



Universidade Federal de São Carlos
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Curso de Engenharia Agrônoma



KELVIN LUAN SOARES COSTA

VIRULÊNCIA DE *Cordyceps javanica* A LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

ARARAS - 2023



Universidade Federal de São Carlos
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
Curso de Engenharia Agrônoma



KELVIN LUAN SOARES COSTA

VIRULÊNCIA DE *Cordyceps javanica* A LAGARTAS DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) SOB CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia Agrônoma – CCA – UFSCar para a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Neves Marques.

ARARAS – 2023

Costa, Kelvin Luan Soares da

Virulência de *Cordyceps javanica* a lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) sob condições de laboratório / Kelvin Luan Soares da Costa -- 2023.

49f.

TCC (Graduação) - Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador (a): Rodrigo Neves Marques

Banca Examinadora: Rodrigo Neves Marques,

Alessandra dos Santos Penha, Ruana Regina Negrão de Souza

Bibliografia

1. Manejo integrado de pragas. 2. Fungos entomopatogênicos. 3. Lagarta-do-cartucho-do-milho. I. Costa, Kelvin Luan Soares da. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Helena Sachi do Amaral - CRB/8
7083

Dedico este trabalho ao meus pais, Espedito e Antonia, e minha irmã Francisca, pelo apoio e amor incondicional, tenho certeza de que sem vocês não conseguiria chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de me tornar engenheiro agrônomo e pela força para superar cenário tão antagônico como o da pandemia.

A minha família, meus pais, Antonia Francisca Soares Costa (*in memoriam*) e Espedito Verissimo da Costa, e minha irmã Francisca Samila Soares Costa, por todo o amor incondicional e suporte para atingir meus objetivos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo Neves Marques, que sempre foi acessível, compreensível e um excelente profissional, contribuindo de forma significativa na minha curva de aprendizagem.

Aos meus amigos da turma XXVI, pela amizade e colaboração.

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos, especialmente o Centro de Ciências Agrárias, a todo corpo docente, equipe de assistência social, limpeza e cozinha, que me deram a estrutura necessária para que pudesse me dedicar ao curso.

A Embrapa – Meio Ambiente, pela oportunidade, apoio na realização e condução dos experimentos.

“O progresso humano autêntico possui um caráter moral e pressupõe o pleno respeito pela pessoa humana, mas deve prestar atenção também ao mundo natural e ter em conta a natureza de cada ser e as ligações mútuas entre todos, num sistema ordenado”

Papa Francisco

RESUMO

Spodoptera frugiperda é considerada uma das principais pragas em diversas culturas de interesse econômico, como milho, soja, algodão e arroz, tais características de polifagia e de fácil dispersão fazem com que seja cada vez maior a preocupação desta praga em diversas culturas ao redor do mundo. Para o seu controle já são utilizadas diversas estratégias, como controle químico, varietal e biológico, entretanto, devido ao uso inadequado dos químicos e do uso de variedades transgênicas sem áreas de refúgio, ocorreu um aumento da pressão de seleção, resultando na seleção de populações resistentes. Para se obter uma forma eficiente no seu manejo integrado deve-se buscar mais mecanismos de ação para o seu controle; neste estudo foi avaliado se o isolado CG1228 do fungo entomopatogênico *Cordyceps javanica* apresenta potencial para o seu controle sendo pulverizado diretamente nas lagartas. Neste experimento foram utilizados os seguintes tratamentos: controle (água destilada + Tween 80 a 0,04%), *C. javanica* às concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 blastosporos/mL, sendo estes os tratamentos 2, 3 e 4, respectivamente. As lagartas foram mantidas com dieta natural em B.O.D sob temperatura constante de 25,5°C e fotofase de 12h, utilizando folhas de feijão da cultivar Pérola como dieta e avaliado a mortalidade no 2º, 5º, 6º, 7º e 8º dia após a pulverização, para a análise dos resultados foram utilizados o teste de Tukey a 5% de significância, de Oneillmathews a 5% de significância, análise de variância (ANOVA) e teste de Shapiro-Wilk. O segundo dia após a aplicação foi o dia com o maior número de mortes; a maior concentração apresentou o melhor resultado comparado ao controle.

Palavras-chave: controle biológico; manejo integrado de pragas; fungos entomopatogênicos; lagarta-do-cartucho; dieta natural.

VIRULENCE OF *Cordyceps javanica* TO CATERPILLARS OF *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) UNDER LABORATORY CONDITIONS

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda is considered one of the main pests in several crops of economic interest such as corn, soybeans, cotton and rice. Such characteristics of polyphagia and easy distribution make it an increasing concern for this pest in several cultures around the world. Several strategies are already used for its control, such as chemical, varietal and biological control. However, due to the inappropriate use of chemicals and the use of transgenic varieties without refuge areas, there was an increase in the selection pressure evolved in the selection of resistant ones. To obtain an efficient way in its integrated management, one must seek more action buttons for its control: in this study, we evaluated if the isolate CG1228 of the entomopathogenic fungus *Cordyceps javanica* presents potential for its control being sprayed directly on the caterpillars. We used the following treatments: control (distilled water + 0.04% Tween 80), *C. javanica* at concentrations of 1×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 blastospores/mL, these being treatments 2, 3 and 4, respectively. We maintained caterpillars on a natural diet in B.O.D at a constant temperature of 25.5°C and 12h photophase, using "Pérola" cultivar bean leaves as diet and estimated mortality on the 2nd, 5th, 6th, 7th and 8th days after pulverization, for the analysis of the results, Tukey's test at 5% significance level, Oneillmathews at 5% significance level, analysis of variance (ANOVA) and Shapiro-Wilk test were used. The second day after application was the day with the highest number of deaths; the highest concentration showed the best result compared to the control.

Key-words: biological control; integrated pest management; entomopathogenic fungi; fall armyworm; natural diet.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> próximos da eclosão das larvas.	15
Figura 2. Da esquerda para a direita, lagartas de 1º, 2º, 3º, 4º e 5º instares de <i>Spodoptera frugiperda</i>	16
Figura 3. Marca semelhante à letra “Y” invertida presente na cabeça de <i>Spodoptera frugiperda</i>	17
Figura 4. Em A, pupas de <i>S. frugiperda</i> ; e em B, visão ampliada da pupa.	18
Figura 5. Mariposa de <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
Figura 6. Ciclo básico da relação patógeno-hospedeiro de fungos anamórficos, <i>Metarhizium anisopliae</i> (Hypocreales) sobre <i>Mahanarva fimbriolata</i>	24
Figura 7. Em A, copos contendo posturas das mariposas de <i>Spodoptera frugiperda</i> , e em B visão ampliada do papel contendo ovos e lagartas neonatas.....	28
Figura 8. Tubo de PVC com folha de papel no seu interior contendo mariposas de <i>Spodoptera frugiperda</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes ativos e grupos químicos dos produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para o controle de <i>Spodoptera frugiperda</i> na cultura do milho.	19
Tabela 2. Ingredientes utilizados na criação e manutenção de lagartas.....	29
Tabela 3. Média de indivíduos mortos por tratamento, na primeira repetição. Abril de 2022, Jaguariúna - SP.....	34
Tabela 4. Média de lagartas mortas por tratamento, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna - SP.....	35
Tabela 5. Média de lagartas mortas por tratamento, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.....	35
Tabela 6. Quadro da Análise de Variância (ANOVA) do número de lagartas mortas, na primeira repetição. Abril de 2022, Jaguariúna – SP.	37
Tabela 7. Média de lagartas mortas por tratamento, na primeira repetição. Abril de 2022, Jaguariúna – SP.....	37
Tabela 8. Quadro da Análise de Variância (ANOVA) do número de lagartas mortas, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.....	38
Tabela 9. Média de mortes por tratamento, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.....	38
Tabela 10. Quadro da Análise de Variância (ANOVA) do número de lagartas mortas, na terceira repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.....	39
Tabela 11. Média de mortes por tratamento, na terceira repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.....	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Ciclo e bioecologia de <i>Spodoptera frugiperda</i>	15
2.2. Controle químico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	19
2.3. Controle biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	20
2.4. Controle com microrganismos	22
2.5. Fungos entomopagênicos.....	24
2.6. <i>Cordyceps javanica</i>	25
3. OBJETIVOS.....	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Criação e manutenção de <i>Spodoptera frugiperda</i>	28
4.2 Produção do fungo entomopatogênico <i>Cordyceps javanica</i>	31
4.3 Delineamento experimental	32
4.4 Análise dos dados.....	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho, é considerada uma praga de importância econômica em diversas culturas, como milho, soja e feijão. Além disso, diversas famílias de plantas são consideradas hospedeiras, incluindo plantas das famílias Amaranthaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae (BUENO *et al.*, 2011; HARDKE *et al.*, 2015; MONTEZANO *et al.*, 2018; PITRE e HOGG, 1983).

Esta praga está amplamente distribuída pelo território brasileiro devido à sua alimentação altamente diversificada, facilidade de dispersão, alimentação disponível o ano todo devido aos cultivos sucessivos e condições climáticas favoráveis (elevadas temperaturas), além disso também é considerada uma das pragas mais importantes economicamente do mundo, gerando grande preocupação no continente americano, continente africano China e Índia. (CRUZ, 1995; PAREDES-SANCHEZ *et al.*, 2021). A elevada preocupação com a praga faz com que ocorra o aumento do uso inadequado de inseticidas químicos para o seu controle, como o uso incorreto do tipo de inseticida, aumento das doses utilizadas e frequência de aplicação por safra ou ano, podendo causar efeitos indesejados no ambiente, na saúde humana e na seleção de populações resistentes, sendo que para um controle mais sustentável, é necessário adotar práticas de manejo integrado de pragas, que incluam diversas estratégias de controle (PAREDES-SANCHEZ *et al.*, 2021).

Enquanto são lagartas, a sua alimentação constitui-se apenas das folhas, reduzindo a área foliar e interferindo de forma direta na capacidade fotossintética das plantas, na soja, a lagarta é capaz de consumir as folhas, assim como as hastes mais tenras ocasionando danos em áreas extensivos, podendo ocasionar a necessidade de replantio, em gramíneas como o milho e sorgo os danos são mais acentuados, no milho as lagartas de primeiro instar raspam as folhas, e a partir do terceiro instar as lagartas penetram o cartucho da planta e consomem diversos pontos das folhas e das espigas, sendo que a susceptibilidade da planta de milho a lagarta está relacionada ao estágio de desenvolvimento da planta, sendo o estágio de 8 a 10 folhas (aproximadamente 40 dias após emergência) o mais afetado pelo ataque (CRUZ e TURPIN, 1982; LEIDERMAN; SAUER, 1953; OLIVEIRA, 1987).

Diversos agentes demonstraram resultados satisfatórios no controle biológico

de *S. frugiperda*. No controle macrobiológico podem ser utilizadas algumas espécies da vespa parasitóide *Trichogramma* spp. e também pode ser utilizada a tesourinha *Doru luteipes*; enquanto no microbiológico, há uma extensa quantidade de microrganismos utilizados, como espécies de *Baculovirus*, a bactéria *Bacillus thuringiensis*, e o uso de diversos isolados dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (BARRETO *et al.*, 2005; FIGUEIREDO *et al.*, 2006; JIN *et al.*, 2021; POLANCZYK *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2022; THOMAZONI *et al.*, 2014).

Fungos entomopatogênicos são considerados microrganismos que possuem a capacidade de infectar e matar artrópodes, o que permite que sejam utilizados como uma alternativa segura aos inseticidas químicos (ALTAMIRA, 2020).

Cordyceps javanica é um fungo entomopatogênico que já vem sendo empregado no controle biológico de diversas espécies de pragas, como *Bemisia tabaci*, *Galleria mellonella*, *Diaphorina citri* e em diversas espécies de lepidópteros, apresentando resultados promissores sob condições de laboratório e em campo (BAJA *et al.*, 2020; MORENO-SERRANO *et al.*, 2022; WU *et al.*, 2021).

Diante do crescente aumento de preocupação com a infestação de *S. frugiperda* em várias culturas, bem como a crescente pressão de seleção de populações resistentes a inseticidas químicos e a tendência em ascensão de se adotar o controle biológico de pragas, torna-se imperativo o presente estudo para avaliar uma possível alternativa de controle sustentável, eficiente e rápido para controle dessa praga.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ciclo e bioecologia de *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho-do-milho ou lagarta-militar, é uma praga nativa das zonas tropicais e subtropicais das américas, estando distribuída desde o sul do Canadá até a Argentina. Apesar de ser encontrada com maior frequência na cultura do milho, também é encontrada em diversas outras culturas, como feijão, tomate, batata, abóbora, algodão, amendoim, couve, pastagens, dentre outras culturas (CRUZ *et al.*, 1995; LEIDERMAN; SAUER, 1953).

Trata-se de um inseto holometábolo, que passa por quatro fases distintas: ovo, larva, pupa e adulto, sendo as posturas dos ovos feitas em massas, podendo conter de 50 a 300 ovos, sendo observado um máximo de 13 posturas por fêmea (CRUZ, 1995).

Os ovos são circulares, com um diâmetro polar de 0,39 mm, possuem coloração verde-clara e, após um período de 12 a 15 horas, tornam-se alaranjados e em seguida, escurecidos quando estão próximos da eclosão, devido à coloração da cabeça da larva (Figura 1) (CRUZ, 1995).

Figura 1. Ovos de *Spodoptera frugiperda* próximos da eclosão das larvas.



Fonte: Embrapa - Clima Temperado (2012).

O período de incubação dos ovos varia de acordo com a temperatura e a umidade, sendo a temperatura o fator mais determinante para um período mais curto de incubação: os ovos eclodem em dois dias sob temperaturas de 26,7°C e sob 20°C, pode chegar até seis dias, sendo considerada a temperatura entre 27°C a 31°C a ideal para o menor número de dias para incubação (CRUZ, 1995).

O número de instares de *S. frugiperda* pode variar de cinco a sete (Figura 2), sendo que a duração em dias e o número de instares variam em função da temperatura, da disponibilidade de alimentos e da dieta (CRUZ, 1995; ROSA; BARCELOS, 2012).

Figura 2. Da esquerda para a direita, lagartas de 1º, 2º, 3º, 4º e 5º instares de *Spodoptera frugiperda*.



Fonte: Embrapa – Clima Temperado (2012).

Inicialmente, as larvas se alimentam do córion e, a partir do segundo instar, podem apresentar comportamento canibal, sendo comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho (ROSA; BARCELOS, 2012).

As larvas recém-eclodidas apresentam pelos e possuem coloração esbranquiçada antes de se alimentarem e, após se alimentarem, tornam-se esverdeadas. No primeiro instar, quando completamente desenvolvida, seu comprimento é de aproximadamente 1,9 mm e sua capsula cefálica mede 0,3 mm de largura (CRUZ, 1995).

Em seu segundo instar, sua coloração permanece esbranquiçada, mas com um sombreamento marrom no seu dorso; o comprimento do corpo varia de 3,5 a 4 mm e sua capsula cefálica mede aproximadamente 0,4 mm (CRUZ, 1995). No terceiro instar, sua cor torna-se marrom clara no dorso e esverdeada na face ventral, com linhas dorsais e subdorsais brancas visíveis a olho nu, seu comprimento pode variar de 6,3 a 6,5 mm e sua cápsula cefálica 0,7 mm (CRUZ, 1995). Em seu quarto instar, a cabeça da larva torna-se marrom-avermelhada e seu dorso, marrom-escuro; seu comprimento pode chegar a 10 mm, e sua capsula cefálica pode alcançar 1,1 mm (CRUZ, 1995). No quinto instar, as características da lagarta são semelhantes aos do

quarto instar, tornando-se de uma coloração mais escurecida, seu comprimento pode alcançar 18 mm e sua capsula cefálica, 1,8 mm (CRUZ, 1995). Em seu último instar, sua coloração fica marrom-acinzentada no dorso, esverdeada na parte ventral e subventral, suas linhas dorsais e subdorsais tornam-se proeminentes, sua cabeça tem o formato bem definido semelhante, com a presença de uma marca semelhante à letra “Y” invertida (Figura 3), seu corpo pode alcançar até 35 mm de comprimento e a largura da sua capsula cefálica pode alcançar 2,8 mm (CRUZ, 1995).

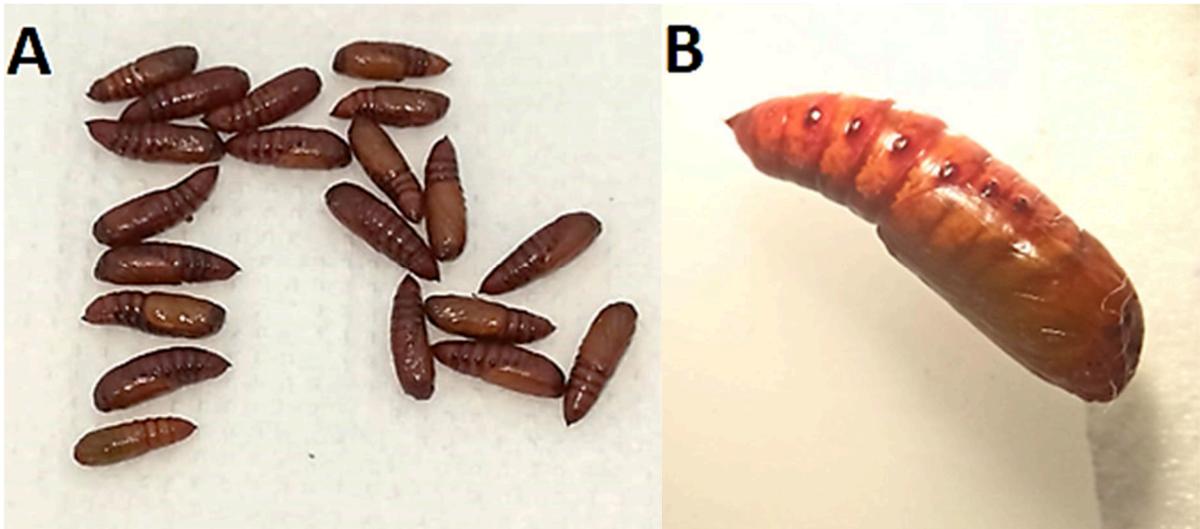
Figura 3. Marca semelhante à letra “Y” invertida presente na cabeça de *Spodoptera frugiperda*.



Fonte: Aatoria Própria.

A pupa inicialmente apresenta coloração verde-clara, com integumento transparente com as vísceras visíveis, sendo um momento de muita fragilidade a danos. Após alguns minutos, esta pupa torna-se alaranjada (Figura 4) e progressivamente vai escurecendo. As pupas, se incomodadas, são capazes de se movimentarem, seu comprimento mede entre 13 a 16 mm e podem atingir até 4,5 mm de diâmetro (CRUZ, 1995).

Figura 4. Em A, pupas de *S. frugiperda*; e em B, visão ampliada da pupa.



Fonte: Autoria própria.

Os adultos podem alcançar até 40 mm de envergadura e o comprimento do corpo, até 15 mm. Possuem coloração acinzentada-escura (Figura 5), asas posteriores de coloração clara circundadas por linhas marrons; nos machos, as asas anteriores possuem manchas mais claras (CRUZ, 1995).

Figura 5. Mariposa de *Spodoptera frugiperda*.



Fonte: Embrapa - Clima Temperado (2012).

As mariposas fazem suas posturas preferencialmente nas folhas em massas de ovos, sendo que cada massa pode conter de 50 a 300 ovos. Cada fêmea faz em média, quatro oviposições em sua vida, podendo realizar até 13 oviposições (CRUZ, 1995).

A temperatura é o principal fator que determina o ciclo de vida de *S. frugiperda*. No verão, apresentam uma média de 30 dias, enquanto em épocas mais frias do ano,

podem chegar a 50 dias. O número de gerações também pode variar, sendo que em regiões onde existem condições do inseto sobreviver o ano todo, com elevadas temperaturas e disponibilidade de alimento, pode chegar a seis ou mais (BUSATO *et al.*, 2005).

2.2. Controle químico de *Spodoptera frugiperda*

Atualmente no Brasil, existe o registro de uma grande diversidade de produtos utilizados no controle químico de *S. frugiperda* (Tabela 1), nas mais variadas culturas, que compreendem os mais diversos tipos de grupos químicos e de ingredientes ativos (AGROFIT, 2023).

Tabela 1. Ingredientes ativos e grupos químicos dos produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para o controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho.

Ingrediente Ativo (i.a)	Grupo Químico
Abamectina + Clorantraniliprole	Avermectina + Antranilamida
Acetamiprido + Fenpropatrina	Neonicotinóide + Piretroide
Acetato de (Z)-11-hexadecenila + Acetato de (Z)-7-dodecenila + (Z)-9-Tetradecenila	Acetato insaturado + Acetato insaturado
Alfa-cipermetrina	Piretróide
Azadiractina	Tetranortriterpenóide
Benzoato de Emamectina + Lufenurom	Avermectina + Benzoiluréia
Beta-ciflutrina	Piretróide
Beta-Cipermetrina	Piretróide
Bifentrina + Lufenurom	Piretróide + Benzoiluréia
Bifentrina + Metomil	Piretróide + Metilcarbamato de oxima
Bifentrina + Zeta-cipermetrina	Piretróide + Piretróide
Bistriflurom	Benzoiluréia
Ciantraniliprole	Antranilamida
Ciclaniliprole	Antranilamida
Cipermetrina	Piretróide
Cipermetrina + Profenofós	Piretróide + Organofosforado
Clorantraniliprole	Antranilamida
Clorantraniliprole + Lambda-cialotrina	Antranilamida + Piretróide
Clorfenapir	Análogo de pirazol
Clorfluazurom	Benzoiluréia
Clorpirifós	Organofosforado
Cromafenoazida	Diacilhidrazina
Deltametrina	Piretróide
Diflubenzurom	Benzoiluréia
Enxofre	Inorgânico
Esfenvalerato	Piretróide
Espinetoram	Espinosinas
Espinosade	Espinosinas
Etofenproxi	Éter difenílico

Tabela 1. Continuação.

Ingrediente Ativo (i.a)	Grupo Químico
Fenpropatrina	Piretróide
Gama-cialotrina	Piretróide
Imidacloprido + lambda-cialotrina	Neonicotinóide + Piretróide
Indoxacarbe	Oxadiazina
Lambda-cialotrina	Piretróide
Lufenurom	Benzoiluréia
Lufenurom + Tiocarbe	Benzoiluréia + Metilcarbamato de oxima
Metaflumizone	Semicarbazone
Metomil	Metilcarbamato de oxima
Metoxifenoazida	Diacilhidrazina
Novalurom	Benzoiluréia
Permetrina	Piretróide
Tebufenozida	Diacilhidrazina
Teflubenzurom	Benzoiluréia
Tiodicarbe	Metilcarbamato de oxima
Triflumurom	Benzoiluréia
Zeta-cipermetrina	Piretróide

Fonte: AGROFIT (2023).

Ao aplicar o controle químico, é importante observar vários aspectos, incluindo o uso somente quando o “nível de dano econômico” (NDE) for atingido, optando sempre por inseticidas seletivos para evitar prejudicar inimigos naturais (ROSA; BARCELOS, 2012).

Os mais diversos ingredientes ativos apresentaram bons resultados no controle da lagarta de *S. frugiperda*, como diamidas, lufenurom, clorpirifós e lambda-cialotrina (PES, 2019; TOSCANO, 2012). Apesar da grande variedade de ingredientes ativos registrados no controle químico de *S. frugiperda* devido à alta pressão de seleção exercida, já existem relatos de evolução da resistência aos grupos químicos dos piretróides (lambda-cialotrina), organofosforados (clorpirifós), benzoiluréias (lufenurom), flubendiamida (diamida do ácido ftálico) e espinosinas (espinosade) (BOLZAN, 2019; CARVALHO *et al.*, 2013; FARIAS *et al.*, 2014; NASCIMENTO *et al.*, 2015; OKUMA *et al.*, 2018; OMOTO *et al.*, 2016;).

2.3. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda*

Existem vários organismos utilizados para o controle biológico de *S. frugiperda*, incluindo insetos predadores e parasitoides, fungos entomopatogênicos, além de vírus e bactérias (CRUZ, 1995).

Doru luteipes (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae), popularmente conhecido como tesourinha, são considerados predadores naturais de ovos e de lagartas de instares iniciais de *S. frugiperda*, sendo considerado o mais importante inimigo natural na cultura do milho. Suas ninfas, sete dias após a eclosão, já são capazes de se alimentarem de ovos e lagartas pequenas de insetos (CRUZ, 1995; REIS; CRUZ, 1988).

O emprego de *D. luteipes* no controle de *S. frugiperda* acaba sendo uma alternativa de inimigo natural, devido a sua capacidade predatória, capaz de se alimentar de ovos e lagartas de até terceiro instar, consumindo uma média de 12,5 a 21 ovos e pequenas larvas de *S. frugiperda*, além de ter um ciclo de vida considerado longo, de 135 dias em média, sendo que a fase adulta pode chegar até um ano (CRUZ, 1995; REIS; CRUZ, 1988; SILVA *et al.*, 2022).

Também, indivíduos adultos de *Trichogramma* spp. são capazes de ovipositar no interior dos ovos de *S. frugiperda* e todo o desenvolvimento do parasitoide acaba ocorrendo dentro do ovo da praga, sendo possível observar o parasitismo quatro dias após a postura, uma vez que os ovos se tornam enegrecidos (CRUZ, 1995).

O ciclo de vida do parasitoide é em média de dez dias e o número de ovos depende da espécie do parasitoide, do hospedeiro e da longevidade do adulto, variando de 20 a 120 ovos por fêmea, sendo que os principais fatores que afetam a eficiência estão relacionados ao número de insetos liberados, à densidade da praga, à linhagem de *Trichogramma* liberada, época de liberação, número de liberações, método de distribuição, quantidade de inimigos naturais e condições climáticas (CRUZ, 1995).

Chelonus insularis (Cresson) (Hymenoptera, braconidae), é uma espécie comum em várias regiões do Brasil, sendo que sua fêmea é capaz de depositar seus ovos no interior dos ovos da praga, que eclodem simultaneamente aos ovos de *S. frugiperda*. No entanto, depois de completar seu desenvolvimento, o parasitoide acaba matando a larva hospedeira, perfurando seu abdômen (CRUZ, 1995).

O período médio de incubação de *C. insularis* é de 1,8 dias, sendo observado um máximo de 92,2 e um mínimo de 48,2 ovos parasitados de *S. frugiperda* quando as fêmeas de *C. insularis* estão no terceiro dia de vida, que é considerado o dia mais ativo (CRUZ, 1995).

2.4. Controle com microrganismos

Os baculovírus são vírus com DNA de dupla fita que infectam artrópodes, destacam-se por serem eficazes no controle de insetos e devido a sua alta seletividade a inimigos naturais: em *S. frugiperda* foi observada uma média de 77% de mortalidade por baculovírus (CRUZ, 1995).

Os vírus contaminam os insetos por via oral, podendo ser ingeridos quando os insetos se alimentam de folhas, caules ou outras partes da planta que tenham a presença do vírus, para algumas espécies de vírus, existe a possibilidade de contaminação com picadas feitas com os ovipositores dos parasitoides, como observado nos insetos do gênero *Cotesia*, considerado um parasitoide de *S. frugiperda* (CRUZ, 1995; FREDERICI *et al.*, 1986).

As principais variáveis relacionadas ao sucesso do emprego do baculovirus estão relacionadas ao instar do inseto, sendo os primeiros instares os mais susceptíveis, e ao horário de aplicação, sendo os horários mais frios como início da manhã e fim da tarde mais eficientes, pois estes são sensíveis aos raios ultravioletas (CRUZ, 1995).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria gram-positiva capaz de produzir cristais durante o processo de esporulação. Estes cristais acabam ocasionando a destruição das células epiteliais que revestem o intestino do inseto, causando posteriormente a sua morte; além disso, é considerado altamente específico, uma vez que não ocasionando danos a insetos não-alvo e ao ambiente (KRIEG e LANGENBRUCH, 1981; RAYMOND *et al.*, 2010). O uso de *B. thuringiensis* para o controle de lagartas está relacionada principalmente a plantas transgênicas: em 2018, no mercado de sementes brasileiro, mais de 65% das cultivares de milho eram transgênicas (PEREIRA; BORGHI, 2018).

B. thuringiensis também pode ser aplicada diretamente sobre as pragas, sendo que Polanzcyk *et al.* (2020) registraram mortalidade de 100% ao aplicarem uma suspensão de esporos da bactéria sob lagartas de *S. frugiperda* de segundo instar.

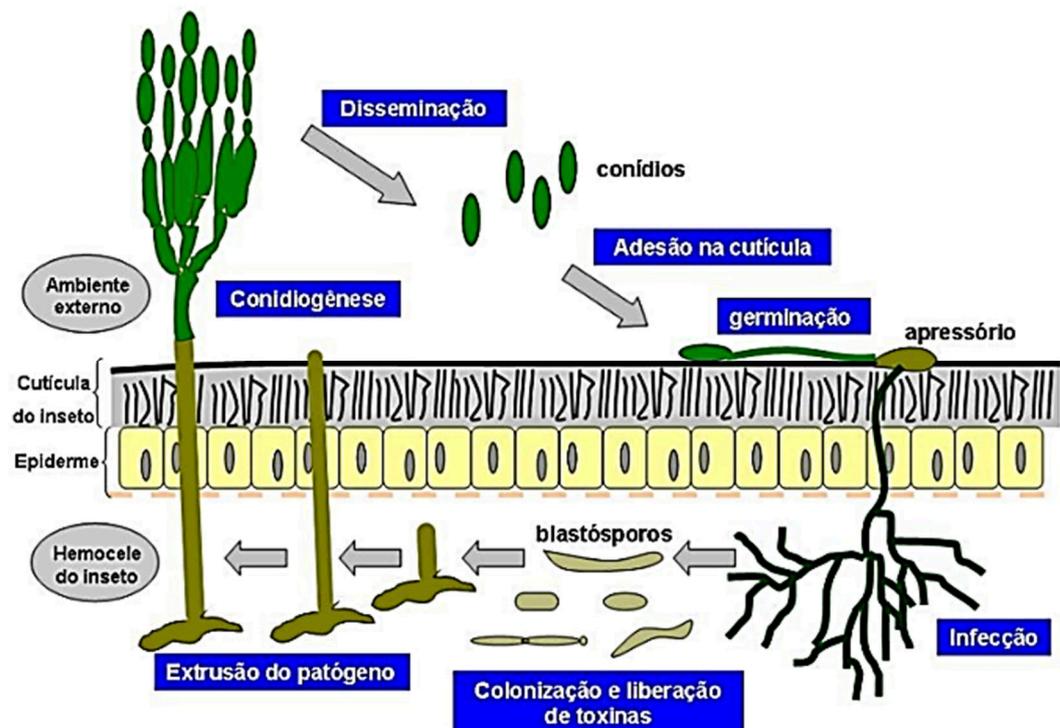
A frequente utilização de plantas transgênicas que expressam proteínas Bt, como o milho e a soja, em conjunto com um manejo inadequado, tem comprometido a eficácia dessas plantas no controle de *S. frugiperda*, resultando na seleção de populações resistentes às proteínas Cry1f e Cry1AB, esse cenário tem aumentado a

necessidade de aplicações de inseticidas para controlar a praga (BURLET *et al.*, 2017; FARIAS *et al.*, 2014;).

2.5. Fungos entomopatogênicos

Fungos entomopatogênicos são aqueles capazes de matar insetos, lhes penetrando através da cutícula e aberturas naturais de seus corpos. Seu ciclo (Figura 6) ocorre pela adesão do conídio ou da estrutura especializada na cutícula, posteriormente, ocorre a germinação e formação do apressório; na sequência, ocorre a penetração no hospedeiro e a infecção, iniciando uma disputa entre as defesas do organismo do hospedeiro e o fungo; se superadas as defesas, o fungo cresce e coloniza a hemocele do inseto, formando blastosporos. Após seu crescimento, ocorre a extrusão do patógeno e quando a hifa chega ao ambiente externo, ocorre a disseminação de mais conídios (ALVES, 1998).

Figura 6. Ciclo básico da relação patógeno-hospedeiro de fungos anamórficos, *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales) sobre *Mahanarva fimbriolata*.



Fonte: Adaptado de ALVES (1998) e MASCARIN (2010).

A morte do inseto pode ser ocasionada pela perda de nutrientes para o fungo; por asfixia, devido ao crescimento do fungo no sistema respiratório; e por intoxicação, devido à produção de metabólitos tóxicos ao hospedeiro. Após a morte do inseto ocorre a esporulação e a hifa emerge do corpo do inseto, produzindo conídios e conidióforos, completando seu ciclo de vida e permitindo a sua transmissão horizontal (CHARNLEY; COLLINS, 2007; GOETTEL *et al.*, 2005).

Grande parte dos fungos entomopatogênicos produzidos comercialmente são ascomicetos, incluindo diversas espécies dos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium*, *Cordyceps* e *Akanthomyces*, devido à facilidade da produção massiva destas espécies em meios artificiais (FARIA; WRAIGHT, 2007). Apesar de serem considerados promissores para o controle microbiológico de pragas, existem diversos aspectos que limitam o seu uso, como temperatura, raios Ultravioleta, umidade e intensidade das chuvas (CASTRO, 2018).

Em *S. frugiperda*, diversos experimentos já foram conduzidos utilizando fungos entomopatogênicos, principalmente com *B. bassiana* e *M. anisopliae*. Thomazoni *et al.* (2014) registraram mortalidade de 44,5% utilizando o isolado UNIOESTE 26 de *B. bassiana*; e de 33,3% com isolado IBCB 417, ambos em condições de laboratório e sob a concentração 1×10^9 conídios/mL.

Polanczyk e Alves (2005) observaram que diversos isolados de *B. bassiana* não devem ser utilizados simultaneamente com *B. thuringiensis* no controle de *S. frugiperda*, pois pode ocorrer interação antagônica entre os microrganismos, diminuindo a eficiência do controle, devido à diminuição da ingestão do alimento contaminado com *B. thuringiensis* por conta dos efeitos do fungo entomopatogênico no organismo do inseto.

2.6. *Cordyceps javanica*

Cordyceps javanica pertence à ordem Hypocreales e ao filo Ascomycota. trata-se de um fungo filamentosos, cosmopolita, que é encontrado e isolado com grande frequência nos solos, tendo sido isolado a primeira vez em Java, Indonésia, em *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) (SAMSON, 1974). Anteriormente denominado como *Isaria javanica*, o nome *Cordyceps javanica* é o resultado de uma atualização na sua filogenia. Kepler *et al.* (2017) propuseram o novo nome, *Cordyceps* para *Isaria*, além de recomendarem a rejeição do nome *Isaria*, para que desta forma não ocorresse mais conflitos entre nomes concorrentes para tipificação sexual e assexual de nomes genéricos.

Fungos do filo Ascomycota possuem hifas septadas que se diferenciam em células conidiogênicas, conidióforos ou fiálides, sendo os conídios as estruturas de reprodução assexuada. Os conídios são pequenos, elípticos ou fusiformes, hialinos com colônias que têm a coloração variando entre esbranquiçada e amarelada

(ZIMMERMANN, 2008).

Makowich (2022) obteve resultados promissores utilizando *C. javanica*, nas concentrações de 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL, em *Helicoverpa armigera*, em que registrou mortalidade de 82,5% e 80%, respectivamente. Neste caso, as lagartas alimentadas com dieta natural (folhas de feijão) e artificial. Por outro lado, para larvas de *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial, sob as concentrações de 1×10^7 e 1×10^8 conídios/mL, a mortalidade foi 5% e 25%, respectivamente, devido à diferença significativa na mortalidade do fungo nos lepidópteros. Concluiu-se que não se deve utilizar dieta artificial para a condução de experimentos com *C. javanica*.

3. OBJETIVOS

Avaliar as concentrações do isolado CG1228 de *Cordyceps javanica* com maior virulência no controle de lagartas de *Spodoptera frugiperda* e avaliar quais os dias com maior virulência.

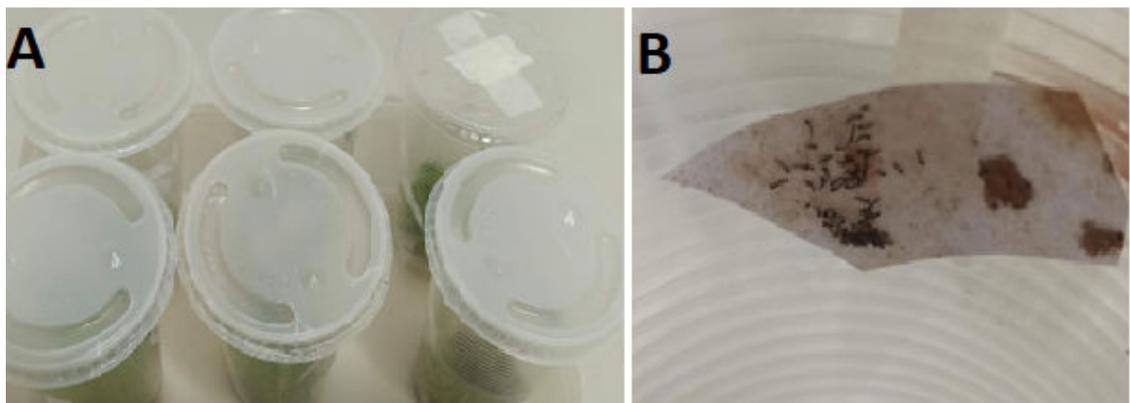
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Criação e manutenção de *Spodoptera frugiperda*

As lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas do laboratório de biologia dos insetos da ESALQ – USP, em copos plásticos contendo dieta artificial, e encaminhadas para o Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) da Embrapa – Meio Ambiente, tendo sido alimentadas com dieta artificial até o final de seu ciclo como mariposa, para posteriormente serem utilizadas as suas posturas com dieta natural.

Após as posturas, as folhas de papel contendo as massas de ovos foram separadas, sendo metade para a manutenção da criação e a outra metade, para os experimentos. As folhas de papel com as massas de ovos eram, então, colocadas em copos plásticos de 500 mL com um pequeno furo coberto com um filtro igual a figura 7 para permitir a circulação de oxigênio.

Figura 7. Em A, copos contendo posturas das mariposas de *Spodoptera frugiperda*, e em B visão ampliada do papel contendo ovos e lagartas neonatas.



Fonte: Autoria própria.

Os copos com lagartas destinados à manutenção da criação ficavam com a dieta artificial, composta pelos ingredientes descritos na Tabela 2. Para os copos com as lagartas destinadas aos experimentos, foram utilizadas folhas de feijão, cultivar Pérola (feijão-carioca), para a dieta das lagartas, sendo colocadas novas folhas diariamente e descartadas as folhas secas.

Tabela 2. Ingredientes utilizados na criação e manutenção de lagartas.

Ingrediente	Quantidade
Feijão carioca	75,00 g
Gérmen de trigo	60,00 g
Farelo de soja	30,00 g
Caseína	30,00 g
Levedura de cerveja	37,50 g
Ácido ascórbico	3,60 g
Ácido sórbico	1,80 g
Nipagin	3,00 g
Solução vitamínica	9,00 mL
Tetraciclina	0,12 g
Ágar	3,60 mL
Água destilada	1400,00 mL

Fonte: Adaptação de GREENE *et al.* (1976).

Para a preparação da dieta artificial das lagartas, primeiramente o feijão era cozido e depois, os ingredientes eram triturados juntos em liquidificador, sendo posteriormente depositados em uma bandeja, que era colocada na geladeira até obter uma textura mais sólida.

A escolha do feijão cultivar Pérola como dieta natural ocorreu por três motivos: *S. frugiperda* é considerada uma praga de importância econômica nesta cultura; é uma cultura de ciclo relativamente curto (85 – 95 dias), sendo possível obter muitas folhas em um curto espaço de tempo; e porque alguns autores como Makowich (2022) e Tavares *et al.* (2012) concluíram que alguns ingredientes utilizados na dieta artificial, como antibióticos e conservantes antimicrobianos podem interferir de forma significativa nos resultados do controle biológico com fungos entomopatogênicos.

Após 14 dias, as lagartas utilizadas para a manutenção eram individualizadas para evitar que ocorresse canibalismo, em copos de 50 mL de café, contendo a dieta artificial, sendo mantidas assim até alcançarem a fase de pupa. Ao alcançarem a fase de pupa, eram colocadas em um gerbox, até as pupas adquirirem coloração escurecida. Nesta etapa, eram colocadas em um tubo PVC de 20 cm de diâmetro x 20 cm de altura, com um furo na lateral coberto por um filtro e com uma camada de papel no seu interior (figura 8) que era utilizada para a postura das mariposas. Neste

tubo também havia um recipiente com uma solução aquosa de mel a 10% e um algodão no seu interior que serviam de alimento para as mariposas.

Figura 8. Tubo de PVC com folha de papel no seu interior contendo mariposas de *Spodoptera frugiperda*.



Fonte: Autoria própria.

As mariposas eram mantidas até o momento que iniciavam a oviposição no interior do tubo, sendo coletadas as posturas do papel diariamente e colocadas nos copos plásticos de 500 mL novamente. As mariposas eram descartadas.

Concomitantemente, as lagartas utilizadas no bioensaio foram criadas em B.O.D a uma temperatura constante de 25,5°C, em copos de 500 mL, durante sete dias, até atingirem o segundo ou terceiro instar. Embora a maioria das lagartas estivesse no segundo instar, foi observado que algumas se desenvolveram mais rapidamente, alcançando o terceiro instar.

Para as pulverizações de *C. javanica* utilizando a torre de precisão de micro spray, eram colocadas 12 lagartas em uma placa de Petri de 90 x 15 mm, sendo estas lagartas manejadas delicadamente do copo para a placa de Petri, utilizando um pincel macio e esterilizado com álcool e água destilada. Após a pulverização, as lagartas eram acondicionadas individualmente em bandejas plásticas contendo papel filtro e folhas de feijão-carioca, sendo estas bandejas depositadas em B.O.D com temperatura constante de 25,5°C. A mortalidade foi avaliada no segundo, quinto, sexto, sétimo e oitavo dias após a aplicação, sendo que as lagartas sobreviventes após o período de avaliação eram descartadas.

4.2 Produção do fungo entomopatogênico *Cordyceps javanica*

Concomitantemente à manutenção e criação de *S. frugiperda*, ocorria a produção de *C. javanica*, isolado CG1228, onde, primeiramente, foram utilizadas algumas lagartas que foram coletadas no campo e que apresentavam micélios de *C. javanica*. Esses micélios foram raspados com uma alça de Drigalski e posteriormente, estriados em uma placa de Petri de 90 x 15 mm, contendo 20 mL de BDA para reativar a virulência do entomopatógeno. As placas ficaram armazenadas em B.O.D com temperatura constante de 25 °C.

Após a detecção do crescimento do fungo entomopatogênico em placa de Petri, essa foi raspada superficialmente utilizando uma alça de Drigalski e o seu conteúdo foi adicionado a um tubo Falcon de 50 mL contendo 10 mL de água destilada. Este tubo contendo água destilada e *C. javanica* foi agitado em um agitador do tipo vórtex e diluído quatro vezes em tubos contendo 9 mL de água destilada; após a quarta diluição foi realizada a contagem de blastosporos, utilizando uma placa de Neubauer para saber a concentração presente na quarta diluição. O número de confídios presentes nos quatro quadrantes da placa de Neubauer era dividido por quatro e multiplicado por 10^4 , que é o fator de correção, e multiplicado por 10^4 novamente, que era a diluição. Após o ajuste, a concentração 5×10^8 blastosporos/mL eram adicionados 10 mL dessa concentração, ajustada a um Erlenmeyer de 250 mL contendo os ingredientes da pré-cultura do fungo.

O meio era composto por 1,5 g de pharmamedia, 30 mL de meio basal (sendo utilizados para a produção do meio basal: 40 mL de vitamina mix, 4 g de KH_2PO_4 , 0,6 g de MgSO_4 , 0,8 g de CaCl_2 , 0,1 g de FeSO_4 , 20 mL das soluções de Zn, Mn e Co e 900 mL de água destilada), 24 mL de dextrose 35% e 6,0 g do inóculo do fungo, ajustado à concentração de 5×10^8 blastosporos/mL. Após a pesagem e adição dos ingredientes da pré-cultura, eram colocados em autoclave por 20 minutos sob a temperatura de 120 °C, sendo que a dextrose, por ser um açúcar, era adicionada somente após o meio estar autoclavado, a fim de evitar que ocorresse sua caramelização no frasco. Após a adição do fungo, a pré-cultura era mantida em agitador horizontal tipo *shaker* por dois dias, sob temperatura constante de 28 °C, 2500 rpm e fotoperíodo de 12 horas. Passados os dois dias, o conteúdo da pré-cultura

era novamente ajustado à concentração de 5×10^8 blastosporos/mL e adicionados 6 mL do conteúdo ajustado da pré-cultura a cultura.

A pré-cultura foi utilizada como forma de potencializar e acelerar a produção dos blastosporos para a cultura, sendo que no meio de cultura foi utilizado como fonte de açúcar, 22 g de dextrose e 6 g do fungo isolado. A cultura ficava no agitador horizontal tipo *shaker* sob as mesmas condições da pré-cultura, durante dois dias.

Vale ressaltar que durante a produção da cultura e da pré-cultura, diariamente eram retiradas amostras dos meios a fim de contabilizar as unidades formadoras de colônia (UFC) e detectar possíveis contaminantes que poderiam estar presentes nos meios. Após os dois dias, os conteúdos dos frascos Erlenmeyer das diferentes culturas eram centrifugados por 20 minutos a 10.000 rpm e temperatura de 25 °C, a fim de separar em fase líquida e sólida o meio. O conteúdo líquido era descartado e o sólido, armazenado em geladeira.

4.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, sendo os resultados de cada tratamento de cada bloco comparados entre si, utilizando quatro blocos com quatro tratamentos e três repetições por tratamento: controle (água destilada + Tween 80 a 0,04%), *C. javanica* às concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 blastosporos/mL, sendo estes os tratamentos 2, 3 e 4 respectivamente.

Para realizar as diluições, utilizou-se placa de Neubauer, as suspensões foram ajustadas às concentrações de 1×10^6 , 1×10^7 e 5×10^7 blastosporos/mL, e adicionadas a um tubo do tipo falcon com 10 mL de água destilada, sendo agitadas em um agitador vórtex a 700 rpm, a fim de homogeneizar a suspensão para a aplicação. Após os ajustes das concentrações, os tratamentos foram pulverizados nas lagartas de *S. frugiperda*.

Para a pulverização, foi utilizada uma placa de Petri de 90 x 15 mm com 12 lagartas, que era posteriormente pulverizada utilizando a torre de precisão de micro spray para aplicação de entomopatógenos, adaptada por MASCARIN *et al.* (2013), conforme a Figura 9, com 500 µL da suspensão do seu tratamento.

Figura 9. Torre de precisão de micro spray para aplicação de entomopatógenos adaptada para pulverização em placas de Petri.



Fonte: Autoria própria.

Após a pulverização, as lagartas foram acondicionadas em bandejas plásticas com células individualizadas, contendo um segmento da folha de feijão-carioca previamente esterilizado com uma solução de 2 litros de água destilada e 2 mL de hipoclorito de sódio com papel filtro, e levadas à B.O.D com temperatura constante de 25,5°C e fotofase de 12h, sendo diariamente adicionadas folhas de feijão-carioca novas e o papel filtro umedecido com uma gota de água destilada da pipeta de Pasteur, a fim de preservar a umidade da célula e a durabilidade da folha.

A mortalidade foi avaliada observando-se as lagartas imóveis e que não apresentaram qualquer estímulo ao toque do pincel de cerdas macias, tendo sido realizadas avaliações no segundo, quinto, sexto, sétimo e oitavo dia após a aplicação.

4.4 Análise dos dados

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) para detectar diferenças estatísticas entre as médias dos tratamentos, as quais foram comparadas por meio do teste de Tukey ($p > 0,05$). As análises foram feitas no *software* R, submetendo os resultados à análise de normalidade de resíduos de Shapiro-Wilk e análise de homogeneidade da variância de Oneilmathews.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise da mortalidade diária

Na primeira repetição realizada em abril de 2022, foram encontradas diferenças nas médias de mortalidade entre tratamentos apenas no segundo e sétimo dias após a pulverização (DAP), sendo que no segundo dia após a pulverização a média da mortalidade do T4 (5×10^7 blastosporos/mL) foi maior que os demais tratamentos, e no sétimo dia após a pulverização o T3 (1×10^7 blastosporos/mL) obteve a maior média de mortalidade.

Tabela 3. Média de indivíduos mortos por tratamento, na primeira repetição. Abril de 2022, Jaguariúna - SP.

Tratamentos	Dias Após Pulverização (DAP)				
	Mortalidade				
	2 DAP	5 DAP	6 DAP	7 DAP	8 DAP
Controle	0,00 b	3,33	0,00	0,00 b	0,67
1×10^6 blastosporos/mL	2,00 b	2,67	0,33	0,33 b	0,00
1×10^7 blastosporos/mL	2,00 b	0,00	0,33	2,33 a	0,00
5×10^7 blastosporos/mL	6,33 a	3,33	0,00	0,33 b	0,33

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Na segunda repetição realizada em junho de 2022, foram encontradas diferenças nas médias de mortalidade entre tratamentos apenas no segundo dia após a pulverização (DAP), sendo que a média da mortalidade do T4 (5×10^7 blastosporos/mL) foi maior que a média do controle.

Tabela 4. Média de lagartas mortas por tratamento, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna - SP.

Tratamentos	Dias Após Pulverização (DAP)				
	Mortalidade				
	2 DAP	5 DAP	6 DAP	7 DAP	8 DAP
Controle	1,67 b	1,00	0,00	0,00	0,00
1 x 10 ⁶ blastosporos/mL	3,00 ab	1,33	0,67	0,33	0,00
1 x 10 ⁷ blastosporos/mL	3,00 ab	0,33	1,00	0,00	0,33
5 x 10 ⁷ blastosporos/mL	5,00 a	1,67	1,00	0,33	0,00

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Na terceira repetição realizada concomitantemente a segunda, em junho de 2022, também foram encontradas diferenças nas médias de mortalidade entre tratamentos apenas no segundo dia após a pulverização (DAP), sendo que a média da mortalidade do T4 (5 x 10⁷ blastosporos/mL) foi maior que o média do controle.

Tabela 5. Média de lagartas mortas por tratamento, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.

Tratamentos	Dias Após Pulverização (DAP)				
	Mortalidade				
	2 DAP	5 DAP	6 DAP	7 DAP	8 DAP
Controle	1,33 b	1,33	0,00	0,00	0,00
1 x 10 ⁶ blastosporos/mL	2,33 b	2,00	0,67	0,67	0,00
1 x 10 ⁷ blastosporos/mL	4,33 ab	0,33	0,33	0,33	0,33
5 x 10 ⁷ blastosporos/mL	6,00 a	1,33	0,33	0,00	0,00

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Foi observado que em todas as três repetições que o 2 DAP, foi o dia que obteve as maiores médias de mortalidade, e que em todas as repetições T4, com a

concentração de 5×10^7 blastosporos/mL, obteve um resultado melhor que o controle T1 (água destilada + Tween 80 a 0,04%).

BARROS *et al.* (2020), utilizando *Metarhizium rileyi* na concentração de 2×10^9 conídios/mL, observaram um decréscimo na sobrevivência de *S. frugiperda* a partir do quinto dia, sendo o sexto e oitavo dia em que os resultados foram mais proeminentes; a mortalidade variou entre 74 e 84%. BAJA *et al.* (2020), utilizando *C. javanica* e *B. bassiana* em *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae) com dieta artificial, obtiveram os melhores resultados de mortalidade com *C. javanica* do primeiro ao quinto instar da lagarta sob a concentração de 1×10^9 conídios/mL, sendo que o primeiro e segundo instar foram mais susceptíveis, e o terceiro o menos susceptível, com mortalidades de aproximadamente 95%, 65% e 35%, respectivamente. Por outro lado, ao utilizarem *B. bassiana*, os resultados foram diferentes na mortalidade em cada instar: a concentração com os melhores resultados de mortalidade ainda foi a de 1×10^9 conídios/mL, mas a mortalidade das lagartas de primeiro, segundo e terceiro instares foram aproximadamente de 100%, sendo que o quarto instar apresentou a menor mortalidade estando próxima de 85% (BAJA *et al.*, 2020).

Os resultados das LC_{50} encontradas mostraram que, quanto mais avançado o instar, maior o número de dias necessários para a morte de 50% da população, sendo que à concentração de 1×10^9 conídios/mL, utilizando *B. bassiana*, no primeiro instar foram necessários em médias 1,6 dias, no segundo instar 2 dias, e no terceiro instar 2,28 dias, por sua vez, utilizando *C. javanica*, no segundo instar a média de dias foi de 1,9 dias no primeiro instar, no segundo instar 3,6 dias e no terceiro instar 13 dias (BAJA *et al.*, 2020).

5.2. Análise da mortalidade total

No primeiro teste realizado em abril de 2022, as pressuposições da análise de variância (ANOVA) foram atendidas, assim como consta na Tabela 6, sendo o modelo considerado aditivo, e as observações independentes.

Os erros encontrados seguem uma distribuição normal no teste de Shapiro-Wilk, tendo em vista que o valor-p calculado, de 0,3877676 é maior que o nível de significância de 5%.

As variâncias foram consideradas homogêneas pelo teste de Oneilmathews, com o valor-p de 0,9020426.

Tabela 6. Quadro da Análise de Variância (ANOVA) do número de lagartas mortas, na primeira repetição. Abril de 2022, Jaguariúna – SP.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	74,917	24,9722	6,0335	0,3043
Bloco	2	7,167	3,5833	0,8658	0,46736
Resíduo	6	24,833	4,1389		
Total	11	106,917			

Nível de significância: 5%

Após a realização da análise de variância foi feito o teste de Tukey a 5% de significância, assim como visto na Tabela 7.

Tabela 7. Média de lagartas mortas por tratamento, na primeira repetição. Abril de 2022, Jaguariúna – SP.

Tratamento	Média
Controle	4,0 b
1 x 10 ⁶ blastosporos/mL	5,3 ab
1 x 10 ⁷ blastosporos/mL	4,7 ab
5 x 10 ⁷ blastosporos/mL	10,3 a

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na primeira repetição foi observado que os tratamentos T2, T3 e T4 não diferem entre si em suas médias, sendo assim as concentrações de 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ e 5 x 10⁷ blastosporos/mL obtiveram os mesmos resultados na mortalidade de *S. frugiperda*, e que a concentração de T4 de 5 x 10⁷ blastosporos/mL obteve um resultado maior que o controle com água destilada e Tween 80 a 0,04%.

No segundo teste realizado em junho de 2022, as pressuposições da Análise de Variância (ANOVA) foram atendidas, assim como é visto na Tabela 8, sendo o modelo considerado aditivo, e as observações independentes.

Os erros encontrados seguem uma distribuição normal no teste de Shapiro-Wilk, tendo em vista que o valor-p calculado, de 0,8609727 é maior que o nível de significância de 5%.

As variâncias foram consideradas homogêneas pelo teste de Oneilmathews, com o valor-p de 0,2947105.

Tabela 8. Quadro da Análise de Variância (ANOVA) do número de lagartas mortas, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	21,5833	7,1944	10,36	0,00869
Bloco	2	0,5000	0,2500	0,36	0,71178
Resíduo	6	4,1667	0,6944		
Total	11	26,2500			

Nível de significância: 5%

Após a realização da análise de variância foi feito o teste de Tukey a 5% de significância, assim como visto na Tabela 9.

Tabela 9. Média de mortes por tratamento, na segunda repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.

Tratamento	Média
Controle	2,7 b
1 x 10 ⁶ blastosporos/mL	5,3 a
1 x 10 ⁷ blastosporos/mL	4,7 ab
5 x 10 ⁷ blastosporos/mL	8,0 a

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na segunda repetição, assim como na primeira, foi observado que os tratamentos T2, T3 e T4 não diferem entre si em suas médias, sendo assim as concentrações de 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ e 5 x 10⁷ blastosporos/mL obtiveram os mesmos resultados na mortalidade de *S. frugiperda*, e que a concentração de T4 de 5 x 10⁷ blastosporos/mL obteve um resultado maior que o controle com água destilada e Tween 80 a 0,04%.

No terceiro teste que também foi realizado em junho de 2022, as pressuposições da Análise de Variância (ANOVA) foram atendidas, assim como é visto na Tabela 10, sendo o modelo considerado aditivo, e as observações independentes.

Os erros encontrados seguem uma distribuição normal no teste de Shapiro-Wilk, tendo em vista que o valor-p calculado, de 0,3998749 é maior que o nível de significância de 5%.

As variâncias foram consideradas homogêneas pelo teste de Oneilmathews,

com o valor-p de 0,6723609.

Tabela 10. Quadro da Análise de Variância (ANOVA) do número de lagartas mortas, na terceira repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.

	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	38,250	12,7500	6.6522	0,02456
Bloco	2	3,167	1,5833	0,8261	0,48206
Resíduo	6	11,500	1,9167		
Total	11	52,917			

Nível de significância: 5%

Após a realização da análise de variância foi feito o teste de Tukey a 5% de significância, assim como visto na Tabela 11.

Tabela 11. Média de mortes por tratamento, na terceira repetição. Junho de 2022, Jaguariúna – SP.

Tratamento	Média
Controle	2,7 b
1 x 10 ⁶ blastosporos/mL	5,7 ab
1 x 10 ⁷ blastosporos/mL	5,7 ab
5 x 10 ⁷ blastosporos/mL	7,7 a

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na terceira repetição, assim como na primeira e na segunda foi observado que os tratamentos T2, T3 e T4 não diferem entre si em suas médias, sendo assim as concentrações de 1 x 10⁶, 1 x 10⁷ e 5 x 10⁷ blastosporos/mL obtiveram os mesmos resultados na mortalidade de *S. frugiperda*, e que a concentração de T4, de 5 x 10⁷ blastosporos/mL, obteve um resultado maior que o controle com água destilada e Tween 80 a 0,04%.

IDREES *et al.* (2022), utilizando *B. bassiana* observou uma mortalidade 53,6% com as doses de 1 x 10⁸ conídios/mL em lagartas do segundo instar de *S. frugiperda* sete dias após a pulverização, entretanto para a manutenção das lagartas utilizaram dieta artificial.

GARCIA *et al.* (2011), conseguiram obter uma mortalidade de 96,6% em lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial, utilizando *B. bassiana* na concentração de 1 x 10⁹ conídios/mL, 3 dias após a pulverização.

Outros autores como THOMAZONI *et al.*, (2014), utilizando *B. bassiana* em *S. frugiperda* em dieta artificial conseguiram uma mortalidade de até 44,5% na concentração de 1×10^9 conídios/mL.

MAKOWICH (2022) utilizando o isolado BRM 27666 de *C. javanica* em *S. frugiperda* e *H. armigera* observou que a maior mortalidade foi encontrada na concentração de 1×10^8 conídios/mL em ambos os insetos, em *S. frugiperda* alimentadas com dieta natural a mortalidade foi de 25%, e em dieta artificial de 0%, enquanto em *H. armigera* alimentadas com dieta natural (folhas de feijão) nesta mesma concentração a mortalidade encontrada foi de 91,43%.

6. CONCLUSÃO

Na concentração de 5×10^7 blastosporos/mL, o isolado CG1228 de *Cordyceps javanica* apresentou uma média de eficiência de controle de 72,42% em *Spodoptera frugiperda*. Além disso, foi observado que o segundo dia após a aplicação apresentou a maior taxa de mortalidade. Esses resultados abrem a discussão sobre a aplicação desse fungo entomopatogênico no campo, bem como a avaliação de outras fontes de dieta natural para a criação e manutenção da praga.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 26 de janeiro de 2023.

ALTAMIRA, P. Microorganismos con actividad entomopatógena. Boletín N°.419, **INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias**, 2020.

ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). Controle microbiano de insetos. Piracicaba: **FEALQ**, 1998. pp.289–381.

BAJA, F.; POITEVIN, C. G.; ARAUJO, E. S.; MIRÁS-AVALOS, J. M.; ZAWADNEAK, M. A.C.; PIMENTEL, I. C. Infection of *Beauveria bassiana* and *Cordyceps javanica* on different immature stages of *Duponchelia fovealis* Zeller (Lepidoptera: Crambidae). **Crop Protection**, v. 138, 2020.

BARRETO, M. R.; GUIMARAES, C. T.; TEIXEIRA, F. F.; PAIVA, E.; VALICENTE, F. H. Efeitos de isolados do Baculovirus spodoptera em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e sua caracterização por meio de RAPD. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 67 – 75, 2005.

BARROS, S. K. A.; PITTA, R. M.; LOPES, R. B.; ALMEIDA, E. G. de; FERREIRA, F. T. R. Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* e *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) a infecções causadas por *Metarhizium rileyi*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 50, p. e61713, 2020.

BOLZAN, A.; BOAVENTURA D.; PADOVEZ, F. E. O.; OKUMA D.; OMOTO, C.; NAUEN, R. Detection of a ryanodine receptor target-site mutation in diamide insecticide resistant fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 76, p. 47-54, 2019.

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

BURLET, L. M.; BERNARDI, O.; MELO, A. A., PES, M. P. STRAHL, T. T., GUEDES, J. V. Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), with Bt maize and insecticides in southern Brazil. **Pest Management Science**, v. 73, p. 2567 – 2577. 2017.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; BANDEIRA, J. M. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações dos biótipos “milho” e “arroz” de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Brasileira Agropecuária**. Brasília, v. 40, p. 329 – 335. 2005.

CARVALHO R. A.; OMOTO C.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S. Bass C Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLOS One**, v. 8, p. 1 – 11, 2013.

CASTRO, I. G. **Adubação nitrogenada na cultura do milho: revisão de literatura e experimento de campo em Santa Maria, RS**. 2018. 58 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15951/DIS_PPGEA_2018_CASTRO_ISAC.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 23 jan. 2023.

CHARNLEY, A.K. AND COLLINS, S.A. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Pest Control. In: Kubicek, C.P. and Druzhinina, I.S., Eds., *The Mycota IV: Environmental and Microbial Relationships*, 2nd Edition, **Springer-Verlag**, Berlin, 159-187, 2007.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: **EMBRAPA ICNPMS**, p. 45, 1995.

CRUZ, I; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 355 - 359, 1982.

FARIA, M. R.; WRAIGHT, S. P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A Comprehensive List with Worldwide Coverage and International Classification of Formulation Types. **Biological Control**, v. 43, p. 237 - 256, 2007.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHU, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolve resistance to Cry1f maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150 – 158, 2014.

FIGUEIREDO, M. L.; MARTINS-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1693 - 1698, 2006.

FREDERICI, B. A. Ultrastructure of baculoviruses. In: GRANADOS, R. R. e FREDERICI, B. A. The biology of baculoviruses. Boca Raton, **CRC Press**, v. 1, p. 61 – 88, 1986.

GARCIA C. G.; GONZALEZ, M. M. B.; BAUTISTA N. M. Patogenicidad de aislamientos de hongos entomopatógenos contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae). **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v. 37, n. 2, p. 217 - 222, 2011.

GOETTEL, M.; EILENBERG, J.; GLARE, I. **Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations**. Comprehensive Molecular Insect Science. [s. n.], 2005, p. 361 - 406.

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

HARDKE, J. T.; LORENZ, G. M.; LEONARD, B. R., Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) ecology in Southeastern Cotton. **J. Integrated Pest Management**, v. 6, p. 10 - 10, 2015.

IDRESS, A.; AFZAL, A.; QADIR, Z. A.; LI, J. Bioassays of *Beauveria bassiana* Isolates against the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Fungi**, v. 8, p. 717, 2022.

JIN, T.; LIN, Y.; MA, G.; LIU, J.; HAO, Z.; HAN, S.; PENG, Z. Biocontrol potential of *Trichogramma* species against *Spodoptera frugiperda* and their field efficacy in maize. **Crop Protection**, v. 150, 2021.

KEPLER, R.M., LUANGSA-ARD, J.J., HYWEL-JONES, N.L. A phylogenetically based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). **Pub Med**, v. 8, p. 335 – 353, 2017.

KRIEG, A.; LANGENBRUCH, G.A. Susceptibility of arthropod species to *Bacillus thuringiensis*. In: BURGESS, H.D. (Ed.). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. **London: Academic**, 1981. p. 837-896.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H. F. G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abbot e Smith, 1797). **O Biológico**, v.19, p.105 - 113, 1953.

MASCARIN, G. M.; PAULI, G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. In: Madelaine Venzon; Trazilbo José de Paula Júnior; Angelo Pallini. (Org.). Controle alternativo de Pragas e Doenças na Agricultura Orgânica. 1 ed. Viçosa: U.R. **EPAMIG**, v. 4, p. 169 - 195, 2010.

MASCARIN, G. M.; QUINTELA, E.; SILVA, E. G.; ARTHURS, S. Precision micro-spray tower for application of entomopathogens. **BioAssay**, v. 8, p. 1 – 4, 2013.

MAKOWICH, A. F. F. **Virulência de *Cordyceps javanica* aos noctuídeos *Helicoverpa armigera* (HUBNER) e *Spodoptera frugiperda* (SMITH) em dieta natural e artificial**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Goiás. Goiania, Goiás.

MONTEZANO, D.G.; SPECHT. A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v.26, p. 286 - 300, 2018.

MORENO-SERRANO, D.; GONZÁLES, G.; CASTREJÓN, K.; VARGAS, R.; RODRIGUEZ-HERNÁNDEZ, B. X.; RIOS-MORENO, A. Pathogenicity of native isolates (*Beauveria bassiana*) and (*Cordyceps javanica*) on larvae of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: pyralidae). **Revista Investigaciones Agropecuarias**, v.4, p. 31 - 43, 2022.

NASCIMENTO, A. R. B.; FRESIA P.; CÔNSOLI F. L.; OMOTO, C. Comparative transcriptome analysis of lufenuron-resistant and susceptible strains of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **BMC Genomics**, v. 16, p. 985, 2015.

OKUMA, D. M.; BERNARDI, D, HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; SILVA, A. P.; OMOTO, C. Inheritance and fitness costs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brazil. **Pest Management Science**, v. 74, p. 1441 - 1448, 2018.

OLIVEIRA, J. V. Caracterização e controle dos principais insetos do arroz irrigado. **Lav. Arroz**, v. 4, p. 17-24, 1987.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, p. 1727 - 1736, 2016.

PAREDES-SÁNCHEZ, F. A.; RIVERA, G.; BOCANEGRA-GARCÍA, V.; MARTÍNEZ-PADRÓN, H. Y; BERRONES-MORALES, M.; NIÑO-GARCÍA, N.; HERRERA-MAYORGA, V. Advances in Control Strategies against *Spodoptera frugiperda*. Uma revisão. **Molecules**, v. 26, p. 5587, 2021.

PEREIRA, I. A.; BORGHI, E. Sementes de milho no Brasil: a dominância dos transgênicos. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, v. 13, p. 223, 2018.

PES, M. P. **Translocação de diamidas em soja e milho e efeito sobre *Helicoverpa armigera* (HÜBNER, 1808) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797)**. 2005. Tese (Doutorado em Engenharia Agrônômica), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2019.

PITRE, H. N.; HOGG, D. B. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. **Journal Georgia Entomology Society**, v. 18, n. 2, p. 182 - 187, 1983.

POLANCZYK, R. A.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 165 - 167, 2000.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, v. 74, p. 24 - 33, 2005.

RAYMOND, B.; JOHNSTON, P. R.; NIELSEN-LEROUX, C.; LERECLUS, D.; CRICKMORE, N. ***Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen?** **Trends in Microbiology**, [s. n.], v. 18, n. 5, p. 189-94, 2010.

REIS, L. L.; OLIVEIRA, L. J.; CRUZ, I. Biologia e potencial de *Doru luteipes* no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 333 - 342, 1988.

ROSA, A. P. S. A.; BARCELOS, H. T. Bioecologia e controle de *Spodoptera frugiperda* em milho. Pelotas. **Embrapa Clima Temperado**, 2012.

SAMSON, R.A. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. **Studies Mycology**, v.6, p.1 – 119, 1974.

SILVA, H. E. G.; BRITO, C. H.; OLIVEIRA, R. Aspectos biológicos e capacidade predatória de *Doru luteipes* quando alimentada com *Spodoptera frugiperda*, **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 35, n. 2, p. 490 – 497, 2022.

TAVARES, P. F. S.; GONÇALVES, J. S.; COELHO, R. S.; PARANHOS, B. A.; GAVA, C. A. T. Efeito de conservantes antimicrobianos usados em dietas de moscas-das-frutas sobre a virulência de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Embrapa Semiárido**, p. 322 – 326, 2012.

THOMAZONI, D.; FORMENTINI, M. A.; ALVES, L. F. A. Patogenicidade de isolados de fungos entomopatogênicos à *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, p. 126 - 133, 2014.

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

WU, S.; TOEWS, M. D.; CASTRILLO, L. A.; BARMAN, A. K.; COTTRELL, T. E.; SHAPIRO-ILAN, D. I. Identification and Virulence of *Cordyceps javanica* Strain wf GA17 Isolated from a Natural Fungal Population in

Sweetpotato Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae). **Environmental Entomology**, v. 50, p. 1127 – 1136, 2021.

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. **Biocontrol Science and Technology**, v. 18, p. 865 – 901, 2008.