



ISSN: 2525-815X

Journal of Environmental Analysis and Progress

Journal homepage: www.jeap.ufrpe.br/

10.24221/jeap.9.1.2024.6577.060-064



Avaliação do efeito de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)

Evaluation of the effect of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) eggs

Andrezza Maddalena^a, Khyson Gomes Abreu^a, Carlos Henrique de Brito^a, Rhaldney Felipe de Santana^a, João Paulo de Oliveira Santos^b, Angélica da Silva Salustino^a, Marília de Macêdo Duarte Morais^a, Lylian Souto Ribeiro^a, Roberto Balbino da Silva^a

^a Universidade Federal da Paraíba-UFPB, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Departamento de Biociências, Laboratório de Invertebrados. Rodovia PB-079, Km 12, Areia, Paraíba, Brasil. CEP: 58397-000. E-mail: andrezamaddalena@gmail.com, khysonabreu@gmail.com, chbritoufpb@gmail.com, rhaldneyfelipe.santana@gmail.com, angelicasalustino@gmail.com, mariliaduartebio@gmail.com, lyliansoutoribeiro@gmail.com, balbinorobert@hotmail.com.

^b Instituto Federal do Tocantins-IFTO, Campus Avançado Lagoa da Confusão, Rua 02, Quadra 5A, Lote 01, Setor Lagoa da Ilha, Lagoa da Confusão, Tocantins, Brasil. CEP: 77493-000. E-mail: jpos@agro.adm.br.

ARTICLE INFO

Recebido 10 Jan 2024

Aceito 25 Mar 2024

Publicado 31 Mar 2024

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is of great economic importance due to the damage it causes to corn (*Zea mays* L.) crops. Control of this pest is mainly done with chemical insecticides, which have led to the selection of resistant populations. Thus, biological control emerges as a more sustainable alternative, using groups of natural enemies, such as the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales: Clavicipitaceae) and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae), to control pests. The objective of this research was to evaluate the ovicidal effect of *M. anisopliae* and *B. bassiana* on eggs of different ages of *S. frugiperda*. The experiment was carried out at the Invertebrate Laboratory of the Agricultural Sciences Center of the Federal University of Paraíba. The eggs were immersed in a concentration of 5 g of viable conidia diluted in 50 mL of distilled water. Means were compared using the Tukey test ($p \leq 0.05$). The results showed that *M. anisopliae* and *B. bassiana* are effective in controlling *S. frugiperda* when applied to eggs of different ages, showing promise for Integrated Pest Management. **Keywords:** Biological control, corn, entomopathogenic fungi.

RESUMO

Spodoptera frugiperda (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) tem grande importância econômica devido aos prejuízos que causa na cultura do milho (*Zea mays* L.). O controle dessa praga é feito principalmente com inseticidas químicos, que têm levado à seleção de populações resistentes. Assim, o controle biológico surge como uma alternativa mais sustentável, utilizando grupos de inimigos naturais, como os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae), para controlar pragas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito ovicida de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos de diferentes idades de *S. frugiperda*. O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Invertebrados do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. Os ovos foram imersos em uma concentração de 5 g de conídios viáveis diluídos em 50 mL de água destilada. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados mostraram que *M. anisopliae* e *B. bassiana* são eficazes no



Journal of Environmental Analysis and Progress © 2016
is licensed under CC BY-NC-SA 4.0

controle de *S. frugiperda* quando aplicados em ovos de diferentes idades, mostrando-se promissores para o Manejo Integrado de Pragas.

Palavras-Chave: Controle biológico, milho, fungos entomopatogênicos.

Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) (Gramineae: Poaceae) tem como características um ciclo de vida curto, raízes fasciculadas e porte variável, conferindo à planta uma grande adaptabilidade a diferentes condições climáticas (Ferreira, Mello & Galvani Júnior, 2021; Almeida Júnior et al., 2022). Segundo o 11º Levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a estimativa da produção de milho no Brasil atingirá 130 milhões de toneladas no ano de 2023, sendo esse quantitativo 16,8% acima da safra passada (Conab, 2022). No entanto, mesmo com esses avanços no rendimento dessa cultura e das tecnologias empregadas na sua produção, o milho ainda é uma cultura bastante afetada por insetos-praga, dentre os quais pode se destacar a espécie *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida popularmente como a lagarta-do-cartucho, considerada a principal praga do milho (Goedel, Fanta & Poltronieri, 2021).

Spodoptera frugiperda é responsável por causar perdas no rendimento da cultura do milho que representam de 17,7% a 55,6% da produção (Marcos et al., 2023), sendo o controle químico o meio mais utilizado para o seu controle. Esse controle é feito principalmente com o uso de inseticidas químicos, os quais têm gerado a seleção de populações resistentes e desencadeando doenças e problemas ambientais, como a eliminação de insetos benéficos do ambiente (Goedel, Fanta & Poltronieri, 2021). Assim, urge a necessidade da substituição do controle químico por métodos mais sustentáveis, a exemplo do controle biológico.

O controle biológico está inserido nos rol dos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), fazendo uso dos grupos de inimigos naturais para controlar pragas, como os fungos entomopatogênicos, que destacam-se como uma boa opção devido à sua alta capacidade de reduzir populações de pragas em níveis abaixo dos níveis de dano econômico (Apirajkamol et al., 2023). As espécies mais estudadas com essa finalidade são *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 (Hypocreales: Clavicipitaceae) e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 (Hypocreales: Cordycipitaceae), ambos classificados como fungos ascomicetos (Montecalvo & Navasero, 2021; Apirajkamol et al., 2023). A capacidade de controle desses fungos sobre *S. frugiperda* é bastante promissora, uma

vez que foi constatado que ambos são patogênicos a diferentes estágios de vida dessa praga (Montecalvo, Navasero & 2021), dado que também foi corroborado ao ser confirmada a viabilidade desses fungos como potenciais limitadores do uso de inseticidas químicos (Apirajkamol et al., 2023). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito ovicida dos fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre ovos de diferentes idades de *S. frugiperda*.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Invertebrados (LABIN) do Departamento de Biociências do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba.

Criação e manutenção de *Spodoptera frugiperda*

Os ovos utilizados no experimento foram provenientes da criação de *S. frugiperda* estabelecida no LABIN, mantidas em câmaras climatizadas tipo D.B.O. (Demanda Biológica de Oxigênio) sob condições controladas: temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade ($60 \pm 10\%$) e fotofase (12 h).

Na fase larval, as lagartas foram acondicionadas individualmente em tubos de vidro esterilizados de fundo chato de 2,5 cm de diâmetro \times 8,5 cm de comprimento, contendo dieta artificial adaptada de Poitout & Buès (1974) (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes da dieta artificial oferecida para a fase larval de *Spodoptera frugiperda*. Fonte: adaptada de Poitout & Buès (1974).

Ingredientes	Quantidade
Ácido ascórbico	4,5 g
Ácido benzóico	1,3 g
Ágar	18,0 g
Água destilada	800 mL
Caseína	14,0 g
Formalina	0,5 mL
Gérmen de trigo	32,0 g
Levedo de cerveja	34,0 g
Farinha de milho	128,0 g
Nipagin®	1,1 g

Os tubos foram tamponados com algodão e mantidos em câmara climatizada tipo D.B.O. até a lagarta atingir o estágio de pupa, sendo os tubos preenchidos com a dieta artificial até 1/4 de seu comprimento. Após a sexagem das pupas, foram formados casais de *S. frugiperda*, separando-se dez casais em gaiolas de policloreto de vinila (PVC) de

20 cm de diâmetro × 20 cm de altura, sendo revestidas internamente com papel sulfite, cuja parte superior foi coberta por tecido *voil* e a inferior, por um pedaço de isopor, proporcional ao tamanho das gaiolas.

A alimentação na fase adulta foi feita a partir de chumaços de algodão, um deles embebido com água destilada e o outro com uma solução de água e mel a 10%. Esses foram cobertos por pequenos copos plásticos, a fim de se evitar a atração de outros insetos até as gaiolas.

Linhagem fúngica utilizada na infecção de S. frugiperda

Os fungos utilizados foram os isolados das espécies *M. anisopliae* IBCB 425, conhecido comercialmente como Metarplan, sob o registro 0915, e *B. bassiana* IBCB 66, revigorado em *Diatraea* spp., atualmente sem registro e nome comercial. Ambos os fungos foram provenientes do Laboratório de Controle Biológico da Associação de Plantadores de Cana da Paraíba (ASPLAN), situado no município de Mamanguape, Paraíba, sendo oriundos do Instituto Biológico de Campinas, Campinas, São Paulo.

Os fungos procederam do laboratório quantificados em $1,4 \times 10^9$ conídios viáveis/grama de arroz (concentração de conídios cultivado em 1,5 Kg de arroz (meio de cultura artificial utilizado)). A viabilidade constatada desse material foi de 98,27%. As suspensões de conídios foram preparadas com água destilada esterilizada contendo espalhante adesivo Tween 80 (0,01%), seguindo as recomendações da ASPLAN. A concentração utilizada para cada isolado fúngico foi de 5 g de conídios viáveis cultivados em arroz, diluídos em 50 mL de água destilada.

Teste ovicida utilizando fungos entomopatogênicos sobre ovos de diferentes idades de S. frugiperda

Os ovos de *S. frugiperda* foram imersos em 1 mL de suspensão de conídios (na concentração de $1,4 \times 10^9$ conídios viáveis por grama de arroz) por dez segundos, de onde foram retirados cuidadosamente com um pincel de cerdas macias e transferidos para um papel absorvente dobrado e umedecido com água destilada contido nas placas de Petri. Cada isolado fúngico representava um tratamento e contava com cinco repetições, cada repetição, continha dez ovos, totalizando 50 ovos/tratamento.

As placas foram vedadas com plástico filme e acondicionadas na sala de criação do LABIN, fotofase de 12 h e umidade e temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$, respectivamente) controladas. Após 96 e 120 h de início dos tratamentos, avaliou-se a eclosão das larvas. As lagartas sobreviventes foram mantidas com a dieta artificial, sendo esta adicionada às placas e o papel absorvente removido. A dieta era trocada a cada dois dias, a fim de manter as placas sempre limpas.

O delineamento experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial de $3 \times 10 \times 2$ (tratamentos (*M. anisopliae*, *B. bassiana* e testemunha (este último foi mantido sob as mesmas condições citadas anteriormente em relação a fotofase, umidade e temperatura)) × quantidade de ovos × tempo de avaliação).

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o software estatístico R (*R Development Core Team*, 2006). Os gráficos foram construídos utilizando-se o programa *Microsoft Office Excel*® 2019.

Resultados e Discussão

Ao avaliar a taxa de eclosão das larvas de *S. frugiperda*, verificou-se maior viabilidade para a testemunha, com 63,33% nas avaliações de 96 h e 46,66% nas avaliações de 120 h (Figura 1).

Por outro lado, a porcentagem de eclosão das larvas tratadas com o fungo *M. anisopliae* foi baixa em ambas as avaliações, com apenas 9,33% nas avaliações de 96 h e 18,66% nas avaliações de 120 h (Figura 1). Para o fungo *B. bassiana*, a porcentagem de eclosão foi ainda mais baixa nas avaliações de 120 h, com apenas 6,66%, e nas avaliações de 96 h a porcentagem foi de 18,66% (Figura 1).

Montecalvo & Navareso (2021) também verificaram em seus estudos que a eclosão de larvas de *S. frugiperda* foi reduzida para, aproximadamente, 30% na presença de *B. bassiana* e 50%, quando tratadas com *M. anisopliae*, ambas na concentração de 1×10^9 conídios mL⁻¹.

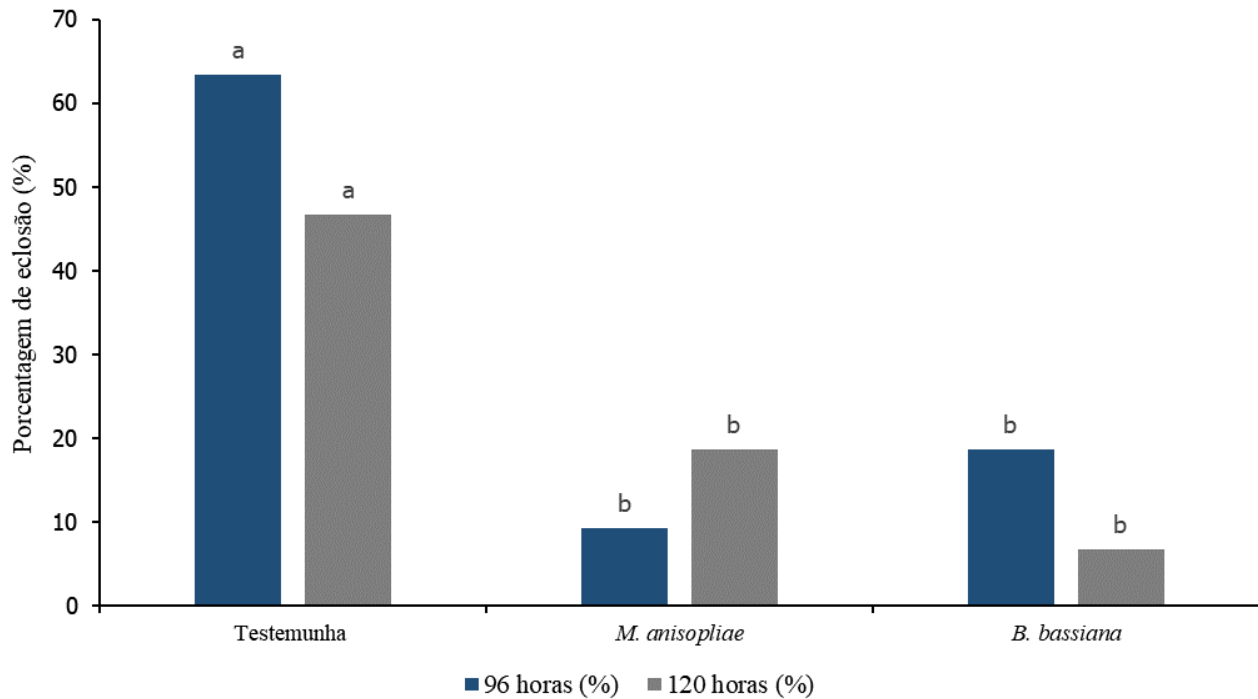


Figura 1. Porcentagem de eclosão de larvas de *Spodoptera frugiperda* após 96 e 120 h da imersão dos ovos em soluções fúngicas de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana*. Fonte: Maddalena (2024).

Além disso, resultados obtidos por Silva (2023) constataram efeitos adversos sobre os primeiros estágios de vida de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), quando ovos tratados com cinco espécies do gênero *Metarhizium*, incluindo a espécie *M. anisopliae*, antes dos primeiros sinais externos da infecção fúngica aparecerem, adquiriram uma aparência murcha, e após a eclosão, as ninfas não sobreviveram e foi possível observar pontos esporulados pelo corpo desses insetos.

Sendo assim, as baixas porcentagens obtidas no presente estudo mostraram que, tanto *M. anisopliae*, quanto *B. bassiana* foram efetivas para *S. frugiperda*, provocando efeito ovicida na praga, não prolongando o seu ciclo de vida por meio do controle ainda na fase de ovo, com a redução da taxa de eclosão.

Além dos resultados obtidos no teste ovicida, outro ponto relevante que pode ser comentado neste estudo, destacando-se como uma das possíveis principais desvantagens apontadas em relação ao uso de microrganismos para o controle de pragas, é a sua atividade mais lenta, devido ao período de ação do patógeno (Souza et al., 2022).

Segundo resultados de estudos de bioprospecção e ação patogênica de isolados fúngicos dos gêneros *Metarhizium* e *Beauveria*, este período seria entre 5 e 18 dias (tempo letal), podendo ser menos ou mais dias, dependendo principalmente da viabilidade dos isolados, concentração de conídios e ações externas que

podem acabar interferindo, negativamente, neste parâmetro, como a temperatura e umidade (Zappellini et al., 2010; Loureiro et al., 2020).

No entanto, constatou-se que ambos as espécies de fungos utilizadas neste experimento mostraram uma rápida atividade sobre os ovos de *S. frugiperda*, com mortalidade comprovada a partir de 96 h (quatro dias) após a imersão dos ovos da praga nas soluções fúngicas com *M. anisopliae* e *B. bassiana*.

Neste contexto, estudos sobre diferentes tempos letais se fazem importantes para a seleção das linhagens fúngicas mais promissoras para o controle biológico de pragas, sendo interessante que além dos fungos apresentarem uma boa taxa de mortalidade, consigam também matar, no menor período de tempo possível, os seus hospedeiros, otimizando assim o controle dos insetos-praga em campo.

Além disso, estudos envolvendo a susceptibilidade de ovos de insetos-praga a fungos entomopatogênicos e os efeitos causados por esses microrganismos pós-eclosão ainda são escassos, mas sabe-se que, em relação aos ovos, a idade é capaz de influenciar na capacidade de infecção do fungo. Sobre isso, é explicado que, ao longo do desenvolvimento do ovo, é formada uma camada espessa no córion, dificultando a penetração dos conídios (Ortiz-Urquiza & Nemat, 2013).

No presente estudo, foi possível observar que mesmo havendo a formação dessa camada espessa no córion, que acaba dificultando a penetração dos fungos nos ovos de pragas como *S.*

frugiperda, estes ainda assim, conseguiram agir, efetivamente, contra esta praga.

Conclusão

Os fungos entomopatogênicos *M. anisopliae* e *B. bassiana* mostram-se eficazes no controle de *S. frugiperda* em seu primeiro estágio de vida, ocasionando efeito ovicida sobre os ovos de diferentes idades, tornando-se uma alternativa viável para o controle mais sustentável de pragas em agroecossistemas.

Indicamos a necessidade da realização de mais estudos para que se possa introduzi-la nos programas de MIP.

Referências

- Almeida Júnior, J. J.; Ferreira, D. V.; Ferreira, M. C.; Almeida, E. V.; Carneiro, A. O. T.; Santos, L. J. S.; Souza, A. I.; Garcia, E. C.; Silva, V. J. A.; Miranda, B. C.; Silva, D. S. 2022. Segunda safra de milho com remineralizador micaxisto em consórcio com fertilizante orgânico. *Brazilian Journal of Development*, 8, 4, 29979-29991. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-472>
- Apirajkamol, N. B.; Hogarty, T. M.; Mainali, B.; Taylor, P. W.; Walsh, T. K.; Tay, W. T. 2023. Virulence of *Beauveria* sp. and *Metarhizium* sp. fungi towards fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Arch Microbiol*, 205, 10, 328. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03669-8:205-328>
- Conab. 2022. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos [Internet]; 09 set 2022 [citado em 22 nov. 2023]. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>
- Ferreira, E. G.; Mello, A. J. R.; Galvani Júnior, C. D. 2021. Saneamento ecológico: uso de urina humana como fonte de nitrogênio no cultivo do milho (*Zea mays*). *Brazilian Journal of Development*, 7, 12, 122054-122080. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n12-798>
- Goedel, A. D.; Fanta, M. R.; Poltronieri, A. S. 2021. Resistência varietal de milho doce crioulo a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Research, Society and Development*, 10, 13, e411101321309-e411101321309. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21309>
- Loureiro, E. S.; Lima, A. R.; Pessoa, L. G. A.; Dias, P. M.; Adão, D. V.; Devoz, G. L. R. 2020. Bioprospecção de *Metarhizium rileyi* (Ascomycota: Clavicipitaceae) no controle de *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). *Research, Society and Development*, 9, 7, e199973907-e199973907. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.3907>
- Marcos, A. R.; Ussene, A. M.; Forquilha, J. E. S.; Francisco, J.; Chamuen, A.; Guidione, R. 2023. Resistance of corn (*Zea mays* L.) genotypes to natural infestation of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in Mozambique. *Revista Foco*, 6, 1-17. <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v16n6-145>
- Montecalvo, M. P.; Navasero, M. M. 2021. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin to *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *J Int Soc Southeast Asian Agric Sci*, 27, 1, 15-26.
- Ortiz-Urquiza, A.; Nemat, O. K. 2013. Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4, 3, 357-374. <https://doi.org/10.3390/insects4030357>
- Poitout, S.; Buès, R. 1974. Elevage de chenilles de vingt-huit especes de Lepidopteres Noctuidae et de deux especes d'Arctiidae sur milieu artificiel simple. Particularites de l'elevage selon les especes. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*, 6, 3, 431-441.
- Silva, A. N. 2023. Susceptibilidade diferencial de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) a espécies de *Metarhizium*: influência do feromônio de alarme no processo infectivo. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, Brasil. 106p.
- Souza, F. M.; Silva, R. A.; Magalhães, L. S.; Loureiro, E. S. 2022. Entomopathogenic fungi associated with whitefly control: a review. *RSD* [Internet], 11, 11, e252111133536. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33536>
- Zappelini, L. O.; Almeida, J. E. M.; Batista Filho, A.; Giometti, F. H. C. 2010. Seleção de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. visando o controle da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arquivos do Instituto Biológico São Paulo*, 77, 1, 75-82. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p0752010>