

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

FRANCIELI APARECIDA DO AMARAL

**É VIÁVEL A UTILIZAÇÃO DE ENTOMOPATÓGENOS PARA O MANEJO DE
Spodoptera frugiperda (NOCTUIDAE) EM SEGUNDA SAFRA DE MILHO?**

CHAPADÃO DO SUL – MS
2018

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

FRANCIELI APARECIDA DO AMARAL

**É VIÁVEL A UTILIZAÇÃO DE ENTOMOPATÓGENOS PARA O MANEJO DE
Spodoptera frugiperda (NOCTUIDAE) EM SEGUNDA SAFRA DE MILHO?**

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
2018



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

DISCENTE: Francieli Aparecida do Amaral

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

**É VIÁVEL A UTILIZAÇÃO DE ENTOMOPATÓGENOS PARA O MANEJO DE
SPODOPTERA FRUGIPERDA (NOCTUIDAE) EM SEGUNDA SAFRA DE
MILHO?**

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

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

Prof.(a) Dr.(a) Meire Aparecida Silvestrini Cordeiro

Chapadão do Sul, 26 de Abril de 2018.

DEDICATÓRIA

***Dedico aos meus pais Heitor e Eni que nunca
mediram esforços para mostrar que vale a pena
seguir em frente. Amo vocês, meus maiores
exemplos!***

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas bênçãos alcançadas até aqui e em especial pela oportunidade de fazer parte deste programa de pós-graduação, capacitando e dando discernimento para seguir em frente com sabedoria, mesmo quando tudo parecia impossível.

Aos meus pais, meus heróis, minha base, exemplo de caráter e dignidade, obrigada por cada dia em que me incentivaram mostrando que se pode alcançar qualquer sonho quando sonhamos juntos, me encorajando a não desanimar, sempre presentes em cada dia, me dando forças para nunca desistir, colo para chorar quando parecia difícil seguir, luz para resolver qualquer problema que surgisse e amor para a caminhada se tornar mais leve, obrigada por me presentear com o mais lindo e puro dos amores.

Aos meus irmãos Angélica e Maurício, por ser dois de meus mais firmes pilares, por ser meu apoio quando preciso e dois grandes exemplos de seres humanos que me inspiram a melhorar constantemente, obrigada por me incentivarem em cada passo que dou, sem me questionar, apenas me apoiando e ao meu lado em qualquer caminho que eu siga, vocês foram fundamentais nesta caminhada.

Aos meus sobrinhos, Andressa, Arthur, Maria Clara e Benjamin que fazem meus dias mais felizes e minha vida mais cheia de fé e esperança em um futuro melhor, obrigada pela paciência e ajuda que deram a titia durante todos estes meses.

A minha professora, orientadora e amiga que a pós-graduação me presenteou, Profa. Dra. Elisângela de Souza Loureiro por acreditar em mim desde o princípio, me incentivando, apoiando e guiando em cada passo dado, com muita paciência e disponibilidade sempre, agradeço por cada minuto dedicado a mim com tanta atenção e carinho, obrigada!

A banca examinadora Prof. Dr. Luis Gustavo Amorim Pessoa e Profa. Dra. Meire Aparecida Cordeiro Silvestrini, pela disponibilidade e colaboração com todas as sugestões para melhoria deste trabalho.

A Fazenda Gávea sob o comando de José Ivair Mudinutti, gerente Paulo Buzolin e técnico responsável Luís Henrique Prado por ceder a área e por todo apoio durante o período de condução do trabalho em campo.

Aos colegas com os quais dividi estes dois anos de curso, que juntos passamos por diversos obstáculos mas superamos cada um, em especial a Desireé Modesto,

Fernanda B. Cardoso, Laís Duré e Flávia Lourenço que de alguma maneira marcaram minha caminhada nesta etapa.

A todos que colaboraram com o desenvolvimento de minha pesquisa, me apoiando e colaborando em todas as etapas de trabalho, sem medir esforços para que pudesse chegar ao resultado.

As minhas irmãs que a vida me deu, Andressa e Pamella, cada uma de vocês tem um papel único e fundamental nesta caminhada, me apoiaram e ajudaram em todas as etapas desde o início sem questionar em momento algum, saibam que sem vocês nada teria sentido, agradeço por tanta compreensão e paciência me ajudando em cada momento.

A Priscila que é acima de tudo uma grande amiga, estive de prontidão para me ajudar em cada momento que precisei e não hesitou em me dispensar para me dedicar as disciplinas e a pesquisa, sou imensamente grata pela compreensão e amizade.

A UFMS pela oportunidade de aprendizado ao qual tive a honra de desfrutar.

Ao corpo docente pelos ensinamentos e paciência durante este período, obrigada por contribuírem com tanto afinho dividindo conhecimento e sabedoria.

Estendo meu agradecimento a todos que mesmo que indiretamente colaboraram com o desenvolvimento desta pesquisa, sem a colaboração e desprendimento de todos nada seria possível.

EPÍGRAFE

"Alguns homens vêem as coisas como são, e dizem 'por quê'? Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo 'porque não?'"

Geroge Bernard Shaw

RESUMO

AMARAL, Francieli Aparecida do. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. É viável a utilização de entomopatógenos para o manejo de *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) em segunda safra de milho?

Professora Orientadora: Dra. Elisângela de Souza Loureiro.

A cultura do milho (*Zea mays* L.) se destaca por apresentar grande potencial produtivo, com grande importância econômica dentro da agricultura brasileira. Sua produtividade, no entanto, pode ser afetada por diversos fatores, sendo um dos principais a lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mais conhecida como lagarta do cartucho. Seu ataque proporciona danos que podem afetar diretamente a produtividade desta cultura. O intenso cultivo de milho em algumas regiões do Brasil onde se planta a cultura o ano todo, tem proporcionado condições de forte pressão de seleção de indivíduos resistentes a inseticidas. Visando colaborar com o princípio básico do manejo integrado de pragas (MIP) e buscando por alternativas eficazes e sustentáveis para o controle deste inseto-praga, este trabalho teve como objetivo avaliar o manejo de *S. frugiperda* com diferentes entomopatógenos e inseticida, e números de aplicações, em campo. Para condução do experimento foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC), avaliando-se dois ensaios, um com uma pulverização com diferentes bioinseticidas e inseticida, e outro com duas e três pulverizações utilizando diferentes bioinseticidas. O primeiro ensaio foi composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Foram avaliados os seguintes tratamentos: Testemunha (água destilada misturada ao espalhante adesivo Tween 80®); 0,300 L ha⁻¹ do inseticida Exalt® (espinosinas: espinosade); 5 Kg ha⁻¹ do fungo *M. rileyi* (Mr); 0,500 Kg ha⁻¹ do bioinseticida a Xentari® (bactéria *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*) (Bt); 0,200 L ha⁻¹ do bioinseticida Diplomata® (vírus *Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (HearNPV). O segundo ensaio foi conduzido com sete tratamentos e quatro repetições. Foram avaliados os seguintes tratamentos: Testemunha (água destilada misturada ao espalhante adesivo Tween 80®); 5 Kg ha⁻¹ do fungo *M. rileyi* (2 e 3 pulverizações, respectivamente); 0,500 Kg ha⁻¹ da bactéria Xentari® (*B. thuringiensis aizawai*) (2 e 3 pulverizações, respectivamente); 0,200 L ha⁻¹ do vírus Diplomata® (*Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (2 e 3 pulverizações, respectivamente). Com uma pulverização observou-se que o Inseticida Exalt apresentou menor índice de lagartas vivas aos 7 DAP. Após a segunda pulverização, 14 DAP, o tratamento Metarhizium rileyi (2 pv) propiciou um controle mais efetivo, após a terceira pulverização não houve diferença na infestação de insetos entre os tratamentos.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta do cartucho. Controle Biológico. MIP.

ABSTRACT

AMARAL, Francieli Aparecida do. Federal University of Mato Grosso do Sul. Is it feasible to use entomopathogens for the management of *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) in the second corn harvest?

Author: Francieli Aparecida do Amaral.

Adviser: Dra. Elisângela de Souza Loureiro.

The corn crop (*Zea mays* L.) stands out because it presents great productive potential, with great economic importance within Brazilian agriculture. Its productivity however can be affected by several factors, being one of the main the caterpillar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) better known as a cartridge caterpillar. Its attack provides damage that can directly affect the productivity of this crop. The intense corn cultivation in some regions of Brazil where the crop is planted all year round has provided conditions of strong selection pressure for insecticide resistant individuals. Aiming to collaborate with the basic principle of integrated pest management (IPM), and searching for effective and sustainable alternatives for the control of this insect-plague, this work had as objective to evaluate the management of *S. frugiperda* with different entomopathogens and insecticide, and application numbers, in the field. For the conduction of the experiment, was used the experimental design in randomized blocks (DBC), evaluating two trials, one with a spray with different bioinsecticides and insecticide, and another with two and three sprays using different bioinsecticides. The first experiment consisted of five treatments and four replicates. The following treatments were evaluated: Witness (distilled water mixed with Tween 80® adhesive spreader); 0.300 L ha⁻¹ of Exalt® insecticide (spinosyn: spinosad); 5 kg ha⁻¹ of fungus *M. rileyi* (Mr); 0.500 kg ha⁻¹ of the bioinseticide to Xentari® (bacterium *B. thuringiensis* subsp. *Aizawai*) (Bt); 0.200 L ha⁻¹ of the bioinseticide Diplomata® (virus *Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (HearNPV). The second treatment was conducted with seven treatments and four replicates. The following treatments were evaluated: Witness (distilled water mixed with Tween 80® adhesive spreader); 5 kg ha⁻¹ of fungus *M. rileyi* (2 and 3 sprays, respectively), 0.500 kg ha⁻¹ of Xentari® bacteria (*B. thuringiensis aizawai*) (2 and 3 sprays, respectively), 0.200 L ha⁻¹ of the Diplomata® virus (*Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (2 and 3 sprays, respectively). With a spray it was observed that the Exalt Insecticide presented a lower index of live caterpillars at 7 DAP. After the second spray, 14 DAP, the treatment *Metarhizium rileyi* (2 pv) provided a more effective control, after the third spray there was no difference in insect infestation between treatments.

KEY-WORDS: Cartridge crankcase. Biological Control. MIP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA		PÁGINA
1	Temperatura média (°C) e precipitação pluviométrica (mm), registradas pela Fundação Chapadão durante a condução do ensaio. Chapadão do Sul-MS, 2017	47

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Tabela 1 Média do número de lagartas vivas de <i>S. frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) encontrada por parcela de milho, previamente e aos 7, 14, 21 e 28 dias após 1 pulverização (DAP). Chapadão do Sul-MS, 2017	45
	Tabela 2 Média do número de lagartas vivas de <i>S. frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) encontrado por parcela em milho, previamente e após 2 e 3 pulverizações dos tratamentos. Chapadão do Sul-MS, 2017	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. A cultura do milho.....	14
2.2. A lagarta-do-cartucho-do-milho (<i>Spodoptera frugiperda</i>).....	14
2.3. Medidas de Controle	16
2.3.1. Controle Químico	16
2.3.2. Controle Biológico	18
2.3.3. Fungos entomopatogênicos	188
2.3.4. Bactérias entomopatogênicas	20
2.3.5. Vírus entomopatogênicos	211
CAPÍTULO 1 - MANEJO DE INSETICIDAS BIOLÓGICOS E SINTÉTICO SOBRE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) EM CAMPO	2929
RESUMO.....	29
ABSTRACT.....	30
1. INTRODUÇÃO	311
2. MATERIAL E MÉTODOS	322
3. RESULTADOS.....	344
4. DISCUSSÃO	355
5. CONCLUSÃO	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	400

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a cultura do milho (*Zea mays* L.) apresenta grande potencial produtivo, sendo possível seu plantio em duas safras durante o ano agrícola, concentrando-se nas regiões Centro Oeste e Sul do país. Nos últimos quatro anos esta cultura tem se destacado significativamente, sendo o país o segundo maior produtor exportador mundial, alcançando no ano agrícola 2016/2017 na primeira safra, produtividade de 5556 Kg ha⁻¹ e na segunda 5533 Kg ha⁻¹ (CONAB, 2018).

Apesar do alto potencial produtivo dessa cultura, alguns fatores como o ataque de insetos podem afetar diretamente sua produtividade, destacando-se a lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), a qual pode durante todo o ciclo de plantio causando danos irreparáveis caso não seja controlada. O controle dessa praga demanda um alto investimento e máxima atenção, pois as larvas podem seccionar plântulas, consomem folhas fazendo orifícios e em seguida se alimentam do cartucho das plantas, podendo destruí-lo completamente (CRUZ et al., 1999).

O sucesso no controle dessa praga está diretamente relacionado ao momento correto de controle, levando-se em consideração o nível de infestação da praga, determinado pela amostragem do número de plantas atacadas, o menor custo de controle e o maior valor monetário da produção da cultura. O monitoramento realizado de maneira correta irá determinar o momento em que a praga se instalou na cultura e se a mesma precisa ser controlada, antes de causar danos econômicos (CRUZ et al., 2010).

O intenso cultivo de milho em algumas regiões do Brasil (durante o ano todo) tem proporcionado condições de forte pressão de seleção de indivíduos resistentes a inseticidas, como ao piretroide lambda-cyhalothrin, chamando a atenção para a preocupação quanto a eficiência desses produtos em relação ao seu controle (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001).

Visando o sucesso no manejo da resistência de insetos a inseticidas, o conceito de manejo integrado de pragas (MIP) volta a ganhar visibilidade, introduzindo táticas de manejo, reduzindo o uso de agroquímicos e consequentemente os efeitos danosos destes, aumentando assim a eficácia do MIP (CRUZ, 2002).

Táticas alternativas de controle têm sido amplamente utilizadas nos últimos anos, dentre estas o uso de entomopatógenos como fungos, bactérias, vírus e nematoides nos programas de controle biológico (VALICENTE, 2009).

Os fungos entomopatogênicos possuem um espectro de ação capaz de colonizar várias espécies de insetos, podendo causar epizootias em condições naturais, e com capacidade de infectar todos os estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (ALVES et al., 2008). Seu modo de infecção é pelo contato direto através do tegumento, envolvendo processos de adesão, germinação e penetração do patógeno na cutícula do inseto, ultrapassando barreiras físicas e químicas (ALVES; LOPES, 2008, ST LEGER; WANG, 2010, WANG; FENG, 2014). Dentro do complexo de fungos entomopatogênicos estudados, *Metarhizium rileyi* (Ascomycota: Clavicipitaceae) (KEPLER et al., 2014) tem se demonstrado promissor, por ocorrer sobre mais de trinta espécies de lepidópteros (SUJII et al., 2002, SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (BERLINER, 1911) (Eubacteriales: Bacillaceae) (Bt), é uma bactéria gram-positiva, caracterizada por formar cristais proteicos, os quais possuem propriedades inseticidas específicas, restritas ao trato digestivo dos insetos (VALICENTE, 2009). No Brasil, a introdução e utilização de produtos a base da bactéria *Bt* deu-se início na década de 1960, passando a ganhar maior visibilidade e destaque a partir de então (CAPALBO et al., 2008).

A utilização de vírus entomopatogênicos tem ganhado maior incremento, principalmente devido a sua proteção em cristais proteicos, o que possibilita a formulação de produtos com tecnologia de aplicação simples e segura quando comparados aos inseticidas químicos (ALVES et al., 2008).

Diante dessas possibilidades de manejo, é necessária uma maior conscientização do produtor de milho e técnicos responsáveis pelo manejo das lavouras, em relação aos métodos utilizados nos processos de controle biológico, aliado ao uso racional de defensivos no controle de pragas, visando entender e praticar o MIP pois, em seu conceito primordial, é a forma onde busca-se a racionalização do controle de insetos-praga das culturas (SIMONATO et al., 2013). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade da utilização de entomopatógenos para o manejo de *S. frugiperda*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie nativa da América Central adaptável a diferentes climas, regiões e hemisférios. Este cereal é utilizado na alimentação humana e animal, além de originar diversos subprodutos (CRUZ et al., 2008).

A cultura do milho representa um desafio de importância econômica e comercial dentre aquelas plantadas no Brasil, podendo ser cultivada em primeira safra (verão) e segunda safra (safrinha). De acordo com a CONAB (2018), na safra 2016/2017 o milho verão foi cultivado numa área plantada de 5,48 milhões de há, com produtividade de 5556 Kg ha⁻¹ e o milho safrinha numa área de 12,11 milhões de ha e produtividade de 5533 Kg ha⁻¹, sendo a segunda melhor safra da última década.

O milho está entre as três principais culturas que mais tem se beneficiado com os avanços biotecnológicos, além de ser o segundo cultivo transgênico mais plantado no país (JAMES, 2014).

2.2. A lagarta-do-cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*)

Assim como as demais culturas, o milho é suscetível ao ataque de diversas pragas no campo. O aumento das áreas de cultivo, aliado à presença de áreas extensivas próximas, são fatores que tem favorecido o ataque de insetos polípagos, como a lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), Lepidoptera: Noctuidae), causadora de grandes perdas econômicas devido seu elevado potencial de danos (CONAB, 2018). Dependendo da estação e do vigor do ataque estima-se que essa praga possa causar diminuição de até 60% na produção do grão (FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006).

Além dos danos causados, o ataque desses insetos-pragas também pode favorecer o surgimento de doenças nas plantas, como a infecção por fungos e outras doenças oportunistas gerando maiores prejuízos, podendo provocar a morte da planta (CRUZ, 2012).

Esse inseto ocorre durante todas as épocas do ano devido sua alta frequência e distribuição nas regiões tropicais das Américas, sendo capaz de causar danos vasculares nos tecidos foliares, lesões nas folhas e cartuchos, além de afetar a produção de grãos (BREWER et al., 2014).

A oviposição é feita pelas fêmeas preferencialmente na face inferior das folhas (2003), em massas irregulares (FREEMAN, 1999). Essas massas de ovos são agregadas entre si, presas ao substrato por uma substância produzida pelas glândulas coletéricas sendo recobertas por pêlos e escamas do abdome da fêmea (LUCCHINI, 1977; PATEL, 1981). Inicialmente, os ovos apresentam coloração verde-claro; após 12 a 15 horas ficam alaranjados e próximo a eclosão das lagartas ficam escurecidos (CRUZ, 1995).

No primeiro estágio, as lagartas medem até 1,9 mm de comprimento com cápsula cefálica de 0,3 mm, e a partir deste estágio, alimentam-se preferencialmente do cartucho das plantas raspando as folhas. Após o segundo e terceiro ínstaes as lagartas começam a fazer perfurações nas folhas, alimentam-se do cartucho e perfuram toda a planta (VALICENTE, 2008). No último instar, apresenta coloração marrom-acinzentada no dorso, esverdeada na parte ventral e subventral, apresentando também manchas de coloração marrom-avermelhada (GALLO et al., 2002).

No final do período larval, as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas. Inicialmente a pupa é alaranjada, passando à coloração marrom-avermelhada e próximo à emergência se torna escura. Essa fase dura 8 dias em dias quentes, podendo chegar a 25 dias em temperaturas amenas, após o qual ocorre a emergência dos adultos (GALLO et al., 2002). Os indivíduos adultos (mariposas) possuem diferenças na coloração, quando recém-eclodidas apresentam cápsula cefálica escura e mais larga do que o corpo, pode ser encontrado próximo ao solo ou nas folhas do cartucho do milho. O macho apresenta um par de asas castanho escuro, diferente da fêmea na qual a coloração é parda ou cor de palha. Estas chegam a ter cerca de 3,5 cm de comprimento podendo ovipositar mais de 2.000 ovos (GALLO et al., 2002; CRUZ, 2008).

A ocorrência dessa praga é favorecida por temperaturas elevadas, na região central no Brasil ocorre durante todas as estações do ano, devido do plantio contínuo das culturas de milho, algodão e soja (MORAES et al., 2015).

As perdas de produtividade no Brasil pelo ataque dessa praga podem chegar a 60%, dependendo do genótipo, estágio de desenvolvimento da planta e época de cultivo (VIANA; COSTA, 1998; SOUZA; SOUZA, 2004; FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006). Quando o ataque ocorre na fase inicial da cultura, tais perdas são ainda

mais significativas devido à morte das plântulas e à diminuição do número de plantas por unidade de área (MARTINS et al., 2009).

2.3. Medidas de Controle

Pretendendo-se evitar prejuízos causados por *S. frugiperda* são utilizados basicamente aplicações de inseticidas químicos sintéticos. Contudo, o uso sucessivo e não equilibrado dessas substâncias pode selecionar populações de insetos resistentes, promover a ressurgência de pragas, além de deixar resíduos sobre os alimentos (OLIVEIRA et al., 2007).

Visando resolver os prováveis desequilíbrios acarretados por essa prática, torna-se indispensável a utilização de estratégias integradas que sejam menos ameaçadoras ao meio ambiente (BUSATO et al., 2006).

A preservação das populações de insetos predadores, parasitoides e entomopatógenos em zonas agrícolas depende de uma significativa redução no número de aplicações extras de inseticidas, pois estes exercem atividade no controle de pragas colocando-as abaixo do nível causador de danos econômicos (TOSCANO et al., 2010).

2.3.1. Controle químico

O manejo dos insetos praga, na cultura do milho, é agravado na fase inicial, em função da severidade e da velocidade com que o ataque se verifica. Nesse período o químico é o principal método utilizado, no tratamento de sementes com inseticidas, que embora, seja visto como um método preventivo, é mais eficiente que as pulverizações de inseticidas (CRUZ, 2002).

A escolha por produtos para o controle de pragas deve ser efetuada de forma cautelosa. Esses devem ter registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) não ser fitotóxico à planta e ter menor toxicidade ao homem com o propósito de proporcionar os menores riscos de intoxicação aos aplicadores (PICANÇO, 2010). Além disso, sua utilização adequada e eficiente depende do conhecimento completo do ciclo de vida da praga no campo (GULLAN; CRANSTON, 2007).

Muitos dos inseticidas utilizados no manejo da lagarta não são seletivos aos inimigos naturais. No momento, existem em torno de 180 produtos químicos registrados no MAPA para o controle do inseto na cultura no milho (MAPA, 2018).

O nível de controle recomendado é de 20% das plantas com folhas raspadas até o 30º dia após o plantio, e quando apresentar 10% de plantas com folhas raspadas de 40 a 60 dias após a semeadura. Aconselha-se, realizar o controle logo que surgem os primeiros ataques ao cartucho, aplicando-se fosforados, clorofosforados, carbamatos, piretroides ou reguladores de crescimento em pulverização, com bico em leque, para deposição dos inseticidas na zona de ataque da praga (cartucho), ou através da irrigação com pivô central (“insetigação”). A isca tóxica também pode ser utilizada para controle do adulto desta espécie (GALLO et al., 2002; VALICENTE, 2015).

Tonquelski e Martins (2007) ao avaliarem a eficiência de diferentes inseticidas no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho, na região dos Chapadões, observaram que o inseticida Spinosade® pertencente ao grupo químico das espinosinas proporcionou redução significativa no número de lagartas em relação a testemunha após 7 dias da aplicação. Esses autores verificaram eficiência de 71% no controle, sugerindo um controle mais eficiente para o grupo químico das espinosinas nos primeiros dias após a pulverização.

O intenso cultivo de milho em algumas regiões do Brasil onde se planta a cultura o ano todo, tem proporcionado condições de forte pressão de seleção de indivíduos resistentes, casos registrados de resistência desse inseto ao piretroide lambda-cyhalothrin tem chamado a atenção quanto a sua eficiência em relação ao controle das lagartas (DIEZ-RODRIGUEZ; OMOTO, 2001).

Os motivos do fracasso no manejo estão relacionados ao combate tardio e métodos inapropriados de aplicação de inseticidas (GALLO et al., 2002; VALICENTE, 2015), muitas vezes este controle não tem a eficiência desejada por apresentar alto custo, pois são necessárias várias aplicações (BOIÇA JÚNIOR et al., 2015), constante rotação dos produtos, aplicação de inseticidas específicos para as diferentes fases da praga (CARBALLO et al., 2012) seleção de populações resistentes (POLETTI; ALVES, 2013), contaminação dos grãos deixando resíduos nos alimentos causando problemas de saúde pública (CRUZ et al., 2008) e cuja escolha nem sempre leva em consideração o grau de seletividade e ou compatibilidade aos agentes de controle biológico (TOSCANO et al., 2012).

2.3.2. Controle Biológico

O método de controle biológico trata-se do uso de inimigos naturais de forma aumentativa ou inoculativa, nos vários agroecossistemas, com o propósito de conter uma ou mais pragas presentes. Esses indivíduos são gerados em criações massais ou obtidos em coleta a campo e liberados nas lavouras para amplificar o número de agentes de controle biológico incidentes naturalmente e diminuir a infestação da praga (MOSCARDI et al., 2011).

Os microrganismos entomopatogênicos causam efeitos secundários que podem afetar as gerações seguintes, podendo ser aproveitados juntamente com inseticidas seletivos (TANADA; KAYA, 1993; ALVES, 1998).

Um dos benefícios da utilização do controle biológico é que, além de diminuir a densidade populacional dos insetos praga, proporciona menor impacto ambiental. Diversamente dos agrotóxicos, esse procedimento é mais específico para os organismos-alvo sem impactar substancialmente os aplicadores e a qualidade dos alimentos produzidos. Outro benefício é a chance de se tornar permanente pela presença dos patógenos ou insetos controladores na área. O controle biológico também é fundamental quando os métodos convencionais não funcionam apropriadamente (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003).

Os agentes entomopatogênicos mais importantes associados ao controle microbiano de insetos são fungos, bactérias, vírus e nematoides, com diversos casos estudados e exemplos de utilização comercial (ALVES, 1998).

As vantagens mais importantes do uso de microrganismos entomopatogênicos, ou seja, do controle microbiano, para o manejo de pragas são a especificidade e a seletividade desses agentes de controle, bem como a simplicidade de multiplicação, dispersão e produção em meios artificiais, além de evitar a poluição ambiental e toxicidade em homens e outros organismos não alvos (MOINO JÚNIOR, 2005).

2.3.3. Fungos entomopatogênicos

Os fungos foram os primeiros patógenos de insetos utilizados no controle microbiano (ALVES, 1998). Mais de 150 produtos para o controle biológico de insetos pragas feitos a partir de fungos entomopatogênicos já foram comercializados em escala mundial (FARIA; WRAIGHT, 2007).

A ocorrência da entomopatogenicidade (capacidade de produzir doença em insetos) depende de uma cadeia de eventos bioquímicos e mecânicos sincronizados. Primeiro, o conídio (unidade infectiva) adere e germina sobre a cutícula do inseto (ST LEGER, COOPER e CHARNLEY, 1991), fazendo então a penetração através da combinação de degradação enzimática e pressão mecânica, onde enzimas hidrolíticas como quitinases, proteases e lipases são produzidas (ST LEGER et al., 1988).

Em seguida, as hifas que atravessaram a cutícula do hospedeiro engrossam e se ramificam. Os metabólitos secundários produzidos afetam os canais de transporte de íons, envolvidos na resposta muscular e na integridade da membrana celular e as toxinas liberadas levam o hospedeiro à morte (ALVES, 1998). Finalmente, ocorre a exteriorização das estruturas fúngicas, com a produção de conídios sobre a carcaça do hospedeiro (ST LEGER, COOPER e CHARNLEY, 1991).

Os fungos entomopatogênicos são patógenos de largo espectro de ação capazes de causar epizootias naturais. Esses agentes podem infectar diferentes fases de desenvolvimento dos hospedeiros, como ovos, larvas, pupas e adultos, sendo que a maioria possui um mecanismo de penetração especializado via tegumento, característica vantajosa quando comparados com outros grupos de patógenos que infectam o inseto apenas pela via oral (ALVES, 1998).

O fungo *Nomuraea rileyi* reclassificado como *Metarhizium rileyi* (Ascomycota: Clavicipitaceae) (KEPLER et al., 2014) é um dos fungos que vem mostrando-se eficiente no controle de algumas espécies de pragas agrícolas. É cosmopolita infectando naturalmente larvas de várias espécies, que atacam algumas culturas de importância econômica em muitas regiões do mundo e no Brasil, tendo importância comercial e grande potencial de controle (IGNOFFO et al., 1975; SUJII et al.; 2002).

Segundo Barros et al. (2000), mais de 32 espécies de insetos das ordens Lepidoptera, Orthoptera e Coleoptera são suscetíveis a *M. rileyi*. No entanto, cerca de 90% dos hospedeiros pertencem à Ordem Lepidoptera, apresentando preferência por representantes da família Noctuidae (IGNOFFO et al., 1975; SUWANNAKUT et al., 2005).

Em estudos realizados em Cuba observou-se percentual de controle de *S. frugiperda* de 75 a 85% utilizando fungo entomopatogênico na cultura do milho (ALVES et al., 2008). Chaudhari et al. (2015) testando a eficiência do isolado (Nr-Kc)

de *M. rileyi* em *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) verificaram 64,0 a 82,0% de mortalidade em diferentes ínstares.

Em condições favoráveis (temperatura entre 26 a 27 °C e umidade relativa superior a 60%) este fungo desenvolve a doença de forma precoce, dispensando a utilização de produtos químicos (ALVES et al., 2008).

2.3.4. Bactérias entomopatogênicas

Os microrganismos mais empregados em programas de controle biológico de insetos de interesse agrícola são as bactérias. Este notável sucesso deve-se, sobretudo ao *Bacillus thuringiensis*, cuja patogenicidade tem sido evidenciada para variadas ordens de insetos, outros artrópodes e nematoides (POLANCZYK et al., 2008), sendo essa espécie a mais importante e com aptidão no uso como bioinseticida (FEDERICI, 2005). Esta bactéria é Gram-positiva, elabora uma inclusão proteica em formato de cristal, denominada de proteína Cry ou δ -endotoxina, que apresenta elevada toxicidade em inúmeros gêneros de insetos com relevância médica e econômica (YUL et al., 2007).

A razão do êxito de *B. thuringiensis* como bioinseticida se deve a ampla diversidade de endotoxinas que produz e ao amplo espectro de ação em insetos, além da especificidade do modo de ação que cada variação da bactéria possui (CHARLES; NIELSEN-LEROUX, 2000). Quando chegam no intestino médio do inseto, as proteínas são solubilizadas e transformado pelas proteases do inseto. Essas toxinas, ocasionalmente se unem a receptores específicos onde formam poros que ampliam a permeabilidade da célula, fazendo-a dilatar e se romper levando a morte do inseto (COPPING; MENN, 2000).

Os grupos de insetos cuja ação de *B. thuringiensis* em que foi relatada são muitos e envolvem diversas pragas e vetores com relevância econômica e médico-sanitária, como coleópteros (DONOVAN et al., 1992), lepidópteros (ARVIDSON et al., 1989), pragas de lavouras, além de insetos da Ordem Diptera transmissores de doenças (BENDOV, 2014). Essa diversidade fez com que muitos produtos fundamentados na bioatividade de *B. thuringiensis* fossem feitos para uso comercial em plantações e programas de saúde pública (VALICENTE et al., 2010).

Os benefícios do *B. thuringiensis* são: produção massal em meios relativamente baratos, durabilidade na prateleira, aplicação utilizando-se os mesmos

pulverizadores utilizados para inseticida cuidando para higienização adequada, acelerada morte larval quando comparada a outros patógenos e pequenos efeitos em insetos úteis e organismos não alvo. Como desvantagem tem-se: baixa permanência no campo, influência das condições climáticas na eficácia de controle, vulnerabilidade à inibição da alimentação antes da ingestão da dose letal e seleção de insetos resistentes (POLANCZYK et al., 2008).

Produtos comerciais a base dessa bactéria são recomendados para o controle de pragas importantes como a traça do tomate (*Tuta absoluta*), curuquerê da couve (*Ascia monuste orseis*), traça das crucíferas (*Plutella xylostella*) e lagarta militar (*S. frugiperda*). Visando maximizar a eficiência de controle, recomenda-se que ocorra uma total cobertura das folhas uma vez que, em função do seu modo de ação, há necessidade de ingestão (POLANCZYK et al., 2008).

2.3.5. Vírus entomopatogênicos

Os vírus são macromoléculas (nucleoproteínas), com ou sem película envoltória, com unicamente um tipo de ácido nucleico (DNA ou RNA), parasitas celulares obrigatórios, sem eficiência para produzir a energia própria. Os vírus entomopatogênicos vem sendo amplamente utilizados no mundo (MELO; AZEVEDO, 1998).

O principal benefício desses entomopatógenos é a ampla especificidade, o que possibilita estabilidade no manejo e redução dos efeitos ambientais deletérios (MELO; AZEVEDO, 1998).

No manejo de lagartas referentes aos cultivos de soja, milho, mandioca, batata, frutíferas e hortaliças, são utilizados no Brasil, os vírus (*Nucleopolivírus* e *Granulovírus*), produzindo melhorias econômicas e ambientais ao ambiente rural e ao usuário final. Os *Nucleopolyhedrovirus* (NPV), ou “vírus da poliedrose nuclear”, formam partículas envoltas pela proteína poliedrina que abrange muitas unidades virais (SOZA-GÓMEZ, 2008).

Na atualidade mais de 500 NPVs foram identificados e exibem ampla especificidade, que os torna excelentes candidatos para o uso no manejo biológico de pragas. Os sintomas apresentados pelos insetos contaminados são: redução de apetite, geotropismo negativo, clareamento da epiderme (esbranquiçada ou amarelada) correspondente a retenção de vírus nas células epidérmicas e tecido

adiposo. Após a morte, a cutícula se melaniza e fica quebradiça (SOZA-GÓMEZ, 2008).

De acordo com Melo e Azevedo (1998) a utilização de vírus no manejo de pragas apresenta as seguintes vantagens: a) auxilia a preservação do meio ambiente; b) pode ser produzido pelo produtor limitando os custos de investimento; c) possibilita a segurança a animais, plantas e outras espécies de inseto; d) pode ser pulverizado utilizando materiais de fácil acesso; e) menor intensidade de seleção de indivíduos resistentes. Como desvantagens tem-se: a) ação mais lenta em relação aos inseticidas químicos e demais métodos de controle; b) aplicação contínua por muitos anos seria capaz de beneficiar a transmutação no genoma do vírus (MELO; AZEVEDO, 1998)

O produto tem sua ação iniciada após a ingestão das partículas virais pelas lagartas, que ocorre durante a ingestão das folhas e partes das plantas tratadas com o produto. O vírus é multiplicado no intestino das lagartas, provocando uma infecção e levando as lagartas à morte. As lagartas mortas pela ação do vírus ficam com aspecto liquefeito e contribuem para dispersar o vírus no ambiente. O processo ocorre entre 3 a 7 dias, sendo que o efeito é mais rápido nos primeiros instares de desenvolvimento.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALVES S. B. et al. **Fungos Entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina**. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba, São Paulo: FEALQ. p. 69- 110, 2008.

ALVES, S. B.; LECUONA, R. E. **Epizootologia aplicada ao controle microbiano de insetos**. In: Alves, S. B. (Org.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba, São Paulo: FEALQ, p. 97-170, 1998.

ARVIDSON, H.; DUNN, P. E.; STRNAD, S.; ARONSON, A. I. Specificity of *Bacillus thuringiensis* for lepidopteran larvae: factors involved in vivo and in the structure of a purified protoxin. **Molecular Microbiology**, v. 3, p. 1533-1543, 1989.

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

BEN-DOV, E. *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis and Its Dipteran-Specific Toxins. **Toxins**, v. 6, p. 1222–1243, 2014.

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**, v. 36, p. 607-618, 2015.

BREWER, M. J.; ODVODY, G. N.; ANDERSON, D. J.; REMMERS, J. C. A comparison of bt transgene, hybrid background, water stress, and insect stress effects on corn leaf and ear injury and subsequent yield. **Environmental Entomology**, v. 43, n. 3. p. 828-839, 2014.

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; ZOTTI, M. J.; NÖRNBERG, S. D.; MAGALHÃES, T. R.; MAGALHÃES, J. B. Susceptibilidade de lagartas dos biótipos milho e arroz de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas com diferentes modos de ação. **Ciência Rural**, Santa Maria, Santa Catarina, v. 36, n. 1, p. 15-20, 2006.

CAPALBO, D. M. F.; MORAES, I. O.; ARANTES, O. M. N.; REGIS, L. N.; VEGA, O. F. L.; BENINTENDE, G. B.; GUIMARÃES, S. E.; ARRUDA, R. O. M.; MORAES, R. O. Produção de bactérias entomopatogênicas na América Latina. **Controle Microbiano de Pragas na América Latina – Avanços e Desafios**, cap. 9, p. 239-256, 2008.

CARBALLO, C. R. R.; RUBIO, M. V. Efecto antialimentario de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre *Heliothis virescens* y *Spodoptera frugiperda*. **Fitosanidad**, v. 16, p. 155-159, 2012.

CASTRO, M. E. B.; SOUZA, M. L. SIHLER, W.; RODRIGUES, J. C. M.; RIBEIRO, B. M. Biologia molecular de baculovírus e seu uso no controle biológico de pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 10, p. 1733-1761, 1999.

CHARLES, J. F.; NIELSEN-LEROUX, C. Mosquitocidal Bacterial Toxins: Diversity, Mode of Action and Resistance Phenomena. **Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 201-206, 2000.

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**, v. 2, p. 1-7, 2015.

CONAB-Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira**. Grãos – Safra 2017/2018, v. 4, p. 15-21, 2017.

CONAB. Companhia nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira. **Grãos - Safra 2017/18**. Brasília, Distrito Federal, v. 5, p. 1-132, 2018.

COPPING, L. G.; MENN, J. J. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, v. 56, n. 8, p. 651–676, 2000.

CRUZ, I. A cultura do milho. **Manejo de Pragas da Cultura do Milho**, Cap. 12, p. 303-362, 2012.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; SILVA, R. B. Monitoramento de adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em algumas regiões produtoras de milho (*Zea mays* L.) no Brasil. **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Goiânia, 2010. p. 538-542. CD-Rom.

CRUZ, I. Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico. Brasília, Distrito Federal: **EMBRAPA**, v. 1, p. 192, 2008.

CRUZ, S. C. S.; PEREIRA, F. R. S.; BICUDO, S. J.; ALBUQUERQUE, A. W.; SANTOS, J. R.; MACHADO, C. G. Nutrição do milho e da *Brachiaria decumbens* cultivado em consórcio em diferentes preparos do solo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, Paraná, v. 30, n. 05, p. 733- 739, 2008.

CRUZ, I. Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith). Sete Lagoas: **EMBRAPA Milho e Sorgo**, Documentos, v. 21, 25 p., 2002.

CRUZ, I. Atualização em MIP. **Cultivar**, v. 43, p. 36-39, 2002.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; MATOSO, M. J. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichograma*. Sete Lagoas: **EMBRAPA-CNPMS**, Circular Técnica, v. 30, 40 p., 1999.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, Minas Gerais: **EMBRAPA/CNPMS**, Circular Técnica, n. 21, 45p., 1995.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 311-316, 2001.

DONOVAN, W. P.; RUPAR, M. J.; SLANEYAC, A. C.; MALVAR, M. C.; GAWRON-BURKE, M. C.; JOHNSON, T. B. Characterization of two genes encoding *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins toxic to Coleoptera species. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 3921-3927, 1992.

FARIA, M. R.; WRIGHT S. P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, Amsterdam, v. 43, p. 237- 256, 2007.

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

FEDERICI, B. A. Insecticidal bacteria: An overwhelming success for invertebrate pathology. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 80, p. 30-38, 2005.

FERREIRA, M. A. F. **Comportamento de oviposição, dispersão e alimentação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797), (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro herbáceo**. Cuiabá, 2003. 37f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da Cultura do Milho**. Jaboticabal, São Paulo: Funep, 576p., 2007.

FREEMAN, B. L. Cotton insect pests. **ANR-409**, 20p., 1999.

GALLO, D. N., O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. DE; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B., **Entomologia Agrícola**. Piracicaba, São Paulo: FEALQ, p. 919, 2002.

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**, v. 25, n. 1, p. 135-137, 1975.

JAMES, C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. **Acquisition of Agri-Biotech Applications** (ISAAA): Ithaca, NY: ISAAA Brief, n. 52, 2014.

KEPLER, R. M.; HUMBER, R. A.; BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. **Mycologia**, v. 106, p. 464-480, 2014.

LUCCHINI, F. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith e Abbot, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae)**. Níveis de prejuízos e avaliação toxicológica de inseticidas para o seu combate em milho. Curitiba, 1977. 114f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: http://http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em 25 fev. 2018.

MARTINS, G. M.; TOSCANO, L. C.; TOMQUELSKI, G. V.; MARUYAMA, W. I. Inseticidas químicos e microbianos no controle da Lagarta-do-cartucho na fase inicial da cultura do milho. **Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 170-174, 2009.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, São Paulo: **EMBRAPA**, v. 1, 262p., 1998.

MOINO JÚNIOR, A. **Controle microbiano de pragas**. In: VENZON, M.; JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. Controle Alternativo de Pragas e Doenças. Viçosa: UFV, p. 43-70, 2005.

MORAES, A. R. A. D.; LOURENÇÃO, A. L.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z., Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, v. 74, p. 50-57. 2015.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. de; CASTRO, M. E. B. de; MOSCARDI, M. L.; SZEWCZYK, B. **Baculovirus pesticides: present state and future perspectives**. In: AHMAD, L. AHMAD, F.; PICHTEL, J. Microbes and microbial technology agricultural and environmental applications. Springer Science Business Media, 1 ed, Chapter 16, p. 415-445, 2011.

OLIVEIRA M. S. S.; ROEL, A. R.; ARRUDA, E. J.; MARQUES, A. S. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-docartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, Minas Gerais, v. 31, n. 2, p. 326-330, 2007.

PATEL, P. N. **Estudos de fatores bióticos de controle natural em populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Campinas, 1981. 98f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas-UNICAMP, Campinas.

PIÇANCO, M. C. Manejo Integrado de Pragas. Viçosa: **Suprema**, 1 ed, p. 34-47, 2010.

POLANCZYK, R. A.; VALLICENTE, F. H.; BARRETO, M. R. **Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América do Sul**. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios. São Paulo: FEALQ, p.111-136, 2008.

POLETTI, M., ALVES, E. B. Resistência de mosca branca a inseticidas. **Informativo do IRAC-Comitê Brasileiro de ação a resistência a inseticidas**. Mogi Mirim, São Paulo, 2013.

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. Tecnologia e Produção: Soja 2013/2014, v. 08, p. 178-193, 2014.

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

SOSA-GÓMEZ, D. R.; MOSCARDI, F.; SANTOS, B.; ALVES, L. F. A.; ALVES, S. B. **Produção e uso de vírus para o controle de pragas na América Latina**. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Controle Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios, São Paulo: FAELQ, p. 49-68, 2008.

SOUZA, J. C.; SOUZA, M. A. Lagarta-do-cartucho: principal praga do milho em qualquer sistema de plantio. Lavras: **Centro Tecnológico do Sul de Minas**, Circular Técnica, n. 166, 4p., 2004.

ST. LEGER, R. J.; WANG, C. S. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 85, p. 901–907, 2010.

ST LEGER, R. J.; COOPER, R. M.; CHARNLEY, A. K. Characterization of chitinase and chitobiase produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 58, p. 415-426, 1991.

ST LEGER, R. J.; DURRANDS, P. K.; CHARNLEY, A. K.; COOPER, R. M. Role of extracellular chymoelastase in the virulence of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 52, p. 285-293, 1988.

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, Paraná, v. 31, p. 85-90, 2002.

SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; SCHMIDT, F. G. V.; ALVES, R. T.; FARIA, M. R. Metodologia de amostragem de ninfas e avaliação preliminar de fungos entomopatogênicos contra a mosca branca no meloeiro. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 27, 13 p., 2002.

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

TANADA, Y.; KAYA, H. K. Associations between insects and nonpathogenic microorganisms. **Insect Pathology**, New York: Academic, p. 12-51, 1993.

TONQUELSKI, G.V., MARTINS, G. L. M. Eficiência de Inseticidas Sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) Em Milho Na Região Dos Chapadões. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 6, n. 1, p. 26-39, 2007.

TOSCANO, L. C.; GONZATTO, F. A.; CARDOSO, A. M.; MARUYAMA, W. Interação de híbridos de milho cultivados na safrinha e o controle químico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797). **Revista Agrarian**, Dourados, Mato Grosso do Sul, v. 3, n. 7, p. 24-33, 2010.

VALICENTE, F. H. Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. Sete Lagoas, Minas Gerais: **EMBRAPA**, Circular Técnica, n. 208, 13p., 2015.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S.; LEITE, M. I. S.; FREIRE, F. L.; VIEIRA, C. M. Production of *Bacillus thuringiensis* biopesticide using commercial lab medium and agricultural by-products as nutrient sources. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 9, p. 1-11, 2010.

VALICENTE, F. H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. **Controle Biológico de Pragas, doenças e Plantas Invasoras**, Belo Horizonte: Informe Agropecuário, v. 30, p. 48-55, 2009.

VIANA, P. A.; COSTA, E. F. Controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho com inseticidas aplicados via irrigação por aspersão. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 451-458, 1998.

WANG, C.; FENG, M. G. Advances in fundamental and applied studies in china of fungal biocontrol agents for use against arthropod pests. **Biol Control**, v. 68, p. 129-135, 2014.

YUL, R. J.; CHOI, J. Y.; LI, M. S.; JIN, B. R.; JE, Y. H. *Bacillus thuringiensis* as a Specific, Safe, and Effective Tool for Insect Pest Control. **Journal Microbiology and Biotechnology**, v. 17, p. 547-559, 2007.

CAPÍTULO 1 - MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* COM DIFERENTES NÚMEROS DE PULVERIZAÇÕES E INSETICIDAS BIOLÓGICOS E SINTÉTICO EM CAMPO

RESUMO

A lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), afeta a produtividade da cultura do milho, sendo necessárias alternativas para seu controle. Objetivou-se neste trabalho avaliar seu manejo com diferentes entomopatógenos e inseticida, e números de aplicações, em campo. O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso (DBC), avaliando-se dois ensaios, um com uma pulverização e um outro com duas e três pulverizações com diferentes bioinseticidas e inseticida, respectivamente. Os tratamentos foram testemunha (água destilada + espalhante adesivo Tween 80[®]); inseticida Exalt[®] (espinosinas: espinosade); fungo *Metarhizium rileyi* (Mr); bioinseticida a Xentari[®] (bactéria *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (Bt); bioinseticida Diplomata[®] (vírus *Helicoverpa armigera* *Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV). Com uma pulverização, 7 DAP o inseticida Exalt[®] proporcionou melhor controle. Após a segunda pulverização, 14 DAP, o tratamento *Metarhizium rileyi* (2 pv) proporcionou controle mais efetivo, após a terceira pulverização não houve diferença na infestação de insetos entre os tratamentos.

Palavras-chave: *Metarhizium rileyi*. *Bacillus thuringiensis*. *Nucleopolyhedrovirus*. Lepidoptera. Espinosina.

**CHAPTER 1 - MANAGEMENT OF *Spodoptera frugiperda* WITH DIFFERENT
NUMBERS OF SPRAYS AND BIOLOGICAL INSECTICIDES AND FIELD
SYNTHETIC**

ABSTRACT

The caterpillar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), affects the productivity of maize crop, and alternatives for its control are necessary. The objective of this work was to evaluate its management with different entomopathogens and insecticide, and application numbers, in the field. The experimental design was randomized blocks (DBC), two trials were evaluated, one with one spray and another with two and three sprays with different bioinsecticides and insecticide, respectively. The treatments were control (distilled water + Tween 80® adhesive spreader); Exalt® insecticide (spinosyn: spinosad); fungus *Metarhizium rileyi* (Mr); Xentari® bioinseticide (bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*) (Bt); bioinseticide Diplomata® (virus *Helicoverpa armigera* *Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV. With a spray, 7 DAP the Exalt® insecticide provided better control. After the second spraying, 14 DAP, the treatment *Metarhizium rileyi* (2 pv) provided more effective control, after the third spray there was no difference in insect infestation between treatments.

Keywords: *Metarhizium rileyi*. *Bacillus thuringiensis*. *Nucleopolyhedrovirus*. Lepidoptera. Spinosyn.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) se destaca dentre as principais culturas plantadas no Brasil por sua importância econômica e comercial, podendo ser cultivada em qualquer época do ano. A produtividade dessa cultura pode ser afetada diretamente por diversos fatores, sendo um dos mais frequentes e problemáticos o ataque de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (Cruz 2008).

O controle químico dessa praga, muitas vezes não proporciona a eficiência desejada, apresenta alto custo, necessitando de várias aplicações de inseticidas (Boiça Júnior et al. 2015), constante rotação dos produtos (Carballo e Rubio 2012), além de proporcionar seleção de populações resistentes (Poletti e Alves 2013), e cuja escolha nem sempre levam em consideração o grau de seletividade e ou compatibilidade aos agentes de controle biológico (Toscano et al. 2012). O uso indiscriminado e as aplicações calendarizadas dos agroquímicos têm comprometido o manejo de pragas, provocado a resistência da praga e a eliminação de inimigos naturais (Czepak et al. 2014). O uso indiscriminado e as aplicações calendarizadas dos agroquímicos têm comprometido o manejo de pragas, provocado a resistência da praga e a eliminação de inimigos naturais (Czepak et al. 2014).

Plantas geneticamente modificadas expressando a proteína de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Berliner 1911) (Eubacteriales: Bacillaceae) visando o manejo de insetos pragas em campo, tem sido utilizada de maneira inadequada, proporcionando o surgimento de resistência cruzada entre proteínas Bt (Bernardi et al. 2016).

Em função destes problemas e no contexto do Manejo Integrado de Pragas (MIP), o controle biológico, com o uso de entomopatógenos, vem se tornando uma alternativa viável para o manejo dessa espécie em campo (Chaudhari et al. 2015).

Os fungos entomopatogênicos provocam epizootias em diversas espécies de insetos-praga (Alves e Lopes 2008). Neste grupo destaca-se *Nomuraea rileyi*, reclassificado

como *Metarhizium rileyi* (Ascomycota: Clavicipitaceae) (Kepler et al. 2014) (Sujii et al. 2002, Sosa-Gómez et al. 2010) atuando sobre mais de trinta espécies de lepidópteros praga em diversas culturas de importância agrícola (Costa et al. 2015).

A bactéria *B. thuringiensis* se destaca entre os bioinseticidas por sua eficácia no controle de insetos praga, caracterizada por produzir proteínas altamente tóxicas aos insetos (Simonato et al. 2013). As estirpes de Bt, correspondentes ao sorotipo *aizawai* apresentam resultados afetivos no controle de *S. frugiperda* (Melatti et al. 2005).

Os vírus do gênero Baculovirus são os de maior ocorrência para controle de insetos pragas. Dentre os produtos disponíveis no mercado brasileiro, observa-se resultados significantes do vírus *Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) específico para o gênero *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) atuando sobre o crescimento e desenvolvimento das larvas desta espécie promovendo seu controle (Zhang et al. 2015).

A possibilidade de uso desses agentes de controle vislumbra possível reversão no quadro de calendarização, além de contribuir com a preservação do meio ambiente (Czepak et al. 2014). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes produtos fitossanitários biológicos e químicos e número de aplicações no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho em campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido durante o ano agrícola 2016/2017, em área comercial pertencente a Fazenda Gávea, sob coordenadas geográficas 18°42'4.99" Sul e 52°40'41.48" Oeste, com altitude de 820 m, no município de Chapadão do Sul - MS.

O solo da região é classificado como Latossolo vermelho, de textura argilosa, o clima predominante é o tropical úmido, o índice pluviométrico durante a condução do experimento foi de 705 mm (Figura 1).

A semeadura ocorreu em fevereiro, utilizando-se o híbrido de milho JM2M77 de ciclo precoce, porte médio e com tolerância a seca devido ao enraizamento superior. O espaçamento adotado foi o de 0,80 m entre linhas e com a população de duas plantas por metro, sendo cada parcela constituída por 10 linhas com 10 m totalizando 80 m², adotando-se as recomendações técnicas para plantio e manejo da cultura.

Para condução do experimento foi utilizado o delineamento experimental em blocos ao acaso (DBC), avaliando-se dois ensaios, um com uma pulverização com diferentes bioinseticidas e inseticida, e outro com duas e três pulverizações utilizando diferentes bioinseticidas.

O primeiro ensaio foi composto por cinco tratamentos e quatro repetições. Foram avaliados os seguintes tratamentos: Testemunha (água destilada misturada ao espalhante adesivo Tween 80®); 0,300 L ha⁻¹ do inseticida Exalt® (espinosinas: espinosade); 5 Kg ha⁻¹ do fungo *M. rileyi* (Mr); 0,500 Kg ha⁻¹ do bioinseticida a Xentari® (bactéria *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*) (Bt); 0,200 L ha⁻¹ do bioinseticida Diplomata® (vírus *Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (HearNPV).

O segundo ensaio foi conduzido com sete tratamentos e quatro repetições. Foram avaliados os seguintes tratamentos: Testemunha (água destilada misturada ao espalhante adesivo Tween 80®); 5 Kg ha⁻¹ do fungo *M. rileyi* (2 e 3 pulverizações, respectivamente); 0,500 Kg ha⁻¹ da bactéria Xentari® (*B. thuringiensis aizawai*) (2 e 3 pulverizações, respectivamente); 0,200 L ha⁻¹ do vírus Diplomata® (*Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (2 e 3 pulverizações, respectivamente).

As suspensões de bactéria e vírus e a solução do inseticida foram preparadas utilizando os produtos comerciais registrados, segundo recomendações do fabricante. O fungo *M. rileyi* foi multiplicado segundo metodologia adaptada de Loureiro et al. (2005), misturados à água destilada e espalhante adesivo a 0,1%.

Para aplicação dos tratamentos utilizou-se o pulverizador manual costal com capacidade para 20 litros e com o volume de 18,5 L de água (150 L ha⁻¹) com bico cone regulável. Foram respeitadas as condições ideais para pulverização dos entomopatógenos, após as 16 horas com temperatura variando entre 24 e 27°C e umidade relativa acima de 70%, para manter a sobrevivência dos micro-organismos.

Foram realizados monitoramentos semanais, amostrando 5 plantas das 3 linhas centrais, escolhidas ao acaso para determinação do nível de controle, sendo uma avaliação prévia e as demais a cada 7 dias após a pulverização (DAP) dos tratamentos, durante 4 semanas contabilizando-se a quantidade de lagartas. A aplicação dos tratamentos foi realizada quando atingiu o nível de controle observando-se 10% de plantas atacadas com folhas danificadas (Valicente 2015).

Os dados obtidos referentes ao número de insetos vivos foram submetidos a análise de variância, sendo a comparação entre médias dos tratamentos realizada pelo teste Skott-Nott a 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$), sendo os dados transformados em $(x+1,0)^{0,5}$.

3. RESULTADOS

Na amostragem prévia para o primeiro ensaio, constatou-se infestação de lagartas *S. frugiperda* em todos os tratamentos, não havendo diferença significativa entre os tratamentos para o número de insetos vivos encontrados (Tabela 1).

Após sete dias da pulverização dos tratamentos, verificou-se redução significativa na infestação de insetos, para o inseticida Exalt[®] em relação aos demais tratamentos. Nas avaliações posteriores realizadas não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Ocorreu redução do número de lagartas para todos os tratamentos aos 7, 14 e 21 DAP, aos 28 DAP apenas para o tratamento com o vírus HearNPV (Tabela 1).

Para o segundo ensaio, na amostragem prévia, constatou-se infestação de lagartas *S. frugiperda* em todos os tratamentos, não havendo diferença significativa entre os tratamentos para o número de insetos vivos encontrados (Tabela 2).

Após a segunda pulverização dos tratamentos, após 14 DAP, verificou-se um decréscimo no número de insetos vivos para o tratamento *Metarhizium rileyi* (2 pv), diferindo significativamente dos demais tratamentos (Tabela 2).

Não houve diferença significativa na infestação de insetos entre os tratamentos, após a terceira pulverização (Tabela 2).

4. DISCUSSÃO

Na primeira avaliação para uma pulverização, houve redução de 92,3% na quantidade de insetos presentes nas plantas de milho que receberam o tratamento com o inseticida Exalt®. Os dados deste trabalho corroboram com Ribeiro et al. (2008) que testando inseticidas de diferentes grupos químicos evidenciaram a efetividade de Exalt® reduzindo o número de lagartas vivas de *S. frugiperda* pois atua como agonista dos receptores nicotínicos de acetilcolina. Tonquelski e Martins (2007) ao avaliarem a eficiência de diferentes inseticidas no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho, observaram que o Spinosade pertencente ao grupo químico das espinosinas, proporcionou redução significativa em relação a testemunha quanto ao número total de lagartas presentes aos 7 DAP. Sendo o mais eficiente apresentando 71%, sugerindo que o grupo químico das espinosinas tenha um controle mais eficiente nos primeiros dias após a pulverização.

Mesmo apresentando ação patogênica sobre lepidópteros-praga. *M. rileyi* proporcionou baixa mortalidade sobre *S. frugiperda*, esse fato pode ter ocorrido devido a composição cuticular da *S. frugiperda*. A epicutícula dos insetos é composta principalmente por lipídios (Guo e Blonquist 1991). Estes lipídios cuticulares proporcionam a proteção aos insetos contra

micro-organismos, dificultando a invasão do fungo, aumentando a resistência da cutícula (Golebiowski et al. 2008).

Dentro do gênero *Spodoptera*, a espécie *S. cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae) possui uma composição cuticular com alta porcentagem de vitamina E (70,86%), baixa porcentagem de hidrocarbonetos (20,5%) e ausência ou insuficiência de extratos cuticulares, o que dificulta a penetração de *M. rileyi* (Fronza et al. 2013). Levando em consideração a composição cuticular dessa espécie, talvez esse fato também ocorra com *S. frugiperda* dificultando ou retardando a penetração desse hospedeiro, pois aos 14 e 21 DAP a redução das lagartas se manteve 60%, sugerindo que o fungo após degradar a cutícula foi capaz de penetrar sobre o tegumento dos insetos. 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 enzimática ligada a penetração do fungo pode variar em função de cada espécie de fungo e em função de cada isolado.

Ocorreu redução de 36,4% de lagartas após 7 DAP para o tratamento com o bioinseticida Xentari®. Truzzi et al. (2017) testando o mesmo bioinseticida para lagartas no 2º instar de *S. frugiperda* em condições de laboratório, verificaram que após 7 DAP a concentração letal de 90% (CL₉₀) causou mortalidade de 98%, enquanto a menor concentração provocou 14% de mortalidade. Habib e Andrade (1998) verificaram que a bactéria produz inclusões proteicas cristalinas que agem inicialmente sobre o epitélio intestinal médio levando ao desequilíbrio osmótico resultando na interrupção da alimentação e posteriormente, paralisia do intestino, causando a morte do inseto. Um fato a ser considerado no presente trabalho é que, possivelmente, não ocorreu interação no epitélio intestinal para esta população de *S. frugiperda*.

O bioinseticida *Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrovirus* (HearNPV) (Diplomata®) foi desenvolvido para o controle de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), esta especificidade sugere que o baixo índice de controle para estes tratamentos pode estar ligado a espécie de ocorrência na cultura, apesar da *S. frugiperda* pertencer à família dos noctuídeos não houve efetividade no controle. A exposição das partículas virais aos raios UV degrada a capa proteica, segundo Mehrvar et al (2008) a atividade viral dos isolados de HearNPV diminuiu à medida que se eleva as doses de exposição solar. A ocorrência de altos índices pluviométricos seguidos de altas temperaturas (Fig. 1) pode ter reduzido à ação deste bioinseticida.

No segundo ensaio, decorridos 14 DAP, após duas pulverizações dos tratamentos, houve redução significativa na quantidade de insetos presentes para o tratamento *Metarhizium rileyi* (2 pv), corroborando com os resultados observados por Tigano-Milani et al. (1995), em cultivo de milho, onde constataram alta densidade populacional de *S. frugiperda* e a incidência de *M. rileyi*, no controle destas lagartas.

O número de insetos não foi reduzido após três pulverizações do fungo, constatando baixa mortalidade de lagartas. No período desta pulverização a cultura estava formando as estruturas reprodutivas, gerando a hipótese de que as lagartas estariam alimentando-se das partes reprodutivas das plantas, interferindo na ação do fungo pela dificuldade em atingir o alvo. O modo de infecção dos fungos é pelo contato direto através das aberturas laterais do tegumento, e envolve os processos de adesão, germinação e penetração do patógeno a cutícula do inseto, ultrapassando barreiras físicas e químicas (St. Leger e Wang 2010; Wang e Feng 2014).

A ligação da toxina Bt ao receptor (BBMV - brush border membrane vesicles) é um processo que ocorre em duas etapas que envolve primeiramente o reconhecimento de um receptor, onde mesmo havendo a ligação toxina não é o suficiente para que seja tóxica ao inseto, e posteriormente a associação irreversível com a membrana, onde haverá a inserção da toxina

e conseqüentemente o desenvolvimento da doença (Luo et al. 1999). Neste contexto, sugere-se que a ingestão da toxina pelo inseto possa não ter ocasionado a morte pela possível ausência da segunda etapa da ligação, onde há a inserção da toxina responsável pelo desenvolvimento da doença.

A imunidade inata de lagartas por possuir plasmatócitos capazes de formar uma massa de cápsulas em torno de corpos estranhos e hemócitos granulares fagocitam patógenos estranhos, este sistema imune dificulta a entrada de patógenos como, fungos, bactérias e vírus no sistema da lagarta (Ribeiro e Brehélin 2006; Wang et al. 2013). Sugere-se que este fato pode ter ocorrido no presente trabalho após três pulverizações.

A baixa ocorrência de precipitação pluviométrica após o mês de março (362mm) e 46 mm em abril podem ter influenciado negativamente na ação dos entomopatógenos, por ser considerada muito baixa, podendo ter interferido na infecção dos entomopatógenos (Figura 1). De acordo com Fransen (1990), aumentos na incidência dos fungos dependem de períodos extensos de alta umidade e temperaturas adequadas para induzir a fase de esporulação do fungo no corpo do inseto; ainda, para causar epizootias, os conídios precisam ser disseminados pela chuva para atingir os indivíduos sadios.

A rápida perda de viabilidade das estruturas infectivas pela radiação ultravioleta tem sido referida como um dos fatores capazes de reduzir a eficiência dos entomopatógenos no controle de pragas. Braga et al. (2001) relataram que a radiação ultravioleta (UVB) reduziu fortemente a viabilidade e desenvolvimento de conídios de trinta isolados de *Metarhizium spp.* O efeito foi proporcional ao tempo de exposição e intensidade da radiação, sendo que a exposição direta por poucas horas aos níveis de radiação que ocorrem naturalmente ao longo das estações do ano inativam a maioria dos conídios dos isolados, assim como a temperatura alta é outro fator muito importante.

Outros fatores que devem ser considerados para a baixa eficiência dos entomopatógenos: baixa permanência no campo, influência das condições climáticas na eficácia do bioinseticida, vulnerabilidade à inibição da alimentação antes da ingestão da dose letal (Polanczyk et al. 2008). Aliado a esses fatores, segundo Schmutterer (1990), os insetos são capazes de diferenciar as partes tratadas e não tratadas, evidenciando que a pulverização deve ser cuidadosamente realizada em alto volume e uma uniforme distribuição da calda sobre as folhas, aumentando a chance de infecção pelos bioinseticidas.

A presente pesquisa demonstra a necessidade de mais estudos em condições de campo observando a arquitetura da planta de milho, que cresce verticalmente, e havendo necessidade deve-se realizar aplicações semanais do bioinseticida, do mesmo modo que é feito com os inseticidas. Insetos desfolhadores não consomem folhas mais velhas, e, dependendo da precipitação e luz solar, a cada semana têm-se folhas novas no cartucho das plantas. Estas folhas não possuem o produto que foi pulverizado anteriormente (Cruz 2012).

Deve-se considerar avaliar diferentes variáveis como dosagens, número de aplicações, intervalos de aplicações, bioinseticidas que comprovem a efetividade dos entomopatógenos sob uma maior pressão populacional da praga para poder utilizá-los como uma alternativa aos inseticidas sintéticos, em programas de manejo integrado de pragas.

5. CONCLUSÃO

Nas condições testadas neste trabalho, com uma pulverização, apenas o inseticida químico Exalt[®] proporcionou maior efetividade no controle de lagartas em relação a testemunha e aos demais tratamentos com bioinseticidas.

Com duas pulverizações dos bioinseticidas, o tratamento com o fungo *Metarhizium riley* (*Mr*) destacou-se, sendo o mais eficiente no controle de lagartas.

Após três pulverizações dos bioinseticidas, não observou-se resultados significativos para o controle de lagartas com a utilização de entomopatógenos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves SB, Lopes RB (2008) Controle microbiano de pragas na América Latina. FEALQ, Piracicaba, São Paulo.
- Bernardi O, Bernardi D, Horikoshi R, Omoto C (2016) Manejo da Resistência de Insetos a Plantas BT. PROMIP Holding S.A., Engenheiro Coelho, São Paulo 45 pp.
- Braga GUL, Flint SD, Miller CD, Anderson AJ, Roberts DW (2001) Variability in response to UV-B among species and strains of *Metarhizium* isolated from sites at latitudes from 61°N to 54°S. *Journal of Invertebrate Pathology*, San Diego 78 (2): 98-108.
- Boiça Júnior AL, Bottega DB, Souza BHS, Rodrigues NEL, Michelin V (2015) Determinação dos tipos de resistência a *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja. *Semina: Ciências* 36: 607-618.
- Carballo CRR, Rubio MV (2012) Efecto antialimentario de aceites esenciales de plantas aromáticas sobre *Heliothis virescens* y *Spodoptera frugiperda*. *Fitosanidad* 16: 155-159.
- Chaudhari CS, Chandele AG, Pokharkar DS, Dethe MD, Firake DM (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.
- Costa VHD, Soares AM, Rodriguez FAD, Zanuncio JC, Silva IM, Valicente FH (2015) *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. *Florida Entomologist* 980 (2): 796-798.
- Cruz I (2012) A cultura do milho. Manejo de Pragas da Cultura do Milho. Cap.12, p. 303-362.
- Cruz JC, Karam D, Monteiro MAR, Magalhães PC (2008) A cultura do milho. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, 517 pp.
- Czepak C, Albernaz KC, Oliveira TC, Guimarães HO, Ordones FB, Nunes MLS (2014) Mudança de Hábitos. *Cultivar Grandes Culturas* 176: 04-11.

- 296 Fransen JJ (1990) Natural enemies of whiteflies: fungi, p. 187-210. In: Gerling D (Ed).
 297 Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Andover, Intercept. 348 pp.
- 298 Fronza E (2013) Virulência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson e sua relação com a estrutura
 299 e composição cuticular de larvas de lepidópteros-praga. Tese Doutorado em Biotecnologia
 300 Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, 93 pp.
- 301 Guo L, Blonquist GJ (1991) Identification, accumulation, and biosynthesis of the cuticular
 302 hydrocarbons of the Southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera:
 303 Noctuidae). Archives of insect Biochemistry and Physiology 16 (1): 19-30.
- 304 Habib MEM, Andrade CFS (1998) Bactérias entomopatogênicas. In: Alves SB, Controle
 305 Microbiano de Insetos. Piracicaba, São Paulo, FEALQ 2: 383-446.
- 306 Kepler RM, Humber RA, Bischoff JF, Rehner SA (2014) Clarification of generic and species
 307 boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. *Mycologia*.
 308 106: 464-480.
- 309 Loureiro ES, Batista Filho A, Almeida JEM, Pessoa LGA (2005) Produção de isolados de
 310 *Metarhizium anisopliae*, selecionados para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854).
 311 Arquivos do Instituto Biológico 72: 469-472.
- 312 Luo K, Banks D, Adang MJ (1999) Toxicity, Binding, and Permeability Analyses of Four
 313 *Bacillus thuringiensis* Cry1 d-Endotoxins Using Brush Border Membrane Vesicles of
 314 *Spodoptera exigua* and *Spodoptera frugiperda*. Applied and Environmental Microbiology 65:
 315 457-464.
- 316 Mehrvar A, Rabindra RJ, Veenakumari K, Narabanchi GB (2008) Molecular and biological
 317 characteristics of some geographic isolates of nucleopolyhedrovirus of *Helicoverpa armigera*
 318 (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Entomological Society of Iran 28: 39-60.
- 319 Melatti V, Batista A, Demo C, Praça L, Brod C, Monnerat RG (2005) Determinação e
 320 Susceptibilidade de *Spodoptera frugiperda* a Diferentes Subespécies de *Bacillus thuringiensis*.

- 321 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, Distrito Federal, Boletim de Pesquisa
322 e Desenvolvimento 14 pp.
- 323 Polanczyk RA; Vallicente FH; Barreto MR (2008) Utilização de *Bacillus thuringiensis* no
324 controle de pragas agrícolas na América do Sul. In: Alves, S.B.; Lopes, R.B. Controle
325 Microbiano de Pragas na América Latina: Avanços e Desafios. São Paulo: Editora FEALQ,
326 111-136.
- 327 Poletti M, Alves EB (2013) Resistência de mosca branca a inseticidas. Informativo do IRAC-
328 Comitê Brasileiro de ação a resistência a inseticidas. Mogi Mirim, São Paulo.
- 329 Ribeiro C, Brehélin M (2006) Insect haemocytes: what type of cell is that? J Insect Physiol,
330 52:417-29.
- 331 Ribeiro PC, Pavan LA, Alvarenga NA, Manzoni CG, Santos AS, Rosseto J, Harter WR (2008)
332 Exalt[®] (spinetoram) no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo
333 de milho. XXII Congresso Brasileiro de Entomologia, Uberlândia, Minas Gerais.
- 334 Schmutterer, H (1990) Properties and potential of natural pesticides from the neem tree,
335 *Azadirachta indica*. Annual Review of Entomology, Palo Alto, v.35, p.271-297, Disponível
336 em:
337 <<http://arjournals.annualreviews.org/doi/abs/10.1146%2Fannurev.en.35.010190.001415>>.
338 Doi: 10.1146/annurev.en.35.010190.001415.
- 339 Simonato J, Grigolli JFJ, Oliveira HN (2013) Controle Biológico de Insetos-Praga na Soja. In:
340 Lourenção ALF, Grigolli JFJ, Melotto AM, Pitol C, Gitti DC, Roscoe R Tecnologia e Produção:
341 Soja 2013/2014 08: 178-193.
- 342 Sosa-Gómez DR, Corrêa-Ferreira BS, Hoffmann-Campo CB, Corso IC, Oliveira LJ, Ocardi
343 F, Panizzi AR, Bueno AF, Hirose E (2010) Manual de identificação de insetos e outros
344 invertebrados da cultura da soja, Embrapa, Londrina, Paraná, 90 pp.

- 345 St. Leger RJ, Wang CS (2010) Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve
346 greater efficacy against insect pests. *Appl Microbiol Biotechnol* 85: 901–907.
- 347 Sujii ER, Pires CSS, Schmidt FGV, Alves RT, Faria MR (2002) Metodologia de Amostragem
348 de Ninfas e Avaliação Preliminar de Fungos Entomopatogênicos contra a Mosca Branca no
349 Meloeiro. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 27: 13 pp.
- 350 Tigano-Milani MS, Faria MR, Lecuona RE, Sartori MR, Arima EY, Diaz BM (1995) Análise
351 de patogenicidade e germinação do fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson isolado no Distrito
352 Federal. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 24 (1): 53-60.
- 353 Tonquelski GV, Martins GLM (2007) Eficiência de Inseticidas Sobre *Spodoptera frugiperda*
354 (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) Em Milho Na Região Dos Chapadões. *Revista*
355 *Brasileira de Milho e Sorgo* 6 (1): 26-39.
- 356 Toscano LC, Calado Filho GC, Cardoso AM, Maruyama WI, Tomquelski GV (2012) Impacto
357 de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais
358 em milho safrinha cultivado em Cassilândia e Chapadão do Sul. *Arquivos do Instituto Biológico*
359 79 (2): 223-231.
- 360 Truzzi CC, Vieira NFA, Lemes AF, Vacari AM, De Bortoli AS (2017) Concentração letal do
361 inseticida biológico Xentari® para *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) Lepidoptera:
362 Noctuidae). *Anais do XV SINCOBIOL*, Ribeirão Preto, São Paulo.
- 363 Valicente FH (2015) Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. Circular Técnica n° 208,
364 Sete Lagoas, Minas Gerais, 13pp.
- 365 Wang C, Feng MG (2014) Advances in fundamental and applied studies in china of fungal
366 biocontrol agents for use against arthropod pests. *Biol Control* 68:129-135.
- 367 Wang Q, Liu Y, He HJ, Zhao XF, & Wang JX (2010) Immune responses of *Helicoverpa*
368 *armigera* to different kinds of pathogens. *BMC immunology*, 11(1): 9.

369 Xiong Q, Xie Y, Zhu Y, Xue J, Li J, Fan ER (2013) Morphological and ultrastructural
370 characterization of *Carposina sasakii* larvae (Lepidoptera: Carposinidae) infected by *Beauveria*
371 *bassiana* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae). Micron. 44: 303-311.

372 Zhang S, Wu F, Li Z, Lu Z, Zhang X, Zhang Q, Liu X (2015) Effects of Nucleopolyhedrovirus
373 Infection on the Development of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and
374 Expression of Its 20- Hydroxyecdysone- and Juvenile Hormone- Related Genes. Florida
375 Entomologist. 98 (2): 682-689.

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392

393 **Tabela 1 Média do número de lagartas vivas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) encontrado por parcela de milho,**
 394 **previamente e aos 7, 14, 21 e 28 dias após 1 pulverização (DAP). Chapadão do Sul-MS, 2017**

TRATAMENTOS	Prévia (19/fev)	7 dias (26/fev)	% Red	14 dias (05/mar)	% Red	21 dias (12/mar)	% Red	28 dias (19/mar)	% Red
Testemunha	2,75 ± 0,15 a	4,00 ± 0,26 a	-	2,25 ± 0,24 a	-	3,00 ± 0,18 a	-	3,00 ± 0,39 a	-
Exalt® (espinosinas: espinosade)	3,25 ± 0,27 a	0,25 ± 0,08 b	92,3	1,25 ± 0,08 a	61,5	3,00 ± 0,26 a	7,7	3,50 ± 0,42 a	-
<i>Metharizium rileyi</i>	2,50 ± 0,20 a	2,25 ± 0,15 a	10,0	1,00 ± 0,13 a	60,0	1,00 ± 0,13 a	60,0	3,75 ± 0,45 a	-
<i>Bacillus thuringiensis</i>	2,75 ± 0,15 a	1,75 ± 0,15 a	36,4	1,75 ± 0,08 a	36,4	1,50 ± 0,20 a	45,4	3,50 ± 0,52 a	-
<i>Helicoverpa armigera</i> Nucleopolyhedrovirus	3,50 ± 0,27 a	2,50 ± 0,27 a	28,6	2,75 ± 0,08 a	21,4	2,25 ± 0,15 a	35,7	3,25 ± 0,15 a	7,1
CV (%)	18,73	20,41	-	18,82	-	19,49		31,59	-

395 *Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-Nott ao nível de 5% de probabilidade.

396 A interação foi NS

397 % Red= porcentagem de redução

398 **Tabela 2 Média de lagartas vivas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por parcela, em milho, após 2 e 3 pulverizações dos**
 399 **tratamentos. Chapadão do Sul-MS, 2017**

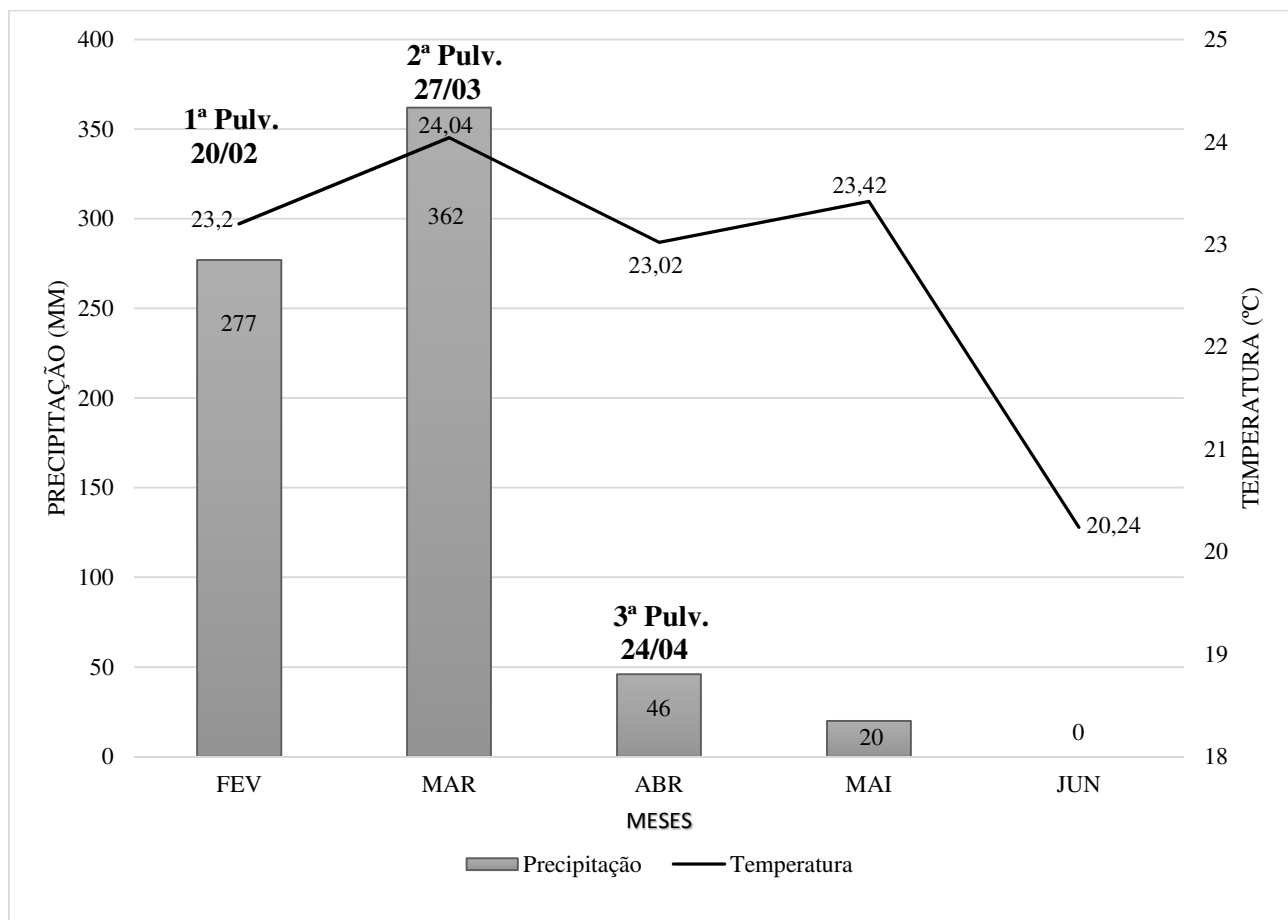
TRATAMENTOS		Prévia	7 DAP	14 DAP	21 DAP
Testemunha	2 pv	3,00 ± 0,39 a	2,50 ± 0,09 a	2,50 ± 0,09 a	3,25 ± 0,08 a
	3 pv	4,50 ± 0,20 a	2,75 ± 0,20 a	2,00 ± 0,13 a	4,50 ± 0,20 a
<i>Metharizium rileyi</i>	2 pv	3,75 ± 0,38 a	1,50 ± 0,20 a	0,75 ± 0,15 b	2,00 ± 0,13 a
	3 pv	4,50 ± 0,45 a	1,25 ± 0,13 a	2,25 ± 0,15 a	2,50 ± 0,08 a
<i>Bacillus thuringiensis</i>	2 pv	3,50 ± 0,52 a	2,75 ± 0,24 a	2,75 ± 0,24 a	3,00 ± 0,08 a
	3 pv	2,25 ± 0,27 a	2,00 ± 0,20 a	1,75 ± 0,09 a	2,25 ± 0,15 a
<i>Helicoverpa armigera</i> Nucleopolyhedrovirus	2 pv	3,25 ± 0,15 a	2,25 ± 0,09 a	2,25 ± 0,09 a	2,50 ± 0,09 a
	3 pv	4,00 ± 0,22 a	2,00 ± 0,15 a	2,00 ± 0,20 a	2,00 ± 0,20 a
CV %		31,59	20,41	18,82	19,49

400 *Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott Nott ao nível de 5% de probabilidade.

401 A interação foi NS

402 pv = pulverização.

403 **Fig. 1 Temperatura média (°C) e precipitação pluviométrica (mm), registradas pela**
404 **Fundação Chapadão, durante a condução do ensaio. Chapadão do Sul-MS, 2017**



Normas Revista BioControl

SCOPE

BioControl is the official journal of the International Organization for Biological Control (IOBC). It includes original papers on basic and applied research in all aspects of biological control of invertebrate or vertebrate pests, diseases, and weeds. Subject areas covered in BioControl comprise biology and ecology of organisms for biological control, and various facets of their use including any biological means of control for integrated pest management (IPM) such as plant resistance, pheromones and intercropping.

Papers presenting only laboratory trials on non-target effects of pesticides on natural enemies are not considered but papers dealing with the corresponding effects on community dynamics of natural enemies are welcomed.

Developments in molecular biology and biotechnology that have direct relevance to biological control will also be considered for publication. Organisms covered by BioControl include parasitoids, invertebrate and vertebrate predators of pest animals and plants, mites, plant and insect pathogens, nematodes, and weeds.

ARTICLE TYPES

Original articles are full length papers describing original research or a novel hypothesis. A concise presentation is encouraged; the paper should not exceed 25 pages of double-spaced typed text (including abstract, tables, figures and references). One double-spaced typed page contains approximately 300-350 words.

Forum papers aim to stimulate discussion and debate, particularly by presenting new ideas and by suggesting alternative interpretations to the more formal articles published in BioControl and elsewhere.

Reviews are normally by invitation from the Editor-in-Chief, or by an Associate Editor. However, authors are encouraged to submit a tentative title and a table of contents of a proposed review for consideration. These reviews should not exceed 40 pages of double-spaced typed text (including abstract, tables, figures and references).

Letters to the Editor usually on matters of general concern to biocontrol research, are welcome but should not exceed 4 typed pages. Examples of topics for such letters include solutions to long-standing problems, exposure of significant contradictions, responses to a hypothesis or other letters to the editors published in BioControl. The decision to publish submitted letters resides with the Editor-in-Chief.

MANUSCRIPT SUBMISSION

Language

Manuscripts should be written in clear, concise, and grammatically correct English. British or American English spelling and terminology should be used, but either one should be followed consistently throughout the article. If English is not your native language we strongly urge you to have the text of your paper checked by a native English speaker before submission. Manuscripts that are inadequately prepared will not be considered for publication and will be returned to the authors.

MANUSCRIPT PREPARATION

BioControl adheres to a policy of blinded reviewing, in which the identity of the authors is, as much as possible, kept from reviewers. Similarly, reviewers' names are kept confidential. Authors are therefore encouraged to avoid explicit disclosure of their identity in the text of their manuscript, as for example, by use of a header. In some cases the Editor-in-Chief may decide that direct discussion between author(s) and reviewer(s) would be helpful, but names are never disclosed without explicit permission.

Blind title page A page giving only the title without the authors' names should be provided for use in the (double blind) review process. Do not include author(s) name(s) in the text or page header.

Abstract

Please provide an abstract of 100 to 150 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text

Please double-space all material, including notes and references. All pages should be numbered consecutively, and lines should also be numbered within each page.

Main text should contain (1) an INTRODUCTION summarizing the background and aims and ending with a very brief statement of what has been achieved by the work; (2) a MATERIAL AND METHODS section containing sufficient detail so that all procedures can be repeated (in conjunction with cited references); (3) a RESULTS section presenting results without extended lines of inference, arguments or speculations; (4) a DISCUSSION section interpreting the results and explaining the importance and relevance of the research.

Text formatting

- Use a normal, plain font (e.g., 12 points Times Roman) for text.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.

Note: If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use MathType instead.

Save your file in two formats: doc and rtf. Do not submit docx files.

Heading levels

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter. Alternatively, they can be collected in a separate list following the Keywords.

SI units, numbers

Please always use internationally accepted signs and symbols for units, SI units.

Nomenclature

Authors should adhere to the rules governing biological nomenclature, as laid down in the International Code of Botanical Nomenclature, the International Code of Nomenclature of Bacteria, and the International Code of Zoological Nomenclature. All biotica (crops, plants, insects, birds, mammals, etc.) should be identified by their scientific names including authors (and Order: Family, when appropriate) when the English term is first used in the main text, with the exception of common domestic plants and animals.

Please relate to scientific names as follows:

- a) In the TITLE only give the Latin name but NO authority or (Order: Family)

- b) In the ABSTRACT all Latin names should be accompanied with the correct authority and if applicable with (Order: Family)
- c) In addition, at the FIRST MENTION in the body of the text - and only then - these data should be given
- d) The order, family of the most important organisms in the paper (e.g., those referred to in the title), should also go in the KEYWORDS list. Please give full genus and species names again, anywhere in the text where there is likely to be ambiguity.

Footnotes

Footnotes on the title page are not given reference symbols. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data).

References

The list of References should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list. References in English available at the international level should be preferred and authors are encouraged to cite references of works published in previous issues of BioControl.

Citation in text

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted (Becker and Seligman 1996).

- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998, Medvec et al. 1993).

List style

Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

Journal article

Smith J, Jones M Jr, Houghton L (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329.

Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London.

Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York.

Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086.

Online document

Doe J (1999) Title of subordinate document. In: *The dictionary of substances and their effects*. Royal Society of Chemistry. Available via DIALOG. <http://www.rsc.org/dose/title> of subordinate document. Cited 15 Jan 1999.

Always use the standard abbreviation of a journal name according to the ISSN List of Title Word

Abbreviations, see <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of intext citations and reference list.

Endnote Style

ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

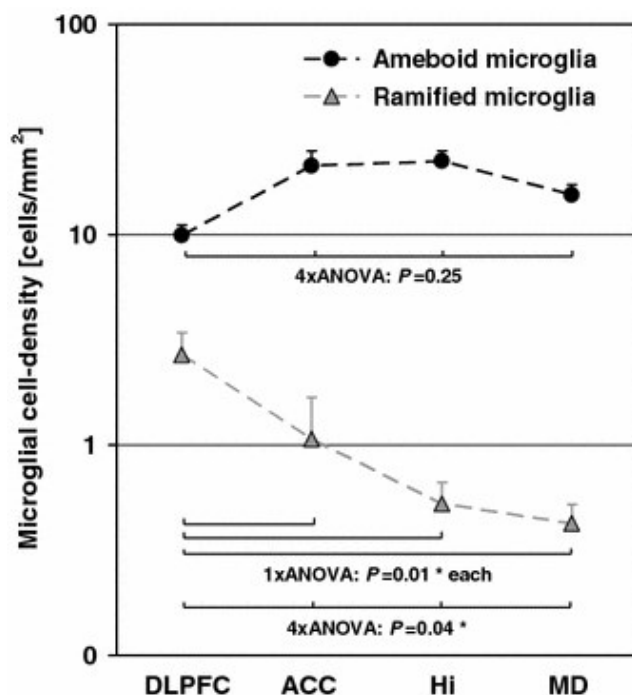
Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art



Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

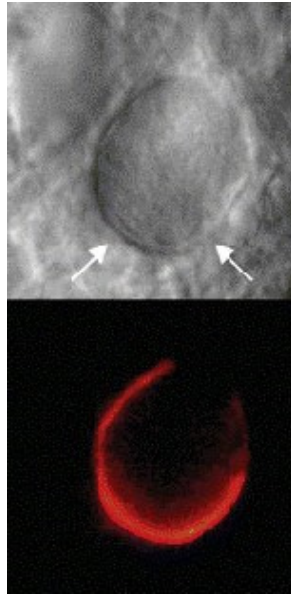
Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art

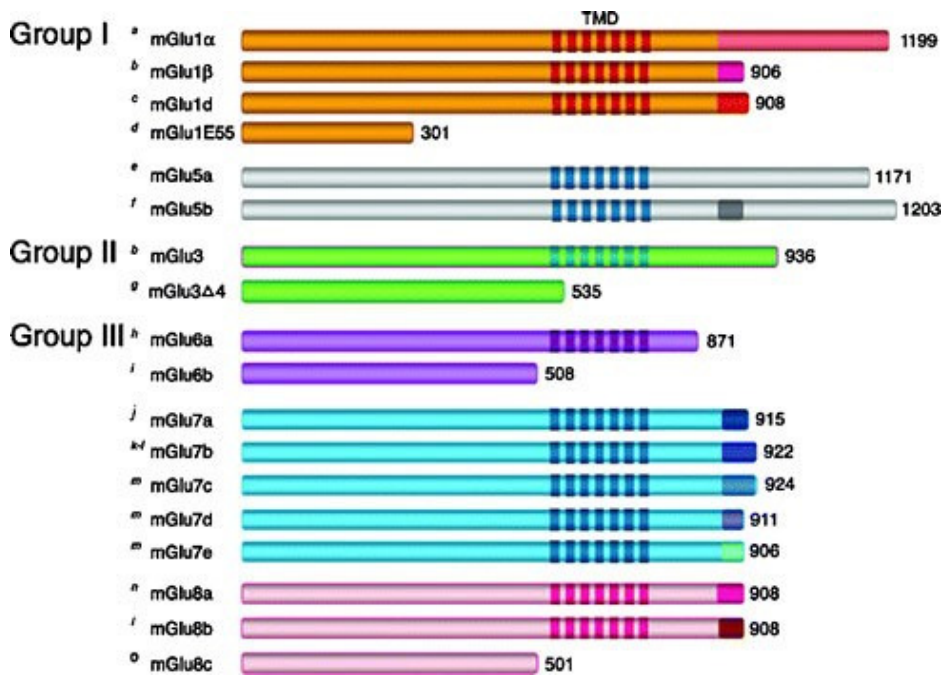
Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



Combination Art



Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions. Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,

"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file. Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.

Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.

For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner (s) for both the print and online format. Please be aware that some

publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that.

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware).

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information

(Colorblind users would then be able to distinguish the visual elements) Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1. TABLES, FIGURES, ETC.

- Tables should appear each on separate sheets after the list of references.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table title. The table title should explain clearly and concisely the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table heading.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Figures

- Figures should appear each on separate sheets after the list of references, after tables. All captions should be grouped on a separate sheet before figures.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters.

- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each figure, please supply a figure caption.
- Make sure to identify all elements found in the figure in the caption.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the caption.

For more information about preparing your illustrations, please follow the hyperlink to the artwork instructions on the right.

Authors biography

To be submitted along with the manuscript (in a separate file) and preferably no longer than 100 words.

Authors are invited to include a brief Authors Biography, which will appear after the References section. This is not mandatory. This provides an opportunity to present brief details of the authors and the overall research projects within which the published work has been carried out. The authors biography is not intended to replace standard acknowledgments, but rather to provide readers with an outline of the structure and objectives of the research teams, or groups, responsible for the work. An example of such a box is:

This research is part of a PhD project of Kim Surther devoted to the analysis of the host specificity of different *Trichogramma* species against the European corn borer *Ostrinia nubilalis*.

Dr Susan Wardren is studying population genetics (mainly on parasitoid insects). Dr. Ted Fitzmeiter is involved in developing field experiments for testing the efficiency of potential biological control programmes. On particular interest is the analysis of inter-specific variation

in insect parasitoids for finding efficient biocontrol agents. This work was carried out in the Ecology of Parasitoids group (lead by Franck Vernont) at INRA, Sophia Antipolis, France.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be submitted in a separate file. The names of funding organizations should be written in full.

Statistics

Correct and accurate statistical methods should be used to analyze data presented in the manuscript, and especially for non-Gaussian traits. Generalized Linear Model (GLM) should always be preferred over data transformation or non-parametric procedures (for counts, percentages & time durations, at least). Standard errors (SE) have always to be indicated in the text, tables and figures (including for simple percentages). If needed, authors are strongly invited to take advice from a Statistician. Correspondingly, manuscripts judged to be based on inadequate or inaccurate statistical methods will be rejected without the possibility of resubmission.

ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation can be achieved by following the rules of good scientific practice, which include:

The manuscript has not been submitted to more than one journal for simultaneous consideration.

The manuscript has not been published previously (partly or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work (please provide transparency on the re-use of material to avoid the hint of text-recycling (“self-plagiarism”).

A single study is not split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (e.g. “salami-publishing”).

No data have been fabricated or manipulated (including images) to support your conclusions.

No data, text, or theories by others are presented as if they were the author’s own (“plagiarism”).

Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks are used for verbatim copying of material, and permissions are secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

Consent to submit has been received explicitly from all co-authors, as well as from the responsible authorities - tacitly or explicitly - at the institute/organization where the work has been carried out, before the work is submitted.

Authors whose names appear on the submission have contributed sufficiently to the scientific work and therefore share collective responsibility and accountability for the results.

Authors are strongly advised to ensure the correct author group, corresponding author, and order of authors at submission. Changes of authorship or in the order of authors are not accepted after acceptance of a manuscript.

Adding and/or deleting authors and/or changing the order of authors at revision stage may be justifiably warranted. A letter must accompany the revised manuscript to explain the reason for the change (s) and the contribution role (s) of the added and/or deleted author(s). Further documentation may be required to support your request.

Requests for addition or removal of authors as a result of authorship disputes after acceptance are honored after formal notification by the institute or independent body and/or when there is agreement between all authors.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential proprietary data is excluded.

If there is a suspicion of misconduct, the journal will carry out an investigation following the COPE guidelines. If, after investigation, the allegation seems to raise valid concerns, the accused author will be contacted and given an opportunity to address the issue. If misconduct has been established beyond reasonable doubt, this may result in the Editor-in-Chief's implementation of the following measures, including, but not limited to:

If the article is still under consideration, it may be rejected and returned to the author. If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction, either an erratum will be placed with the article or in severe cases complete retraction of the article will occur. The reason must be given in the published erratum or retraction note. Please note that retraction means that the paper is maintained on the platform, watermarked "retracted" and explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article. The author's institution may be informed.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” when submitting a paper:

Disclosure of potential conflicts of interest Research involving Human Participants and/or Animals Informed consent Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the abovementioned guidelines.

DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST

Authors must disclose all relationships or interests that could influence or bias the work. Although an author may not feel there are conflicts, disclosure of relationships and interests affords a more transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of real or perceived conflicts of interests is a perspective to which the readers are entitled and is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests that are directly or indirectly related to the research may include but are not limited to the following:

Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)

Honoraria for speaking at symposia

Financial support for attending symposia

Financial support for educational programs

Employment or consultation

Support from a project sponsor

Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships

Multiple affiliations

Financial relationships, for example equity ownership or investment interest

Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights) Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found here:

The corresponding author will include a summary statement on the title page that is separate from their manuscript, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

See below examples of disclosures:

Funding: This study was funded by X (grant number X).

Conflict of Interest: Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

RESEARCH DATA POLICY

The journal encourages authors, where possible and applicable, to deposit data that support the findings of their research in a public repository. Authors and editors who do not have a preferred repository should consult Springer Nature's list of repositories and research data policy.

List of Repositories

Research Data Policy

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may also be used.

Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

DataCite

Springer Nature provides a research data policy support service for authors and editors, which can be contacted at researchdata@springernature.com.

This service provides advice on research data policy compliance and on finding research data repositories. It is independent of journal, book and conference proceedings editorial offices and does not advise on specific manuscripts.

Helpdesk

AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

OPEN CHOICE

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.

Open Choice

Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author (s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Find more about the license agreement

ENGLISH LANGUAGE EDITING

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.

Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.

Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts.

Springer authors are entitled to a 10% discount on their first submission to either of these services, simply follow the links below.

English language tutorial

Nature Research Editing Service

American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.