semeadura direta após calagem superficial. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, suplemento 1. Londrina, p. 1253-1262, 2010.

SHEIDT, G. N. A. R. A.; ARAKAKI, A. H.; SPIER, M. R.; PORTELLA, A. C. F. Biotecnologia: Clonagem Transgênicos e Bioprospecção 2009. Disponível em <<http://nead.uesc.br/arquivos/Biologia/modulo8bloco1/unibiotecnologiaclonagemtransgenicosbioprospeccao/materialapoio/modulobiotecnologia.pdf>>. Acesso em 25 de Outubro de 2014.

SILVA, E. A. R.; BATISTA FILHO, A.; WENZEL, I. M.; FURTADO, E. L.; J.E.M. ALMEIDA, J. E. M. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *leptopharsa heveae* (Hemiptera: Heteroptera, tingidae). **Arquivo Instituto Biológico**. v.79, n.4, p.549-556, 2012.

SILVAIN, J. F.; LALANNE-CASSOU, B. Distinction entre *Spodoptera latifascia* (Walter) et *Spodoptera cosmioidea* (Walker), bona species (Lepidoptera: Noctuidae). **Revue Française d' Entomologie**. (Nouvelle Série), Paris, v. 19, n.3-4, p.95-97, 1997.

SIMONATO, J.; GRIGOLLI, J. F. J.; OLIVEIRA, H. N. Controle Biológico de Insetos-Praga na Soja. In: LOURENÇÃO, A.L.F.; GRIGOLLI, J.F.J.; MELOTTO, A.M.; PITOL, C.; GITTI, D.C.; ROSCOE, R. (Org.). **Tecnologia e Produção Soja 2013/2014**. 1ed.Curitiba: Midiograf, 2014, v. 1, p. 178-193.

SOARES, J. J.; VIEIRA, R. M. *Spodoptera frugiperda* **ameaça a cotonicultura brasileira**. Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1998. 5p. (Embrapa-CNPA. Comunicado Técnico, nº 96).

SOSA-GÓMEZ, D. R.; GAZZONI, D. L. B.; CORRÊA-FERREIRA, B.; F. MOSCARDI, F. Pragas da soja e seu controle, p. 299-331. In: ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. M. (Ed.). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba, Potafos, 535p, 1993.

SÓSA-GOMEZ, D. R.; ALVES, S. B.; MILANI, M. T. Characterization and phenetic analysis of geographical isolate of *Beauveria* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.3, p.401-409, 1994.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; DELPIN, K. E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M. H.; The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**. Londrina, v.32, p.287-291, 2003.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; HUMBER, R. A.; HODGE, K. T.; BINNECK, E.; SILVA-BRANDÃO, K. L. Variability of the mitochondrial SSU rDNA of *Nomuraea* species and Other entomopathogenic fungi from Hypocreales. **Mycopathologia**. 167, 145-154, 2009.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO, (Embrapa – CNPSO. Documentos, 269). 90p, 2010.

SPECHT, A., CORSEUL, E. Lista documentada do Noctuídeos (Lepidoptera, Noctuidae) ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**. Porto Alegre, v.4, n.2, p.131-170, 1996.

SPECHT, A.; SILVA, E.; LINK, D. Noctuídeos (Lepidoptera, Noctuidae) do Museu Entomológico Ceslau Biezanko, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, RS. **Revista Brasileira de Agrociências**. Pelotas, v.4, n.10, p.389-409, 2004.

SRISUKCHAYAKUL, P.; WIWAT, C.; PANTUWATANA, S. Studies on the pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*. **Science Asia**. Kuala Lumpur, v.31, p.273-276, 2005.

SRIVASTAVA, C. P.; NITIN, J.; TRIVEDI, T. P. Forecasting of *Helicoverpa armigera* populations and impact of climate change. **Indian Journal of Agricultural Sciences**. Nova Deli, v. 80, n.1, p. 3-10, 2010.

SUJII, E. R.; CARVALHO, V. A.; TIGANO, M. S. Cinética da esporulação e viabilidade de conídios de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson sobre cadáveres da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), em condições de campo. **Neotropical Entomology**. Londrina, v.31, p.85-90, 2002.

STIRLING, G. R. Biological control of plant parasitic nematodes: progress, problems and prospects. Wallingford, UK: **CAB International**, Wallingford, 1991. p.282.

SUWANNAKUT, S.; BOUCIAS, D. G., WIWAT, C. Genotypic analysis of *Nomuraea rileyi* collected from various noctuid hosts. **Journal of Invertebrate Pathology**, Califórnia, v.90, p.169-176, 2005.

TOSCANO, L. C.; CALADO FILHO, G. C.; CARDOSO, A. M.; MARUYAMA, W. I.; TOMQUELSKI, G. V. Impacto de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, noctuidae) e seus inimigos naturais em milho safrinha. **Arquivos do Instituto Biológico**. Campinas, v. 79, p. 223-231, 2012.

VASSAL, J. M.; BREVAULT, T.; ACHALEKE, J.; MENOZZI, P. Genetic structure of the polyphagous pest *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) across the sub-Saharan cotton belt. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, v.73, p.433-437, 2008.

VEGA-AQUINO, P.; SANCHEZ-PEÑA, S.; BLANCO, C.A. Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**. Califórnia, v.103, 145-149, 2010.

VILAS-BOAS, A. M. Efeito de inseticidas em subdoses sobre o fungo *Beauveria bassiana* e sobre as brocas da cana-de-açúcar. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.34, n.2, p.287-302, 1991.

YANG, L.; LIN, H. L.; MAO, Y. Y.; WU, S. Cultural characteristics of *Nomuraea rileyi* Nr05 and its virulence to *Spodoptera litura*. China Journal Biology Control. v. 23, n.1, p. 44-48. 2007.

ZENKER, M. M.; SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Estágios imaturos de *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Zoologia**. Curitiba, v.24 n.1 p.99-107, 2007.

CAPITULO 01 - Bioprospecção de isolados do fungo *Nomuraea rileyi* (Samson) (Ascomycota: Clavicipitaceae) no controle de *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae)

Resumo: A seleção de isolados de fungos entomopatogênicos se faz necessária para se escolher o isolado mais adequado para ser utilizado em programas de controle biológico. O objetivo da pesquisa foi avaliar, em condições de laboratório, a eficiência de isolados do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* sobre *Spodoptera cosmioides*. O ensaio experimental foi composto por delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições, cada repetição com 5 lagartas padronizadas em 2mm cada. Foi pulverizado 1mL de cada isolado na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios viáveis mL^{-1} com auxílio da Torre de Potter. Os dados de mortalidade foram transformados $\arcsen(x/100)^{0,5}$ para realização da análise de variância e comparação das médias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. A eficiência de controle foi calculada através da fórmula de Abbott. A mortalidade foi verificada diariamente durante 27 dias e avaliada por regressão linear e polinomial. De modo geral, *N. rileyi* foi patogênico às larvas de *S. cosmioides*. O tratamento com o isolado UFMS 03, UFMS 08 e UFMS 02 apresentaram 89,5, 78,9, 73,7% de eficiência, respectivamente. O isolado UFMS 03 proporcionou tempo letal mediano (TL_{50}) em 14,7 dias, maior eficiência, com potencial como agente de controle biológico.

Palavras-chave: Controle microbiano, entomopatógenos, *Glycine max*, lagarta das vagens, lagarta desfolhadora da soja.

Abstract: The selection of entomopathogenic fungi strains is required choosing the most appropriate isolated to use in programs of biological pest control. The objective of the research was to evaluate, under laboratory conditions, the efficiency of isolated from entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* on *Spodoptera cosmioides*. The experimental trial consisted of a completely randomized design with eight treatments and 10 repetitions with 5 caterpillars standardized in 2 mm each. Is was pulverized 1 mL of each strain in 1.0×10^9 viable conidia mL^{-1} with Potter tower assist. Mortality data obtained were transformed $\arcsen(x/100)^{0,5}$ to do the variance analysis and comparison of means by Scott-Knott test in 5% of significance. The efficiency of control was calculated through Abbot formula. The mortality was verified daily during 27 days and evaluated by linear regression and polynomial in such a way, *N. rileyi* was pathogenic to *S. cosmioides* caterpillars. The treatment with strain UFMS 03, UFMS 08 and UFMS 02 presented 89.5, 78.9, 73.7% of efficiency, respectively. Isolated UFMS 03 showed with median lethal time (LT_{50}) in 14.7 days, higher efficiency with potential as a biological control agent

Key words: Microbial control, entomopathogen, *Glycine max*, caterpillar of the pods, defoliating caterpillar soy.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merill) é considerada um dos principais produtos agrícolas brasileiro de exportação. O Estado de Mato Grosso do Sul, é um dos principais produtores, com uma área estimada em 2.300,5 milhões de hectares, na safra 2014/2015, 8,5% superior à safra anterior, com uma produção de 7.177,6 toneladas e produtividade estimada de 3.120 Kg/ha (CONAB, 2015).

Dentre os fatores que podem influenciar no rendimento e a qualidade da produção dessa cultura, estão os insetos-praga, os quais podem causar perdas médias anuais de 7,7% na produção agrícola no

Brasil, o que corresponde a redução de aproximadamente 25 milhões de toneladas de alimentos, fibras e biocombustíveis (Goulart et al., 2015).

Dentre o complexo de pragas que ataca a soja, destacam-se as lagartas desfolhadoras, pertencentes a família Noctuidae (Lourenção et al., 2010), com destaque para *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Esta espécie é altamente polífaga, ocorrendo em diversas culturas de importância econômica (Habib et al., 1983; Santos et al., 2010) e tem apresentado ocorrência generalizada na soja nas últimas safras (Lima et al., 2015).

O ataque desta praga causa severos danos na cultura da soja (Bavaresco et al., 2004), podendo influenciar no rendimento e na qualidade da produção da soja (Lourenção et al., 2010, Santos et al., 2010). Quando seu ataque acontece na fase vegetativa o consumo das folhas é quase o dobro em relação das demais espécies de lagartas desfolhadoras que ocorrem na cultura (Bueno et al., 2011).

O uso do controle químico ainda é a tática mais utilizada para o manejo de pragas. Entretanto, seu uso excessivo ocasiona efeitos adversos, como maior impacto ambiental, mortalidade de inimigos naturais, perda da biodiversidade, eliminação de insetos polinizadores, surgimento de pragas secundárias e principalmente selecionando populações de pragas resistente aos inseticidas (Preza e Augusto, 2012; Boiça Junior et al., 2015).

O uso exagerado de agrotóxicos, tem motivado estudos de formas alternativas para controle de pragas. A utilização de agentes biológicos para o controle de insetos-praga tem se intensificado nos últimos anos no Brasil, com resultados significativos no manejo desses organismos fitófagos (Antunes et al., 2010), além de proporcionar à redução do impacto ambiental, maior segurança para sua manipulação, menor custo de aplicação, especificidade, comparando com inseticidas convencionais (Franceschini et al., 2001).

O uso de microrganismos entomopatogênicos no Brasil é um dos métodos que vem sendo empregado em grandes áreas, entre eles, a utilização de fungos entomopatogênicos (Loureiro e Monteiro, 2005; Santoro et al., 2007). Dentre os fungos entomopatogênicos *Nomuraea rileyi* (Ascomycota: Clavicipitaceae) destaca-se no controle de lepidópteros-praga, sendo relatados na literatura sua ocorrência natural, principalmente sobre lagartas da família Noctuidae (Ignoffo et al., 1975; Suwannakut et al., 2005; Costa et al., 2015). Recentemente foi constatado epizootia em lagartas da espécie *S. cosmioides* no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil (Lima et al., 2015). Lee et al. (2012) relataram eficiência de *N. rileyi* variando de 20 a 54% em lagartas de *S. exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Chaudhari et al. (2015) testando a eficiência de *N. rileyi* em *S. litura* verificaram 64,44 e 82,22% de mortalidade em diferentes instares.

Porém, diversas pesquisas com fungos entomopatogênicos são realizadas para selecionar microrganismo com maior virulência a uma determinada praga. Diante destas informações e verificando a importância desta praga da soja, o objetivo da pesquisa foi avaliar, em condições de

laboratório, a eficiência de isolados do fungo entomopatogênico *N. rileyi* no controle populacional da lagarta *S. cosmioides*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e criação das lagartas

Para instalação dos bioensaios foram utilizadas lagartas de *S. cosmioides* oriundas da 2ª geração da criação estabelecida no Laboratório de Entomologia da UFMS/CPCS. Todas as fases de *S. cosmioides* foram mantidas em câmara climatizada a 25 ± 1 °C, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os adultos foram mantidos em gaiolas de PVC de (100mm x 200mm) revestidas internamente com papel sulfite e a abertura superior fechada com tecido tipo voil preso por elástico e, na extremidade inferior, por placa de isopor revestida por papel toalha. A alimentação fornecida foi pasta a base de mel e levedo de cerveja em proporções iguais (V/V) colocada em algodão hidrófilo embebido em recipiente de vidro preso na parte superior, substituída a cada dois dias.

Os ovos obtidos foram destinados aos bioensaios e à manutenção da criação. Lagartas recém-eclodidas foram mantidas em potes plásticos cilíndricos com diâmetro de 5 cm e capacidade 145 mL. Para a manutenção da criação foi fornecida dieta artificial, adaptada de Grenne et al. (1976).

Obtenção e multiplicação dos isolados de *N. rileyi*

Os isolados do fungo entomopatogênico *N. rileyi* utilizados neste bioensaio foram multiplicados a partir de cadáveres, que apresentavam sinais característicos de contaminação pelo fungo, de lagartas das espécies *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805), *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818), *Alabama argilacea* (Hübner, 1818) e *S. cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), coletadas na cultura da soja nos municípios de Chapadão do Sul- MS, Dourados-MS e Cuiabá-MT. No laboratório as lagartas foram imersas em álcool 70% e água destilada esterilizada para fins de desinfestação e transferidas para câmaras úmidas (placas de Petri de 9cm de diâmetro), mantidas em câmara climatizada a temperatura de 26 ± 2 °C, UR $70\pm 10\%$ e 12h fotofase para promover a esporulação do fungo. Após este período foi realizado o isolamento em meio de cultura Sabouraud de acordo com Alves (1998).

Seleção dos isolados

Após 10 dias, as colônias de cada isolado foram observadas em microscópio óptico e aquelas que não apresentaram contaminação foram repicadas em meio de cultura Sabouraud, incubadas em câmaras climatizada a (25 ± 1 °C, UR $70\pm 10\%$ e 12 h de fotofase) até completa esporulação. As suspensões fúngicas utilizadas no bioensaio foram obtidas a partir dos isolados UFMS 02, UFMS 03, UFMS 04, UFMS 05, UFMS 06, UFMS 07 e UFMS 08 de *N. rileyi*, raspando-se a superfície do meio

de cultura com o auxílio de uma alça de níquel-cromo. Os conídios foram transferidos para tubos de ensaio contendo 1 mL de água destilada esterilizada mais espalhante adesivo Tween 80[®] a 0,02%, padronizando-se a concentração de $1,0 \times 10^9$ mL⁻¹ conídios viáveis, quantificadas em câmara de Neubauer[®] com o auxílio do microscópio óptico.

Condução do experimento

O ensaio experimental foi composto por delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e 10 repetições, cada uma composta por cinco lagartas *S. cosmioides*, padronizadas em 2 mm de comprimento cada. No interior das placas foi colocada uma folha de soja com área foliar de 4,0 cm², previamente desinfestada com álcool 70% e água destilada esterilizada, com o pecíolo envolvido por um pedaço de algodão hidrófilo umedecido com água destilada esterilizada e por último as lagartas.

Em seguida foi pulverizado 1 mL de suspensão fúngica com auxílio de Torre de Potter adaptada, a pressão de 15 libras/pol². Após, as placas foram vedadas com filme pvc e colocadas em câmara climatizada a 25±1 °C, 70±10% UR e fotofase de 12 horas. A mortalidade foi verificada 24 horas após a pulverização, registrando-se diariamente o número de insetos mortos e realizada a reposição das folhas, por um período de 27 dias. Os cadáveres, individualmente, foram acondicionados em câmara úmida composta por placas de Petri contendo algodão umedecido, mantidas em câmara climatizada nas condições climáticas citadas acima. Neste experimento também se avaliou a eficiência dos isolados sobre *S. cosmioides*.

Análise de dados

Os dados obtidos foram transformados em $\arcsen(x/100)^{0,5}$ para realização da análise de variância e a comparação das médias, foi realizada pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando o software SISVAR[®] (Ferreira, 2011). Para a avaliação da eficiência dos isolados, os resultados obtidos foram corrigidos pela mortalidade da testemunha, utilizando-se a fórmula de Abbott (Abbott, 1925). Para avaliação da mortalidade diária foi calculado o tempo letal mediano (TL₅₀) avaliada por regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de *N. rileyi* utilizados foram patogênicos às lagartas de *S. cosmioides* nas condições do experimento. O período compreendido entre o início das avaliações até o nono dia verificou-se diferença significativa em relação à mortalidade de lagartas de *S. cosmioides*, para os diferentes tratamentos com o fungo entomopatogênico *N. rileyi*, exceto para os isolados UFMS 07 e 08 (Tabela 1).

Após 24 h da aplicação do fungo, iniciou-se a avaliação diária da mortalidade e a partir do nono dia que se verificou sinais de infecção do fungo. Durante o processo germinativo, a velocidade pela qual a estrutura reprodutiva do fungo consegue penetrar na cutícula do inseto pode ser dependente do isolado, das condições ambientais, da espessura da cutícula do inseto (Hajek et al., 2002) e da quantidade de conídio, assim como as enzimas extracelulares que são sintetizadas por fungos entomopatogênicos responsáveis pela degradação da cutícula (Nunes et al., 2010; Li et al., 2012).

Nas avaliações realizadas entre o décimo ao décimo oitavo dia após a aplicação, os isolados UFMS 02, 03, 04, 05, 06 apresentaram comportamento semelhante ao 1º período de avaliação diferindo estatisticamente quando comparados com a testemunha e demais isolados testados, resultando em maior mortalidade de lagartas (Tabela 1). O período entre o contato inicial do patógeno com o inseto e durante o desenvolvimento do processo infectivo até a morte decorre em média 6 a 8 dias em *S. litura* (Srisukchayakul et al., 2005). Entretanto, o isolado UFMS 03 causou maior mortalidade entre o décimo ao décimo oitavo dia.

A diferença na origem dos isolados e do hospedeiro que foi infectado, resulta em diferentes valores de patogenicidade (Suwannakut et al., 2005), o qual pode estar relacionada aos diferentes níveis de mortalidade observados no presente trabalho (Tabela 1). Estudos realizados por Nunes et al. (2010) mostraram existir grande variação entre diferentes origens e entre hospedeiros do fungo *N. rileyi* e ocorrência de variabilidade genética.

Para o período compreendido entre o décimo nono e vigésimo sétimo dia de avaliação, os isolados não apresentaram diferença significativa entre si, apenas entre a testemunha (Tabela 1). Haja visto, que as lagartas sobreviventes mudaram para o último instar diminuindo a ação do fungo. Chaudhari et al. (2015) verificaram que o aumento da idade das larvas de *S. litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) diminuiu a virulência de *N. rileyi*.

Outro fator que se deve considerar em estudos de seleção é a velocidade que o entomopatógeno é capaz de atuar sobre o hospedeiro. Em relação ao tempo letal mediano dos isolados, foi observado que o isolado UFMS 03 proporcionou maior índice de mortalidade (20 e 96%) aos cinco dias e aos vinte e seis dias após a pulverização, respectivamente, e o tempo letal mediano (TL₅₀) em 14,7 dias (Figura 01). Chaudhari et al. (2015) concluíram que a virulência e tempo letal mediano são as principais características dos fungos entomopatogênicos para controlar insetos-praga em condições de campo. A distribuição da mortalidade é um importante fator a ser considerado durante a seleção de isolados, sendo imprescindível selecionar patógenos que provoquem alta mortalidade em menor período (Santoro et al., 2007).

Alguns fungos entomopatogênicos produzem uma estrutura denominada apressório, que corresponde a uma dilatação da hifa, onde ocorre grande atividade enzimática (proteases, quitinase e lipases), as quais facilitam a penetração mecânica do fungo (Xiong et al., 2013), o que poderia

interferir na velocidade de colonização e consequentemente a morte do inseto. Essa atividade pode variar de isolado para isolado.

Verificou-se que o isolado UFMS 03 apresentou maior eficiência (89,5%) em relação aos demais isolados testados (Figura 2), apesar de ter sido isolado a partir de cadáveres de *A. argilacea*. De acordo com Vestergaard et al. (1995) a patogenicidade independe do hospedeiro ou local de origem do isolado. O resultado obtido pelo isolado UFMS 03 na presente pesquisa para o controle de *S. cosmioides*, corroboram com o trabalho de Chaudhari et al. (2015) que obtiveram a eficiência de diferentes isolados de *N. rileyi* em *S. litura* causando 82,22 e 64,44% de mortalidade em lagartas de segundo instar e terceiro ínstaes, respectivamente, na concentração de 1×10^9 conídios mL⁻¹. Vega-Aquino et al. (2010) testando a eficiência de diferentes isolados de *N. rileyi* em *S. frugiperda* de terceiro instar obtiveram 85% de mortalidade.

Os resultados obtidos pelos isolados *N. rileyi* (UFMS 02 e 08) podem ser considerados promissores, pois obtiveram eficiência de 73,7 e 78,9%, respectivamente. Apesar de nos primeiros dias ter-se verificado mortalidade inferior para o UFMS 08, novos bioensaios devem ser realizados. Lee et al. (2012) relataram eficiência de *N. rileyi* (isolado SDSe) variando de 20 a 54% em lagartas de terceiro instar de *S. exigua*. Neste contexto, buscando-se desenvolver sistemas de produção mais sustentável a utilização do fungo *N. rileyi* pode ser uma alternativa para a diminuição das populações de *S. cosmioides*, podendo auxiliar na redução de impactos ambientais e redução no custo da produção da cultura da soja. O controle biológico utilizando fungos entomopatogênicos é um componente que assume importante papel dentro do programa integrado de pragas (Alves, 1998). De acordo com Franceschini et al. (2001); Chaudhari et al. (2015) o método de controle biológico com fungos entomopatogênicos constitui-se como uma tática economicamente viável e vantajosa.

Novos estudos utilizando diferentes concentrações e isolados são necessárias para melhor elucidar o potencial deste agente, aumentando a eficiência de controle em menor tempo, para se propor um programa de controle microbiano desta espécie-praga.

CONCLUSÃO

O fungo *Nomuraea rileyi* foi patogênico às lagartas da espécie *Spodoptera cosmioides*. O isolado UFMS 03 proporcionou maior eficiência e o menor tempo letal mediano, com potencial como agente de controle biológico.

AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S.A. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Alves, S.B., 1998. Fungos Entomopatogênicos. p. 39-54. In S.B. Alves. Controle microbiano de insetos. 2ª ed. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz (FEALQ), São Paulo, Brasil.
- Antunes, C.S., J.C. Moraes, A. Antônio, e V.F. Silva. 2010. Influência da aplicação de silício na ocorrência de lagartas (Lepidoptera) e de seus inimigos naturais chaveiros em milho (*Zea mays* L.) e em girassol (*Helianthus annuus* L.). *Bioessence Journal*. 26: 619-625.
- Bavaresco, A., M.S. Garcia, A. D. Grutzmacher, R. Ringenberg, e J. Foresti. 2004. Adequação de uma dieta artificial para criação de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. *Neotropical Entomology*. 33: 155-161.
- Boiça Júnior, A.L., D.B. Bottega, B. H.S. Souza, N.E.L. Rodrigues, e V. Michelin. 2015. Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. *Semina: Ciências Agrárias*. 36: 607-618.
- Bueno, R.C.O.F., A.F. Bueno, F. Moscardi, J.R.P. Parra, e C. B. Hoffmann-campo 2011. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. *Pest Management Science, Sussex*. 67: 170-174.
- Chaudhari, C.S., A.G. Chandele, D.S. Pokharkar, M.D. Dethe, e D.M. Firake. 2015. Pathogenicity of Different Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson Against Tobacco Caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 2: 1-7.
- Conab- Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos v.2- Safra 2014/15, n.11- Décimo primeiro levantamento. 2015. Disponível em <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf>. Acesso em 24 de agosto de 2015.
- Costa, V.H.D., A.M. Soares, F.A.D. Rodriguez, J.C. Zancunio, I.M. Silva, e F. H. Valicente. 2015. *Nomuraea rileyi* (Hymenoptera: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. *Florida Entomologist*. 2: 796-798.
- Ferreira, D. F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. 35: 1039-1042.
- Franceschini, M., A.P. Guimarães, M. Camassola, A.P. Frazzon, C.M. Baratto, V. Kogler, M.V. Silva, V. Dutra, L. Nakazoto, L. Castro, L. Santi, M.H. Vainstein, e A. Schrank. 2001. Biotecnologia aplicada ao controle biológico. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. 31: 32-37.
- Goulart, H.F., M.R.F. Lima, R.K.S. Morais e V. B. Bernardo 2015. Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. *Revista Virtual de Química*. 7: 1205-1224.

- Greene, G. L., Leppla, N. C., Dickerson, W. A. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*. 69: 487-488.
- Habib, M.E.M., L.M. Paleari, e M.E.C. Amaral 1983. Effect of three larval diets on the development of the armyworm, *Spodoptera latifascia* Walker, 1856 (Noctuidae, Lepidoptera). *Revista Brasileira de Zoologia*. 1:177-182.
- Hajek, A.E., C. I. Davis, C.C. Eastburn, e F. M. Vermeylen. 2002. Deposition and germination of conidia of the entomopathogen *Entomophaga maimaiga* infecting larvae of gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 79: 37-43.
- Ignoffo, C.M., B. Puttler, N.L. Marston, D.L. Hostetter, e W.A. Dickerson 1975. Seasonal incidence of the entomopathogenic fungus *Spicaria rileyi* associated with noctuid pests of soybeans. *Journal of Invertebrate Pathology*. 25: 135-137.
- Lee, W.W., T.Y. Shin, S.H. Ko, J.B. Choi, S.M. Bae, e S.D. Woo. 2012. Characteristics and Virulence Assay of Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Korean Journal of Microbiology*. 48: 284-292.
- Li, Y., P. Zhao, S. Liu, Z. Dong, J. Chen, Z. Xiang, e Q. Xia. 2012. A novel protease inhibitor in *Bombyx mori* is involved in defense against *Beauveria bassiana*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 42: 766-775.
- Lima, A.R., S. L. Loureiro, F. Muchalak, T.L. Taira, F.N. Ferreira, e M.J. Nocchi. 2015. Ocorrência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson na *Spodoptera cosmioides* (Walk.) 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) em Chapadão do Sul-MS. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*. 9: 57-59.
- Lourenção, A.L., P.C. Reco, N.R. Braga, G.E. Valle, e J.B. Pinheiro. 2010. Produtividade de genótipos de soja sob infestação da lagarta da soja e de percevejos. *Neotropical Entomology*. 39: 275-281.
- Loureiro, E.S., e A.C. Monteiro. 2005. Patogenicidade de isolados de três fungos entomopatogênicos a soldados de *Atta sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: formicidae). *Revista Árvore*. 29: 553-561.
- Nunes, F.R.A., J.N. Martins, M. Furlaneto, e N.M. Barros 2010. Production of cuticle-degrading proteases by *Nomuraea rileyi* and its virulence against *Anticarsia gemmatilis*. *Ciência Rural*. 40: 1855-1859.
- Preza, D. de L. C.; e Augusto, L. G. da S. 2012. Vulnerabilidades de trabalhadores rurais frente ao uso de agrotóxicos na produção de hortaliças em região do Nordeste do Brasil. *Revista brasileira saúde ocupacional*. 37: 89.
- Santoro, P.H., P.M.O.J. Neves, T.M. Alexandre, e L.F.A. Alves. 2007. Interferência da metodologia nos resultados de bioensaios de seleção de fungos entomopatogênicos para o controle de insetos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 42: 483-489.

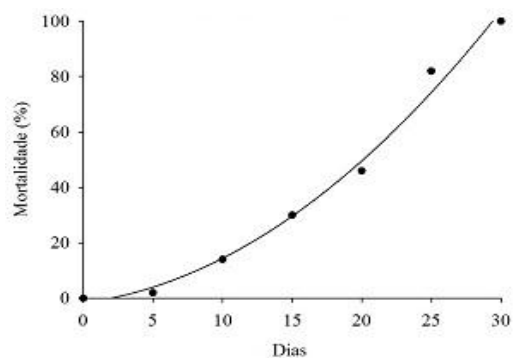
- Santos, K.B., A.M. Meneguim, W.J. Santos, P.M.O.J. Neves, e R.B. Santos. 2010. Characterization of the damage of *Spodoptera eridania* (Cramer) and *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) to structures of cotton plants. *Neotropical Entomology*, 39: 626-631.
- Srisukchayakul, P., C. Wiwat, e S. Pantuwatana. 2005. Studies on the pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*. *Science Asia*. 31: 273-276.
- Suwannakut, S., D.G. Boucias, e C. Wiwat, 2005. Genotypic analysis of *Nomuraea rileyi* collected from various noctuid hosts. *Journal of Invertebrate Pathology*. 90: 169-176.
- Vega-Aquino, P., S. Sanchez-Peña, e C.A. Blanco 2010. Activity of oil-formulated conidia of the fungal entomopathogens *Nomuraea rileyi* and *Isaria tenuipes* against lepidopterous larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*. 103: 145-149.
- Vestergaard, S.; A.T. Gillespie; T.M. Butt; G. Schreiter, e J. Eilenberg 1995. Pathogenicity of the Hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology*. 5: 185-192.
- Xiong, Q.; Y. Xie, Y. Zhu, J. Xue; J. Li, e R. Fan. 2013. Morphological and ultrastructural characterization of *Carposina sasakii* larvae (Lepidoptera: Carposinidae) infected by *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae). *Micron*. 44: 303-311.

Tabela 1- Mortalidade acumulada ($\pm$ EP) (%) de lagartas *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) expostas aos isolados do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 h). Chapadão do Sul-MS. 2015.

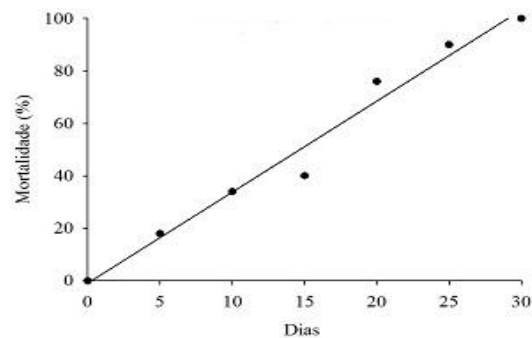
Período de avaliação (Dias)			
Tratamentos	1-9	1-18	1-27
Testemunha	0,00 $\pm$ 0,0 b	0,00 $\pm$ 0,0 b	0,00 $\pm$ 0,0 b
UFMS 02	14,00 $\pm$ 5,99 a	38,00 $\pm$ 11,30 a	78,00 $\pm$ 2,66 a
UFMS 03	18,00 $\pm$ 9,16 a	58,00 $\pm$ 10,93 a	96,00 $\pm$ 12,08a
UFMS 04	8,00 $\pm$ 4,42 a	48,00 $\pm$ 8,53 a	82,00 $\pm$ 3,59 a
UFMS 05	12,00 $\pm$ 3,26 a	28,00 $\pm$ 6,80 a	80,00 $\pm$ 7,89 a
UFMS 06	18,00 $\pm$ 7,57 a	32,00 $\pm$ 9,97 a	86,00 $\pm$ 5,20 a
UFMS 07	0,00 $\pm$ 0,0 b	14,00 $\pm$ 5,99 b	88,00 $\pm$ 4,39 a
UFMS 08	4,00 $\pm$ 2,66 b	22,00 $\pm$ 7,18 b	62,00 $\pm$ 10,81a
CV (%)	26,80	76,82	30,81

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott (0,05%)

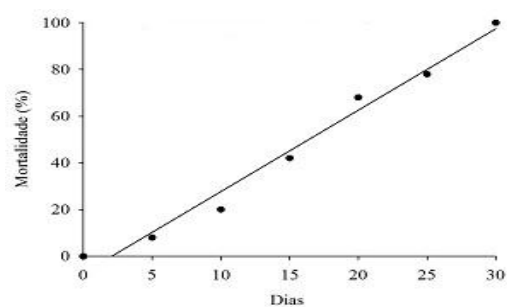
EP= erro padrão da média.



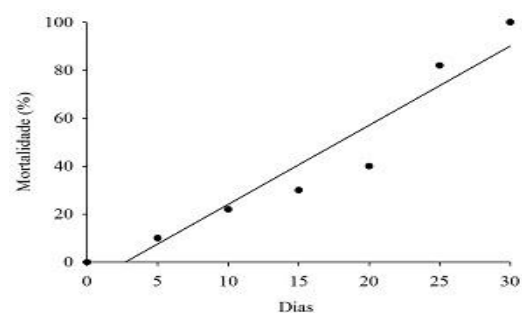
$$UFMS\ 02\ -1,6667+0,651*x+0,0952*x^2\ r^2\ 0,9899$$



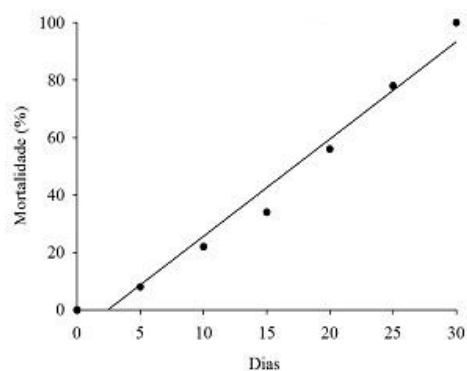
$$UFMS\ 03\ -0,9286+3,4714*x\ r^2\ 0,9756$$



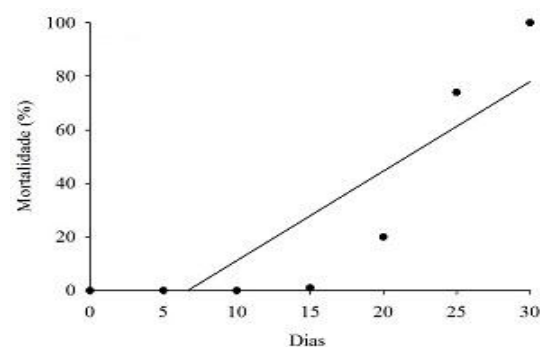
$$UFMS\ 04\ -7,1429+3,4857*x\ r^2\ 0,9809$$



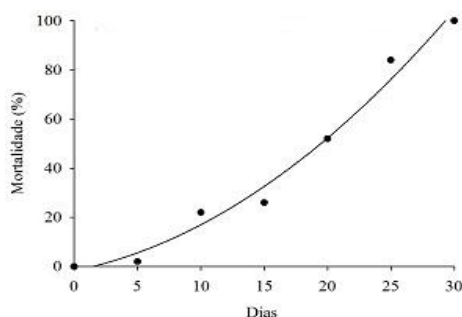
$$UFMS\ 05\ -8,9286+3,3000*x\ r^2\ 0,9200$$



$$UFMS\ 06\ -8,2143+3,3857*x\ r^2\ 0,9741$$



$$UFMS\ 07\ -22,2857+3,3429*x\ r^2\ 0,7489$$



$$UFMS\ 08\ -1,7143+1,0429*x+0,0829*x^2\ r^2\ 0,9824$$

Figura 1. Mortalidade diária acumulada de *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) após pulverização dos isolados de *Nomuraea rileyi*. Chapadão do Sul- MS. 2015. *p< 0,05.

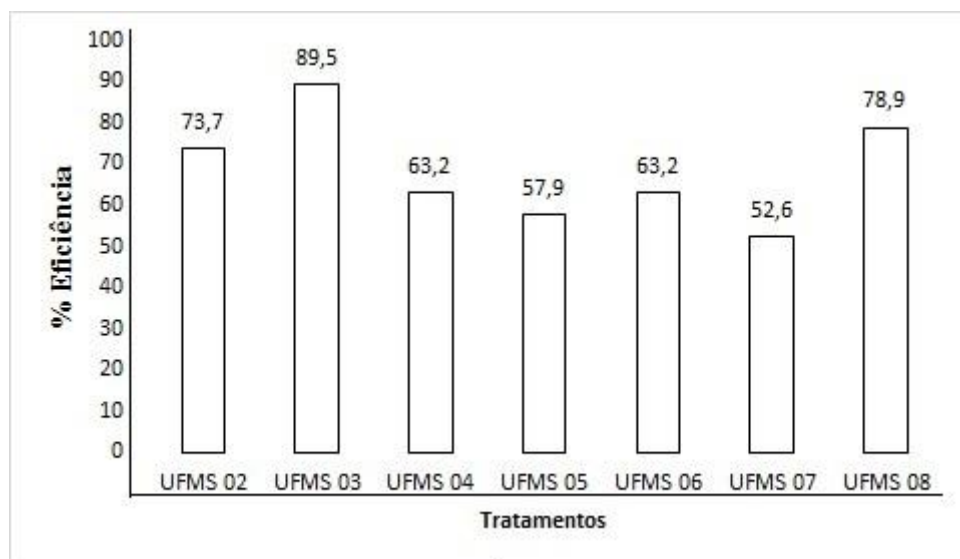


Figura 2- Eficiência de controle da lagarta *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) aos 27 dias após a aplicação dos isolados de *Nomuraea rileyi*. Chapadão do Sul-MS, 2015.

Capítulo 02 O fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (Samson) (Ascomycota: Clavicipitaceae) é virulento a lagarta das vagens?

Resumo – A lagarta *Spodoptera cosmioides* tem aumentado sua ocorrência na cultura da soja e para o seu controle, uma alternativa aos métodos químicos é o controle microbiano, inserido dentro do controle biológico de pragas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade do isolado UFMS 03 de *Nomuraea rileyi* às lagartas *Spodoptera cosmioides* em condições de laboratório. O ensaio experimental foi composto por delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos. Cada tratamento foi composto por 10 repetições, contendo cinco lagartas de *S. cosmioides*, padronizadas em 3 mm de comprimento. As lagartas de *S. cosmioides* foram pulverizadas com auxílio de Torre de Potter utilizando 1 mL das concentrações $1,0 \times 10^{10}$, $1,0 \times 10^9$, $1,0 \times 10^8$, $1,0 \times 10^7$ e $1,0 \times 10^6$ conídios mL^{-1} . As concentrações do isolado UFMS 03 de *N. rileyi* mostraram-se eficientes, com destaque para a concentração $1,0 \times 10^8$ conídios mL^{-1} apresentando 98% de eficiência, em menor tempo letal (14,11 dias). Esses resultados evidenciam o isolado UFMS 03 de *N. rileyi* como agente de controle de *S. cosmioides*.

Palavras-chave: *Glycine max* (L.); Controle Biológico; Entomopatógenos; *Spodoptera cosmioides*; Noctuídeos.

Abstract - The caterpillar *Spodoptera cosmioides* has increased its occurrence in soybean and their control, an alternative to chemical methods is the microbial control, inserted into the biological control of pests. This work aimed to evaluate the pathogenicity of isolated UFMS 03 *Nomuraea rileyi* the *Spodoptera cosmioides* caterpillars under laboratory conditions. The experiment was composed of completely randomized design with six treatments, each treatment consisted of 10 repetitions, with five larvae of *S. cosmioides*, standardized, 3 mm in length each. Caterpillars of *S. cosmioides* were sprayed with Potter Tower of aid using the concentrations 1.0×10^{10} , 1.0×10^9 , 1.0×10^8 , 1.0×10^7 and 1.0×10^6 conidia mL^{-1} . The concentrations of isolated *N. rileyi* UFMS 03 were effective, especially the concentration 1.0×10^8 conidia mL^{-1} presenting 98% efficiency at lower median lethal time (14.11 days). These results show the isolated UFMS 03 *N. rileyi* as promising *S. cosmioides* control agent.

Keywords: *Glycine max* (L.); Biological control; entomopathogen; *Spodoptera cosmioides*, Noctuidae.

Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma cultura de grande importância socioeconômica no Brasil, sendo uma das principais cadeias produtivas da estrutura agropecuária brasileira, ofertando grãos, farelos e óleos para o abastecimento do mercado interno e externo (ESPINDOLA; CUNHA 2015). No entanto, problemas fitossanitários como o ataque de lagartas desfolhadoras, tem reduzido seu potencial produtivo (LOURENÇÃO et al., 2010). Os

ataques modificam a arquitetura do dossel, reduzindo a área foliar efetiva, diminuindo a taxa de crescimento e promovendo decréscimo do rendimento de grãos (Gazzoni; Moscardi, 1998). Neste grupo de pragas destacam-se as lagartas pertencentes a família Noctuidae com destaque para a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) conhecida popularmente por lagarta das vagens (LOURENÇÃO et al., 2010).

Esta espécie causa prejuízos econômicos nas principais culturas de importância econômica (BOIÇA JUNIOR et al., 2015), altamente polífaga (SANTOS et al., 2010) e na cultura da soja a ocorrência vem se tornando generalizada nas últimas safras (LIMA et al., 2015).

O manejo dessa praga tem sido realizado principalmente com uso de inseticida químico sem registro para a espécie (BOIÇA JUNIOR et al., 2015), que pode ocasionar a seleção de populações resistentes do inseto, aparecimento de novas pragas ou a ressurgência de outras, o desequilíbrio ambiental e biológico, além de efeitos prejudiciais ao homem e outros animais (KOGAN, 1998). Diante dessas implicações, é importante a busca por novos métodos que supram o elevado uso de inseticidas e que causem menos efeitos adversos ao meio ambiente (SILVA; BATISTA; BRITO, 2009).

No entanto, para o sucesso do controle de pragas seguindo os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP) é importante a adoção de estratégias de controle eficientes e de baixo impacto ambiental (GOULART et al., 2011). Para amenizar o impacto da utilização exagerada de inseticidas químicos uma das estratégias adotadas no MIP é a utilização de agentes de controle biológico (BATISTA FILHO et al., 2003).

Dentre os agentes de controle biológico, os fungos entomopatogênicos como *Nomuraea rileyi* (Samson) (Ascomycota: Clavicipitaceae), destaca-se no controle de lepidópteros-praga, sendo relatado na literatura sua ocorrência natural, principalmente sobre lagartas da família Noctuidae (IGNOFFO et al., 1975; SUWANNAKUT; BOUCIAS; WIWAT, 2005; COSTA et al., 2015; LIMA et al., 2015).

Vários trabalhos vêm sendo realizados com isolados de *N. rileyi* no controle do complexo de lagarta do gênero *Spodoptera*. Nos experimentos conduzidos por Lee et al. (2012) relataram eficiência de *N. rileyi* promovendo mortalidade de 20 a 54% sobre lagartas *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Experimentos realizados por Chaudhari et al. (2015) testando a eficiência de *N. rileyi* em *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) verificaram 64,44 e 82,22% de mortalidade em diferentes ínstares.

Apesar de *S. cosmioides* ter sido constatada em diversas culturas de interesse econômico no Brasil, trabalhos de controle dessa praga com fungos entomopatogênicos são inexistentes. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o isolado UFMS 03 do fungo entomopatogênico *N. rileyi* em diferentes concentrações quanto a sua patogenicidade à lagarta *S. cosmioides* em condições de laboratório.

Material e Métodos

O isolado de *N. rileyi* utilizado neste trabalho, foi proveniente da Coleção de Microrganismos Entomopatogênicos do Laboratório de Entomologia da UFMS/CPCS, Chapadão do Sul-MS.

Inicialmente foi realizado um bioensaio para verificar a eficiência de diferentes isolados do fungo *N. rileyi*, após esta seleção realizou-se a multiplicação do isolado UFMS 03 em meio de cultura a base de Sabouraud segundo metodologia descrita por ALVES (1998). As concentrações fúngicas utilizadas no bioensaio foram $1,0 \times 10^{10}$, $1,0 \times 10^9$, $1,0 \times 10^8$, $1,0 \times 10^7$ e $1,0 \times 10^6$ conídios viáveis mL⁻¹.

Para instalação dos bioensaios foram utilizadas lagartas de *S. cosmioides* oriundas da 2ª geração, da criação estabelecida no Laboratório de Entomologia da UFMS/CPCS. Todas as fases de *S. cosmioides* foram mantidas em câmara climática a 25 ± 1 °C, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os adultos foram mantidos em gaiolas de PVC de (100mm x 200mm) revestidas internamente com papel sulfite e a abertura superior fechada com tecido tipo voil preso por elástico e, na extremidade inferior, por placa de isopor revestida por papel toalha. A alimentação fornecida foi uma pasta a base de mel e levedo de cerveja em proporções iguais (V/V) colocada em algodão hidrófilo embebido em recipiente de vidro preso na parte superior, substituída a cada dois dias.

Os ovos obtidos foram destinados aos bioensaios e à manutenção da criação. Lagartas recém-eclodidas com 24 h de idade foram mantidas em potes plásticos cilíndricos com diâmetro de 5 cm e capacidade de 145 mL. Para a manutenção da criação e condução do experimento foi fornecida dieta artificial adaptada de GRENNE; LEPLA; DICKERSON (1976).

O ensaio experimental foi composto por delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos, cada tratamento foi composto por 10 repetições, contendo cinco lagartas de *S. cosmioides*, padronizadas em 3 mm de comprimento.

Em seguida foi pulverizado 1 mL de suspensão fúngica com auxílio de Torre de Potter adaptada, a pressão de 15 libras/pol². Após, as placas foram vedadas com filme pvc e colocadas em câmara climatizada a 25±1 °C, 70±10% UR e fotofase de 12 horas. A mortalidade foi verificada 24 horas após a pulverização, registrando-se diariamente o número de insetos mortos e realizada a reposição da dieta adaptada, GRENNE; LEPPLA; DICKERSON (1976), por um período de 22 dias. Os cadáveres, individualmente, foram acondicionados em câmara úmida confeccionadas por placas de Petri contendo algodão umedecido, mantidas em câmara climatizada nas condições climáticas citadas acima. Neste experimento também se avaliou a eficiência dos isolados sobre *S. cosmioide*.

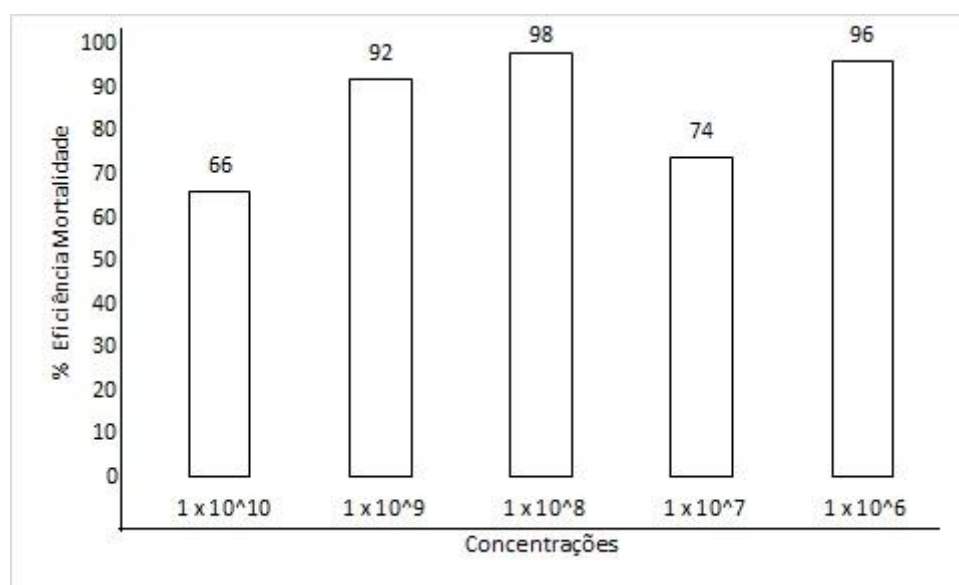
Os dados de mortalidade de lagartas e o tempo letal mediano (TL₅₀) obtido para cada concentração, foram submetidos à análise de regressão linear e polinomial. Para a avaliação da eficiência das concentrações, os resultados obtidos foram corrigidos pela mortalidade da testemunha, utilizando-se a fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).

Resultados e Discussão

O fungo *N. rileyi* isolado UFMS 03 foi patogênico às lagartas de *S. cosmioides* com eficiência variando de 66 a 98% de mortalidade obtido pelo teste de eficiência de Abbott. As avaliações iniciaram 24 h após a aplicação do fungo, entretanto o inseto apresentou nos primeiros dez dias pouca suscetibilidade ao fungo testado, visto que as mortalidades foram observadas a partir do décimo quarto dia (Figura 1). O tempo requerido para verificar o efeito da infecção pelo fungo no presente estudo, foi superior aos trabalhos realizados com entomopatógeno. O período entre o contato inicial do patógeno com o inseto e durante o desenvolvimento do processo infectivo até a morte decorre em média 6 a 8 dias (SRISUKCHAYAKUL; WIWAT; PANTUWATANA, 2005).

A espécie *S. cosmioides* possui cutícula diferente de outros noctuídeos (Fronza et al., 2013) e nos insetos a epicutícula tem os lipídios como principal componente (GUO; BLONQUIST, 1991). Segundo Alves (1998) o conídio necessita atravessar a cutícula e invadir a hemocele para que possa atuar no hospedeiro. Durante o processo germinativo, a velocidade pela qual a estrutura reprodutiva do fungo consegue penetrar na cutícula do inseto pode ser dependente do isolado, das condições ambientais e da espessura da cutícula do inseto (HAJEK et al., 2002). A presença de compostos de natureza anti-oxidante, pode atuar como uma provável função protetora, como a vitamina E, presente em grande quantidade na cutícula larval de *S. cosmioides* (FRONZA et al., 2013).

138



139

140 **Figura 1.** Mortalidade total (%) das lagartas de *S. cosmioides* decorridos vinte e dois dias após aplicação de *N.*
 141 *rileyi* (isolado UFMS 03), (25 ± 1 °C, fotofase de 12h e $70 \pm 10\%$ UR). Chapadão do Sul-MS. 2015.

142

143

144

145 Quando se estuda bioensaios de patogenicidade com diferentes concentrações espera-se
 146 que a maior concentração é a que possa causar maior mortalidade em menor tempo possível.
 147 Nas condições deste experimento verificou-se que a maior concentração de inóculo ($1,0 \times 10^{10}$
 148 conídios mL^{-1}) foi a que causou a menor percentagem de mortalidade (66%). Quando se
 149 utiliza um elevado potencial de inóculo, os resultados podem ser inesperados, pois um grande
 150 número de conídios de fungo sobre o tegumento do inseto pode ter influência negativa na
 151 germinação dos mesmos ou ainda, favorecer a penetração de bactérias contaminantes, gerando
 septicemia e resultando na morte rápida do inseto (ALVES; LECUONA, 1998).

152 Os maiores percentuais de mortalidade (98%) foram obtidos com a concentração de
 153 $1,0 \times 10^8$ conídios mL^{-1} , este fato indica uma característica interessante, uma vez que quanto
 154 menor a necessidade de propágulos infectivos do patógeno aderidos ao corpo do inseto para
 155 que ocorra o desenvolvimento da doença, maior é a virulência de um isolado.

156 Testando a eficiência de diferentes isolados de *N. rileyi* em *S. litura* Chaudhari et al.
 157 (2015) obtiveram 82,22 e 64,44% de mortalidade em lagartas de segundo e terceiro ínstares,
 158 respectivamente, na concentração de $1,0 \times 10^9$ conídios mL^{-1} , valores dentro do intervalo
 159 observado no presente trabalho, porém inferiores ao melhor resultado (98%) com menor
 160 concentração de conídios ($1,0 \times 10^8$) próximos obtidos no presente trabalho. O
 161 entomopatógeno mostrou potencial como agente de controle biológico de lagartas de *S.*
 162 *cosmioides*, por causar mortalidade acima de 66% em todas as concentrações testadas.

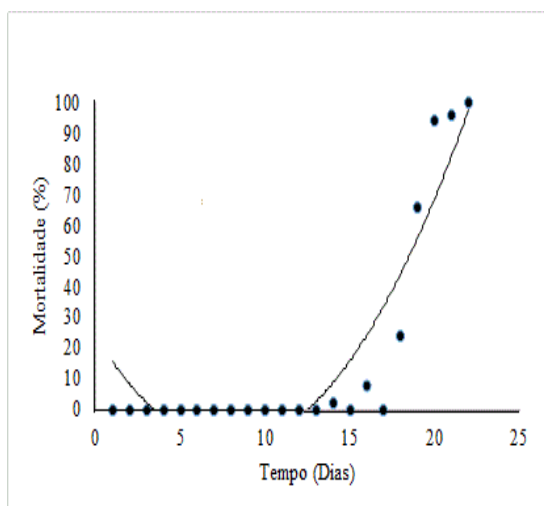
As lagartas de *S. cosmioides* tratadas com *N. rileyi* tiveram comportamento semelhante nos primeiros dias de avaliação até o décimo terceiro dia. A partir do décimo quarto dia, verificou-se que as lagartas infectadas se tornaram mais lentas, até não apresentarem mobilidade, o que caracteriza o processo de infecção (Figura 2), visto que se realizou apenas uma aplicação do fungo. Alves (1998) em seus estudos com fungos entomopatogênicos verificou que os agentes microbianos necessitam de maior tempo de exposição e desenvolvimento para causarem mortalidade, e em alguns casos torna-se difícil atribuir a causa de morte.

As mortalidades confirmadas para as diferentes concentrações do isolado UFMS 03 apresentaram correlação polinomial positiva com a concentração de conídios viáveis (Figura 2). A diferença na origem do isolados e do hospedeiro que foi infectado resulta em diferentes valores de patogenicidade (SUWANNAKUT, LINGAPPA; GIRADDI, 2005).

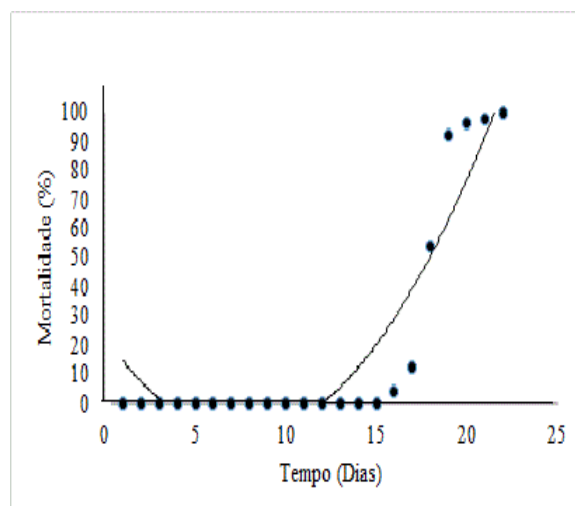
Observando o tempo letal mediano (TL_{50}) verificou-se que a concentração $1,0 \times 10^8$ conídios mL^{-1} foi de 14,11 dias, apresentando o menor período. De maneira geral, os tempos letais aumentaram à medida que as concentrações aumentaram. O desempenho do fungo *N. rileyi* testado em *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) melhorou em concentração mais elevada (10^8 conídios ml^{-1}) em comparação as concentrações mais baixas (10^7 , 10^5 , 10^3 e 10^2 conídios mL^{-1}) (GUNDANNAVAR et al., 2008).

A porcentagem de mortalidade diária que mais se ajustou a reta foi a concentração de $1,0 \times 10^7$ conídios mL^{-1} , com ajuste de R^2 0,90 mostrando nas condições deste experimento que a maior concentração deste fungo pode interferir a ação do mesmo. Levando em consideração a espécie de lagarta e suas características cuticulares e as diferentes concentrações uma hipótese pode explicar essa situação: o fungo possibilita a entrada de outros organismos pelos orifícios que está presente na cutícula o qual pode ser porta de entrada de contaminação na hemolinfa destes insetos.

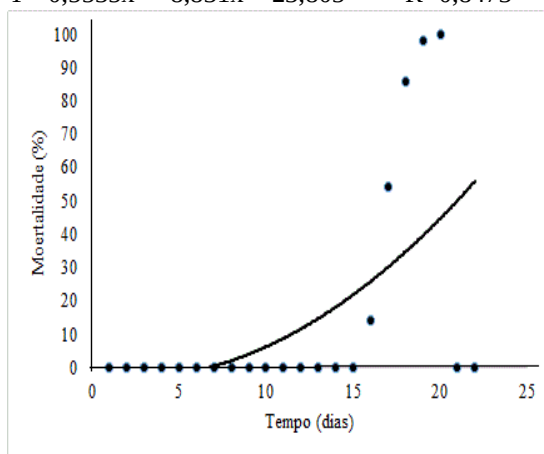
Gundannavar; Lingappa; Giraddi (2005) relataram que a patogenicidade de *N. rileyi* a importantes lepidópteros praga e a mortalidade acumulada de larvas aumenta com o acréscimo no tempo de exposição e a concentração.



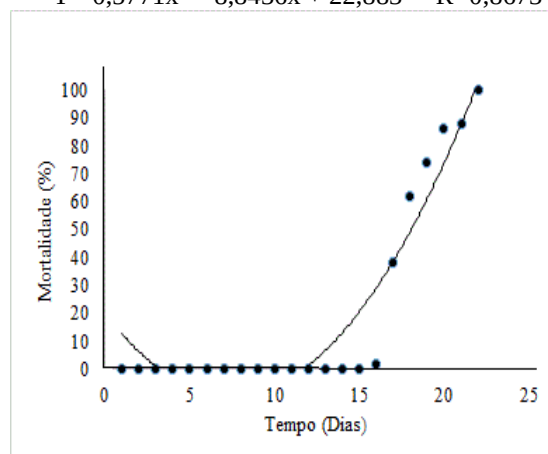
Concentração de $1,0 \times 10^{10} \text{ mL}^{-1}$ conídios viáveis
 $Y = 0,5535x^2 - 8,831x + 23,805$ $R^2 0,8473$



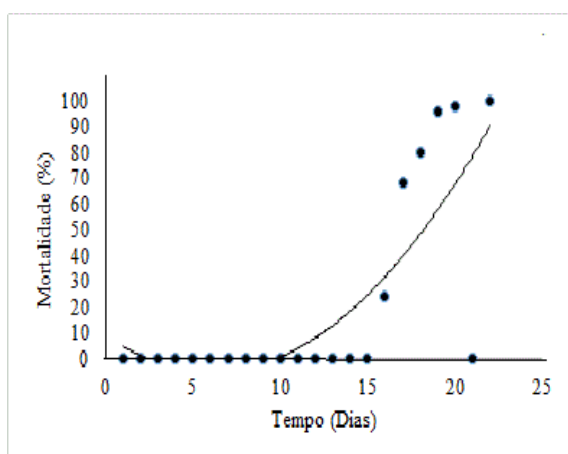
Concentração de $1,0 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ conídios viáveis
 $Y = 0,5771x^2 - 8,8436x + 22,883$ $R^2 0,8673$



Concentração de $1,0 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$ conídios viáveis
 $Y = 0,1454x^2 - 0,5164x - 3,1429$ $R^2 0,3137$



Concentração de $1,0 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ conídios viáveis
 $Y = 0,5308x^2 - 7,9243x + 20,026$ $R^2 0,9074$



Concentração de $1,0 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ conídios viáveis
 $Y = 0,3766x^2 - 4,5912x + 9,03$ $R^2 0,612$

Figura 2- Mortalidade diária acumulada (%) de *Spodoptera cosmioides* após pulverização de *Nomuraea rileyi* isolado UFMS 03 submetidas às diferentes concentrações. Chapadão do Sul- MS. 2015.

Manjula e Murthy (2005) concluíram que a mortalidade de *S. litura* aumentou com o aumento de concentração de esporos de *N. rileyi*, apesar da concentração de 1×10^7 conídios mL^{-1} ter sido a mais eficaz quando comparada a concentrações mais elevadas (1×10^8 e 1×10^9 conídios mL^{-1}) em diferentes instares. Estudo recente com linhagens de *N. rileyi*, isolado Nr-Kc com concentração de $1,6 \times 10^6$ conídios mL^{-1} proporcionou menor tempo letal (TL_{50}) no segundo instar (143,89 h) do que para o terceiro instar (178,43 h) para lagartas de *S. litura* (CHAUDAHARI et al., 2015).

Os estudos de virulência realizados em bioensaios de laboratório, testando diferentes concentrações, de um determinado isolado para uma espécie de inseto-praga, visa simular a ação do fungo no ambiente natural em perfeitas condições climáticas ao seu desenvolvimento. Outra hipótese que deve ser levantada é que quando maior a manipulação dos insetos em bioensaios, maior será o risco de uma possível contaminação externa.

A virulência está relacionada com a habilidade de um fungo entomopatogênico degradar hidrocarbonetos cuticulares do inseto hospedeiro (PEDRINI; CRESPO; JUÁREZ, 2007). Nas condições deste experimento verificou-se que o fungo *N. rileyi* apresentou maior tempo letal mediano para matar as primeiras lagartas de *S. cosmioides* nas concentrações utilizadas quando comparado aos trabalhos da literatura.

As proteínas são componentes estruturais predominantes da cutícula da 60% de insetos e as proteases liberadas durante as primeiras fases de invasão do entomopatógeno estão envolvidas na penetração da cutícula, um importante fator de virulência (St. LEGER et al., 1988). Possivelmente esta espécie possui em sua cutícula elementos que auxiliam o seu sistema de defesa, dificultando a penetração dos conídios. A proteção que os lipídios cuticulares conferem aos insetos contra micro-organismos pode ser tanto de origem física, como um obstáculo evitando a invasão fúngica, como química, aumentando a resistência da cutícula (GOLEBIEWSKI et al., 2008).

Este estudo evidencia que o fungo entomopatogênico *N. rileyi* é um agente de controle de *S. cosmioides*. Portanto, vale ressaltar que estudos de patogenicidade com isolados de *N. rileyi* remetem apenas às condições de laboratório, ainda esses resultados são escassos em relação às condições de campo.

Conclusão

O fungo entomopatogênico *N. rileyi* isolado UFMS 03 foi patogênico às lagartas de *S. cosmioides*.

As concentrações testadas mostraram-se eficientes, com destaque para a concentração $1,0 \times 10^8$ conídios mL⁻¹ apresentando 98% de eficiência, em 14,11 dias.

Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.

ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: Controle Microbiano de Insetos, Alves, S. B. editor. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ – Piracicaba/SP. 1998. p. 289-371.

ALVES, S. B.; LECUONA, R. E. Epizootiologia aplicada ao controle microbiano de insetos. In: ALVES, S. B. (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Fealq, Piracicaba, 1998 p. 97-170. 1998.

BATISTA FILHO, A. et al. Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 61-67, 2003.

BOIÇA JÚNIOR, A. L. et al. Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina. v.36, n.2, p. 607-618, 2015.

CHAUDHARI, C. S. et al. Pathogenicity of Different Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson Against Tobacco Caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: **Biological Sciences**. India, v,2 p. 1-7, 2015.

COSTA, V. H. D. et al. Valicente. 2015. *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. **Florida Entomologist**. Florida. v. 98, n. 2, p. 796-798, 2015.

ESPÍNDOLA, CARLOS. J.; CUNHA, R. C. A dinâmica geoeconômica recente da cadeia produtiva da soja no Brasil e no mundo. **Geotextos** (Online), Salvador, v. 11, p. 217-238, 2015.

FRONZA, E. et al. Identification of α -tocopherol and α -tocopheryl acetate from the cuticle of soybean pods armyworm (*Spodoptera cosmioides*). **Natural Product Research (Print)**, v. 27, p. 1808-1811, 2013.

GAZZONI, D. L.; MOSCARDI, F. Effect of defoliation levels on recovery of leaf area, on yield and agronomic traits of soybeans. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 411-424, 1998.

GOLEBIEWSKI, M. et al. The cuticular fatty acids of *Calliphora vicina*, *Dendrolimus pini* and *Galleria mellonella* larvae and their role in resistance to fungal infection. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Califórnia, v.38, n.6, p.19-627, 2008.

GOULART, M. M. P. et al. Host preference of the egg parasitoids *Telenomus remus* and *Thichogramma pretiosum* in laboratory. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 55, n. 1, p. 129-133, 2011.

GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Washington, 69: 487-488. 1976.

GUNDANNAVAR, K. P.; LINGAPPA, S.; GIRADDI, R. S. Dose mortality response between *Helicoverpa armigera* (Hubner) and mycopesticide *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. **Karnataka Journal of Agricultural Science**, Karnataka, v.18, n.1, p.141-143. 2005.

GUNDANNAVAR, K. P. et al. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hubner) to *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. **Journal of Entomological Research**, Nova Deli, v.32, n.1, p.11-13, 2008.

GUO, L.; BLOMQUIST, G. J. Identification, accumulation, and biosynthesis of the cuticular hydrocarbons of the southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae). **Archives of insect Biochemistry and Physiology**, Malden, v.16, n.1, p.19-30, 1991.

HAJEK, A. E. et al. 2002. Deposition and germination of conidia of the entomopathogen *Entomophaga maimaiga* infecting larvae of gypsy moth, *Lymantria dispar*. **Journal of Invertebrate Pathology** v.79, p. 37-43, 2002.

IGNOFFO, C. M. et al. Seasonal incidence of the entomopathogenic fungus *Spicaria rileyi* associated with noctuid pests of soybeans. **Journal of Invertebrate Pathology**, Califórnia, v.25 n.1, p. 135-137, 1975.

KOGAN, M. Integrate pest management historical, pespectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 243-270, 1998.

LEE, W.W. et al. Characteristics and Virulence Assay of Entomopathogenic Fungus *Nomuraea rileyi* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Korean Journal of Microbiology**, Korea, 48: 284-292. 2012.

LIMA, A. R. et al. Ocorrência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson na *Spodoptera cosmioides* (Walk.) 1858 (Lepidoptera: Noctuidae) em Chapadão do Sul-MS. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.9, n.2, p.57-59, 2015.

LOURENÇÃO, A. L. et al. Produtividade de genótipos de soja sob infestação da lagarta da soja e de percevejos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.39, n.2, p.275-281. 2010.

MANJULA, K.; MURTHY, K. V. M. K. Efficacy of *Nomuraea rileyi* against different instars of *Spodoptera litura* and *Helicoverpa armigera*. **Annals of Plant Protection Sciences**, Amsterdam, v.13, n.2, p.347-350, 2005.

PEDRINI, N.; CRESPO, R.; JUÁREZ, M.P. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. **Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v.146, n.1-2, p.124- 137, 2007.

SANTOS, K. B. et al. Characterization of the damage of *Spodoptera eridania* (Cramer) and *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) to structures of cotton plants. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.39. n.4, 626-631. 2010.

SILVA, A. B.; BATISTA, J. L.; BRITO, C. H. Aspectos biológicos de *Euborellia annulipes* sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 6, n. 3, p. 482-495, 2009.

SRISUKCHAYAKUL, P., C. WIWAT, C.; PANTUWATANA, E. S. Studies on the pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*, **Science Asia**, Kuala Lumpur, v.3, p. 273-276, 2005.

ST. LEGER, R. J. et al. Regulation of production of proteolytic enzymes by entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliaea*. **Archives Microbiology**. v.150, p.413-416, 1988.

SUWANNAKUT, S., D.G. BOUCIAS, E C. WIWAT, Genotypic analysis of *Nomuraea rileyi* collected from various noctuid hosts. **Journal of Invertebrate Pathology**, Califórnia, v. 90, n.3, p.169-176, 2005.