



FERNANDA SOARES SALES

**PATOGENICIDADE DE FUNGOS FILAMENTOSOS NA
SOBREVIVÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera
frugiperda* RESISTENTES E SUSCETÍVEIS A PROTEÍNAS
CRY**

**LAVRAS-MG
2024**

FERNANDA SOARES SALES

**PATOGENICIDADE DE FUNGOS FILAMENTOSOS NA SOBREVIVÊNCIA E
DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* RESISTENTES E SUSCETÍVEIS A
PROTEÍNAS CRY**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Entomologia, área de concentração em
Entomologia, linha de pesquisa em Controle
Biológico e Manejo Integrado de Pragas, para a
obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Alcides Moino Junior

Orientador

**LAVRAS-MG
2024**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Sales, Fernanda Soares.

Patogenicidade de fungos filamentosos na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* resistentes e suscetíveis a proteínas cry / Fernanda Soares SALES. - 2024.

68 p.

Orientador(a): Alcides Moino Junior.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Lagarta-do-cartucho. 2. Controle biológico. 3. Metabólitos secundários. I. Moino Junior, Alcides. II. Título.

FERNANDA SOARES SALES


PATOGENICIDADE DE FUNGOS FILAMENTOSOS NA SOBREVIVENCIA E DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda* RESISTENTES E SUSCETÍVEIS À PROTEÍNAS CRY

PATHOGENICITY OF FILAMENTOUS FUNGI ON THE SURVIVAL AND DEVELOPMENT OF *Spodoptera frugiperda* RESISTANT AND SUSCEPTIBLE TO CRY PROTEINS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, linha de pesquisa em Controle Biológico e Manejo Integrado de Pragas, para a obtenção do título de Doutora.

Aprovada em 26 de março de 2024.

Dr. Alcides Moino Junior UFLA
Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza - UFLA
Dr. Paulo Henrique de Siqueira Sabino – UNIFENAS
Dr. Ricardo Sousa Cavalcanti – IFMG
Dr. Vanessa Andaló Mendes de Carvalho- UFU

Documento assinado digitalmente
 **ALCIDES MOINO JUNIOR**
Data: 17/12/2024 16:13:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alcides Moino Junior
Orientador

LAVRAS – MG

2024

Aos meus pais e a minha família pela educação que me proporcionou chegar até aqui.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela educação e amor incondicionais. A minha família pelo apoio e compreensão de sempre pois, não é nada fácil conciliar estudos, trabalho e ainda se dedicar a família.

Mas, agradeço em especial a cada um do laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos. Esse trabalho é a prova de que nada nessa vida fazemos sem apoio e ajuda, literalmente de pessoas.

Á Mariana por me ajudar com ideias quando nada dava certo, com a condução dos experimentos, dúvidas de análises estáticas entre outros. Foi minha Coorientadora sem querer ser, além da amizade nos últimos anos.

Ao Vitor pela amizade, companheirismo e por literalmente ter colocado a mão na massa quando eu precisei.

A Ana Paula, pelos anos de amizade, por me apresentar o Pedro e Helena, por várias conversas longas, conselhos e por também ter participado efetivamente do meu trabalho.

A Carol por ter sido uma excelente estagiária, não tenho dúvidas de que já está colhendo os frutos, meu muito obrigada.

A Thayla pelos anos de convivência, risadas e por contribuir com meu trabalho.

Ao Marlon por ser nosso eterno estagiário sem motivo algum, a não ser por amar a Mariana(risos).

Um agradecimento especial ao Pedro Guedes, por que além do que me ensina e inspira na vida, sua organização, dedicação e competência na pesquisa me inspiraram muito.

Ao professor e amigo Adão Felipe que me falava sempre da minha capacidade me mostrando o tamanho da minha capacidade, eternamente grata por você na minha vida.

A amiga, irmã, parceira de vida Júlia, nem sei o que faria sem seu apoio, ajuda e amizade, muito obrigada.

Aos técnicos de laboratório, Julinho e Irene, minha eterna gratidão amo vocês. A Léia pela parceria e amizade nos últimos 13 anos. A Érika, que tanto contribuiu e continua contribuindo para que o trabalho flua no laboratório.

Ao professor Alcides pelo trabalho nos últimos 13 anos. Cheguei no laboratório no segundo período e nunca mais quis sair. Obrigada pela paciência e dedicação de sempre.

E por fim, à Universidade Federal de Lavras que eu tanto me orgulho de ter toda minha formação nessa instituição de ensino.

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

Muito obrigada!

RESUMO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, é uma praga agrícola de grande impacto econômico, especialmente em culturas como milho (*Zea mays* L.). Seu controle é principalmente realizado por meio do uso de inseticidas químicos e do emprego de plantas geneticamente modificadas, como as que contêm proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* (Bt), que têm ação inseticida. No entanto, a capacidade da praga de desenvolver resistência a esses métodos tem dificultado seu controle, exigindo alternativas mais sustentáveis e eficazes. O uso de estratégias de manejo utilizando microrganismos entomopatogênicos, como os fungos filamentosos, têm ganhado destaque devido à sua ação diversificada e baixa probabilidade de resistência. Além dos conídios, que podem ser aplicados diretamente sobre as pragas, os fungos também liberam compostos bioativos que têm efeitos tanto no controle direto da praga quanto em processos fisiológicos do inseto, como a redução da sobrevivência, diminuição da taxa de desenvolvimento ou até interferência na reprodução. À medida que novas espécies de fungos filamentosos com propriedades entomopatogênicas são descobertas, cresce a necessidade de estudos sobre seus metabólitos secundários, a fim de entender melhor seus mecanismos de ação, potencial de aplicação e eficácia no manejo de pragas. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a virulência de fungos filamentosos em lagartas de 1º e 3º instar de *S. frugiperda* resistentes e suscetíveis a proteínas Cry, além de investigar o efeito de filtrados desses fungos no desenvolvimento e reprodução da praga. Utilizou-se os fungos *Aspergillus aureolatus* E25, *A. keveii* CF292, *A. sydowii* GMA3, *Epicoccum nigrum* [isolados A2C32, A2S61 e 185A], *Penicillium chermesinum* 102, *P. flavigenum* 3.1.A, *Lecanicillium aphanocladii* (ONI5) e *Fusarium* sp. (FPW). Para avaliar a virulência, lagartas de terceiro ínstar foram expostas a conídios de diferentes isolados de fungos, além de dietas contaminadas com suspensões de conídios. No estudo do desenvolvimento, filtrados fúngicos foram aplicados nas dietas e oferecidos a neonatas de *S. frugiperda*, sendo observada a mortalidade. Os ovos dos adultos sobreviventes foram coletados, e o desenvolvimento larval, a longevidade e os parâmetros reprodutivos foram monitorados. Os resultados mostraram que todos os fungos não foram virulentos às populações resistentes e não resistentes às proteínas Cry, mas os filtrados fúngicos foram altamente eficientes, reduzindo a sobrevivência das lagartas e o tempo de desenvolvimento larval. Os isolados A2S61 e ONI5 apresentaram as maiores taxas de mortalidade, chegando a 64%, enquanto A2C32 e E25 impactaram a longevidade dos adultos, e ONI5 e GMA3 reduziram mais o tempo de desenvolvimento larval. Esses resultados ressaltam a importância de pesquisas contínuas para aprimorar o uso e a formulação de fungos como agentes de controle biológico. Dessa forma, a aplicação de fungos filamentosos e seus derivados pode ser uma estratégia sustentável e eficaz no manejo de *S. frugiperda*, ajudando a reduzir a dependência de produtos químicos, proteger o meio ambiente e oferecer uma solução viável para o controle dessa praga em sistemas agrícolas.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho; Controle biológico; Metabólitos secundários.

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, is a major agricultural pest with significant economic impact, particularly in crops such as maize (*Zea mays* L.). Its control is primarily achieved through the use of chemical insecticides and genetically modified plants, such as those containing *Bacillus thuringiensis* (Bt) Cry proteins, which have insecticidal activity. However, the pest's ability to develop resistance to these methods has hindered its control, necessitating more sustainable and effective alternatives. The use of biological control strategies involving entomopathogenic microorganisms, such as filamentous fungi, has gained attention due to their diverse mechanisms of action and low likelihood of resistance. In addition to conidia, which can be applied directly to pests, fungi also release bioactive compounds that have effects both on direct pest control and on insect physiological processes, such as reducing survival, decreasing development rates, and even interfering with reproduction. As new species of filamentous fungi with entomopathogenic properties are discovered, there is an increasing need for studies on their secondary metabolites to better understand their mechanisms of action, potential applications, and efficacy in pest management. Thus, the aim of this study was to evaluate the virulence of filamentous fungi on 1st and 3rd instar *S. frugiperda* larvae resistant and susceptible to Cry proteins, as well as to investigate the effects of fungal filtrates on the pest's development and reproduction. The fungi used in the study were *Aspergillus aureolatus* E25, *A. keveii* CF292, *A. sydowii* GMA3, *Epicoccum nigrum* [isolates A2C32, A2S61, and 185A], *Penicillium chermesinum* 102, *P. flavigenum* 3.1.A, *Lecanicillium aphanocladi* (ONI5), and *Fusarium sp.* (FPW). To evaluate virulence, third-instar larvae were exposed to conidia from different fungal isolates, as well as to diets contaminated with conidial suspensions. For the development study, fungal filtrates were applied to diets and offered to neonate *S. frugiperda* larvae, with mortality being observed. Eggs from surviving adults were collected, and larval development, longevity, and reproductive parameters were monitored. The results showed that none of the fungi were virulent to both Cry-resistant and Cry-susceptible populations, but fungal filtrates were highly efficient, reducing larval survival and development time. The isolates A2S61 and ONI5 showed the highest mortality rates, reaching 64%, while A2C32 and E25 impacted adult longevity, and ONI5 and GMA3 reduced larval development time. These results highlight the importance of ongoing research to enhance the use and formulation of fungi as biological control agents. Therefore, the application of filamentous fungi and their derivatives can be a sustainable and effective strategy for managing *S. frugiperda*, helping reduce dependence on chemical products, protect the environment, and provide a viable solution for pest control in agricultural systems.

Keywords: Fall armyworm. Biological control. Secondary metabolites.

IMPACTOS SOCIAIS, TECNOLÓGICOS, ECONÔMICOS E CULTURAIS

O controle de *Spodoptera frugiperda*, uma praga agrícola que afeta culturas como milho, apresenta desafios significativos devido à resistência a inseticidas químicos e proteínas Cry de plantas geneticamente modificadas. O uso de fungos filamentosos para o controle biológico dessa praga pode reduzir a dependência de inseticidas químicos, minimizando os riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Isso contribui para a preservação do ecossistema e a saúde pública, promovendo práticas agrícolas mais seguras e sustentáveis. Socialmente, o biocontrole com fungos promove práticas agrícolas mais seguras e sustentáveis, incentivando soluções que priorizam o bem-estar coletivo e ambiental, além de garantir a eficácia da produção agrícola, fortalecendo a segurança alimentar, especialmente em áreas dependentes da agricultura para sua subsistência. Tecnicamente, a pesquisa em fungos filamentosos está em constante evolução, com a descoberta de novas espécies e metodologias de aplicação mais eficientes, impulsionando avanços na biotecnologia. A aplicação em larga escala exige inovações no cultivo, formulação, distribuição e monitoramento, resultando em tecnologias mais precisas para o manejo da resistência das pragas. O desenvolvimento de biopesticidas seletivos para *S. frugiperda* abre novas oportunidades de mercado e soluções personalizadas para os agricultores, tornando o controle biológico mais acessível e integrado às práticas agrícolas locais. Esses avanços não apenas aprimoram o controle de pragas, mas também incentivam inovações no setor agrícola, promovendo um manejo mais sustentável e integrado. Economicamente, o uso de fungos para o controle biológico pode reduzir os custos de produção ao diminuir a dependência de pesticidas caros, aumentando a produtividade e a estabilidade econômica, especialmente em culturas sensíveis como o milho. Esse modelo também ajuda a reduzir os custos ambientais associados ao uso excessivo de produtos químicos, além de reduzir perdas de produção, o que é essencial em cenários de escassez ou aumento nos preços das commodities agrícolas. O controle biológico também beneficia trabalhadores rurais e comunidades locais, criando novas oportunidades de emprego no setor de biotecnologia e na produção de insumos biológicos, o que contribui para a estabilidade econômica regional. Culturalmente, o uso de fungos como controle biológico pode transformar as percepções e práticas agrícolas, promovendo uma agricultura mais consciente, alinhada à preservação ambiental e saúde pública. A conscientização sobre os impactos negativos dos pesticidas químicos pode aumentar a aceitação de alternativas biológicas, contribuindo para a preservação da biodiversidade e alinhando-se com um movimento global em direção a uma agricultura mais ecológica e responsável. Embora existam desafios na adoção de fungos filamentosos, como a adaptação tecnológica e a educação contínua, os impactos em diversas áreas são amplamente positivos. Esses impactos estão alinhados com diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU, como Fome Zero e Agricultura Sustentável (ODS 2), Saúde e Bem-Estar (ODS 3), Trabalho Decente e Crescimento Econômico (ODS 8), Consumo e Produção Responsáveis (ODS 12) e Vida Terrestre (ODS 15). O uso de fungos filamentosos no controle de *S. frugiperda* não só contribui para o avanço científico e tecnológico, mas também gera benefícios sociais, econômicos e culturais, apoiando o Brasil no cumprimento da Agenda 2030.

The control of *Spodoptera frugiperda*, an agricultural pest that affects crops such as corn, presents significant challenges due to its resistance to chemical insecticides and Cry proteins from genetically modified plants. The use of filamentous fungi for biological control of this pest can reduce dependence on chemical insecticides, minimizing risks to human health and the environment. This contributes to ecosystem preservation and public health, promoting safer and more sustainable agricultural practices. Socially, fungal biocontrol promotes safer and more sustainable farming practices, encouraging solutions that prioritize collective and environmental well-being, while ensuring the effectiveness of agricultural production and strengthening food security, especially in areas dependent on agriculture for subsistence. Technically, research on filamentous fungi is constantly evolving, with the discovery of new species and more efficient application methodologies, driving advances in biotechnology. Large-scale application requires innovations in cultivation, formulation, distribution, and monitoring, resulting in more precise technologies for managing pest resistance. The development of selective biopesticides for *S. frugiperda* opens new market opportunities and tailored solutions for farmers, making biological control more accessible and integrated into local agricultural practices. These advances not only improve pest control but also encourage innovations in the agricultural sector, promoting more sustainable and integrated management. Economically, the use of fungi for biological control can reduce production costs by decreasing the reliance on expensive pesticides, increasing productivity and economic stability, especially in sensitive crops like corn. This model also helps reduce environmental costs associated with excessive chemical use, as well as minimizing production losses, which is essential in times of scarcity or rising commodity prices. Biological control also benefits rural workers and local communities by creating new job opportunities in the biotechnology sector and the production of biological inputs, contributing to regional economic stability. Culturally, the use of fungi as a biological control method can transform agricultural perceptions and practices, promoting a more conscious form of agriculture aligned with environmental preservation and public health. Raising awareness about the negative impacts of chemical pesticides can increase acceptance of biological alternatives, contributing to biodiversity preservation and aligning with a global movement towards more ecological and responsible farming. Although challenges exist in adopting filamentous fungi, such as technological adaptation and ongoing education, the impacts across various areas are overwhelmingly positive. These impacts are aligned with several United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), including Zero Hunger and Sustainable Agriculture (SDG 2), Good Health and Well-Being (SDG 3), Decent Work and Economic Growth (SDG 8), Responsible Consumption and Production (SDG 12), and Life on Land (SDG 15). The use of filamentous fungi in controlling *S. frugiperda* not only contributes to scientific and technological advancement but also generates social, economic, and cultural benefits, supporting Brazil in fulfilling the 2030 Agenda.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	12
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lagarta-do-cartucho)	14
2.2 Métodos de controle	16
2.2.1 <i>Bacillus thuringiensis</i>	17
2.2.2 Fungos filamentosos	18
REFERÊNCIAS.....	23
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	32
Artigo 1: Virulência de fungos filamentosos em <i>Spodoptera frugiperda</i> resistente a Cry	32
INTRODUÇÃO	33
MATERIAL E MÉTODOS	34
Manutenção e criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	34
Cultivo dos fungos filamentosos.....	35
Bioensaio de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> expostas aos conídios de fungos filamentosos	38
Bioensaio de ingestão de <i>Spodoptera frugiperda</i> com suspensão de fungos filamentosos contendo conídios	38
Análises estatísticas	39
RESULTADOS	39
Bioensaio de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> expostas aos conídios de fungos filamentosos	39
Bioensaio de ingestão de <i>Spodoptera frugiperda</i> com suspensão de fungos filamentosos contendo conídios	40
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÃO.....	45

REFERENCIAS.....	
Artigo 2: Efeito de filtrados de fungos filamentosos na sobrevivência e desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	51
INTRODUÇÃO	52
MATERIAL E MÉTODOS	53
Manutenção e criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	53
Cultivo dos fungos filamentosos.....	54
Desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i> exposta aos filtrados de fungos.....	54
Análises estatísticas	55
RESULTADO.....	56
Sobrevivência das fases de lagarta, pupa e adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i> exposta filtrados de fungos	56
Duração do desenvolvimento das fases de lagarta, pupa e adultos de <i>Spodoptera frugiperda</i> exposta filtrados de fungos	59
Reprodução <i>Spodoptera frugiperda</i> exposta a filtrados de fungos.....	60
DISCUSSÃO	61
CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS.....	64
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Spodoptera frugiperda (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma praga agrícola que causa danos importantes, pois se alimenta e desenvolve nas folhas, caules e partes reprodutivas de mais de 350 espécies de plantas (PRASANNA, 2018). Além disso, sua notável capacidade de dispersão e adaptação, combinada com a preferência por diversas plantas hospedeiras, a torna uma ameaça persistente. Devido ao seu comportamento em campo, *S. frugiperda* é reconhecida como uma praga recorrente nas Américas, sendo as principais culturas atacadas: milho, sorgo, arroz, soja e culturas de fibras, como o algodão (MONTEZANO et al., 2018; OVERTON et al., 2021).

Além disso, a suscetibilidade aos métodos de controle varia de acordo com o estágio de desenvolvimento da *S. frugiperda*, apresentando maior vulnerabilidade nos primeiros íntares para a maioria das estratégias de controle, sendo o método químico o mais amplamente empregado, utilizando substâncias como espinosade, piretroides, inseticidas carbamatos e organofosforados. (SILVA, 1999; COSTA et al., 2005).

No entanto, o uso inadequado desses produtos, seja pela escolha incorreta do tipo de inseticida, pelo aumento das doses recomendadas, pela maior frequência de aplicações por safra/ano, ou ainda por variações no momento e na taxa de aplicação, pode comprometer sua eficácia, além de trazer consequências indesejáveis a saúde humana e para o meio ambiente e a saúde humana, favorecendo também o desenvolvimento de resistência pela *S. frugiperda* (CARVALHO et al., 2013; HUANG et al., 2014; SANTOS-AMAYA et al., 2015; LIRA et al., 2020; YANG; WANG; KERNS, 2022).

As lagartas desenvolvem diversos mecanismos de resistência aos inseticidas, como a detoxificação, que neutraliza ou elimina os efeitos dos produtos, além da produção de enzimas capazes de metabolizar essas substâncias antes que elas causem impacto. Esse fenômeno representa uma preocupação crescente e um desafio para a agricultura, pois, além dos produtos químicos, também pode afetar os produtos biológicos e as plantas transgênicas (CARVALHO et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2015).

Por isso, a pesquisa de produtos e estratégias de manejo que causem menor impacto ambiental, sejam eficientes e ajudem no controle da resistência, tem sido um foco de estudos recentes, como, por exemplo, o uso de fungos filamentosos no controle de pragas. Esses organismos desempenham diversos papéis nos ecossistemas, atuando como decompositores,

simbiontes, controladores naturais de pragas, fixadores de nitrogênio atmosférico e bioindicadores de poluição (KLEIN; PASCHKE, 2004).

Alguns desses microrganismos apresentam considerável potencial biotecnológico para aplicação nas indústrias farmacêutica e alimentícia, além de se destacarem na agricultura, especialmente no controle microbiano de insetos, onde atuam como principais agentes causadores de doenças, sendo classificados como entomopatogênicos (KHAN et al., 2014).

Diversos fungos, como *Aspergillus* sp., *Cladosporium tenuissimum*, *Penicillium citrinum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Syncephalastrum racemosum* entre outros, tiveram sua eficácia comprovada contra estágios imaturos de *S. frugiperda*, além de reduzir sua eficiência alimentar (IDREES et al., 2021; IDREES et al., 2023).

Além disso, os fungos têm a capacidade de produzir diversos metabólitos secundários biologicamente ativos, que podem afetar os insetos de várias maneiras, incluindo ação neurotóxica, interferência no metabolismo, atividade antimicrobiana, danos à cutícula, efeitos repelentes ou atrativos, inibição de enzimas digestivas e ação imunossupressora (LIU; LI, 2004; ROHLFS; CHURCHILL, 2011; PASCHAPUR et al., 2021).

Os metabólitos secundários têm sido explorados como alternativa promissora aos pesticidas químicos tradicionais, devido à sua especificidade, baixa toxicidade para organismos não-alvo e potencial sustentável. Nesse contexto, microrganismos como os fungos filamentosos se destacam, devido aos diversos fatores de virulência que possuem, conferindo-lhes um grande potencial no controle de insetos (CHÁVEZ et al., 2012; WENG et al., 2019).

Estudos realizados por Abdullah, Abd El-Wahab e El-Salam (2024) utilizando os fungos entomopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *Verticillium lecanii*, demonstraram efeito tóxico contra lagartas de *S. frugiperda*, devido à produção de compostos com atividade inseticida na cultura líquida como ácido n-hexadecanóico ácido octadecadienoico ácido tetrâmico selinano e éster metílico do ácido ricinoleico.

Sabendo do enorme potencial desses patógenos e metabólitos secundários para o controle de *S. frugiperda*, o objetivo do trabalho foi avaliar: (a) a virulência de fungos filamentosos a lagartas de 1º e 3º instar de *S. frugiperda* resistente e suscetível a proteínas Cry, (b) avaliar o efeito de filtrados de fungos filamentosos no desenvolvimento e reprodução de *S. frugiperda*. A hipótese é que esses fungos filamentosos tenham potencial de virulência e capacidade de controlar e afetar o desenvolvimento de *S. frugiperda*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Spodoptera frugiperda* (Lagarta-do-cartucho)

Spodoptera frugiperda, conhecida como lagarta-do-cartucho, é classificada na ordem Lepidoptera, família Noctuidae. O gênero *Spodoptera*, que engloba cerca de 31 espécies distribuídas em seis continentes. Aproximadamente 15 dessas espécies, incluindo *S. frugiperda*, são consideradas pragas significativas para diversas plantas cultivadas (POGUE, 2002), por ser um herbívoro altamente polífago, cujas larvas podem se alimentar das partes aéreas de uma ampla variedade de espécies cultivadas e plantas selvagens.

Esta espécie tem origem em áreas tropicais e subtropicais das Américas. Sua distribuição abrange grande parte da América do Sul e Central, o Caribe e partes do sul do Texas e da Flórida. Além disso, é conhecida por ser uma migrante sazonal vigorosa, causando danos temporários em regiões temperadas das Américas do Norte e do Sul (KENIS et al., 2023).

Um levantamento recente, feito por Montezano et al. (2018), indicou que essa praga pode se alimentar de 353 plantas hospedeiras pertencentes a 76 espécies de diversas famílias botânicas, sendo as Poaceae as mais comuns, seguidas por Asteraceae e Fabaceae.

O milho é reconhecido como o principal hospedeiro de *S. frugiperda*. Essa praga pode causar perdas significativa pois, se alimenta da planta de milho em todas as fases de crescimento, apresentando preferência pelos cartuchos de plantas mais jovens sendo estágio vegetativo o período mais crítico de ataque, podendo reduzir a produção de milho em até 20% (CRUZ, 2013).

O significativo número de ovos por oviposição da *S. frugiperda*, juntamente com a habilidade das larvas jovens de se dispersarem, principalmente em outras plantas próximas após uma fase inicial de alimentação, contribui para a ampla disseminação da praga., conforme documentado por Sokame et al. (2020). Além disso, o elevado número de plantas hospedeiras presentes no sistema de cultivo intensivo têm favorecido a sobrevivência e o crescimento populacional dessa praga, que ataca várias culturas economicamente importantes em muitos países (OVEJERO 2001).

Esse inseto passa por metamorfose completa, envolvendo quatro fases em seu ciclo de vida: ovo, larva, pupa e adultos. As fêmeas adultas depositam seus ovos na forma de uma massa recoberta por escamas, aparentemente sem uma preferência específica por um local na planta. Essa não-discriminação na escolha do local de oviposição pode ser atribuída à

natureza polífaga da larva, significando que, independentemente do local onde os ovos são colocados, a larva tem alta probabilidade de encontrar uma fonte alimentar adequada. No milho, normalmente os ovos são depositados na superfície foliar e na base da planta (CRUZ, 1995).

Imediatamente após a eclosão, as larvas recém-nascidas secretam um fio de seda e se dispersam para as plantas vizinhas através do vento. As larvas iniciam sua alimentação nos tecidos verdes, causando o sintoma conhecido como "folhas raspadas", especialmente durante os primeiros instares. Esse padrão é uma indicação clara da presença de larvas jovens na planta. À medida que as larvas crescem, consomem uma parte significativa do limbo foliar, podendo causar danos consideráveis, principalmente entre o quarto e o sexto ínstar, podendo destruir pequenas plantas ou causar danos severos em plantas maiores (CRUZ, 1995). Estudos indicam que o inseto passa por 5-6 instares larvais, com uma média de duração de 3, 2, 2, 2 e 2 dias sob temperatura ambiente de 25°C (GALLEGOS; MARONEZE, 2009).

A incidência da lagarta-do-cartucho acontece no início do período vegetativo, e se estende durante todo período de desenvolvimento, já no final encontra-se de uma a duas lagartas no máximo, em regiões diferentes das plantas, pois elas apresentam comportamento de canibalismo (CRUZ, 1995).

Ao concluir o período larval, as lagartas entram na fase de pupa no solo, permanecendo até a emergência dos adulto. A fase de pupa tem uma duração aproximada de 11 dias. A mariposa adulta de *S. frugiperda* tem 4 cm de envergadura e uma coloração cinza-escura. Apresenta dimorfismo sexual nas asas anteriores, com fêmeas de coloração marrom-acinzentada uniforme e manchas pouco nítidas, enquanto os machos têm coloração mais escura com manchas brancas características. Essas mariposas possuem hábito noturno e se escondem durante o dia na planta de milho. Elas são mais ativas durante as horas da noite (CRUZ, 1995; GALLEGOS; MARONEZE, 2009).

O ciclo de vida varia de 30 a 50 dias, dependendo da temperatura, sendo mais curto no verão. O número de gerações pode chegar a seis ou mais em regiões onde o inseto sobrevive o ano todo (CRUZ, 1995; GALLEGOS; MARONEZE, 2009). O desenvolvimento dessa espécie de inseto está intrinsecamente ligado a diversos fatores, que englobam tanto a fisiologia quanto o comportamento dos insetos, além de aspectos ecológicos. A quantidade e a qualidade dos alimentos ingeridos durante a fase larval exercem impacto significativo na taxa de crescimento, desenvolvimento, peso corporal e sobrevivência dessa praga. Adicionalmente, esses fatores também influenciam a fecundidade e longevidade dos adultos (SCRIBER; SLANSKY, 1981).

2.2 Métodos de controle

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) é reconhecido como uma das abordagens mais eficazes para o controle de pragas, integrando diversas técnicas adequadas, como aquelas de natureza química, biológica e genética. O objetivo é manter a população da praga em níveis que não causem danos econômicos (WAQUIL; VIANA; CRUZ, 2021), com a mínima interferência nos ecossistemas e nos recursos naturais.

A boa capacidade migratória do inseto aliada a anatomia do cartucho da planta, que proporciona proteção para a lagarta, fazem com que seu controle seja dificultado. O controle dessa praga demanda consideráveis investimentos e a sua presença pode resultar em perdas significativas, chegando a atingir até 60% na produção (CRUZ et al., 2011).

O manejo da lagarta-do-cartucho envolve principalmente o uso de produtos químicos, que têm sido praticados há várias décadas (MURARO et al. 2021). Práticas como o tratamento de sementes e a aplicação de inseticidas nas folhas são comuns nesse contexto. Contudo, na tentativa de minimizar os prejuízos causados por essas lagartas, frequentemente, os resultados esperados não são alcançados devido à dificuldade em atingir as lagartas no interior do cartucho da planta. Além da falta de ajuste adequado dos equipamentos, a seleção inadequada dos inseticidas químicos e a condução, por vezes inadequadas da cultura, têm contribuído para o aumento do número médio de aplicações, sem garantir um controle eficaz (FIGUEIREDO; CRUZ; DELLA LUCIA, 1999). Isso resulta na elevação dos custos de produção e no aumento dos riscos de contaminação ambiental (CORREIA et al., 2009; MENDES et al., 2011).

Diferentes grupos químicos de inseticidas têm sido testados e utilizados para reduzir a população da lagarta do cartucho nas plantações. Conforme Toscano et al. (2012), o inseticida Lufenurom®, classificado como regulador do crescimento de insetos, mostrou-se altamente eficaz no controle da lagarta do cartucho, com menor impacto negativo sobre a população de agentes biológicos em comparação com o organofosforado clorpirifós. Oliveira e Nunes (2017) observaram que inseticidas como piretróides (lambda-cialotrina), flubendiazinas (diamidas) e organofosforados (profenofós) foram eficazes no controle da lagarta do cartucho.

Porém, o uso indiscriminado de inseticidas tem efeitos indesejáveis para a saúde e o ambiente, além do risco de desenvolvimento de resistência à várias classes de inseticidas como, por exemplo, os organofosforados, carbamatos, piretróides e benzoilureias

(CARVALHO et al., 2013; GUTIÉRREZ-MORENO et al. 2019; HARRISON et al. 2019; MURARO et al. 2021), desta forma o estudo de novas ferramentas de controle para o MIP torna-se necessário.

A utilização da biotecnologia no aprimoramento de novas variedades de plantas tem se mostrado uma estratégia crucial no setor agrícola, tanto no Brasil quanto globalmente, para enfrentar a crescente necessidade de aumento da produtividade (CARRER; BARBOSA; RAMIRO, 2010). Com o objetivo de desenvolver espécies com resistência a pragas, insetos, herbicidas, além de melhorias nutricionais e a criação de plantas isentas de compostos alergênicos, as alterações na composição genética das plantas resultam nas conhecidas culturas geneticamente modificadas (GM) ou transgênicas (CORUJO et al., 2019).

2.2.1 *Bacillus thuringiensis*

A biotecnologia tem proporcionado a identificação de um grande número de genes com potencial para aprimorar a genética de cultivares agrônomicas, incluindo a aplicação da transformação genética por meio da transferência de genes das bactérias *Bacillus thuringiensis* (CARRER; BARBOSA; RAMIRO, 2010).

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria gram-positiva, encontrada naturalmente no solo, e esporulante com capacidade de se desenvolver em ambientes aeróbicos ou facultativamente anaeróbicos. Durante o processo de esporulação, a bactéria produz proteínas que se agregam para formar inclusões cristalinas no interior da célula (SCHNEPF et al., 1998; CHAKRABARTY et al., 2022). Os cristais podem ser constituídos por uma única proteína Cry ou até mesmo por múltiplas proteínas Cry, também conhecidas como δ -endotoxinas. Além das proteínas Cry, essas bactérias sintetizam diversas outras proteínas com atividade inseticida, as quais são secretadas no ambiente circundante (CRUZ et al., 2011; FIUZA; POLANCZYK; CRICKMORE, 2017).

Ao serem ingeridas por lagartas suscetíveis, essas proteínas se dissolvem no ambiente alcalino do intestino ativando a toxina. Em seguida, ela se liga a receptores específicos na membrana das células do epitélio do intestino, levando à formação de poros líticos nas microvilosidades apicais. Essa ação compromete o equilíbrio osmótico das células epiteliais, que se incham e se rompem, levando o inseto a morte pela dificuldade de alimentação (DE MAAGD, 2001; BRAVO et al., 2011; CRUZ et al., 2011). Atualmente, existem mais de 800 sequências de genes cry descritos, classificadas em 75 grupos (CRICKMORE et al., 2021).

Uma das principais estratégias de controle da *S. frugiperda*, é uso de plantas geneticamente modificadas (VERTUAN et al., 2017). Os principais países produtores de milho como Brasil, Estados Unidos e Argentina tem o uso de milho transgênico expressando as proteínas de Bt como o método mais comumente utilizado para o manejo de *S. frugiperda* (BUNTIN et al. 2001; FARIAS et al. 2014; CHANDRASENA et al. 2018).

No entanto, a utilização inadequada de cultivos Bt expõe as proteínas a uma maior pressão seletiva, elevando o risco de desenvolvimento de resistência em insetos-alvo, incluindo *S. frugiperda* (HORIKOSHI et al., 2016; OMOTO et al., 2016; TABASHNIK; CARRIENE, 2013). No Brasil, já foram registrados casos de resistência em populações de *S. frugiperda* em relação ao milho Bt que expressa as proteínas Cry 1F (FARIAS et al., 2014) e Cry 1Ab (OMOTO et al., 2016).

Dessa forma, novas tecnologias devem ser estudadas como complemento a esta tecnologia para aumentar o custo de adaptação da resistência, uma vez que esse processo pode ser amplamente influenciado por interações intraespecíficas e interespecíficas (GASSMANN et al., 2006). Os entomopatógenos podem ser afetados pelos fatores de resistência da planta hospedeira, como ocorre com os fungos, que têm o potencial de intensificar a mortalidade causada pela toxina presente na planta Bt (LAWO et al., 2008).

2.2.2 Fungos filamentosos

O desenvolvimento de resistência de insetos pragas aos métodos de controle convencionais evidencia a importância da utilização direta de microrganismos no MIP (ALVES, 1998; FIUZA; POLANCZYK; CRICKMORE, 2017).

Os fungos filamentosos são organismos pertencentes ao Reino Fungi, caracterizados pela presença de filamentos ramificados chamados hifas, responsáveis pelo crescimento do fungo (MAIA et al., 2015). Este grupo é composto por uma grande diversidade de espécies, com o número estimado de espécies descritas variando entre 72.000 e 120.000 (TEDERSOO et al., 2014). No Brasil, são identificadas aproximadamente seis mil espécies, distribuídas entre 1.246 gêneros, 102 ordens e 13 divisões (MAIA et al., 2015).

Os fungos de maior relevância pertencem aos filos Zygomycota, Ascomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Basidiomycota e Deuteromycota, sendo Zygomycota e Ascomycota os mais diversos e amplamente utilizados em diversas áreas (ALVES, 1998). São altamente diversos e amplamente distribuídos em diversos ambientes, como solo, água,

matéria orgânica em decomposição e até em condições extremas (HAGESKAL; LIMA; SKAAR, 2009; LEE et al., 2012; HAWKSWORTH; LÜCKING, 2017).

Esses microrganismos desempenham papéis cruciais em diversos ecossistemas e setores econômicos. No meio ambiente, esses organismos contribuem para a decomposição de matéria orgânica e a ciclagem de nutrientes, enquanto na agricultura, possuem importância ao se associarem a plantas, seja como patógeno ou simbiótico endofítico, e a insetos, destacando-se os que atuam como agentes de controle biológico de pragas, utilizando sua capacidade de infectar insetos e outros organismos indesejáveis (FRAGA; GERVASIO 2012).

Além disso, os fungos filamentosos têm grande importância na biotecnologia, especialmente na produção de enzimas industriais, alimentos fermentados e na síntese de compostos bioativo (CROUS et al., 2009), devido à diversidade de atividades catalíticas, capacidade de adaptação e potencial para a produção escalonada de enzimas por meio de processos fermentativos em larga escala (BON et al., 2008).

A maioria dos fungos apresenta vias bioquímicas distintas, que resulta na produção de metabólitos característicos ou específicos de uma determinada espécie, conhecidos como metabólitos secundários (MEYER, 2008; MEYER et al., 2016; XU et al., 2021; PARDO et al., 2022; KELLER; TURNER; BENNETT, 2005; KELLER, 2019).

Metabólitos secundários podem ser definidos como compostos químicos resultantes de vias biossintéticas específicas, cuja produção não é necessária para o crescimento e desenvolvimento normais do fungo em laboratório. No entanto, eles estão presentes em inúmeras espécies e, portanto, sua persistência na evolução implica um benefício competitivo na natureza (ÁVALOS; LIMÓN, 2022).

Atualmente, mais de 20.000 metabólitos secundários (MS) diferentes de origem fúngica foram identificados, abrangendo uma ampla gama de estruturas, como policetídeos, peptídeos, terpenos, alcalóides e moléculas híbridas (KUHNERT; COLLEMARE, 2022). Apesar de exibirem uma notável diversidade em estruturas químicas e atividades biológicas, as vias biossintéticas desses compostos compartilham uma série de características chave, ainda pouco compreendidas (KRASNOFF et al., 2007; LI et al., 2016; VAN DER LEE; MEDEMA, 2016).

A produção de metabólitos secundários é um processo complexo onde muitas vezes está associado ao desenvolvimento morfológico em fungos filamentosos, como por exemplo, os processos de esporulação, que são ligados à síntese de metabólitos por cascatas de sinalização (CALVO et al., 2002; KELLER; TURNER; BENNETT, 2005).

Além disso, desempenham funções de comunicação, defesa química, interação simbiótica e ataque a outras espécies através da produção de compostos tóxicos, ou ainda para neutralizar os mecanismos de defesa do hospedeiro (SPITELLER, 2015; PASCHAPUR et al., 2021). Acredita-se que os metabolitos secundários facilitam a adaptabilidade dos fungos nos seus habitats naturais, servindo como moléculas sinalizadoras nas interações fungo-planta ou fungo-inseto, e atuam como protetores de estresse (SHWAB; KELLER, 2008; PASCHAPUR et al., 2021). A ampla diversidade de produtos que podem ser obtidos a partir de fungos filamentosos, aliada à sua capacidade de crescerem em substratos simples e de baixo custo, torna esses organismos uma opção altamente atrativa para exploração comercial em diversas indústrias (MEYER et al., 2016).

Dentre os compostos que são produzidos por estes organismos, destacam-se ácidos orgânicos, enzimas, exopolissacarídeos, metabólitos secundários, antimicrobianos, antioxidantes, pigmentos naturais, entre outros (MEYER et al., 2016). Desde então, esses microrganismos representam fontes de novas moléculas que podem ser utilizadas para a produção de medicamentos, alimentos e na agricultura (DORNELAS et al., 2017). Dentre os fungos filamentosos de importância agrícola, destacam-se os fungos endofíticos, entomopatogênicos e micoparasitas (ALVES, 1998; XU et al., 2021).

Endófitos são microrganismos que habitam tecidos vegetais vivos e saudáveis, sem provocar sintomas de doenças nas plantas hospedeiras. Ao passar todo ou parte do seu ciclo de vida colonizando tecidos vegetais saudáveis, podem competir nutricionalmente com patógenos, sintetizar antibióticos e induzir mecanismos de resistência, desempenhando um papel crucial na proteção das plantas contra patógenos e pragas (WANI et al., 2015; LUBNA et al., 2018). Fungos endofíticos têm a capacidade de promover o crescimento da planta hospedeira através da produção de fitohormônios, aumentando a resistência da planta a diversos estresses (LUBNA et al., 2018; ABDELAZIZ et al., 2022). Além disso, podem sintetizar pesticidas que ajudam a proteger as plantas contra herbívoros (DESHMUKH; KHARDENAVIS; PUROHIT, 2016). Estes fungos filamentosos são amplamente estudados, pois, além de produzirem compostos bioativos que conferem proteção a planta contra patógenos e herbívoros, podem até mesmo, produzir compostos semelhantes aos produzidos pela própria planta hospedeira (BAMISILE et al., 2018; ALY; DEBBAB; PROKSCH, 2011).

Esses microorganismos foram identificados em todas as espécies de plantas investigadas, e acredita-se que a natureza abrigue mais de um milhão de espécies distintas e, aproximadamente, 300.000 espécies de plantas na Terra podem hospedar endófitos (STROBEL; DAISY, 2003). Desde que o primeiro fungo endofítico foi identificado, muita

atenção tem sido dada ao potencial de exploração e identificação de novos compostos. Muitos desses compostos já foram isolados e caracterizados a partir de fungos endofíticos, apresentando atividades biológicas como, antimicrobiana, antiparasitária, antioxidante, citotóxica, entre outras (ALY; DEBBAB; PROKSCH, 2011). Além disso, há registros de que alguns fungos endofíticos sintetizam mais de doze metabólitos que se assemelham aos produzidos pelas plantas hospedeiras. Esses compostos incluem alcaloides, flavonoides, saponinas, peptídeos, ácidos fenólicos, terpenos, esteroides e outros compostos ativos. Essa descoberta é considerada uma fonte promissora para o desenvolvimento de novos compostos (SINGH et al., 2021).

A utilização de fungos filamentosos no controle de pragas e doenças agrícolas é denominada controle microbiano, e se baseia na aplicação direta destes microrganismos nas lavouras, é uma abordagem ecológica e sustentável que entra como método de controle alternativo ao controle químico convencional (ALVES, 1998; ROHLFS; CHURCHILL, 2011). O crescente aumento de pesquisas que visam o desenvolvimento de produtos à base de microrganismos se deve ao fato do aumento da conscientização ambiental, aos danos causados por uso de substâncias químicas no homem e ao meio ambiente e, também, a maior exigência do mercado externo (ZANUNCIO et al., 2016).

A diversidade estrutural de compostos biologicamente ativos presentes em fungos entomopatogênicos é extremamente ampla. Esses compostos têm sido amplamente investigados em fungos dos gêneros *Beauveria* (especialmente *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii* e *B. felina*) e *Metarhizium* (*M. anisopliae*, *M. acridum*, *M. robertsii* e *M. brunneum*), além de gêneros como *Cordyceps*, *Paecilomyces* e *Tolypocladium* (BERESTETSKIY; HU, 2021).

Nos últimos anos, as pesquisas sobre a aplicação de fungos filamentosos e seus metabólitos secundários cresceram de forma expressiva, evidenciando seu potencial no manejo de pragas agrícolas e em diversas áreas biotecnológicas. Atualmente, o emprego de espécies fúngicas como bioinseticidas e bioherbicidas tem se intensificado no contexto do controle biológico de pragas, proporcionando uma abordagem ambientalmente segura (QUINN, 2013; DORNELAS et al., 2017).

Uma das principais vantagens associadas ao uso de microrganismos ou de seus compostos bioativos decorre da especificidade desses produtos, proporcionando segurança em relação a organismos não-alvo da tecnologia. Além disso, esses microrganismos e compostos bioativos, com potencial para o manejo de pragas e doenças, são comuns na maioria dos

agroecossistemas, o que torna a aplicação desses produtos no ambiente uma prática segura (ALVES, 1998).

Dentre os compostos sintetizados por fungos filamentosos estão também os inibidores de acetilcolinesterase, que podem ser uma alternativa ao uso de inseticidas químicos, podendo ter a possibilidade de agregar atividades biológicas com antimicrobianas (LIMA et al., 2018).

Entre as pequenas moléculas bioativas sintetizadas por fungos do gênero *Beauveria*, destacam-se: ácidos orgânicos (como o ácido oxálico), policetídeos (oosporeína), macrolactonas (cefalosporolídeos), alcaloides (tenelina, bassianina, beauversetina, entre outros) e depsipeptídeos cíclicos (beauvericinas, beauverolídeos). Compostos como beauvericina, alguns beauverolídeos e a oosporeína já foram avaliados por suas atividades inseticidas (BERESTETSKIY; HU, 2021).

Os fungos do gênero *Metarhizium* também produzem diversos metabólitos bioativos, incluindo depsipeptídeos (destruxinas), alcaloides (fungerinas, citocalasinas, swainsonina), terpenoides (viridoxinas, ovalicina), sideróforos (metaquelinas) e policetídeos (aurovertinas, ácido kójico). Estudos metabolômicos identificaram ainda alcaloides (hirsutelonas A-C e ergocaloides), macrolactonas (torrubiellutinas A-C), naftoquinonas (naftgeraninas B-D) e tricotecanos (espirotenuipesinas A e B). Compostos como destruxina A e E, viridoxina A e outros demonstraram propriedades inseticidas (BERESTETSKIY; HU, 2021).

No caso de fungos do gênero *Cordyceps* sensu lato, compostos como cordicepina, fomalactona e beauvericina, produzidos por espécies como *C. militaris*, *C. cicadae* e *Ophiocordyceps communis*, respectivamente, exibiram propriedades anti-insetos (BERESTETSKIY; HU, 2021).

Recentemente, novas espécies de actinomicetos foram isoladas de cavernas e, esses estudos confirmam que as cavernas podem ser excelentes fontes de novos microrganismos, capazes de produzir compostos bioativos (LEE et al., 2012; NIRLANE DA COSTA SOUZA et al., 2016). Eles se desenvolvem em condições extremas, pobres em nutrientes, temperatura e intensidade luminosa, porém a alta umidade favorece o desenvolvimento destes microrganismos (NAKAEW; PATHOM-AREE; LUMYONG, 2009; TAYLOR; STOIANOFF; FERREIRA, 2013). Esses fatores podem promover a competição entre as espécies de microrganismos, intensificando a pressão de seleção. Isso, por sua vez, estimula a produção de substâncias com propriedades bioativas, como antibióticos e enzimas hidrolíticas, que podem inibir o crescimento de outros microrganismos.

Com isso, fica evidenciada que essas características particulares façam com que esses fungos possam produzir diversas substâncias com propriedades bioativas, podendo ser

eficientes no controle de insetos praga. Portanto, torna-se essencial a exploração de novos isolados ou de compostos derivados de microrganismos, especialmente fungos filamentosos, que possam ser empregados como estratégia de controle biológico, uma vez que o potencial desses microrganismos já está amplamente reconhecido.

REFERÊNCIAS

ABDELAZIZ, A. M.; EL-WAKIL, D. A.; ATTIA, M. S.; ALI, O. M.; ABDELGAWAD, H.; HASHEM, A. H. Inhibition of *Aspergillus flavus* Growth and Aflatoxin Production in *Zea mays* L. Using Endophytic *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 5, p. 482, 2022. doi: 10.3390/jof8050482.

ABDULLAH, R.R.H.; ABD EL-WAHAB, A.H.; ABD EL-SALAM, S.A. Insecticidal activity and possible modes of action of secondary metabolites of some fungal strains and wild plants as natural pesticides against *Spodoptera frugiperda*. **Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci** **13**, 9, 2024. <https://doi.org/10.1186/s43088-024-00467-z>

ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.

ALY, A.H.; DEBBAB, A.; PROKSCH, P. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. **Applied microbiology and biotechnology**, 90, 1829-1845, 2011.

AVALOS, J.; LIMÓN, M.C. Fungal Secondary Metabolism. **Encyclopedia**, 2, 1-13, 2022. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2010001>

BAMISILE, B. S.; DASH, C. K.; AKUTSE, K. S.; KEPPANAN, R.; WANG, L. Fungal Endophytes: Beyond Herbivore Management. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.00544.

BERESTETSKIY, A.; HU, Q. The Chemical Ecology Approach to Reveal Fungal Metabolites for Arthropod Pest Management. **Microorganisms**, 9, 1379, 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071379>

BON, E. P. S.; CORVO, M. L.; VERMELHO, A. B.; PAIVA, C. L. A.; FERRARA, M. A.; COELHO, R. R. R.; DE ALENCASTRO, R. B. **Enzimas em Biotecnologia: Produção, Aplicações e Mercado**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2008.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 7, p. 423–431, 2011. doi: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006.

BUNTIN, G.D.; LEE, R.D.; WILSON, D.M.; MCPHERSON, R.M. Evaluation of Yieldgard Transgenic Resistance for Control of Fall Armyworm and Corn Earworm (Lepidoptera: Noctuidae) on Corn. *Florida Entomol* 84:37, 2001. <https://doi.org/10.2307/3496660>

CALVO, A. M.; WILSON, R. A.; BOK, J. W.; KELLER, N. P. Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 66, n. 3, p. 447–459, 2002. doi: 10.1128/MMBR.66.3.447-459.2002.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 149–164, 2010. doi: 10.1590/S0103-40142010000300010.

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, n. 4, p. e62268, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0062268.

CHAKRABARTY, S.; CHAKRABORTY, P.; ISLAM, T.; AMINUL ISLAM, A. K. M.; DATTA, J.; BHATTACHARJEE, T.; MINGHUI, J.; XIAO, Y. *Bacillus thuringiensis* Proteins: Structure, Mechanism and Biological Control of Insect Pests. In: **Bacilli in Agrobiotechnology: Plant Stress Tolerance, Bioremediation, and Bioprospecting**. Cham: Springer International Publishing, p. 581–608. 2022.

CHÁVEZ, K. G. F.; CRUZ, H. M.; MAYAGOITIA, J. F. C.; CRUZ, V. H. M. Enzimas y toxinas de hongos entomopatógenos, su aplicación potencial como insecticidas y fungicidas. **Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente**, v. 12, n. 23, p. 18, 2012.

CHANDRASENA, D. I., SIGNORINI, A. M., ABRATTI, G., STORER, N. P., OLACIREGUI, M. L., ALVES, A. P., PILCHER, C. D. Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis* -derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina. *Pest Manag Sci* 74:746–754, 2018. <https://doi.org/10.1002/ps.4776>

CORREIA, A. A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, Á. A. C.; OLIVEIRA, J. V. de; TORRES, J. B. Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 83–91, 2009. doi: 10.1590/S1519-566X2009000100008.

CORUJO, M.; PLA, M.; VAN DIJK, J.; VOORHUIJZEN, M.; STAATS, M.; SLOT, M.; LOMMEN, A.; BARROS, E.; NADAL, A.; PUIGDOMÈNECH, P.; PAZ, J. L. La; VAN DER VOET, H.; KOK, E. Use of omics analytical methods in the study of genetically modified maize varieties tested in 90 days feeding trials. **Food Chemistry**, v. 292, p. 359–371, 2019. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.05.109.

COSTA, M. A. G.; GRÜTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. da S.; COSTA, E. C.; STORCH, G.; STEFANELLO JÚNIOR, G. J. Eficácia de diferentes inseticidas e de volumes de calda no controle de *Spodoptera frugiperda* nas culturas do milho e sorgo cultivados em várzea. **Ciência Rural**, v. 35, n. 6, p. 1234–1242, 2005.

CRICKMORE, N.; BERRY, C.; PANNEERSELVAM, S.; MISHRA, R.; CONNOR, T.R.; BONNING, B.C. A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. **Journal of invertebrate pathology**, 186, 107438, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107438>

CROUS, P. W.; VERKLEY, G. J. M.; GROENEWALD, J. Z.; SAMSON, R. A. Fungal Biodiversity. CBS Laboratory Manual Series. **Utrecht: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute**, 2009.

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

CRUZ, J. C.; MAGALHAES, P. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; MOREIRA, J. A. A. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Milho e Sorgo, 2011.

CRUZ, I. Desafio complexo – Manejo de lagartas no advento de tecnologias Bt. *Rev Cultiv Gd Cult* 1:7–11, 2013

DE MAAGD, R. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in Genetics**, v. 17, n. 4, p. 193–199, 2001. doi: 10.1016/S0168-9525(01)02237-5.

DESHMUKH, R.; KHARDENAVIS, A. A.; PUROHIT, H. J. Diverse Metabolic Capacities of Fungi for Bioremediation. **Indian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 3, p. 247–264, 2016. doi: 10.1007/s12088-016-0584-6.

DORNELAS, A. S. P.; SARMENTO, R. de A.; PEDRO-NETO, M.; SILVA, D. G.; SANTOS, G. R.; NASCIMENTO, M. O.; OLIVEIRA, C. A.; SOUZA, D. J. Susceptibility of *Atta sexdens* worker ants treated with the immunosuppressant Sandimmun Neoral to *Metarhizium anisopliae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 2, p. 133–136, 2017. doi: 10.1590/s0100-204x2017000200008.

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150–158, 2014. doi: 10.1016/j.cropro.2014.06.019.

FIGUEIREDO, M. D. L. C.; CRUZ, I.; DELLA LUCIA, T. M. C. Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* Smith utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* Nixon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 11, p. 1975–1982, 1999. doi: 10.1590/S0100-204X1999001100001.

FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. (ed.). **Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus**. Cham: Springer International Publishing, 2017.

FRAGA, M. E.; GERVASIO, P. M. Diversidade de *Trichocomaceae* Isolada de Solo e Serrapilheira de Floresta Atlântica. **Floresta e Ambiente**, v. 19, n. 4, p. 405–413, 2012. doi: 10.4322/floram.2012.045.

GALLEGOS, D. M. N.; MARONEZE, D. M. Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 3, p. 537, 2009. doi:

10.5433/1679-0359.2009v30n3p537.

Gassmann, A.J.; Stock, S.P.; Carrière, Y.; Tabashnik, B.E. Effect of entomopathogenic nematodes on the fitness cost of resistance to Bt toxin Cry1Ac in pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Economic Entomology**, 99(3), 920-926, 2006.

GUTIÉRREZ-MORENO, R., MOTA-SANCHEZ, D., BLANCO, C. A., WHALON, M. E., TERÁN-SANTOFIMIO, H., RODRIGUEZ-MACIEL, J. C., DIFONZO, C. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of economic entomology**, 112(2), 2019 792-802.

HAGESKAL, G.; LIMA, N.; SKAAR, I. The study of fungi in drinking water. **Mycological Research**, v. 113, n. 2, p. 165–172, 2009. doi: 10.1016/j.mycres.2008.10.002.

HARRISON, R. D., THIERFELDER, C., BAUDRON, F., CHINWADA, P., MIDEGA, C., SCHAFFNER, U., VAN DEN BERG, J. Agro-ecological options for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* JE Smith) management: Providing low-cost, smallholder friendly solutions to an invasive pest. **Journal of environmental management**, 243:318–330. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.011>

HAWKSWORTH, D. L.; LÜCKING, R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, 2017. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; OKUMA, D. M.; FARIAS, J. R.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S. A.; OMOTO, C. Near-Isogenic Cry1F-Resistant Strain of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to Investigate Fitness Cost Associated With Resistance in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 2, p. 854–859, 2016. doi: 10.1093/jee/fov387.

HUANG, F.; QURESHI, J. A.; MEAGHER, R. L.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D. A.; NI, X.; KERNS, D.; BUNTIN, G. D.; NIU, Y.; YANG, F.; DANGAL, V. Cry1F Resistance in Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single Gene versus Pyramided Bt Maize. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. e112958, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0112958.

IDREES, A.; QADIR, Z.A.; AKUTSE, K.S.; AFZAL, A.; HUSSAIN, M.; ISLAM, W.; WAQAS, M.S.; BAMISILE, B.S.; LI, J. Effectiveness of Entomopathogenic Fungi on Immature Stages and Feeding Performance of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. **Insects**, 12, 1044, 2021 <https://doi.org/10.3390/insects12111044>

IDREES, A.; AFZAL, A.; QADIR, Z. A.; LI, J. Virulence of entomopathogenic fungi against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Frontiers in Physiology**, 14, 1107434, 2023 <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1107434>

KELLER, N. P. Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 167–180, 2019. doi: 10.1038/s41579-018-0121-1.

KELLER, N. P.; TURNER, G.; BENNETT, J. W. Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, n. 12, p. 937–947, 2005. doi: 10.1038/nrmicro1286.

KENIS, M.; BENELLI, G.; BIONDI, A.; CALATAYUD, P.-A.; DAY, R.; DESNEUX, N.; HARRISON, R. D.; KRITICOS, D.; RWOMUSHANA, I.; VAN DEN BERG, J.; VERHEGGEN, F.; ZHANG, Y.-J.; AGBOYI, L. K.; AHISSOU, R. B.; BA, M. N.; WU, K. Invasiveness, biology, ecology, and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Generalis**, v. 43, n. 2, p. 187–241, 2023. doi: 10.1127/entomologia/2022/1659.

KHAN, A. A.; BACHA, N.; AHMAD, B.; LUTFULLAH, G.; FAROOQ, U.; COX, R. J. Fungi as chemical industries and genetic engineering for the production of biologically active secondary metabolites. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 11, p. 859–870, 2014. doi: 10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0230.

KLEIN, D.A.; PASCHKE, M.W. Filamentous Fungi: the Indeterminate Lifestyle and Microbial Ecology. **Microbial Ecology**, 47, 224–235, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-1037-4>

KRASNOFF, S. B.; KERESZTES, I.; GILLILAN, R. E.; SZEKENYI, D. M. E.; DONZELLI, B. G. G.; CHURCHILL, A. C. L.; GIBSON, D. M. Serinocyclins A and B, Cyclic Heptapeptides from *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p. 1919–1924, 2007. doi: 10.1021/np070407i.

KUHNERT, E.; COLLEMARE, J. A genomic journey in the secondary metabolite diversity of fungal plant and insect pathogens: From functional to population genomics. **Current Opinion in Microbiology**, 69, 102178, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102178>

LAWO, N.C.; MAHON, R.J.; MILNER, R.J.; SARMAH, B; K.; HIGGINS, T.J.V.; ROMEIS, J. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis*-Transgenic Chickpeas and the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* in Controlling *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Appl Environ Microbiol**, 74, 2008. <https://doi.org/10.1128/AEM.00484-08>

LEE, N. M.; MEISINGER, D. B.; AUBRECHT, R.; KOVACIK, L.; SAIZ-JIMENEZ, C.; BASKAR, S.; BASKAR, R.; LIEBL, W.; PORTER, M. L.; ENGEL, A. S. Caves and karst environments. In: **Life at extremes: environments, organisms and strategies for survival**. UK: CABI, 2012. p. 320–344. 2012.

LI, Y. F.; TSAI, K. J. S.; HARVEY, C. J. B.; LI, J. J.; ARY, B. E.; BERLEW, E. E.; BOEHMAN, B. L.; FINDLEY, D. M.; FRIANT, A. G.; GARDNER, C. A.; GOULD, M. P.; HA, J. H.; LILLEY, B. K.; MCKINSTRY, E. L.; NAWAL, S.; PARRY, R. C.; ROTHCHILD, K. W.; SILBERT, S. D.; TENTILUCCI, M. D.; THURSTON, A. M.; WAI, R. B.; YOON, Y.; AIYAR, R. S.; MEDEMA, M. H.; HILLENMEYER, M. E.; CHARKOUDIAN, L. K. Comprehensive curation and analysis of fungal biosynthetic gene clusters of published natural products. **Fungal Genetics and Biology**, v. 89, p. 18–28, 2016. doi:

10.1016/j.fgb.2016.01.012.

LIMA, G.S.; ROCHA, A. M.; SANTOS, G. F.; D'SILVA, A. F.; MARRIEL, I. E.; TAKAHASHI, J. A. Metabolic response of *Aspergillus sydowii* to OSMAC modulation produces acetylcholinesterase inhibitors. **Phytochemistry Letters**, v. 24, p. 39–45, 2018. doi: 10.1016/j.phytol.2018.01.007.

LIRA, E. C.; BOLZAN, A.; NASCIMENTO, A. R.; AMARAL, F. S.; KANNO, R. H.; KAISER, I. S.; OMOTO, C. Resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to spinetoram: inheritance and cross-resistance to spinosad. **Pest Management Science**, v. 76, n. 8, p. 2674–2680, 2020. doi: 10.1002/ps.5812.

LIU, X.; LI, S. Fungal Secondary Metabolites in Biological Control of Crop Pests. In: **Handbook of Industrial Mycology**. 1. ed. [s.l.] CRC Press, 2004. p. 26. 2004.

LUBNA; ASAF, S.; HAMAYUN, M.; KHAN, A. L.; WAQAS, M.; KHAN, M. A.; JAN, R.; LEE, I.-J.; HUSSAIN, A. Salt tolerance of *Glycine max* L induced by endophytic fungus *Aspergillus flavus* CSH1, via regulating its endogenous hormones and antioxidative system. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 128, p. 13–23, 2018. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.05.007.

MAIA, L. C.; CARVALHO JÚNIOR, A. A. de; CAVALCANTI, L. de H.; . Diversity of Brazilian Fungi. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1033–1045, 2015. doi: 10.1590/2175-7860201566407.

MENDES, S. M.; BOREGAS, K. G. B.; LOPES, M. E.; WAQUIL, M. S.; WAQUIL, J. M. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 239–244, 2011.

MEYER, V. Genetic engineering of filamentous fungi — Progress, obstacles and future trends. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 2, p. 177–185, 2008. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.12.001.

MEYER, V.; ANDERSEN, M. R.; BRAKHAGE, A. A.; BRAUS, G. H.; CADDICK, M. X.; CAIRNS, T. C.; DE VRIES, R. P.; HAARMANN, T.; HANSEN, K.; HERTZ-FOWLER, C.; KRAPPMANN, S.; MORTENSEN, U. H.; PEÑALVA, M. A.; RAM, A. F. J.; HEAD, R. M. Current challenges of research on filamentous fungi in relation to human welfare and a sustainable bio-economy: a white paper. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 6, 2016. doi: 10.1186/s40694-016-0024-8.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. V.; PETERSON, J. A.; HUNT, T. E. Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n. 2, p. 286–300, set. 2018. doi: 10.4001/003.026.0286.

MURARO, D. S., GARLET, C. G., GODOY, D. N., COSSA, G. E., RODRIGUES JUNIOR, G. L. D. S., STACKE, R. F., BERNARDI, O. Laboratory and field survival of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt and non-Bt maize and its susceptibility to

insecticides. **Pest management science**, 75(8), 2202-2210, 2019.

NAKAEW, N.; PATHOM-AREE, W.; LUMYONG, S. Generic Diversity of Rare Actinomycetes from Thai Cave Soils and Their Possible Use as New Bioactive Compounds. **Actinomycetologica**, v. 23, n. 2, p. 21–26, 2009. doi: 10.3209/saj.SAJ230201.

SOUZA, P. N.C.; GRIGOLETTO, T.L.B.; MORAES, L.A.B.; ABREU, L. M.; GUIMARÃES, L.H.Z.; SANTOS, C.; GALVÃO, L.R.; CARDOSO, P.G. Production and chemical characterization of pigments in filamentous fungi. **Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 12–22, 2016. doi: 10.1099/mic.0.000168.

OLIVEIRA, H. F.; NUNES, J. Eficiência de inseticidas no controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura da soja. **Revista Cultivando o Saber**, p. 162–176, 2017.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; SORGATTO, R. J.; DOURADO, P. M.; CRIVELLARI, A.; CARVALHO, R. A.; WILLSE, A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G. P. Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 9, p. 1727–1736, 2016. doi: 10.1002/ps.4201.

OVEJERO, R.F.L. Controle da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*). In: Portal do Campo. <http://www.portaldocampo.com.br>, 2001. Accessed 2 Jan 2024

OVERTON, K.; MAINO, J. L.; DAY, R.; UMINA, P. A.; BETT, B.; CARNOVALE, D.; EKESI, S.; MEAGHER, R.; REYNOLDS, O. L. Global crop impacts, yield losses and action thresholds for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A review. **Crop Protection**, v. 145, p. 105641, 2021. doi: 10.1016/j.cropro.2021.105641.

PARDO, S. N. F.; FERNANDES, G. G.; LIMA, V. M. S.; REGO, V. M.; DE SOUZA, W. Pietro; RIBEIRO, R. V. Avaliação do potencial biotecnológico de fungos endofíticos. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 33120–33140, 2022. doi: 10.34117/bjdv8n5-033.

PASCHAPUR, A.; SUBBANNA, A. R. N. S.; SINGH, A. K.; JEEVAN, B.; STANLEY, J.; RAJASHEKHAR, H.; MISHRA, K. K. Unraveling the Importance of Metabolites from Entomopathogenic Fungi in Insect Pest Management. **Microbes for Sustainable Insect Pest Management: Hydrolytic Enzyme & Secondary Metabolite–Volume 2**, p. 89–120. 2021.

POGUE, M. A world revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) Lepidoptera: Noctuidae. In: **Memoirs of the American Entomological Society**. 43. ed. [s.l.] American Entomological Society, 2002. p. 202. 2002.

PRASANNA, B. M. **Fall Armyworm in Africa: A guide for integrated pest management**. 1^a ed. [s.l.: s.n.], 2018

QUINN, R. Rethinking Antibiotic Research and Development: World War II and the Penicillin Collaborative. **American Journal of Public Health**, v. 103, n. 3, p. 426–434, 2013. doi: 10.2105/AJPH.2012.300693.

ROHLFS, M.; CHURCHILL, A. C. L. Fungal secondary metabolites as modulators of interactions with insects and other arthropods. **Fungal Genetics and Biology**, v. 48, n. 1, p. 23–34, 2011. doi: 10.1016/j.fgb.2010.08.008.

SANTOS-AMAYA, O. F.; RODRIGUES, J. V. C.; SOUZA, T. C.; TAVARES, C. S.; CAMPOS, S. O.; GUEDES, R. N. C.; PEREIRA, E. J. G. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: selection, inheritance and cross-resistance to other transgenic events. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 18243, 2015. doi: 10.1038/srep18243.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D. H. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 775–806, 1998. doi: 10.1128/MMBR.62.3.775-806.1998.

SCRIBER, J. M.; SLANSKY, F. The Nutritional Ecology of Immature Insects. **Annual Review of Entomology**, v. 26, n. 1, p. 183–211, 1981. doi: 10.1146/annurev.en.26.010181.001151.

SHWAB, E. K.; KELLER, N. P. Regulation of secondary metabolite production in filamentous ascomycetes. **Mycological Research**, v. 112, n. 2, p. 225–230, 2008. doi: 10.1016/j.mycres.2007.08.021.

SILVA, M. T. B. Fatores que afetam a eficiência de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* Smith em milho. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, p. 383–387, 1999. doi: 10.1590/S0103-84781999000300001.

SINGH, A.; SINGH, D. K.; KHARWAR, R. N.; WHITE, J. F.; GOND, S. K. Fungal Endophytes as Efficient Sources of Plant-Derived Bioactive Compounds and Their Prospective Applications in Natural Product Drug Discovery: Insights, Avenues, and Challenges. **Microorganisms**, v. 9, n. 1, p. 197, 2021. doi: 10.3390/microorganisms9010197.

SOKAME, B. M.; SUBRAMANIAN, S.; KILALO, D. C.; JUMA, G.; CALATAYUD, P. Larval dispersal of the invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, the exotic stemborer *Chilo partellus*, and indigenous maize stemborers in Africa. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 168, n. 4, p. 322–331, 2020. doi: 10.1111/eea.12899.

SPITELLER, P. Chemical ecology of fungi. **Natural Product Reports**, v. 32, n. 7, p. 971–993, 2015. doi: 10.1039/C4NP00166D.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491–502, 2003. doi: 10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003.

TABASHNIK, B.E.; CARRIÈRE, Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. *Nat Biotechnol* 35:926–935, 2017.
<https://doi.org/10.1038/nbt.3974>

TAYLOR, E.; STOIANOFF, M.R.; FERREIRA, R.L. Mycological study for a management plan of a neotropical show cave (Brazil). **International Journal of Speleology**, v. 42, n. 3, p. 267–277, 2013. doi: 10.5038/1827-806X.42.3.10.

TEDERSON, L.; BAHRAM, M.; PÖLME, S.; KÕLJALG, U.; YOROU, N. S.; WIJESUNDERA, R.; RUIZ, L. V.; VASCO-PALACIOS, A. M.; THU, P. Q.; SUIJA, A.; SMITH, M. E.; SHARP, C.; SALUVEER, E.; SAITTA, A.; ROSAS, M.; RIIT, T.; RATKOWSKY, D.; PRITSCH, K.; PÕLDMAA, K.; PIEPENBRING, M.; PHOSRI, C.; PETERSON, M.; PARTS, K.; PÄRTEL, K.; OTSING, E.; NOUHRA, E.; NJOUONKOU, A. L.; NILSSON, R. H.; MORGADO, L. N.; MAYOR, J.; MAY, T. W.; MAJUAKIM, L.; LODGE, D. J.; LEE, S. S.; LARSSON, K.-H.; KOHOUT, P.; HOSAKA, K.; HIIESALU, I.; HENKEL, T. W.; HAREND, H.; GUO, L.; GRESLEBIN, A.; GRELET, G.; GEML, J.; GATES, G.; DUNSTAN, W.; DUNK, C.; DRENKHAN, R.; DEARNALEY, J.; DE KESEL, A.; DANG, T.; CHEN, X.; BUEGGER, F.; BREARLEY, F. Q.; BONITO, G.; ANSLAN, S.; ABELL, S.; ABARENKOV, K. Global diversity and geography of soil fungi. **Science**, v. 346, n. 6213, 28 2014. doi: 10.1126/science.1256688.

TOSCANO, L. C.; CALADO FILHO, G. C.; CARDOSO, A. M.; MARUYAMA, W. I.; TOMQUELSKI, G. V. Impact of insecticides on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) and its natural enemies on off-season maize in Cassilândia and Chapadão do Sul, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 2, p. 223–231, 2012.

VAN DER LEE, T. A. J.; MEDEMA, M. H. Computational strategies for genome-based natural product discovery and engineering in fungi. **Fungal Genetics and Biology**, v. 89, p. 29–36, 2016. doi: 10.1016/j.fgb.2016.01.006.

VERTUAN, H. V.; SALVADORI, J. R.; OLIVEIRA, W. S. DE; BERGER, G. U. Eficácia de tecnologias de milho Bt no manejo de lepidópteros-pragas. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 1, p. 22, 2017. doi: 10.18512/1980-6477/rbms.v16n1p22-29.

WANI, Z. A.; ASHRAF, N.; MOHIUDDIN, T.; RIYAZ-UL-HASSAN, S. Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 2955–2965, 2015. doi: 10.1007/s00253-015-6487-3.

WAQUIL, J.M.; VIANA, P.A.; CRUZ, I. **Manejo integrado de pragas**. Milho. Embrapa. 2021. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/milho/producao/pragas-e-doencas/pragas/manejo-integrado-de-pragas>>. Acesso em 17 de jan de 2024.

WENG, Q.; ZHANG, X.; CHEN, W.; HU, Q. Secondary Metabolites and the Risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinosa*. **Molecules**, v. 24, n. 4, p. 664, 2019. doi: 10.3390/molecules24040664.

XU, K.; LI, X.-Q.; ZHAO, D.-L.; ZHANG, P. Antifungal Secondary Metabolites Produced by the Fungal Endophytes: Chemical Diversity and Potential Use in the Development of Biopesticides. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 2021. doi: 10.3389/fmicb.2021.689527.

YANG, F.; WANG, Z.; KERNS, D. L. Resistance of *Spodoptera frugiperda* to Cry1, Cry2, and Vip3Aa Proteins in Bt Corn and Cotton in the Americas: Implications for the Rest of the World. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 6, p. 1752–1760, 2022. doi: 10.1093/jee/toac099.

ZANUNCIO, J. C.; LEMES, P. G.; ANTUNES, L.; MENDES, J. E. P.; TANGANELLI, K. M.; SALVADOR, J. F.; SERRÃO, J. E. The impact of the Forest Stewardship Council (FSC) pesticide policy on the management of leaf-cutting ants and termites in certified forests in Brazil. **Annals of Forest Science**, v. 73, n. 2, p. 205–214, 2016. doi: 10.1007/s13595-016-0548-3.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

Virulência de fungos filamentosos em *Spodoptera frugiperda* resistente a Cry

Fernanda Soares Sales^{1*}, Mariana Macedo Souza¹, Vitor Vasconcellos de Oliveira¹, Pedro Guedes Chagas¹, Alcides Moino Junior¹

RESUMO

Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae), mais conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma praga agrícola de alcance global, causando danos substanciais em plantações de milho e em outras culturas de importância agrícola. O controle da *S. frugiperda* é realizado principalmente através da aplicação de inseticidas químicos e plantas geneticamente modificadas com proteínas Bt, mas a resistência de *S. frugiperda* a esses métodos tem se intensificado, tornando essencial a busca por alternativas de manejo integrado. Nesse contexto, o controle microbiano, especialmente com fungos filamentosos, surge como uma alternativa promissora, já que esses organismos possuem entomopatogênicos. O objetivo do estudo foi avaliar a virulência de fungos filamentosos isolados de cavernas em ambientes de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes às proteínas Cry. Para isso, neonatas e lagartas de 3º ínstar foram expostas a diferentes isolados por contato ou ingestão e distribuição a sua mortalidade durante dez dias. Todos os isolados de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Epicoccum nigrum* testados apresentaram baixa mortalidade de lagartas suscetíveis e resistentes a proteínas Cry. No entanto, novos estudos precisam ser realizados para avaliar a ação dos metabólitos secundários produzidos por esses fungos, que obtiveram potencial no controle de opinião.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho, virulência, metabólitos secundários, controle biológico.

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae), commonly known as the fall armyworm, is a global agricultural pest that causes significant damage to maize and other important crops. The control of *S. frugiperda* is primarily achieved through the application of chemical insecticides and genetically modified plants expressing Bt proteins. However, the increasing resistance of *S. frugiperda* to these methods has intensified the need for alternative integrated pest management strategies. In this context, microbial control, particularly using filamentous fungi, presents a promising alternative due to their entomopathogenic properties. The objective of this study was to evaluate the virulence of filamentous fungi isolated from caves against *S. frugiperda* populations resistant and susceptible to Cry proteins. Neonates and third-instar larvae were exposed to different fungal isolates via contact or ingestion, and their mortality was monitored over ten days. All isolates of *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., and *Epicoccum nigrum* tested showed low mortality rates for both Cry-resistant and susceptible larvae. However, further studies are required to assess the action of secondary metabolites produced by these fungi, which have shown potential for pest control.

Keywords: Fall armyworm, virulence, secondary metabolites, biological control.

¹Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-900, Lavras, MG, Brasil. *Autor correspondente: fsaless87@gmail.br

INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797), faz parte da ordem Lepidoptera, da família Noctuidae, e se alimenta das plantas de milho durante todas as fases de crescimento, desde a emergência da plântula até a formação das espigas, com preferência pelos cartuchos das plantas mais jovens. Além do milho, essa praga também causa danos econômicos significativos em outras culturas agrícolas importantes, como soja, arroz, algodão, trigo, sorgo e amendoim (CRUZ, 1995; NAGOSHI; MEAGHER, 2004; BUENO et al., 2011).

Quando não é controlada de forma eficaz, *S. frugiperda* pode resultar em prejuízos expressivos à produção agrícola (TAMBO et al., 2023). As estratégias predominantes de manejo incluem a aplicação de inseticidas químicos e o cultivo de plantas geneticamente modificadas, como aquelas com tecnologia Bt, onde utiliza proteínas inseticidas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (OVERTON et al., 2021).

Entretanto, populações de *S. frugiperda* desenvolveram resistência aos métodos tradicionalmente empregados e, considerando a importância agrícola desse inseto, torna-se fundamental explorar estratégias de manejo integrado para garantir a eficiência do controle e reduzir os impactos dessa resistência (YU et al. 2003; STORER et al., 2010; MENEZES-NETTO; VARELLA; FERNANDES, 2012; CARVALHO et al., 2013; FARIAS et al., 2014).

Assim, o controle microbiano surge como uma estratégia promissora no manejo da resistência, com os fungos filamentosos se destacando como uma alternativa eficaz para o manejo de *S. frugiperda*, pois a probabilidade de surgimento de populações resistentes a produtos biológicos é geralmente inferior, em função da variedade de mecanismos de ação presentes nesses organismos, quando comparados aos produtos sintéticos (DAVIDSON, 1992).

A interação entre plantas Bt e fungos entomopatogênicos pode gerar efeitos aditivos ou sinérgicos, uma vez que a resistência da planta hospedeira influencia a atividade dos fungos. Dessa forma, os fungos podem atuar de forma complementar à toxina da planta Bt, potencializando a mortalidade dos insetos (LAWO et al., 2008).

Diversos estudos corroboram a eficácia desses fungos, como *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, destacando-se como agentes entomopatogênicos promissores no controle da lagarta-do-cartucho (OWNBY, 2010; MARQUES, 2014). Recentemente, novas espécies de fungos isoladas de cavernas têm demonstrado grande potencial para o manejo de praga (LEE et al., 2012; SOUZA et al., 2016). Além de apresentar características

entomopatogênicas, esses fungos são capazes de produzir compostos bioativos, enzimas e proteínas tóxicas com atividade inseticida (ABDULLAH; EL-WAHAB; EL-SALAM, 2024). Sabendo disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a virulência de fungos filamentosos isolados de caverna em populações de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes a proteínas Cry. A hipótese é que a exposição aos fungos filamentosos endofíticos e proveniente de cavernas sejam patogênicos a lagartas de *S. frugiperda*, e que a resistência dessas lagartas a proteínas Cry possa intensificar a virulência desses fungos.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção e criação de *Spodoptera frugiperda*

A criação de *S. frugiperda* foi conduzida no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia (DEN), na Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG, mantendo as lagartas recém-eclodidas em copos plásticos de 50 ml, contendo a dieta artificial conforme descrito por Greene, Lepla e Dickerson (1976). Em cada copo, inoculou-se de 2 a 4 lagartas, as quais permaneceram até atingirem a fase de pupa, sendo os copos vedados com uma tampa acrílica. As pupas foram posteriormente transferidas para placas de Petri e, em seguida, acomodadas em gaiolas cilíndricas de PVC (24,0 cm de altura x 14,5 cm de diâmetro). Essas gaiolas foram revestidas internamente com folhas brancas e seladas na parte superior com pano tipo "voil". Como fonte de alimento para os adultos, foi oferecida uma solução aquosa de mel a 10%, fornecida via capilaridade por meio de algodão hidrófilo. A cada dois dias, as posturas foram coletadas e acondicionadas em saco plástico, mantidas em uma câmara climatizada com temperatura regulada a 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 12 horas.

A população de *S. frugiperda* com resistência à proteína Cry utilizada neste estudo foi previamente selecionada por Leite et al. (2016) no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo de Insetos da Embrapa Milho e Sorgo. Essa população foi posteriormente mantida no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia da UFLA, seguindo a metodologia estabelecida pelo mesmo autor, em uma câmara climatizada com temperatura regulada a 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Durante os anos de experimentos as lagartas foram selecionadas quanto à resistência e novos indivíduos foram introduzidos, conforme as metodologias adaptadas de Andow e

Alstad (1998) e Leite et al. (2016). Os insetos foram coletados em campos de plantio de milho em Lavras-MG, e a resistência foi então determinada e a população foi mantida no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do mesmo departamento. No ambiente laboratorial, as lagartas foram criadas até atingirem a fase de pupa em uma dieta artificial.

Cultivo dos fungos filamentosos

As culturas dos fungos filamentosos utilizadas nesse trabalho, foram selecionadas devido a sua capacidade de produzir pigmentos e metabolitos secundários como inibidores de acetilcolinesterase. Esses isolados de fungos são parte da coleção do Laboratório de Bioprospecção e Genética de Fungos Filamentosos (Biogen) da Universidade Federal de Lavras (Tabela 1).

Os fungos *Epicoccum nigrum* (A2C32), *Epicoccum nigrum* (A2S61) foram isolados como endofíticos da planta *Eremanthus* sp., popularmente conhecida como Candeia (Godinho 2016). Os fungos *Epicoccum nigrum* (185^A), *Penicillium flavigenum* (3.1.A), *Aspergillus aureolatus* (E25), *Aspergillus keveii* (CF292), *Penicillium chermesium* (102), *Aspergillus sydowii* (GMA3) foram isolados de cavernas e depositados na Coleção Micológica de Lavras do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Esses fungos foram cultivados em meio de cultura sólido BDA (200 g/L de batata, 20 g/L de dextrose e 15 g/L de ágar), e depois incubados a 25 °C. Para os bioensaios, os isolados de fungos foram multiplicados em placas de Petri contendo meio para produção de conídios (ME) (ágar 20 g, extrato de levedura 5 g, mistura de sais 4,6 g, glicose 10 g e água destilada 1000 ml) e incubadas a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase, por sete dias (Alves 1998). Após esse período, os conídios foram coletados pela raspagem da superfície do meio de cultura, sendo armazenados em tubos de vidro esterilizados contendo 10 ml de água destilada e Tween (r) 80 (0,01%). A suspensão foi agitada em vórtex e, em seguida, a contagem dos conídios foi realizada em uma câmara de Neubauer, utilizando um microscópio de luz com aumento de 400x. A concentração da suspensão de fungos foi padronizada em 1×10^8 conídios/ml.

Tabela 1 Espécies de fungos filamentosos utilizados nos bioensaios com neonatas e lagartas de 3º instar de *Spodoptera frugiperda*.

Espécie	CL	% inibição AChE	Origem	Época da coleta	Local de coleta
<i>Aspergillus aureolatus</i> Munt. - Cvetk. & Bata, 1964	E25	0,00	Caverna	09/2008	Vazante, MG
<i>Aspergillus keveii</i> Varga, Frisvad & Samson, 2007	CF292	0,00	Caverna	09/2008	Coronel José Dias, PI
<i>Aspergillus sydowii</i> (Bainier & Sartory) Thom & Church, 1926	GMA3	0,00	Caverna	09/2008	Delmiro Gouveia, AL
<i>Epicoccum nigrum</i> Link, 1816	A2C32	0,00	Endofítico	09/2014	Aiuruoca, MG
<i>Epicoccum nigrum</i> Link, 1816	A2S61	86,87 ± 2,99	Endofítico	09/2014	Aiuruoca, MG
<i>Epicoccum nigrum</i> Link, 1816	185A	92,46 ± 3,30	Caverna	09/2008	Iuiú, BA
<i>Penicillium chermesinum</i> Biourge, 1923	102	6,97 ± 1,93	Caverna	11/2013	Lavras, MG
<i>Penicillium flavigenum</i> Frisvad & Samson, 1997	31A	18,89 ± 2,72	Caverna	09/2008	Vazante, MG

*Espécie: Espécie de fungo utilizada nos bioensaios; CL: Código do Laboratório; AChE: Porcentagem de inibição da enzima Acetilcolinesterase; Origem: origem da amostra biológica, Época de coleta: mês de coleta da amostra e Local de coleta: local de coleta da amostra. Os isolados de fungos utilizados foram gentilmente cedidos pela Dr^a. Patrícia Gomes Cardoso (Laboratório de Bioprospecção e Genética de Fungos Filamentosos – Universidade Federal de Lavras).

Os dados referentes a porcentagem de inibição de acetilcolinesterase pertencem a Dr^a. Geane Pereira de Oliveira (Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios – Universidade Federal de Minas Gerais).

Bioensaio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* expostas aos conídios de fungos filamentosos

Afim de avaliar a patogenicidade dos isolados de fungos selecionados (Tabela 1), populações de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes a proteínas Cry foram expostas a suspensão de conídios desses fungos. Para isso, as lagartas de 3º ínstar foram imersas na suspensão de conídios por 10 segundos sob leve agitação e transferidas para tubos de ensaio com dieta artificial, conforme a metodologia adaptada de Parra (1999). Os tubos foram incubados a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase.

As avaliações foram feitas durante um período de dez dias, procedeu-se à avaliação diária com a remoção das lagartas mortas, os quais foram submetidos à desinfestação por imersão em solução alcoólica 70% e água destilada e mantido em câmara úmida sob as mesmas condições anteriormente mencionadas para a confirmação da mortalidade ocasionada pelos fungos. Foram utilizadas 36 lagartas de 3º ínstar, tanto da população suscetível quanto da resistente, para cada isolado de fungo/tratamento, considerando cada lagarta como uma repetição.

Bioensaio de ingestão de *Spodoptera frugiperda* com suspensão de fungos filamentosos contendo conídios

A dieta artificial foi cortada e acondicionada em tubos de ensaio e aplicada 500µl da suspensão concentrada de conídios dos fungos (Tabela 1) e deixada secar na câmara de fluxo. Posteriormente, foi colocado neonatas de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes a proteínas Cry, e incubadas a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotófase, de acordo com a metodologia de Rohde et al. (2006) adaptada. Para o tratamento controle, foram ofertadas dietas acrescidas do mesmo volume apenas de água destilada + Tween (r) 80 (0,01%). O bioensaio foi realizado e avaliado utilizando-se o mesmo delineamento e procedimento experimental adotados no bioensaio anterior.

Análises estatísticas

Nos dois bioensaios foram utilizados Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição quasibinomial para testar as diferenças na mortalidade dos isolados de fungo em lagartas suscetíveis e resistentes. O GLM foi ajustado considerando dois fatores: o efeito da população de *S. frugiperda* (resistentes e não resistente) e o efeito dos isolados dos fungos e a interação entre eles, fazendo um desdobramento dos tipos de lagarta dentro de cada fungo.

O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para testar o efeito de diferentes isolados de fungo, seguida por comparações de médias pelo teste de Tukey à 5% de significância. A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

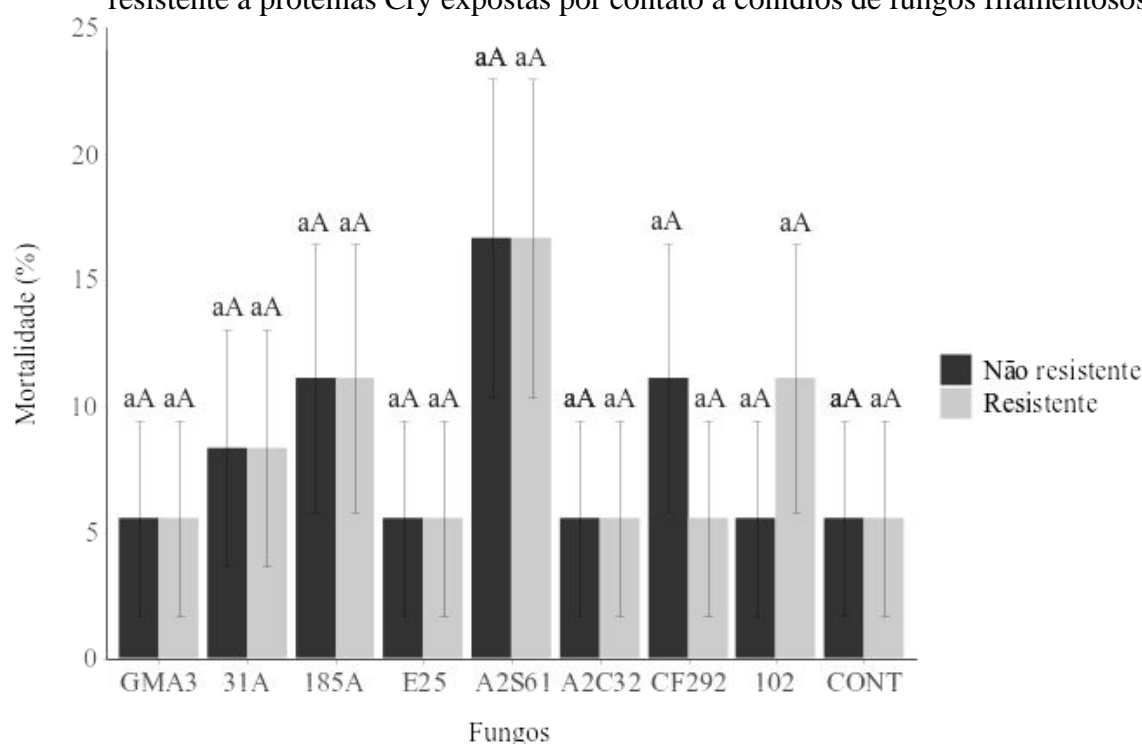
Todas as análises foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team 2023).

RESULTADOS

Bioensaio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* expostas aos conídios de fungos filamentosos

Todos os isolados de fungos causaram morte em lagartas de 3º ínstar de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes à proteína Cry. As maiores mortalidades nas lagartas foram observadas com os isolados *E. nigrum* A2S61 e 185A, apresentando taxas de 16,7% e 11,1%, respectivamente, tanto para as lagartas resistentes quanto para as não resistentes às proteínas Cry. No entanto, não houve diferença significativa na mortalidade entre os diferentes tratamentos para as lagartas resistentes ($X^2=56,147$; $df=40$; $p=0,875$) e as lagartas não resistentes ($X^2=55,997$; $df=40$; $p=0,872$). Ao comparar os dois grupos de lagartas (resistentes e não resistentes), também não foi observada diferença significativa na mortalidade ($X^2=112,40$; $df=85$; $p=0,9970$) (Figura 01).

Figura 1 – Mortalidade (%) de lagartas de 3º ínstar de *Spodoptera frugiperda* resistente e não resistente a proteínas Cry expostas por contato a conídios de fungos filamentosos.

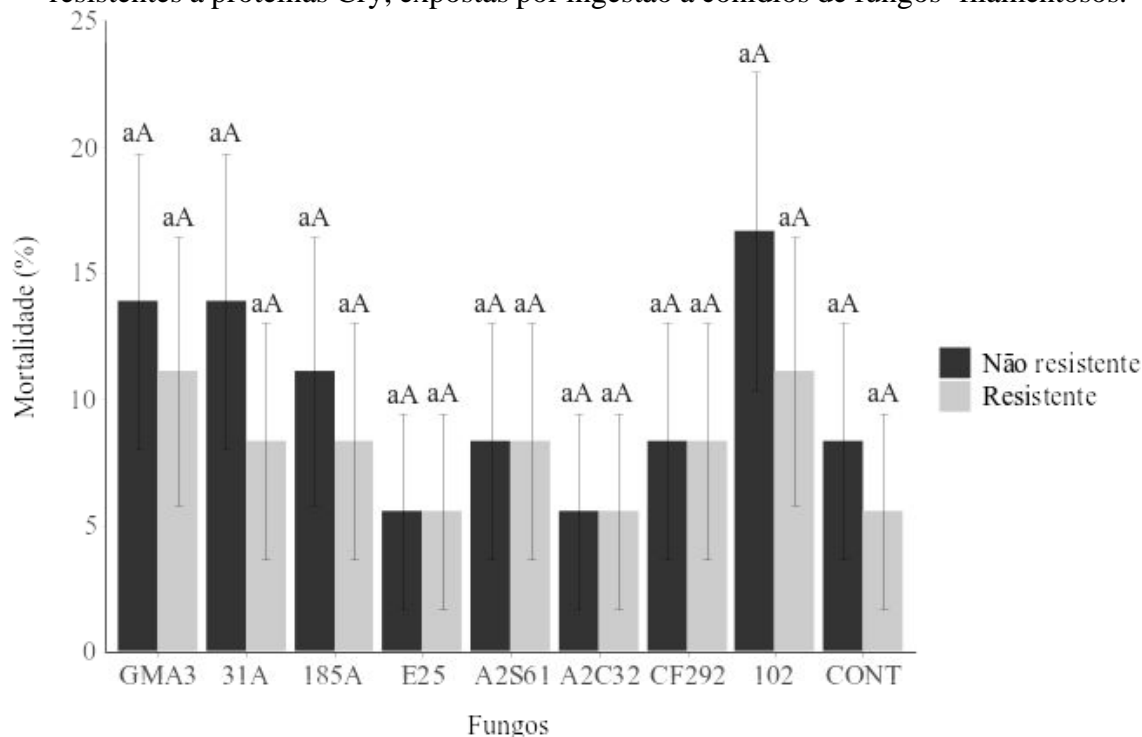


*As barras representam o erro padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de fungos testados em cada tipo de larvas, e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre lagartas resistentes e não resistentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Bioensaio de ingestão de *Spodoptera frugiperda* com suspensão de fungos filamentosos contendo conídios

As lagartas neonatas que ingeriram dietas contendo conídios de fungos apresentaram mortalidade em todos os isolados avaliados. As lagartas não resistentes apresentaram maior mortalidade em relação às resistentes às proteínas Cry para ambos os isolados testados. Para o isolado *Penicillium chermesinum* 102, a mortalidade foi de 16,7% em neonatas não resistentes, enquanto nas resistentes foi de 11,1%. Já o isolado GMA3 resultou em mortalidade de 13,9% nas não resistentes e também 11,1% nas resistentes. Mesmo assim, não houve diferenças significativas na mortalidade entre as lagartas resistentes ($X^2=48,540$, $df=40$, $p=0,9907$) e não resistentes ($X^2=55,065$, $df=40$, $p=0,8683$) expostas aos isolados testados. Também não houve diferenças entre os tipos de lagartas em cada isolado ($X^2=107,85$; $df=85$; $p=0,9998$).

Figura 2 – Mortalidade (%) de lagartas neonatas de *Spodoptera frugiperda*, resistentes e não resistentes a proteínas Cry, expostas por ingestão a conídios de fungos filamentosos.



*As barras representam o erro padrão. Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre os isolados de fungos testados em cada tipo de larvas, e letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre lagartas resistentes e não resistentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

DISCUSSÃO

Os fungos entomopatogênicos são amplamente empregados no controle biológico, notáveis por sua facilidade de cultivo (MASCARIN; JARONSKI, 2016; BARA; LAING, 2020) e, em sua maioria, são fungos saprotróficos pertencentes ao filo Ascomycota. Embora esses microrganismos sejam amplamente isolados de carcaças de artrópodes, é importante ressaltar que o habitat natural primário desses fungos é o solo (BEHIE; BIDOCHKA, 2014).

Uma variedade de agentes patogênicos microbianos, têm sido associados à *S. frugiperda*, incluindo fungos, bactérias e vírus, contudo apenas alguns desses agentes patogênicos são responsáveis por causar a infecção das pragas (POLANCZYK et al., 2000; GÓMEZ et al., 2013), o que corrobora com o objetivo desse trabalho. Portanto, qualquer microrganismo entomopatogênico com a capacidade de induzir infecção em pragas antes de atingirem seu estágio destrutivo pode desempenhar uma função crucial no manejo de insetos-praga. Dessa forma, a pesquisa em questão concentrou-se na avaliação de espécies de fungos

que possam ser utilizados no controle de *S. frugiperda* visando causar infecção em qualquer estágio desenvolvimento.

Todos os isolados utilizados nesse trabalho são pertencentes ao Filo Ascomycota, *Aspergillus aureolatus*, *Aspergillus keveii*, *Aspergillus sydowii*, *Epicoccum nigrum*, *Penicillium chermesinum*, *Penicillium flavigenum*. Esse filo é um dos maiores e mais diversos filios de fungos, abrigando uma vasta quantidade de espécies entomopatogênicas. Entre eles, destacam-se os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo amplamente estudados devido à produção de compostos secundários tóxicos, que podem representar uma estratégia para o controle de pragas (MORA; CASTILHO; FRAGA, 2017). A virulência desses fungos está profundamente relacionada à sua biologia e história de vida (VALERO-JIMÉNEZ et al., 2016).

Diversos autores evidenciam o solo como habitat natural desses fungos durante a fase saprofítica, fungos esses com alto potencial de inóculo, especialmente aqueles próximos às raízes das plantas e eficazes no controle de insetos pragas (SUMIKARSIH et al., 2019; AYUDYA et al., 2019).

Os fungos testados foram oriundos de cavernas e isolados endofíticos, que evidenciavam potencial patogênico por suas características e especificações. As cavernas possuem condições ambientais únicas, como baixa luminosidade, alta umidade, escassez de nutrientes e temperaturas constantes. Para sobreviverem nesses ambientes, os fungos adaptam-se produzindo enzimas antioxidantes que aumentam a viabilidade de seus propágulos. Além disso, genes específicos associados às respostas a estresses abióticos são ativados, contribuindo para a sobrevivência e adaptação dos fungos. Muitos desses genes e vias metabólicas também estão relacionados à patogenicidade, potencializando a capacidade desses fungos de infectar e matar insetos (SHANG et al., 2022).

Por outro lado, os fungos endofíticos formam associações íntimas com uma variedade de plantas e demonstraram ser capazes de mobilizar nitrogênio e receber carbono (carboidratos) de plantas hospedeiras (ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2015). A biologia e a ecologia desses fungos são fortemente influenciadas pelo clima, vegetação, solo, localização e atividades humanas e outras atividades bióticas na qual a planta está inserida (SAMAL et al., 2023). Esses estressores ambientais influencia a ação dos fungos endofíticos, resultando em variações consideráveis em sua eficácia entre diferentes espécies de insetos (BULTMAN; BELL, 2003).

Os resultados indicaram que larvas de *S. frugiperda* de primeiro a terceiro ínstar não apresentaram características de morte pelos fungos testados. Normalmente, as cavernas não oferecem condições favoráveis para serem entomopatogênicos, mas parece haver uma micoflora altamente adaptada associada a insetos (SAMSON; EVANS; LATGÉ, 1988). Algumas espécies de fungos já foram encontradas em insetos de caverna como grilos (BENOIT et al., 2004; YODER et al., 2009) e besouros (SANTAMARIA; FAILLE, 2007) o que demonstra o potencial patogênico desses isolados de caverna.

O gênero *Aspergillus*, o qual apresenta a capacidade de crescer sobre diversos substratos pode produzir uma variedade de enzimas (CARLILE; WATKINSON; GOODAY, 2001). Recentemente um isolado de *A. nomiae* foi registrado infectando naturalmente insetos (ZHANG et al., 2024). Apesar disso, as espécies desse gênero não são classificadas como entomopatogênicas (SENNA-NUÑEZ; COSTA; BITTENCOURT, 2002). Dessa forma, acredita-se que a mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* tratados com a suspensão de fungos, foi ocasionada pelos esses metabólitos secundários produzidos por esses isolados.

Senna-Nuñez, Costa e Bittencourt (2002) destacam que o gênero *Aspergillus* frequentemente considerado um agente secundário no processo de doença. Sua ocorrência é mais comumente associada a insetos moribundos, já colonizados por outros patógenos ou submetidos a diversos tipos de estresse (Alves 1998). Contudo, alguns isolados, como *A. nomiae*, apresentam potencial para biocontrole, mostrando ação dupla, pois não só matam um amplo espectro de pragas de insetos, mas também podem induzir resistência contra fitopatógenos, ampliando suas possibilidades de uso no manejo integrado de pragas (ZHANG et al., 2024).

Até o momento, não há registros de que os isolados testados tenham infectado insetos em condições naturais. No entanto, espécies como *A. fumigatus* e *A. leporis* normalmente não parasita insetos em condições naturais, mas já foi relatado causando mortalidade em *Galleria mellonella* em condições de laboratório (JONES; PANACCIONE 2023).

Assim como gênero *Aspergillus*, isolados do gênero *Penicillium* também não apresentaram mortalidade significativa a larvas de *S. frugiperda*. Em contrapartida, isolados de *P. citrinum* já foram identificados causando 98,67% de mortalidade às lagartas de segundo instar de *Spodoptera litura* (HERLINDA et al., 2020) e também em larvas de *Culex quinquefasciatus* (PEREIRA et al., 2009).

Em se tratando do gênero *Epicoccum*, grupo de fungos considerado saprófitos, podendo ser encontrados em diversos ambientes, possui algumas espécies relatadas como

promotoras de crescimento vegetal e antifúngicas (SILVA; LIMA; SILVA, 2023). Piecuch et al. (2020) relataram efeitos de metabólitos secundários a *G. mellonella* de *E. nigrum* o que corrobora com os resultados deste presente trabalho.

Além das características inerentes aos fungos, a sua eficiência também pode ser afetada pelo hospedeiro. Os potenciais hospedeiros de insetos desenvolveram uma série de adaptações fisiológicas e comportamentais para resistir ou evitar infecções fúngicas. Essas adaptações incluem mecanismos relacionados ao comportamento alimentar, características do habitat e processos evolutivos, variações na composição do sistema imunológico e na microbiota associada (ASHBROOK; MIKAELIAN; SCHAL, 2022).

Mesmo assim, há uma variedade de fatores que podem estressar os insetos, tornando-os mais suscetíveis a infecções por entomopatógenos. Entre esses fatores, destacam-se condições de aglomeração, deficiências nutricionais, exposição a agentes químicos e alterações ambientais (ABDUL QAYYUM et al., 2021). A utilização de plantas resistentes pode induzir estresse nutricional aos insetos e torna-los mais propensos à infecção, aumentando substancialmente a eficácia de entomopatógenos (INGLIS et al., 2001). No entanto, essa característica não foi observada nos resultados, pois não foram observadas diferenças na suscetibilidade aos fungos entre as populações de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes a proteínas Cry.

A baixa mortalidade e a ausência de diferenças significativas observadas nos bioensaios podem ser explicadas pela complexidade da interação entre o hospedeiro e o patógeno. A composição lipídica da cutícula do inseto, com a epicutícula rica em lipídios e hidrofóbica, atua como uma barreira física ou química. A procutícula, internamente composta por proteínas e quitinas, também pode dificultar a penetração dos fungos. A falta das enzimas lipases e lipoxigenases, responsáveis por quebrar as lipoproteínas da cutícula, pode impedir a germinação eficiente dos esporos, dificultando a infecção (KHACHATOURIANS; QAZI, 2008; ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013).

Essas especificidades podem justificar os fungos utilizados nesse trabalho não terem êxito e terem apresentado baixa mortalidade e não diferirem do tratamento controle. O bioensaio de ingestão foi conduzido com a finalidade de driblar essa capacidade dos insetos de não se infectar com proteções exteriores. Porém o resultado comprova que mesmo sendo consumido e conseguindo atingir o interior do inseto, esses isolados não foram patogênicos quando inoculados somente os conídios.

O sucesso da infecção fúngica em artrópodes depende não apenas da fixação e germinação do esporo na superfície, mas também de sua penetração no interior do inseto. A

resposta imunológica do hospedeiro é ativada por fatores biológicos e pode interferir na capacidade do fungo de se estabelecer e causar a morte. Assim, a interação entre o sistema imunológico do inseto e o patógeno é um fator crucial, e é uma das razões pelas quais a infecção fúngica nem sempre resulta na morte do inseto (SAMSON; EVANS; LATGÉ, 1988).

Outro aspecto importante é a falta de uma história coevolutiva entre fungos e seus hospedeiros quando os fungos são introduzidos em novos habitats. Sem essa coevolução, os fungos podem não estar perfeitamente adaptados para superar as defesas do hospedeiro, resultando em uma resposta menos eficiente (BAHRAM; HOLANDA, 2022). Essa falta de adaptação pode gerar variações nos resultados de controle biológico em diferentes contextos ecológicos.

Embora os isolados testados neste estudo não tenham causado mortalidade significativa quando expostos ou ingeridos por conídios dos isolados fúngicos, tanto em larvas neonatas quanto em larvas de terceiro ínstar, tanto suscetíveis quanto resistentes, esses resultados são preliminares e devem ser interpretados com cautela.

Além disso, a infecção fúngica pode levar a uma série de distúrbios fisiológicos, como a redução da taxa de crescimento, alteração na mobilidade. No entanto, mais estudos quanto ao efeito na sobrevivência de lagartas expostas a esses isolados de fungos devem ser feitos, pois eles apresentam produção de metabólitos secundários que podem ser usados como ferramentas biotecnológicas como, produção de pigmentos e Acetilcolinesterase, além de outros metabólitos com efeitos inseticidas. comportamento, ou ainda distúrbios hormonais que afetam a metamorfose do inseto.

CONCLUSÃO

Os fungos filamentosos endofítico, saprófitos e provenientes de cavernas (*Aspergillus aureolatus* E25, *A. keveii* CF292, *A. sydowii* GMA3, *Epicoccum nigrum* isolados A2C32, A2S61 e 185A, *Penicillium chermesinum* 102 e *P. flavigenum* 31A) não foram virulentos a lagartas de *S. frugierda* resistentes e não resistentes às proteínas Cry.

REFERENCIAS

ABDUL QAYYUM, M.; BILAL, H.; ALI, H.; RAZA, H.; WAJID, M. Factors affecting the epizootics of entomopathogenic fungi-A review. **Journal of Bioresource Management**, 8(4), 5, 2021.

ABDULLAH, R.R.H.; ABD EL-WAHAB, A.H.; ABD EL-SALAM, S.A. Insecticidal activity and possible modes of action of secondary metabolites of some fungal strains and wild plants as natural pesticides against *Spodoptera frugiperda*. **Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci** **13**, 9, 2024. <https://doi.org/10.1186/s43088-024-00467-z>

ALVES, S. B. Fungos Entomopatogênicos. In: **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.

ASHBROOK, A.R.; MIKAELIAN, A.; SCHAL, C. Comparative Efficacy of a Fungal Entomopathogen with a Broad Host Range against Two Human-Associated Pests. **Insects**, **13**, 774, 2022. <https://doi.org/10.3390/insects13090774>

AYUDYA, D. R.; HERLINDA, S.; SUWANDI, S. Insecticidal activity of culture filtrates from liquid medium of *Beauveria bassiana* isolates from South Sumatra (Indonesia) wetland soil against larvae of *Spodoptera litura*. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, **20**(8), 2019. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200802>

BAHRAM, M.; NETHERWAY, T. Fungi as mediators linking organisms and ecosystems. **FEMS Microbiology Reviews**, **46**(2), fuab058, 2022.

BARA, G.T.; LAING, M.D. Entomopathogens: potential to control thrips in avocado, with special reference to *Beauveria bassiana*. **Horticultural Reviews**, **47**, 325-368, 2020.

BEHIE, S.W.; BIDOCHKA, M.J. Nutrient transfer in plant–fungal symbioses. **Trends in plant science**, **19**(11), 734-740, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.06.007>

BENOIT, J.B.; YODER, J.A.; ZETTLER, L.W., HOBBS III, H.H. Mycoflora of a trogloneic cave cricket, *Hadenocercus cumberlandicus* (Orthoptera: Rhaphidophoridae), from two small caves in northeastern Kentucky. **Annals of the Entomological Society of America**, **97**(5), 989-993, 2004.

BULTMAN, T. L.; BELL, G. D. Interaction between fungal endophytes and environmental stressors influences plant resistance to insects. **Oikos**, **103**(1), 182-190, 2003.

CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C.; GOODAY, G.W. **The fungi**. Gulf Professional Publishing, 2001.

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, n. 4, p. e62268, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0062268.

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

DAVIDSON, E.W. Development of insect resistance to biopesticides. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **27**:47–57, 1992.

BUENO, R.C.O.F.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; POSTALI PARRA, J.R.; HOFFMANN-

CAMPO, C. B. Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, 67:170–174, 2011. <https://doi.org/10.1002/ps.2047>

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150–158, 2014. doi: 10.1016/j.cropro.2014.06.019.

GÓMEZ, J.; GUEVARA, J.; CUARTAS, P.; ESPINEL, C.; VILLAMIZAR, L. Microencapsulated *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: insecticidal activity and effect on arthropod populations in maize. **Biocontrol Science and Technology**, 23(7), 829-846, 2013. <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.802288>

HERLINDA, S.; EFENDI, R.A.; SUHARJO, R.; HASBI, H.; SETIAWAN, A.; ELFITA, E.; VERAWATY, M. New emerging entomopathogenic fungi isolated from soil in South Sumatra (Indonesia) and their filtrate and conidial insecticidal activity against *Spodoptera litura*. **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, 21(11), 5102-5113, 2020. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211115>

INGLIS, G. D.; GOETTEL, M. S.; BUTT, T. M.; STRASSER, H.E.R.M.A.N.N. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential** (pp. 23-69). Wallingford UK: CABI publishing, 2001.

JONES, A.M.; PANACCIONE, D.G. Ergot alkaloids contribute to the pathogenic potential of the fungus *Aspergillus leporis*. **Applied and Environmental Microbiology**, 89(6), e00415-23, 2023. <https://doi.org/10.1128/aem.00415-23>

KHACHATOURIANS, G.G.; QAZI, S.S. Entomopathogenic fungi: biochemistry and molecular biology. In **Human and animal relationships** (pp. 33-61). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008.

LAWO, N.C.; MAHON, R.J.; MILNER, R.J.; SARMAH, B; K.; HIGGINS, T.J.V.; ROMEIS, J. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis*-Transgenic Chickpeas and the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* in Controlling *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Appl Environ Microbiol**, 74, 2008. <https://doi.org/10.1128/AEM.00484-08>

LEE, N. M.; MEISINGER, D. B.; AUBRECHT, R.; KOVACIK, L.; SAIZ-JIMENEZ, C.; BASKAR, S.; BASKAR, R.; LIEBL, W.; PORTER, M. L.; ENGEL, A. S. Caves and karst environments. In: **Life at extremes: environments, organisms and strategies for survival**. UK: CABI, 2012. p. 320–344. 2012.

Marques, E.J. et al. Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera frugiperda*. **Ciência Rural**, 44:637–643, 2014

MASCARIN, G.M., JARONSKI, S.T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 32, 1-26, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>

MENEZES-NETTO, A. C.; VARELLA, A. C.; FERNANDES, O. A. Maize-dwelling insects

omnivory in *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) egg masses. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 55, 97-100, 2012..
<https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000100012>

MORA, M. A. E.; CASTILHO, A. M. C.; FRAGA, M. E. Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. **Arquivos Do Instituto Biológico**, 84, 2017.
<https://doi.org/10.1590/1808-1657000552015>

NAGOSHI, R.N.; MEAGHER, R.L. Behavior and Distribution of the Two Fall Armyworm Host Strains in Florida. **Florida Entomologist** 87:440–449, 2004

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N.O. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4(3), 357-374, 2013. <https://doi.org/10.3390/insects4030357>

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N.O. Stress response signaling and virulence: insights from entomopathogenic fungi. **Current Genetics**, 61, 239–249, 2015.
<https://doi.org/10.1007/s00294-014-0439-9>

VERTON, K.; MAINO, J.L.; DAY, R.; UMINA, P.A.; BETT, B.; CARNOVALE, D.; EKESI, S.; MEAGHER, R.; REYNOLDS, O.L. Global crop impacts, yield losses and action thresholds for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A review. **Crop Protection**, 145, 105641, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105641>

OWNBY, C.L et al. Field efficacy of *Metarhizium anisopliae* against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on maize in Nigeria. **Crop Protection**, 29:200–804, 2010

PEREIRA, E.D.S.; SARQUIS, M.I.D.M.; FERREIRA-KEPPLER, R.L.; HAMADA, N.; ALENCAR, Y.B. Filamentous fungi associated with mosquito larvae (Diptera: Culicidae) in municipalities of the Brazilian Amazon. **Neotropical Entomology**, 38, 352-359, 2009.
<https://doi.org/10.1590/S1519-566X2009000300009>

PIECUCH, A.; OGÓREK, R.; DYLAŁ, M.; CAL, M.; PRZYWARA, K. *Epicoccum nigrum* Link as a potential biocontrol agent against selected dermatophytes. **Acta Mycologica**, 55(1), 2020. <https://doi.org/10.5586/am.5516>

POLANCZYK, R.A.; SILVA, R.F.P.D.; FIUZA, L.M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, 31, 164-166, 2000. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000300003>

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, 2023.

SAMAL, I.; BHOI, T. K.; MAJHI, P. K.; MURMU, S.; PRADHAN, A. K.; KUMAR, D.; SAINI, V.; PASCHAPUR, A.U.; RAJ, M.N.; ANKUR; MANIK, S.; BEHERA, P.P.; MAHANTA, D.K.; KOMAL, J.; ALAM, P.; BALAWI, T.A.; BALAWI, T. A. Combatting insects mediated biotic stress through plant associated endophytic entomopathogenic fungi in horticultural crops. **Frontiers in Plant Science**, 13, 1098673, 2023.

SAMSON, R.A.; EVANS, H.C.; LATGÉ, J.P. Natural control: ecology and biology. In: **Atlas of Entomopathogenic Fungi**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1988.

https://doi.org/10.1007/978-3-662-05890-9_5

SANTAMARIA, S.; FAILLE, A. *Rhachomyces* (Ascomycota, Laboulbeniales) parasites on cave-inhabiting Carabid beetles from the Pyrenees. **Nova Hedwigia**, 85(1-2), 159-186, 2007. <https://doi.org/10.1127/0029-5035/2007/0085-0159>

SHANG, J.; TANG, G.; LU, M.; WANG, C. Host and Environmental Sensing by Entomopathogenic Fungi to Infect Hosts. **Current Clinical Microbiology Reports**, 69–74, 2022.

SENNA-NUÑEZ, M.D.; COSTA, G.L.D.; BITTENCOURT, V.R.E. Avaliação in vitro dos fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium corylophilum* em larvas de *Musca domestica* Diptera Muscidae. **Parasitol. latinoam**, 134-140, 2002. <https://doi.org/10.4067/S0717-77122002000300009>

SILVA, I.J.S.; LIMA, I.; SILVA, G.F. Potencial antifúngico de *Epicoccum* sp. cpaa p22, fungo isolado de sedimentos do rio Purus-Amazonas. In: CONGRESSO SOBRE DIVERSIDADE MICROBIANA DA AMAZÔNIA, 8., 2023, Manaus. Diversidade microbiana: desafios e oportunidades: anais. Manaus: UFAM: EMBRAPA: UFRR, 2023.

SOUZA, P. N.C.; GRIGOLETTO, T.L.B.; MORAES, L.A.B.; ABREU, L. M.; GUIMARÃES, L.H.Z.; SANTOS, C.; GALVÃO, L.R.; CARDOSO, P.G. Production and chemical characterization of pigments in filamentous fungi. **Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 12–22, 2016. doi: 10.1099/mic.0.000168.

STORER, N.P.; BABCOCK, J.M.; SCHLENZ, M.; MEADE, T.; THOMPSON, G.D.; BING, J.W.; HUCKABA, R.M. Discovery and Characterization of Field Resistance to Bt Maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of economic entomology**, 103:1031–1038, 2010. <https://doi.org/10.1603/EC10040>

SUMIKARSIH, E.; HERLINDA, S.; PUJIASTUTI, Y. Conidial density and viability of *Beauveria bassiana* isolates from Java and Sumatra and their virulence against *Nilaparvata lugens* at different temperatures. **AGRIVITA Journal of Agricultural Science**, 41(2), 335-350. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v41i2.2105>

TAMBO, J. A.; KANSIIME, M.K.; MUGAMBI, I.; AGBOYI, L.K.; BESEH, P.K.; DAY, R. Economic impacts and management of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in smallholder agriculture: a panel data analysis for Ghana. **CABI Agriculture and Bioscience**, 4(1), 38, 2023.

VALERO-JIMÉNEZ, C. A.; FAINO, L.; SPRING IN'T VELD, D.; SMIT, S.; ZWAAN, B. J.; VAN KAN, J. A. Comparative genomics of *Beauveria bassiana*: uncovering signatures of virulence against mosquitoes. **BMC Genomics** 17, 986, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3339-1>

YODER, J.A.; BENOIT, J.B.; CHRISTENSEN, B.S.; CROXALL, T.J.; HOBBS, H. H.

Entomopathogenic fungi carried by the cave orb weaver spider, *Meta ovalis* (Araneae, Tetragnathidae), with implications for mycoflora transfer to cave crickets. **Journal of Cave and Karst Studies**, 71(2), 116-120, 2009.

YU, S.J.; NGUYEN, S.N.; ABO-ELGHAR, G.E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pestic Biochem Physiol** 77:1–11, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(03\)00079-8](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(03)00079-8)

ZHANG, Z.; TIAN, Y.; SUI, L.; LU, Y.; CHENG, K.; ZHAO, Y.; LI, Q; SHI, W. First record of *Aspergillus nomiae* as a broad-spectrum entomopathogenic fungus that provides resistance against phytopathogens and insect pests by colonization of plants. **Frontiers in Microbiology**, 14, 1284276, 2024. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1284276>

ARTIGO 2

Efeito de filtrados de fungos filamentosos na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Fernanda Soares Sales^{0*}, Mariana Macedo Souza¹, Vitor Vasconcellos de Oliveira¹, Pedro Guedes Chagas¹, Alcides Moino Junior¹

RESUMO

Spodoptera frugiperda, é considerada praga agrícola significativa, causando danos importantes em diversas culturas. A resistência crescente aos inseticidas tem impulsionado a busca por soluções mais sustentáveis como o uso de fungos filamentosos cuja capacidade de produzir metabólitos secundários com propriedades inseticidas permite sua aplicação no manejo de pragas agrícolas oferecendo uma abordagem eficiente e ambientalmente amigável. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de filtrados fúngicos na sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda*. Fungos como *Epicoccum nigrum* A2C32, A2S61, 185A, *Penicillium flavigenum* 3.1.A, *Aspergillus aureolatus* E25, *Lecanicillium aphanocladi* ONI5, *Fusarium sp.* FPW e *Aspergillus sydowii* GMA3 foram cultivados em meios líquidos, e seus filtrados foram aplicados em dietas artificiais fornecidas a larvas neonatas. Os adultos sobreviventes foram colocados em gaiolas de oviposição, onde o desenvolvimento dos ovos foi monitorado. Os filtrados de A2S61 e ONI5 foram altamente eficazes, resultando em alta mortalidade larval e interrompendo significativamente o desenvolvimento de *S. frugiperda*. Esses resultados sugerem que filtrados fúngicos podem ser uma estratégia promissora para integração em programas de controle de pragas.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho, virulência, metabólitos secundários, controle biológico, microbiologia.

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda is considered a significant agricultural pest, causing substantial damage to various crops. The growing resistance to insecticides has driven the search for more sustainable solutions, such as the use of filamentous fungi. These fungi have the ability to produce secondary metabolites with insecticidal properties, making them a viable option for agricultural pest management and an environmentally friendly approach. This study aimed to evaluate the effects of fungal filtrates on the survival and development of *S. frugiperda*. Fungi including *Epicoccum nigrum* (A2C32, A2S61, 185A), *Penicillium flavigenum* (3.1.A), *Aspergillus aureolatus* (E25), *Lecanicillium aphanocladi* (ONI5), *Fusarium sp.* (FPW), and *Aspergillus sydowii* (GMA3) were cultivated in liquid media, and their filtrates were incorporated into artificial diets fed to neonate larvae. Surviving adults were placed in oviposition cages, and egg development was monitored. The filtrates from A2S61 and ONI5 demonstrated high efficacy, resulting in significant larval mortality and substantially disrupting the development of *S. frugiperda*. These findings suggest that fungal filtrates could serve as a promising strategy for integration into pest control programs.

Keywords: Fall armyworm, virulence, secondary metabolites, biological control, microbiology.

⁰Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras, 37200-900, Lavras, MG, Brasil. *Autor correspondente: fsaless87@gmail.br

INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), é uma praga que vem causando perdas significativas, pois, o elevado número de plantas hospedeiras em sistemas de cultivo intensivo favorece a sobrevivência e crescimento populacional da praga, que afeta diversas culturas economicamente importantes em vários países (CRUZ, 2013).

Devido a sua natureza polífaga combinada com a sua habilidade migratória e à capacidade de se abrigar nos cartuchos das plantas, torna seu controle bastante complicado (OVEJERO, 2001). O manejo da lagarta-do-cartucho é predominantemente realizado por meio de produtos químicos e plantas geneticamente modificadas (CHANDRASENA et al., 2018; MURARO et al. 2021).

Contudo, o risco de desenvolvimento de resistência e os impactos adversos na saúde e no ambiente são preocupações significativas. Relatos de resistência a moléculas químicas têm sido documentados globalmente, destacando a necessidade de abordagens mais sustentáveis para o controle dessa praga (GUTIÉRREZ-MORENO et al., 2019; HARRISON et al., 2019; MURARO et al., 2021).

O controle microbiano apresenta um grande potencial para ser empregado no manejo de resistência de populações de *S. frugiperda* aos métodos de controle mais comumente utilizados. Entre os agentes mais eficazes estão os fungos filamentosos, amplamente reconhecidos por sua habilidade de infectar e matar insetos-praga. Dentre eles, destacam-se *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Nomuraea rileyi*, que são frequentemente utilizados para o controle de *S. frugiperda* (ABDULLAH; EL-WAHAB; EL-SALAM, 2024).

Os conídios dos fungos atuam como os principais agentes na infecção, iniciando o processo patogênico (WANG et al., 2021). Além disso, a interação dos fungos com os insetos frequentemente estimula a produção de metabólitos secundários, que podem ser aproveitados como ferramentas biotecnológicas amplamente aplicado na agricultura (MACHELEIDT, et al., 2016). Alguns metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos podem ser altamente tóxicos para insetos-pragas. Além disso, esses compostos têm mostrado a capacidade de influenciar diversos aspectos do ciclo de vida dos hospedeiros, como desenvolvimento, comportamento, reprodução e a indução precoce de morbidade (ROHLFS; CHURCHILL, 2011).

Estudos apontam que metabólitos secundários de fungos têm eficácia no controle de *S. frugiperda*. Compostos de *Cladosporium cladosporioides* e *Verticillium lecanii* foram eficazes

no controle dessa praga (ABDULLAH; EL-WAHAB; EL-SALAM, 2024). Da mesma forma, metabólitos de *B. bassiana* e *M. anisopliae* demonstraram efeitos negativos sobre a fecundidade e a taxa de sobrevivência de populações da espécie (ALTAF et al., 2023), reforçando seu potencial no controle biológico.

Todos os dias, novas espécies de fungos filamentosos com propriedades entomopatogênicas são descobertas, muitas delas capazes de produzir metabólitos secundários com atividades inseticidas. É notório que as estruturas inéditas e extratos bioativos produzidos por fungos ultrapassam em quantidade as substâncias naturais geradas por qualquer outro micro-organismo em qualquer habitat (BARBOSA et al. 2020).

Sabendo do enorme potencial dos metabólitos secundários produzidos por fungos e da possibilidade de uso no controle e manejo de resistência de insetos as tecnologias existentes, esse trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de filtrado de fungos filamentosos endofíticos e proveniente de cavernas e seus compostos bioativos na sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda*. A hipótese é que os filtrados dos novos fungos filamentosos sejam capazes de interferir negativamente a sobrevivência e os parâmetros biológicos dessa praga.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos do Departamento de Entomologia (DEN), na Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG.

Manutenção e criação de *Spodoptera frugiperda*

A criação de *S. frugiperda* foi conduzida mantendo as lagartas recém-eclodidas em copos plásticos de 50 ml, contendo a dieta artificial conforme descrito por Greene, Lepla e Dickerson (1976). Em cada copo, inoculou-se de 2 a 4 lagartas, as quais permaneceram até atingirem a fase de pupa, sendo os copos vedados com uma tampa acrílica. As pupas foram posteriormente transferidas para placas de Petri e, em seguida, acomodadas em gaiolas cilíndricas de PVC (24,0 cm de altura x 14,5 cm de diâmetro). Essas gaiolas foram revestidas internamente com folhas brancas e seladas na parte superior com pano tipo "voil". Como fonte de alimento para os adultos, foi oferecida uma solução aquosa de mel a 10%, fornecida via capilaridade por meio de algodão hidrófilo. A cada dois dias, as posturas foram coletadas

e acondicionadas em saco plástico, mantidas em uma câmara climatizada com temperatura regulada a 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$, e fotofase de 12 horas.

Cultivo dos fungos filamentosos

Fungos filamentosos foram escolhidos em virtude de sua habilidade em produzir inibidores de acetilcolinesterase e pigmentos. Esses isolados fazem parte da coleção do Laboratório de Bioprospecção e Genética de Fungos Filamentosos (Biogen) da Universidade Federal de Lavras.

Os fungos *Epicoccum nigrum* (A2C32), *Epicoccum nigrum* (A2S61) foram isolados como endofíticos da planta *Eremanthus* sp., popularmente conhecida como Candeia (Godinho 2016). Os fungos *Epicoccum nigrum* (185^A), *Penicillium flavigenum* (3.1.A), *Aspergillus aureolatus* (E25), *Lecanicillium aphanocladi* (ONI5), *Fusarium* sp. (FPW), *Aspergillus sydowii* (GMA3) foram isolados de cavernas e depositados na Coleção Micológica de Lavras do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

Os fungos foram cultivados em meio de cultura sólido BDA (200 g/L de batata, 20 g/L de dextrose e 15 g/L de ágar) e depois, incubados a 25 °C durante 15 dias. Para conduzir os bioensaios com os filtrados, os isolados foram incubados em meio sólido, e discos de micélio de cada isolado foram posteriormente inoculados em frascos Erlenmeyer de 2 litros contendo 500 ml de meio BDA líquido. Esses frascos foram então incubados a 25°C com agitação a 200 rpm durante 72 horas. Após essa fase, os fungos cultivados no meio líquido foram filtrados e armazenados.

Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* exposta aos filtrados de fungos

Os experimentos de sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda* expostas a filtrados de fungos, foram conduzidos em laboratório utilizando lagartas neonatas recém-eclodidas. Para isso, 50 µL dos filtrados fúngicos foram incorporados à dieta artificial previamente acondicionada em tubos de ensaio e, em seguida, submetidos à secagem em câmara de fluxo. Na testemunha, foram ofertadas dietas acrescidas do mesmo volume apenas de água destilada estéril + Tween (r) 80 (0,01%).

Após a constatação de secagem da dieta, as lagartas foram colocadas individualmente em tubos de vidro e incubadas a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e 12 horas de fotofase. Os tubos foram monitorados diariamente até que as larvas morressem ou se transformassem em pupas.

As pupas foram sexadas e colocadas em gaiolas semelhantes às utilizadas para criação, forradas com papel sulfite para a oviposição. As posturas foram transferidas para placas de Petri até a eclosão. Um total de 100 neonatos de cada tratamento foram colocados individualmente em copos plásticos de 50 mL, cada um contendo dieta e selados com tampas de acrílico.

O desenvolvimento das larvas foi monitorado até que elas atingissem o estágio de pupa, com quaisquer insetos mortos sendo removidos, e os indivíduos sobreviventes foram posteriormente usados para formar casais.

Dez casais de cada tratamento foram separados e individualizados em gaiolas de tubos de PVC (23 cm de altura x 10 cm diâmetro), revestidas internamente com papel branco como substrato para a oviposição. Os adultos foram alimentados com uma solução de mel a 10% embebida em algodão. A solução de mel e o revestimento de cada gaiola foram substituídos diariamente e o número de ovos de todas as posturas foi contabilizado de cada casal.

Para a construção da tabela de vida, foi avaliada a duração dos estágios de desenvolvimento (ovo, larva, pupa), viabilidade pupal, razão sexual, longevidade de adultos e taxa de sobrevivência da progênie dos indivíduos que sobreviveram à exposição aos filtrados fúngicos.

Análises estatísticas

Os parâmetros de tabela de vida foram estabelecidos utilizando o software TWOSSEX-MSChart 2020 (CHI et al., 2022). As diferenças entre os filtrados fúngicos foram avaliadas por bootstrapping pareado, com $P < 0,05$ considerado estatisticamente significativo pelo Valor t de Student. Os gráficos foram traçados utilizando o software Sigmaplot v15.

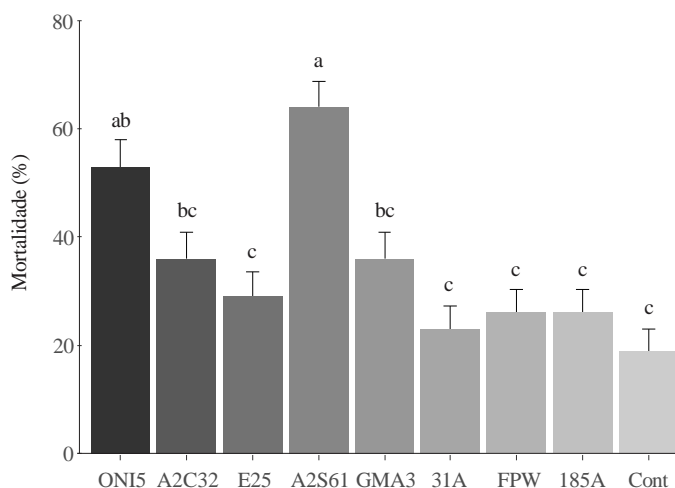
Para testar as diferenças na mortalidade e viabilidade pupal, foram utilizados Modelos Lineares Generalizados (GLM) com distribuição quasibinomial. Para testar o efeito de diferentes filtrados fúngicos, foi utilizado o teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio), seguida por comparações de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação. Essas análises foram realizadas utilizando o Software R (R Core Team 2023).

RESULTADO

Sobrevivência das fases de lagarta, pupa e adultos de *Spodoptera frugiperda* exposta filtrados de fungos

A progênie dos isolados A2S61 e ONI5 apresentaram as maiores taxas de mortalidade ao longo de todo o ciclo de desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*, com 64% e 53%, respectivamente. Essas taxas foram significativamente superior ao tratamento controle, que registrou uma mortalidade de apenas 19% ($X^2=83,851$, $df=81$, $p<0,001$) (Figura 1).

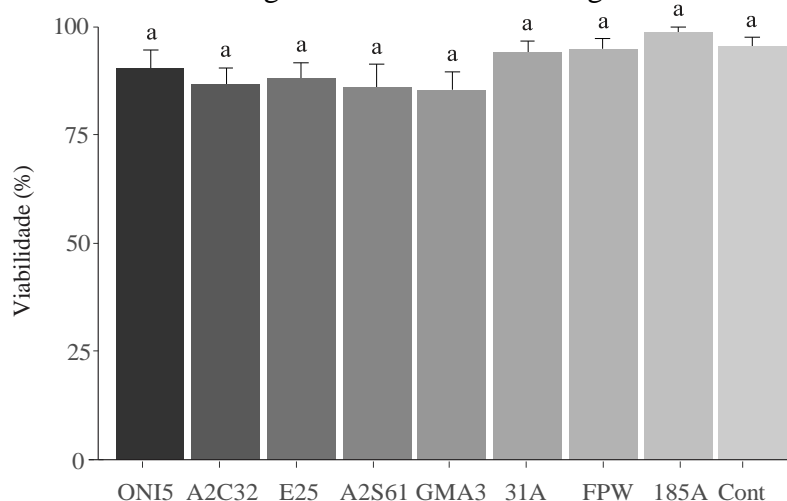
Figura 1 – Mortalidade (%) de *Spodoptera frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos.



*Barras acompanhadas por letras diferentes indicam diferenças significativas na mortalidade da progênie de casais sobreviventes aos filtrados fúngicos pelo teste de Tukey ($p\leq 0,05$).

A sobrevivência por estágio de idade (S_{xj}) de *S. frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos pode ser observada na figura 3. Percebe-se que os estágios imaturos registraram a maior taxa de mortalidade nos isolados ONI5, e A2S61. Apesar disso, as viabilidades pupais dos tratamentos variaram de 85,33% a 98,68%, com o isolado 185A e o controle apresentando as maiores taxas, enquanto o isolado GMA3 apresentaram a menor viabilidade. Apesar dessas variações, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ($X^2=74,922$, $df=81$, $p>0,05$) (Figura 2).

Figura 2 – Viabilidade pupal (%) das progênies de *Spodoptera frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos.



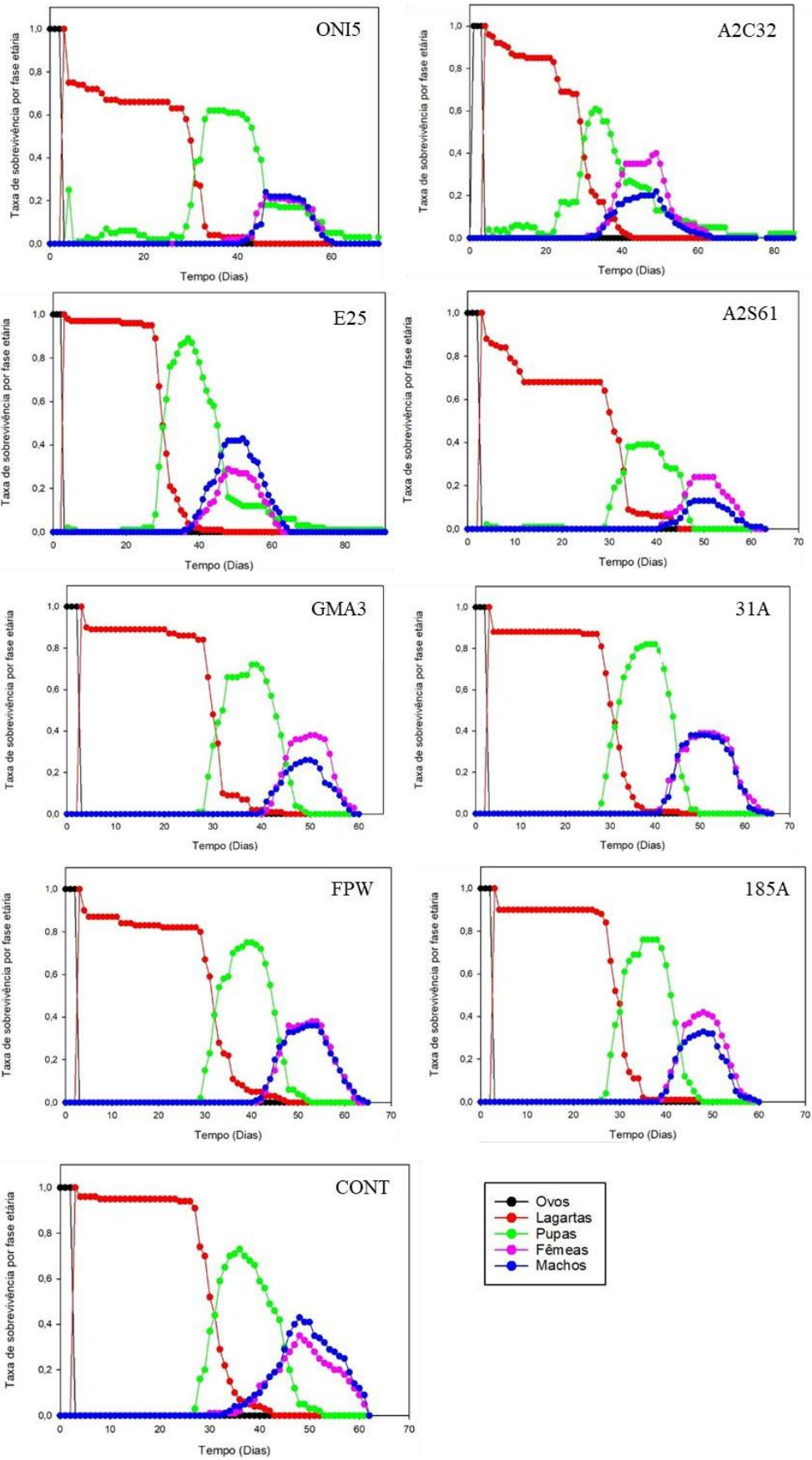
*Barras acompanhadas por letras diferentes indicam diferenças significativas na viabilidade pupal da progênie de casais sobreviventes aos filtrados fúngicos pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No tratamento A2C32, as curvas de sobrevivência das fêmeas ocorreram um dia antes das dos machos, enquanto no tratamento ONI5 essa diferença foi mais acentuada, com as curvas das fêmeas antecipadas em seis dias. No tratamento controle, a sobrevivência das fêmeas começou quatro dias antes da dos machos. Os demais tratamentos, houve emergência simultânea de machos e fêmeas (Figura 3).

A sincronização do pico de emergência de machos e fêmeas variou entre os tratamentos. No tratamento controle, ONI5, A2S61 e FPW, o pico de emergência de machos e fêmeas ocorreu simultaneamente. Por outro lado, no tratamento E25, o pico das fêmeas aconteceu antes do dos machos. Em todos os outros tratamentos, o pico de emergência dos machos precedeu o das fêmeas (Figura 3).

Nos tratamentos A2C32, A2S61, GMA3 e 185A, a proporção de fêmeas foi maior do que a de machos, indicando uma tendência de maior sobrevivência ou viabilidade feminina nesses tratamentos. Em contrapartida, nos demais tratamentos, incluindo o controle, observou-se uma proporção mais elevada de machos (Figura 3).

Figura 3 – Taxa de sobrevivência específica por estágio de idade (S_{xj}) de *Spodoptera frugiperda* casais sobreviventes da ingestão de filtrados, produzidos por fungos filamentosos.



Duração do desenvolvimento das fases de lagarta, pupa e adultos de *Spodoptera frugiperda* exposta filtrados de fungos

A duração do desenvolvimento das lagartas apresentou efeito significativo ($X^2=1891,6$, $df= 635$, $p< 0,001$). Os isolados ONI5 e A2C32 apresentaram tempo de duração menor que o do tratamento controle, enquanto os isolados E25, A2S61, GMA3, 31A, FPW e 185 A apresentaram duração média igual ao tratamento controle. A fase de pupa também apresentou efeito significativo na duração de desenvolvimento ($X^2=329,89$, $df=491$, $p<0,001$), onde os tratamentos GMA3 e 31A apresentaram maior média de duração. Já o tratamento A2C32, apresentou a menor média de duração do período pupal (Tabela 1).

Tabela 1 – Duração (em dias) do desenvolvimento de lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos.

Tratamento	Lagarta	Pupa
ONI5	20.02±1.29 c	12.85±0.24 ab
A2C32	23.34±0.93 b	9.92±0.61 c
E25	27.48±0.57 a	12.97±0.40 ab
A2S61	27.47±1.18 a	12.97±0.30 ab
GMA3	28.27±0.34 a	13.31±0.18 a
31 A	28.59±0.26 a	13.12±0.14 a
FPW	30.21±0.37 a	12.80±0.13 ab
185A	27.13±0.25 a	12.52±0.18 ab
Controle	28.72±0.37 a	11.77±0.35 ab

*Médias seguidas por letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste Bootstrap ($p>0,05$).

A longevidade de fêmeas apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($X^2=75.614$, $df=208$, $p<0,001$). Os tratamentos A2C32, E25 e 31A apresentaram a maior longevidade média, enquanto os tratamentos ONI5, A2S61, GMA3, FPW e 185A, assim como o grupo controle, apresentaram as menores médias. Para os machos, também foi observada diferença significativa ($X^2=9648$, $df=181$, $p<0,001$). Os tratamentos A2C32, E25, 31A, FPW e o controle apresentaram maiores médias de longevidade, enquanto ONI5, A2S61, GMA3 e 185A foram considerados as menores médias (Tabela 2).

A duração do ciclo total (fase imatura + fase adulta) de fêmeas ($X^2=33,917$, $df= 181$, $p< 0, 001$) e machos ($X^2= 35,263$, $df= 208$ $p< 0,001$) também tiveram diferença significativa. Os tratamentos E25, A2S61, 31 A e FPW apresentaram maior duração de ciclo para machos enquanto para as fêmeas os tratamentos ONI5, E25, A2S61, 31 A e FPW foram os que apresentaram os maiores ciclo total (Tabela 2).

Tabela 2 – Longevidade e Ciclo total (fase imatura + fase adulta) de fêmeas e machos de *Spodoptera frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos.

Tratamento	Longevidade		Ciclo Total	
	Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
ONI5	12.35±0.46 c	10.60±0.78 cd	56.70±0.63 abc	54.80±1.33 ab
A2C32	14.22±0.27 ab	14.04±0.71 ab	52.71±0.60 d	52.75±0.8 d
E25	14.17±0.56 ab	14.69±0.41 a	57.93±0.66 ab	58.31±0.59 a
A2S61	11.5±0.31 c	11.46±0.43 bcd	56.54±0.51 abc	56.85±0.80 ab
GMA3	11.31±0.24 c	11.19±0.27 cd	55.82±0.31 bc	55.00±0.48 bcd
31 A	14.54±0.27 a	14.16±0.29 ab	59.33±0.41 a	58.79±0.39 a
FPW	12.46±0.37 c	13.42±0.26 abc	58.62±0.45 ab	59.03±0.46 a
185A	11.33±0.14 c	11.33±0.18 d	54.10±0.35 cd	53.70±0.42 cd
Controle	12.87±0.32 bc	13.47±0.31 ab	56.08±0.73 bc	56.78±0.64 ab

*Médias seguidas por letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste Bootstrap ($p>0,05$).

Reprodução *Spodoptera frugiperda* exposta a filtrados de fungos

A fecundidade apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($X^2=22,319$, $d=208$, $p<0,001$). Todos os tratamentos apresentaram taxa de fecundidade menor que o tratamento controle. O período de oviposição também apresentou diferença significativa e assim como a taxa de fecundidade, todos os tratamentos apresentaram menores valores de dias de oviposição em relação ao tratamento controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Fecundidade e período de oviposição de casais de *Spodoptera frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos.

Tratamento	Fecundidade	Dias de oviposição
ONI5	179.09±30.58 d	2.14±0.28 de
A2C32	693.29±40.63 b	3.83±0.23 b
E25	462.47±39.91 c	3.38±0.21 b
A2S61	184.17±25.18 d	1.80±0.14 e
GMA3	723.71±46.11 b	4.13±0.11 b
31 A	316.56±38.38 d	2.62±0.17 cd
FPW	223.08±20.48 d	2.42±0.15 de
185A	546,62±29.29 bc	3.17±0.15 bc
Controle	1347.94±28.89 a	7.08±0.14 a

*As letras indicam diferença significativa entre os tratamentos $p<0.001$.

Com os dados da tabela de vida de fertilidade observou-se que todos tratamentos apresentaram Taxa líquida reprodutiva (R_0) menores que o tratamento controle, sendo os isolados ONI5 e A2S61 os que apresentaram a menor R_0 . A taxa intrínseca de aumento (r_m) e a taxa finita de aumento (λ) também diminuíram, com exceção do isolado A2C32, que não apresentou diferenças significativas em relação ao controle (Tabela 4).

O tempo médio de geração (T) do controle foi de 45. Os isolados 185A, 31A, A2S61 e E25 não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao tratamento controle. O isolado A2C32 apresentou tempo médio menor que o controle, enquanto os isolados ONI5, GMA3 e FPW apresentaram tempo médio maior (Tabela 4).

Tabela 4 – Parâmetros reprodutivos de casais de *Spodoptera frugiperda* provenientes de casais sobreviventes da ingestão de filtrados de fungos filamentosos.

Tratamento	Taxa reprodutiva líquida (R_0)	Taxa intrínseca de aumento (r_m)	Taxa finita de aumento (λ)	Tempo médio de geração (T)
ONI5	41.19 d	1.08 e	0.08 e	49.29 ab
A2C32	287.23 b	1.15 a	0.14 a	41.31 e
E25	138.74 c	1.11 c	0.11 c	45.44 cd
A2S61	44.2 d	1.08 de	0.08 de	47.46 abc
GMA3	275.01 b	1.13 b	0.12 b	47.17 b
31 A	123.46 c	1.11 c	0.11 c	45.85 c
FPW	87.00 c	1.09 d	0.09 d	49.34 a
185A	229.58 b	1.13 b	0.12 b	44.46 d
Controle	512.22 a	1.15 a	0.14 a	45.00 cd

*As letras indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Bootstrap.

DISCUSSÃO

Nesse presente estudo, pôde-se observar que de maneira geral os filtrados produzidos por fungos filamentosos, tiveram efeito negativo sobre o desenvolvimento das fases de lagarta, pupa e adultos de *S. frugiperda* ao longo do tempo de avaliação e podem ter potencial para serem utilizados como método alternativo no manejo integrado dessa praga. Dentre os isolados de fungos filamentosos avaliados, *L. aphanocladii* ONI5, *E. nigrum* A2S61, *E. nigrum* A2C32 e *A. sydowii* GMA3 foram os que apresentaram melhor resultado.

Estudos mostram que *Lecanicillium* sp. está entre os gêneros de fungos entomopatogênicos mais importantes e estudados (BORGES et al., 2010). Acredita-se que a patogenicidade está relacionada ao pigmento oosporeína (SOUZA et al., 2016), promovendo infecção nos insetos tanto por uma redução no número de hemócitos quanto por alterações no sistema imunológico humoral (MC NAMARA et al., 2019).

O isolado *L. aphanocladii* é uma espécie nova para o mercado de produtos biológicos, embora já encontrada na natureza como espécie entomopatogênica (ZHOU et al., 2020; NEDVECKYTĚ; PEČIULYTĚ; BŮDA, 2021) além de produzirem metabólitos de interesse. Recentemente, *L. aphanocladii* foi relatado causando infecções nos tripes (ZHOU et al.

2020). Além da patogenicidade direta, Wu et al. (2018) observou os efeitos subletais dos fungos sobre os tripes, incluindo fecundidade, longevidade e capacidade alimentar, sendo esses os aspectos mais importantes da exposição a agentes de controle microbianos.

Esses resultados corroboram com resultados encontrados nesse presente trabalho, pois foi possível observar no tratamento com *L. aphanocladii* ONI5, menor longevidade de fêmeas e machos, menor sobrevivência e menor oviposição. Esses fatores podem ser atribuídos a efeitos subletais dos filtrados fúngicos. Entre os isolados fúngicos,

O gênero *Epicoccum* possui grande potencial metabólico pouco explorado, apresentando atividade antioxidante, fotoprotetora, antimicrobiana, citotóxica, anti-inflamatória e antiviral (TEIXEIRA et al., 2019). Um dos isolados utilizados nesse trabalho, *E. nigrum* A2S61 produz inibidores de acetilcolinesterase, que são rapidamente absorvidos pela via gastrointestinal sendo altamente tóxicos (GUEVARA; PUEYO, 1995). Relatos mostra que *E. nigrum* tem sido usado como agente de controle de doenças fúngicas e bacterianas, por produzir metabólitos secundários (NZABANITA et al. 2022). Acredita-se que a menor taxa de sobrevivência dos insetos e menor taxa de oviposição ocasionada pelo isolado A2S61 foi consequência da exposição a esses metabólitos, pois os compostos produzidos pelo fungo alteram a capacidade de reprodutiva desses insetos.

Dentre os isolados de fungos utilizados, observa-se que o gênero *Aspergillus* abrange algumas espécies com capacidade patogênica em relação a insetos, ao passo que também inclui membros que manifestam patogenicidade direcionada a vertebrados, onde infecções por *Aspergillus* em pássaros, outros animais e seres humanos têm sido amplamente divulgadas (PEREIRA; ALVES; REIS, 1998).

Aspergillus sydowii já foi relatado por Silipiwe, Muriithi e Ojiewo (2024) sendo isolado de lagartas de *S. frugiperda*. Contudo, não foi encontrada referências que se refira a esta espécie como patogênicas a lagartas de *S. frugiperda*, só a outros insetos como a mosca das frutas *Drosophila melanogaster*, onde apresentou 100% de mortalidade quando expostas ao fungo (NAFIS et al. 2023). Também foi relatado *A. sydowii* causando alterações no comportamento de parasitoides (STEINER et al. 2007).

O gênero *Penicillium* tem sido relatado como patogênico a *S. frugiperda*, onde foi capaz de diminuir a eficácia alimentar das lagartas de segundo ínstar em 68,1% (IDREES et al. 2023). Já Paterson et al. (1990) relataram atividade de metabólitos secundários no controle de *S. frugiperda*. No presente trabalho, o isolado *P. flavigenum* 3.1.A não apresentou diferença significativa para a duração das diferentes fases de desenvolvimento de *S. frugiperda* porém

houve diferença significativa na reprodução tanto quanto número de ovos como tempo de oviposição. Esse resultado pode ser explicado pelo metabólito brevianamida D produzida por *Penicillium* sp., que provoca redução no peso de pupas, e conseqüentemente, interfere na reprodução das mariposas (PATERSON et al., 1990).

O isolado *Fusarium* sp. FPW apresentou efeitos significativos quando comparados a capacidade reprodutiva, produção de ovos e dias de oviposição. Em um trabalho recente foi observado efeito no consumo da dieta de *S. frugiperda* quando tratada com metabólitos de *Fusarium* sp. (MARCINKEVICIUS et al. 2019) e alguns autores vem sugerindo que o efeito dos fungos entomopatogênicos nos insetos se deve à presença de metabólitos fúngicos que provocam não preferência alimentar ou antibiose (CHERRY et al. 2004; VEGA et al. 2008).

Outros isolados do gênero *Fusarium*, como *F. humuli* e *F. incarnatum*, já foram identificados causando mortalidade em *S. frugiperda*, (NKUWI et al., 2023). O isolado *Fusarium lateritium* também apresentou efeitos sobre ovos e larvas de *Spodoptera litura* (Fabricius) apresentando mortalidade de 89% quando aplicados uma concentração 1×10^8 de conídios/ml (ANAND; TIWARY, 2009). Em contrapartida, Diniz et al. (2022), testou vários isolados de *Fusarium incarnatum-equiseti* e nenhum foi patogênico a *S. frugiperda*, mas todos os isolados testados foram patogênicos para outras espécies, como o cupim *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) com mortalidade cumulativa confirmada em 38,22 – 96,00%.

Estudos que avaliem o efeito desses filtrados, seus metabólitos e a identificação dos mesmos devem ser feitos, pois, acredita-se que não só a toxicidade dos metabólitos, mas também o fator deterrência pode ter influenciado na alimentação dessas lagartas e conseqüentemente em todo desenvolvimento dos insetos.

Os resultados do presente estudo evidenciam a interferência dos fungos filamentosos no desenvolvimento e fecundidade de *S. frugiperda* corroborado por outros autos. No entanto, pesquisas adicionais são necessárias para isolar e caracterizar os compostos bioativos dentro dos filtrados fúngicos responsáveis por esses efeitos. Ao preencher essas lacunas de pesquisa, a utilização de fungos filamentosos para o controle de *S. frugiperda* pode alcançar avanços significativos tanto em eficácia quanto em aplicabilidade.

CONCLUSÃO

A aplicação dos filtrados de fungos filamentosos *L. aphanocladii* ONI5, *E. nigrum* A2C32 e *A. sydowii* GMA3 afetaram o desenvolvimento e fecundidade de *S. frugiperda*.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, R.R.H.; ABD EL-WAHAB, A.H.; ABD EL-SALAM, S.A. Insecticidal activity and possible modes of action of secondary metabolites of some fungal strains and wild plants as natural pesticides against *Spodoptera frugiperda*. **Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci** **13**, 9, 2024. <https://doi.org/10.1186/s43088-024-00467-z>
- ALTAF, N.; ULLAH, M.I.; AFZAL, M.; ARSHAD, M.; ALI, S.; RIZWAN, M.; AL-SHURAYM, L.A.; ALHELAIIFY, S.S.; SAYED, S. Endophytic Colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in Maize Plants Affects the Fitness of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Microorganisms**, **11**, 1067, 2023. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11041067>
- ANAND, R.; TIWARY, B.N. Patogenicidade de fungos entomopatogênicos para ovos e larvas de *Spodoptera litura*, a lagarta-cortadeira comum. **Biocontrol Science and Technology**, **19** (9), 919–929, 2009. <https://doi.org/10.1080/09583150903205069>
- BARBOSA, F.; PINTO, E.; KIJJOA, A.; PINTO, M.; SOUSA, E. Targeting antimicrobial drug resistance with marine natural products. **International journal of antimicrobial agents**, **56**(1), 106005, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106005>
- BORGES, D.; DÍAZ, A.O.; SAN JUAN, A.N.; GÓMEZ, E. Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos. **ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar**, **44**(3), 49-55, 2010.
- CHANDRASENA, D. I., SIGNORINI, A. M., ABRATTI, G., STORER, N. P., OLACIREGUI, M. L., ALVES, A. P., PILCHER, C. D. Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis* -derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina. **Pest Manag Sci** **74**:746–754, 2018. <https://doi.org/10.1002/ps.4776>
- CHERRY, A.J.; BANITO, A.; DJEGUI, D.; LOMER, C. Suppression of the stem-borer *Sesamia calamistis* (Lepidoptera; Noctuidae) in maize following seed dressing, topical application and stem injection with African isolates of *Beauveria bassiana*. **International journal of pest management**, **50**(1), 67-73, 2004. <https://doi.org/10.1080/09670870310001637426>
- CHI, H.; GÜNCAN, A.; KAVOUSI, A.; GHARAKHANI, G.; ATLIHAN, R.; ÖZGÖKÇE, M. S.; SHIRAZI, J.; AMIR-MAAFI, M.; MAROUFPOOR, M.; TAGHIZADEH, R. TWSEX-MSChart: the key tool for life table research and education. **Entomologia Generalis**, **42**(6), 2022. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2022/1851>
- CRUZ, I. Desafio complexo – Manejo de lagartas no advento de tecnologias Bt. **Rev Cultiv Gd Cult** **1**:7–11, 2013
- DINIZ, A.G.; CERQUEIRA, L.V.B.M.P.D.; RIBEIRO, T.K.D.O.; COSTA, A. F.; TIAGO, P.V. Pathogenicity of isolates of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex to *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Pest Management**, **68**(2), 103-112, 2022. <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1797232>

FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150–158, 2014. doi: 10.1016/j.cropro.2014.06.019.

GUEVARA, J.L.; PUEYO, V.M. Toxicología Médica: clínica y laboral. **Toxicología médica: clínica y laboral**, 1995.

GUTIÉRREZ-MORENO, R., MOTA-SANCHEZ, D., BLANCO, C. A., WHALON, M. E., TERÁN-SANTOFIMIO, H., RODRIGUEZ-MACIEL, J. C., DIFONZO, C. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of economic entomology**, 112(2), 2019 792-802.

HARRISON, R. D., THIERFELDER, C., BAUDRON, F., CHINWADA, P., MIDEGA, C., SCHAFFNER, U., VAN DEN BERG, J. Agro-ecological options for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* JE Smith) management: Providing low-cost, smallholder friendly solutions to an invasive pest. **Journal of environmental management**, 243:318–330. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.011>

IDREES, A.; AFZAL, A.; QADIR, Z. A.; LI, J. Virulence of entomopathogenic fungi against fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Frontiers in Physiology**, 14, 1107434, 2023 <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1107434>

MARCINKEVICIUS, K.; SALVATORE, A.; MURUA, G.; ARENA, M.; VERA, N. Phytochemical investigation and biological activities of *Fusarium* sp. An entomogenous fungus. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 18, 101084, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101084>

MC NAMARA, L.; DOLAN, S.K.; WALSH, J.M.; STEPHENS, J.C.; GLARE, T.R.; KAVANAGH, K.; GRIFFIN, C.T. Oosporein, an abundant metabolite in *Beauveria caledonica*, with a feedback induction mechanism and a role in insect virulence. **Fungal biology**, 123(8), 601-610, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.01.004>

MURARO, D. S., GARLET, C. G., GODOY, D. N., COSSA, G. E., RODRIGUES JUNIOR, G. L. D. S., STACKE, R. F., BERNARDI, O. Laboratory and field survival of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt and non-Bt maize and its susceptibility to insecticides. **Pest management science**, 75(8), 2202-2210, 2019.

NAFIS, M. M.; QUACH, Z. M.; AL-SHAARANI, A. A.; MUAFA, M. H.; PECORARO, L. Pathogenicity of *Aspergillus* airborne fungal species collected from indoor and outdoor public areas in Tianjin, China. **Pathogens**, 12(9), 1154, 2023. <https://doi.org/10.3390/pathogens12091154>

NEDVECKYTĚ, I.; PEČIULYTĚ, D.; BŪDA, V. Fungi associated with horse-chestnut leaf miner moth cameraria ohridella mortality. **Forests**, 12(1), 58, 2021. <https://doi.org/10.3390/f12010058>

NKUWI, E.I.; RWEGASIRA, G.M.; CHILAGANE, L.A. Bio-Efficacy of *Fusarium humuli* and *Fusarium incarnatum* (Hypocreales: Nectriaceae) Against Larvae of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) Under Controlled Conditions. **Journal of Current Opinion in Crop Science**, 4(2), 56-67, 2023.

NZABANITA, C.; ZHANG, L.; ZHAO, H.; WANG, Y.; WANG, Y.; SUN, M.; WANG, S.; GUO, L. Fungal endophyte *Epicoccum nigrum* 38L1 inhibits in vitro and in vivo the pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. **Biological Control**, 174, 105010, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105010>

OVEJERO, R.F.L. Controle da lagarta-do-cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*). In: Portal do Campo. <http://www.portaldocampo.com.br>, 2001. Accessed 2 Jan 2024

PATERSON, R.R.M.; SIMMONDS, M.J.S.; KEMMELMEIER, C.; BLANEY, W. M. Effects of brevianamide A, its photolysis product brevianamide D, and ochratoxin A from two *Penicillium* strains on the insect pests *Spodoptera frugiperda* and *Heliothis virescens*. **Mycological research**, 94(4), 538-542, 1990. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(10\)80017-6](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(10)80017-6)

PEREIRA, R.M.; ALVES, S. B.; REIS, P.R. Segurança no emprego de entomopatógenos. **Controle microbiano de insetos**, 1998.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, 2023.

SILIPIWE, S.; MURIITHI, A.N.; OJIEWO, C.O. Mycotoxic effects of entomopathogenic fungi of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* JE Smith) on poultry feed safety. **CABI Agriculture and Bioscience**, 5(1), 10, 2024. <https://doi.org/10.1186/s43170-023-00200-3>

SOUZA, P. N.C.; GRIGOLETTO, T.L.B.; MORAES, L.A.B.; ABREU, L. M.; GUIMARÃES, L.H.Z.; SANTOS, C.; GALVÃO, L.R.; CARDOSO, P.G. Production and chemical characterization of pigments in filamentous fungi. **Microbiology**, v. 162, n. 1, p. 12–22, 2016. doi: 10.1099/mic.0.000168.

STEINER, S.; ERDMANN, D.; STEIDLE, J.L; RUTHER, J. Host habitat assessment by a parasitoid using fungal volatiles. **Frontiers in zoology**, 4, 1-10, 2007. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-4-3>

TEIXEIRA, T.R.; SANTOS, G.S.D.; ARMSTRONG, L.; COLEPICOLO, P.; DEBONSI, H. M. Antitumor potential of seaweed derived-endophytic fungi. **Antibiotics**, 8(4), 205, 2019.

VEGA, F.E.; POSADA, F.; AIME, M.C.; PAVA-RIPOLL, M.; INFANTE, F.; REHNER, S.A. Entomopathogenic fungal endophytes. **Biological control**, 46(1), 72-82, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.008>

WU, S.; TANG, L.; FANG, F.; LI, D.; YUAN, X.; LEI, Z.; GAO, Y. Screening, efficacy and mechanisms of microbial control agents against sucking pest insects as thrips. **Advances in Insect Physiology**, 55, 199-217, 2018. <https://doi.org/10.1016/bs.aaip.2018.07.005>

ZHOU, Y.; ZOU, X.; ZHI, J.; XIE, J.; JIANG, T. Fast recognition of *Lecanicillium* spp., and its virulence against *Frankliniella occidentalis*. **Frontiers in microbiology**, 11, 561381, 2020.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de fungos filamentosos para o controle biológico de *S. frugiperda* se mostra uma alternativa promissora e eficiente, especialmente em face da crescente resistência dessa praga a inseticidas químicos e proteínas Cry. Fungos como *B. bassiana* e *M. anisopliae* têm demonstrado alta virulência contra as larvas de *S. frugiperda*, independentemente de sua resistência genética, o que amplia as possibilidades de manejo dessa praga em diversas condições de cultivo.

Embora os fungos apresentem uma menor probabilidade de desenvolvimento de resistência, o que constitui uma vantagem importante em relação aos métodos químicos tradicionais, o uso repetido das mesmas cepas fúngicas pode resultar em uma redução de eficiência ao longo do tempo.

A avaliação de novas cepas fúngicas é essencial para garantir a eficácia contínua dos fungos como agentes de controle biológico. Ambientes diferenciados, como cavernas e habitats endofíticos, oferecem condições que favorecem variações genéticas capazes de aumentar a virulência contra diferentes pragas, melhorar a adaptação a variados ambientes e estimular a produção de substâncias bioativas.

Os resultados demonstraram que, embora todos os fungos filamentosos endofíticos, saprófitos e provenientes de cavernas (como *Aspergillus aureolatus* E25, *A. keveii* CF292, *A. sydowii* GMA3, *Epicoccum nigrum* [isolados A2C32, A2S61 e 185A], *Penicillium chermesinum* 102 e *P. flavigenum* 3.1.A) não tenham demonstrado virulência direta contra lagartas de *S. frugiperda* resistentes e não resistentes às proteínas, seus filtrados foram altamente eficientes, reduzindo a sobrevivência das lagartas e o tempo de desenvolvimento larval. Os isolados A2S61 e ONI5 apresentaram as maiores taxas de mortalidade, chegando a 64%, enquanto A2C32 e E25 impactaram a longevidade dos adultos, e ONI5 e GMA3 reduziram mais o tempo de desenvolvimento larval, indicando que os compostos bioativos derivados de fungos possuem grande potencial para controle biológico.

A utilização de fungos filamentosos no manejo integrado de pragas surge como uma alternativa promissora para o controle de *S. frugiperda*, aliando eficácia biológica a benefícios ambientais. Essa abordagem não apenas reduz a necessidade de inseticidas químicos, mas também favorece práticas agrícolas sustentáveis, contribuindo para a preservação dos ecossistemas, a segurança alimentar e a saúde humana.