



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

DOUGLAS MARTINS CECCONELLO

**POTENCIAL DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS  
PARA O MANEJO DE *Spodoptera cosmioides* (WALKER,  
1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

---

Londrina  
2024

DOUGLAS MARTINS CECCONELLO

**POTENCIAL DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS  
PARA O MANEJO DE *Spodoptera cosmioides* (WALKER,  
1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tese apresentada à banca de Defesa do Programa de Pós-graduação em Agronomia - Curso de Doutorado da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves.

Coorientador: Profa. Dra. Viviane Sandra Alves.

Londrina  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C387p Cecconello, Douglas Martins.

Potencial de nematoides entomopatogênicos para o manejo de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) / Douglas Martins Cecconello. - Londrina, 2024.  
82 f. : il.

Orientador: Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves.

Coorientador: Viviane Sandra Alves.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Controle Biológico - Tese. 2. Nematoides Entomopatogênicos - Tese. 3. *Spodoptera cosmioides* - Tese. I. Neves, Pedro Manuel Oliveira Janeiro. II. Alves, Viviane Sandra. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

DOUGLAS MARTINS CECCONELLO

**POTENCIAL DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS  
PARA O MANEJO DE *Spodoptera cosmioides* (WALKER,  
1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tese apresentada à banca de Defesa do Programa de Pós-graduação em Agronomia - Curso de Doutorado da Universidade Estadual de Londrina, para obtenção do título de Doutor.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Coorientador: Profa. Dra. Viviane Sandra Alves  
Universidade Estadual do Norte do Paraná -  
UENP

---

Prof. Dr. Amarildo Pasini  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dr. Adeney de Freitas Bueno  
Embrapa Soja – Londrina

---

Profa. Dra. Gabriela Vieira Silva  
Universidade Estadual do Norte do Paraná -  
UENP

---

Prof. Dra. Bruna Aparecida Guide -  
Faculdade Pitágoras

Londrina, 26 de fevereiro de 2024.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecimento a Deus.

À minha esposa Myrian Hidalgo, que tem caminhado ao meu lado tanto no percurso acadêmico quanto no matrimonial, aos meus familiares pelo constante apoio e aos amigos que proporcionaram momentos de distração.

Expresso minha profunda gratidão aos orientadores Viviane Sandra Alves e Pedro Neves pelo valioso direcionamento na pesquisa e pela oportunidade de alcançar este título.

Agradeço aos pesquisadores Samuel Roggia pelo constante e valioso apoio desde o meu período do mestrado, e Adeney Bueno que me permitiram o acesso a instituição Embrapa Soja onde pude desenvolver diversos experimentos. Estendo meus agradecimentos a todos os colaboradores da Embrapa que me auxiliaram de maneira direta ou indireta, destacando em especial as pessoas dedicadas que compõem os laboratórios de Entomologia.

Agradeço a todos os colaboradores do Laboratório de Ensaio com Inimigos Naturais de Pragas da Universidade Estadual do Norte do Paraná pelo trabalho conjunto e dedicado.

Agradeço aos membros da banca e à Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade concedida para desenvolver este trabalho.

*“Desce a contragosto em suas águas aquele que busca o conhecimento.”*

**-Friedrich Nietzsche**

CECCONELLO, Douglas Martins. **Potencial de nematoides entomopatogênicos para o manejo de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2024. 82 f. Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Londrina, 2024.

## RESUMO

A soja é uma das maiores commodities do Brasil, pois é importante para diferentes setores industriais, sendo utilizada desde a nutrição mundial até a produção de biocombustíveis. Entre os fatores que podem influenciar a sua produção, destaca-se o ataque de pragas, como as lagartas do complexo *Spodoptera* spp. que podem afetar as lavouras de soja desde os estádios de desenvolvimento da planta, no estágio vegetativo e até no estágio reprodutivo. Para controlar estas pragas por anos foram utilizados inseticidas, porém o seu uso irrestrito causou a morte dos inimigos naturais e a seleção de indivíduos resistentes as moléculas químicas. Como alternativa ao controle químico, surgiram as cultivares de soja transgênicas, mas recentemente vem sendo registradas populações de pragas resistentes a tais variedades, o que tem demonstrado a necessidade de busca de novos meios para combater as lagartas *Spodoptera* spp. Os nematoides entomopatogênicos (NEP) podem ser uma alternativa, pois possuem compatibilidade com diversos produtos fitossanitários utilizados nas lavouras, capacidade de persistência no ambiente e são capazes de se replicar nos insetos hospedeiros. Este estudo teve como objetivo avaliar o emprego de NEP como estratégia para controlar *Spodoptera cosmioides* em condições de laboratório e casa-de-vegetação. No laboratório, 18 isolados de NEP foram avaliados quanto a infectividade contra lagartas de *S. cosmioides*, eficácia de diferentes concentrações, e quanto a produção de Juvenis Infectantes (JI) em lagartas e pupas. Também foi avaliado o consumo foliar das lagartas após a inoculação de JI. Na casa-de-vegetação foi avaliado a eficácia dos NEP no controle de pupas e lagartas de *S. cosmioides* após aplicação foliar. Os isolados mais virulentos contra lagartas de *S. cosmioides* foram UEL 08 (90%), IBCB 10 (92%), IBCB 06 (95%) e IBCB 02 (97,5%). No teste de concentrações, a concentração de 200 JI/lagarta foi a mais eficaz para todos os isolados. Nos testes de suscetibilidade de pupas, UEL 08 e IBCB 02 causaram a maior mortalidade. Esses isolados conseguiram multiplicar-se e completar seu ciclo de vida usando *S. cosmioides* como hospedeiro. O isolado UEL 08 alcançou uma produção de  $2,0 \times 10^5$  JI/lagarta e  $3,7 \times 10^3$  JI/pupa, enquanto o isolado IBCB 02 multiplicou-se apenas em lagartas, com produção de  $1,3 \times 10^5$  JI/lagarta. Em relação ao consumo foliar de soja por lagartas infectadas, houve uma redução significativa de até 64% com os isolados UEL 08 e IBCB 02. Na casa-de-vegetação, os isolados UEL 08 e IBCB 06 causaram 85% e 95% de mortalidade em lagartas, e 50% e 57,5% de mortalidade em pupas, respectivamente, comprovando sua capacidade de utilização.

**Palavras-chave:** Controle biológico; Heterorhabditidae; Pragas da soja; Steinernematidae.

CECCONELLO, Douglas Martins. **Potential of entomopathogenic nematodes for the management of *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2024. 82 p. Thesis presented to Post-graduate Program in Agronomy – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

## ABSTRACT

Soy is one of Brazil's biggest commodities, as it is important for different industrial sectors, being used from global nutrition to the production of biofuels. Among the factors that can influence its production is the attack by pests, such as caterpillars of the *Spodoptera* spp. complex, which can affect soybean crops from the plant's developmental stages, in the vegetative stage and even in the reproductive stage. Insecticides have been used to control these pests for years, but their unrestricted use has led to the death of natural enemies and the selection of individuals resistant to the chemical molecules. As an alternative to chemical control, transgenic soybean cultivars have emerged, but recently populations of pests resistant to these varieties have been recorded, which has demonstrated the need to search for new means of combating *Spodoptera* spp. caterpillars. Entomopathogenic Nematodes (ENP) may be an alternative, as they are compatible with various plant protection products used in crops, have the capacity to persist in the environment and are capable of replicating in host insects. The aim of this study was to evaluate the use of ENP as a strategy to control *Spodoptera cosmioides* in laboratory and greenhouse conditions. In the laboratory, 18 isolates of ENP were used against *S. cosmioides* caterpillars and the efficacy of different concentrations, while the production of Infective Juveniles (IJ) in caterpillars and pupae. The leaf consumption of caterpillars after IJ inoculation. In the greenhouse, the efficacy of ENP in controlling *S. cosmioides* pupae and caterpillars after foliar application and the survival of IJ were evaluated. The most virulent isolates against *S. cosmioides* caterpillars were UEL 08 (90%), IBCB 10 (92%), IBCB 06 (95%) and IBCB 02 (97.5%). In the concentration test, the concentration of 200 IJ/caterpillar was the most effective for all the isolates. In the pupal susceptibility tests, UEL 08 and IBCB 02 caused the greatest mortality. These isolates were able to multiply and complete their life cycle using *S. cosmioides* as a host. Isolate UEL 08 produced  $2.0 \times 10^5$  IJ/caterpillar and  $3.7 \times 10^3$  IJ/pupa, while isolate IBCB 02 multiplied only in caterpillars, producing  $1.3 \times 10^5$  IJ/caterpillar. There was a significant reduction of up to 64% in soybean leaf consumption by infected caterpillars with the UEL 08 and IBCB 02 isolates. In the greenhouse, isolates UEL 08 and IBCB 06 caused 85% and 95% mortality in caterpillars, and 50% and 57.5% mortality in pupae, respectively, proving their ability to be used.

**Key-words:** Biological control; Heterorhabditidae; Soybean pests; Steinernematidae.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Placa de acrílico correspondente a uma parcela utilizada no bioensaio de nematoides entomopatogênicos sobre pupas de *Spodoptera cosmioides*. ..... 49
- Figura 2** – A: Plantio de sementes de soja. B: Soja em estágio R5 e vasos individualizados com gaiolas de voil..... 52
- Figura 3** – Curva de regressão demonstrando a porcentagem de mortalidade de lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides* tratadas com diferentes concentrações de isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório. .... 58
- Figura 4** – Dissecção de pupa de *Spodoptera cosmioides*, 72 horas após inoculação com *Heterorhabditis amazonensis* (UEL 08)..... 60
- Figura 5** – A: unidade experimental após 72 horas de Inoculação do isolado UEL 8. B: unidade experimental do tratamento controle após 72 horas. .... 63
- Figura 6** – Avaliação da mortalidade de nematoides entomopatogênicos UEL 08 e IBCB 02, inoculadas em lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides*, no período de seis em seis horas até 72 horas. .... 65
- Figura 7**– Lagarta de *Spodoptera cosmioides* morta após 72 horas da inoculação do isolado UEL 08 em condições de casa-de-vegetação após pulverização das plantas..... 67
- Figura 8** – Lagartas de *Spodoptera cosmioides* mortas pelos isolados UEL 08 (A e B) e IBCB 02 (C e D) sobre as folhas de soja..... 68

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Isolados de nematoides entomopatogênicos aplicados sobre <i>Spodoptera cosmioides</i> em condições de laboratório.....	46
<b>Tabela 2</b> – Porcentagem de mortalidade ( $\pm$ D.P.) de lagartas de quinto instar de <i>Spodoptera cosmioides</i> causada por nematoides entomopatogênicos (200 Juvenis Infectantes/inseto) em condições de laboratório.....	53
<b>Tabela 3</b> – Porcentagem de mortalidade ( $\pm$ D.P.) de lagartas de quinto instar de <i>Spodoptera cosmioides</i> submetidas a diferentes concentrações de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório.....	56
<b>Tabela 4</b> – Porcentagem de mortalidade de pupas de <i>Spodoptera cosmioides</i> , causada por isolados de nematoides entomopatogênicos (200 Juvenis Infectantes/pupa) em condições de laboratório.....	59
<b>Tabela 5</b> – Produção média de Juvenis Infectantes de nematoides entomopatogênicos emergidos de lagartas e pupas de <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	61
<b>Tabela 6</b> – Consumo foliar de soja por lagartas de quinto instar de <i>Spodoptera cosmioides</i> ao longo de 72 horas infectadas por nematoides entomopatogênicos.....	63
<b>Tabela 7</b> – Porcentagem de mortalidade de lagartas e pupas de <i>Spodoptera cosmioides</i> causadas por nematoides entomopatogênicos em condições de casa-de-vegetação.....	66

## SUMÁRIO

	<b>RESUMO</b> .....	07
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
<b>2.1</b>	<b>Cultura da soja no Brasil</b> .....	14
<b>2.2</b>	<b><i>Spodoptera</i> spp. na cultura da soja</b> .....	15
<b>2.3</b>	<b>Biologia de <i>Spodoptera</i> spp.</b> .....	16
2.3.1	<i>Spodoptera cosmioides</i> .....	17
<b>2.4</b>	<b>Controle de <i>Spodoptera</i> spp</b> .....	17
2.4.1	Controle biológico de <i>Spodoptera</i> spp .....	19
2.4.1.1	Nematoides entomopatogênicos .....	20
2.4.2	Nematoides entomopatogênicos no controle de <i>Spodoptera</i> spp .....	25
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	28
<b>3.1</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	28
	<b>Referências</b> .....	28
<b>4</b>	<b>ARTIGO - EFICIÊNCIA DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS APLICADOS EM LAGARTAS E PUPAS DE <i>SPODOPTERA COSMIOIDES</i> (WALKER, 1858) (LEPIDOTERA: NOCTUIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CASA-DE-VEGETAÇÃO</b> .....	42
<b>4.1</b>	<b>Resumo</b> .....	42
<b>4.2</b>	<b>Abstract</b> .....	43
<b>4.3</b>	<b>Introdução</b> .....	44
<b>4.4</b>	<b>Material e métodos</b> .....	45
4.4.1	Criação de <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	45
4.4.2	Obtenção e produção dos nematoides entomopatogênicos .....	46
4.4.3	Bioensaio de seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos .....	47

4.4.4	Bioensaio de diferentes concentrações de nematoides entomopatogênicos sobre <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	48
4.4.5	Bioensaio de virulência de nematoides entomopatogênicos sobre pupas de <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	48
4.4.6	Produção <i>in vivo</i> de nematoides entomopatogênicos usando <i>Spodoptera cosmioides</i> como hospedeiro .....	49
4.4.7	Bioensaio de consumo de área foliar de soja por <i>Spodoptera cosmioides</i> após infecção por nematoides entomopatogênicos .....	50
4.4.8	Bioensaio da virulência de nematoides entomopatogênicos sobre <i>Spodoptera cosmioides</i> em casa-de-vegetação.....	51
<b>4.5</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>53</b>
4.5.1	Seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos.....	53
4.5.2	Avaliação de diferentes concentrações de nematoides entomopatogênicos sobre <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	56
4.5.3	Avaliação da infectividade de nematoides entomopatogênicos sobre pupas de <i>Spodoptera cosmioides</i> .....	58
4.5.4	Produção <i>in vivo</i> de nematoides entomopatogênicos usando <i>Spodoptera cosmioides</i> como hospedeiro .....	60
4.5.5	Avaliação de consumo foliar de soja por <i>Spodoptera cosmioides</i> após infecção por nematoides entomopatogênicos .....	62
4.5.5	Bioensaio em casa-de-vegetação .....	66
<b>4.6</b>	<b>Conclusão</b> .....	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>69</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill é de extrema importância para o Brasil, sendo utilizada para a produção de biocombustíveis, óleo industrial (tintas, solventes sabões, detergentes, etc), óleo de cozinha, alimentação humana e animal, e é cultivada em todo o país, que atualmente é o maior produtor mundial desta oleaginosa (CONAB, 2024).

Entre os fatores que favorecem a cultura no Brasil, a localização em regiões tropicais, e conseqüentemente de condições edafoclimáticas que proporcionam a instalação de lavouras na chamada sucessão de cultivos. Por outro lado, esses fatores contribuem também para a proliferação de doenças, plantas daninhas e pragas em maior quantidade quando comparado ao modelo de agricultura de países com clima temperado (FONTES; VALADARES-INGLIS, 2020).

As pragas agrícolas representam um desafio constante ao longo de todo o ciclo da cultura da soja, favorecidas por um aumento significativo nas áreas cultivadas. Essas ameaças podem manifestar-se desde o estágio vegetativo até o reprodutivo, sendo que o complexo de lagartas *Spodoptera* spp. destaca-se como uma das principais preocupações, conforme indicado por estudos recentes (CONTE *et al.*, 2020).

O gênero *Spodoptera* é de grande importância por englobar várias espécies com alto grau de polifagia, alimentando-se de diferentes culturas de interesse econômico, como cereais, pastagens, hortaliças e soja (BUENO *et al.*, 2011). Sua ocorrência está associada aos trópicos e subtropicais, com algumas espécies ocorrendo em regiões temperadas, totalizando 16 espécies descritas (CONTE *et al.*, 2020).

Por serem polípagas, as lagartas *Spodoptera* spp. sempre encontram hospedeiros disponíveis para sua alimentação, o que é comum em países tropicais como o Brasil, onde completam mais gerações anualmente e onde tem ampla distribuição territorial, atacando diversas culturas (PANIZZI; BUENO; SILVA, 2012).

Enfrentamos desafios significativos, uma vez que ambas as abordagens têm apresentado limitações no efetivo controle dessas pragas principalmente pelo

surgimento de populações resistentes, sublinhando a urgência do desenvolvimento de novas estratégias de controle para enfrentar esse problema crescente e manejar mais facilmente o controle das populações (ORCIAL *et al.*, 2022)

Assim, os nematoides entomopatogênicos (NEP), mostram-se como mais uma alternativa de controle de lagartas *Spodoptera* spp. Em estudos realizados em laboratório (ANDALÓ *et al.*, 2010) e em campo (ANDALÓ *et al.*, 2012) para a espécie *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) foram observados resultados de 85 e 90% de controle, respectivamente. Entretanto, esses nematoides nunca foram testados para outras espécies do gênero *Spodoptera*. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de isolados de nematoides entomopatogênicos no controle de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), em condições de laboratório e casa-de-vegetação.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Cultura da soja no Brasil

A cultura da soja é originária da China (antiga Manchúria), com muitas referências a leguminosa feitas pelo povo chinês há cerca de 5000 anos. Posteriormente, *Glycine max* (Linnaeus) Merrill, se espalhou pelo continente asiático, porém somente na era das grandes navegações, no final do século XV e início do século XVI, foi trazida pelos europeus para o ocidente (CÂMARA, 2015).

A soja foi introduzida no Brasil em 1882 na Bahia, mas inicialmente sem sucesso. Posteriormente, em 1892 com variedades vindas com os imigrantes japoneses para a região de Campinas, SP foi possível o seu cultivo, mas foi entre os anos 1908 a 1923, em São Paulo, quando Henrique Löbbe trouxe diversas variedades norte-americanas que enfim tiveram boa adaptabilidade às condições do Brasil. No estado do Paraná, a cultura da soja foi introduzida em 1954, a fim de substituir lavouras de café mortas por geadas (CÂMARA, 2015).

Desde então o cultivo da soja vem crescendo, pois o grão é rico em proteína, óleo, minerais e carboidratos (MENDES *et al.*, 2004), o que favorece amplo uso no mercado alimentício, podendo se extrair o óleo que é utilizado na alimentação humana e na produção de biodiesel. Também, o farelo pode ser utilizado na ração de diversos animais devido ao seu alto índice proteico (44 a 48% de proteína), além de ser uma alternativa para os seres humanos intolerantes a lactose que podem consumir o chamado leite de soja, ou mesmo para pessoas que buscam uma fonte de proteína não animal.

Atualmente, o Brasil projeta uma produção expressiva de 155,3 milhões de toneladas na safra 2023/24, sendo notáveis as produções dos estados do Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul (CONAB, 2024) . No entanto, as pragas que ocorrem nessa cultura estão entre os principais fatores que reduzem a produção desse grão.

## 2.2 *Spodoptera* spp. na cultura da soja

Nos sistemas agrícolas a sucessão de culturas que ocorre nas lavouras, fornecem alimento para insetos polívoros como é o caso de *Spodoptera* spp., durante todo o ano (MIRANDA *et al.*, 2015). Registros indicam que as lagartas podem atacar cultivos de milho, soja, trigo, milheto, sorgo, alfafa, feijão, amendoim, batata, tomate, algodão, entre outras (POGUE, 2002; MENEGUIM; NEVES, 2005; ZENKER; SPECHT; CORSEUIL, 2007; BOREGAS *et al.*, 2013; TEODORO *et al.*, 2013; MIRANDA *et al.*, 2015; SANTOS; ).

Estes insetos causam reduções da produtividade na cultura da soja, e o ataque das espécies *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) e *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) afetam principalmente as plantas em sua fase reprodutiva (BUENO; BATISTELA; MOSCARDI, 2010; SANTOS *et al.*, 2023). Por sua vez, *S. frugiperda* se alimentam comumente das folhas, causando diminuição da área fotossintética da planta, e por consequência, afetando a produção (MOSCARDI *et al.*, 2012). No entanto, os danos são diferenciados em função do estágio fenológico, época de ataque e intensidade de infestação (FARINELLI; FILHO, 2006).

### 2.3 Biologia de *Spodoptera* spp.

*Spodoptera* spp. são insetos holometabólicos, e em seu ciclo passam por quatro estágios: ovo, lagarta, pupa e adulto (LUGINBILL, 1928). Ao chegar à fase adulta sua atividade é noturna e durante o dia ficam abrigadas sob a folhagem próxima ao solo. Fêmeas de *Spodoptera* spp. ovipositam cerca de 300 a 800 ovos, preferencialmente, na face inferior das folhas (BARBOSA; SILVA; MOREIRA DE BRITO, 2015; MIRANDA *et al.*, 2015).

Estes ovos achatados e esféricos possuem um diâmetro médio de 0,45 mm e 0,35 mm de altura, e da postura a eclosão tem uma de média de duração de 4 a 6 dias (GALLO *et al.*, 2002). As lagartas passam por seis a nove instares, antes de chegar a fase de pupa, e na maioria das espécies do gênero *Spodoptera* spp. apresentam canibalismo, com exceção de *S. cosmioides* e *S. eridania* (MOSCARDI *et al.*, 2012; PANIZZI; BUENO; SILVA, 2012).

Ao atingir a fase de pupa, o comprimento pode variar entre 13 a 23 mm a depender da espécie (BAVARESCO *et al.*, 2003; ZENKER; SPECHT; CORSEUIL, 2007; TEODORO *et al.*, 2013). A duração média do período ovo a adulto pode variar em função de vários fatores, como o alimento e a temperatura, sendo, em média de 28 a 46 dias a depender da espécie ( CRUZ, 1995; BAVARESCO *et al.*, 2003; SANTOS; MENEGUIM; NEVES, 2005).

Lagartas de *S. eridania* possuem coloração marrom com faixa lateral esbranquiçada, interrompida por mancha escura no tórax. Costumam se abrigar na parte inferior das plantas, sendo mais ativas à noite. O período larval dura de 15 a 19 dias, com seis instares, podendo chegar a sete na cultura da soja. Na fase de pupa, ficam no solo a uma profundidade de 5 a 10 cm, com crisálidas marrons de aproximadamente 17mm de comprimento e 5-6 mm de largura, com período pupal que dura em média 10 dias (SANTOS; MENEGUIM; NEVES, 2005; TEODORO *et al.*, 2013).

Nos primeiros instares (1° e 2°) de *S. frugiperda*, as lagartas permanecem agrupadas e próximas ao local de oviposição, alimentando-se do

parênquima, podendo causar necrose ou tornar a folha translúcida (VARGAS *et al.*, 2021). Na fase pupal, *S. frugiperda* passa por uma mudança de coloração, começando verde-clara e transparente, tornando-se alaranjada, marrom-avermelhada e, finalmente, preta próximo à emergência do adulto, com comprimento variando de 13 a 16 mm (CRUZ, 1995; MIRANDA *et al.*, 2015).

A mariposa de *S. frugiperda* possui um comprimento de 15 a 25 mm e uma envergadura que varia entre 35 e 45 mm. Sua coloração geral é cinza-escura, sendo que ambos os sexos apresentam asas posteriores esbranquiçadas com bordas acinzentadas. Essa espécie tem a capacidade de depositar até 1000 ovos (MIRANDA *et al.*, 2015; VARGAS *et al.*, 2021).

### 2.3.1 *Spodoptera cosmioides*

As lagartas da espécie *S. cosmioides* apresentam uma faixa lateral de coloração alaranjada acima das pernas, que vai até próximo da cabeça. Durante seu ciclo, passam por seis ou sete instares, porém na soja podem passar por até oito instares (BAVARESCO *et al.*, 2003). Esta espécie se alimenta quase duas vezes mais que as demais espécies de *Spodoptera* spp. (DE FREITAS BUENO *et al.*, 2011). No último instar a lagarta tem em média 48 mm de comprimento, quando passam para a fase de pupa. A temperatura ideal para seu desenvolvimento é de 25 a 28°C (TEODORO *et al.*, 2013).

No início da fase de pupa possuem coloração verde-claras, mas logo a cor muda e passa para um castanho-claro, com comprimento médio de 20 e 23 mm, são encontradas no solo e possuem comprimento de 15 a 30mm (ZENKER; SPECHT; CORSEUIL, 2007).

Na fase adulta, as mariposas possuem asas posteriores brancas e anteriores pardas, com envergadura de 40 mm, podendo ovipositar até 500 ovos por dia em condições ideais com oferta de alimento e temperatura conseguem completar até nove gerações por ano, o ciclo todo dura de 28 a 35 dias (TEODORO *et al.*, 2013).

## 2.4 Controle de *Spodoptera* spp.

A princípio as infestações de *Spodoptera* spp. na cultura da soja são controladas principalmente com inseticidas químicos (NOCCHI, 2017; VALICENTE; FONSECA, 2004). Por muitos anos esta prática foi negligente, acarretando em grande acúmulo no ambiente, causando uma pressão de seleção na população de insetos o que resultou em indivíduos resistentes (NERI; MORAES; GAVINO, 2005).

O controle químico dessas lagartas é, muitas vezes, deficitário pela dificuldade na aplicação de inseticidas para se atingir o alvo. Isso é decorrente do hábito de oviposição das mariposas que apresentam preferência pelo terço médio e inferior da planta, onde as lagartas de primeiro e segundo instares permanecem, reduzindo a eficiência de controle (BOREGAS *et al.*, 2013). Além disso, essa praga é de ocorrência comum no período reprodutivo da soja, onde a tecnologia de aplicação é também limitada pelo “efeito guarda-chuva”, as folhas do ponteiro da planta recebem mais inseticidas na aplicação, protegendo o baixeiro da planta, onde muitas vezes essas lagartas se abrigam (MOSCARDI *et al.*, 2012).

Como exemplo de uma ferramenta eficiente de manejo de *Spodoptera* spp. podemos destacar as bactérias da espécie *Bacillus thuringiensis* (Bt) (variedades *kurstaki*, *aizawai* e *israelenses*), que são atualmente os principais bioinseticidas utilizados no controle destas lagartas (POLANCZYK; FRANKENHUYZEN; PAULI, 2017). A variedade *Bt kurstaki* é responsável pela expressão das proteínas inseticidas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, que são altamente tóxicas para lepidópteros; a *Bt aizawai* originou as proteínas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1C e Cry1D especificamente utilizadas no controle de lagartas do gênero *Spodoptera* spp. (RAO; JURAT-FUENTES, 2020). Os bioinseticidas a base de *Bts* possuem a mesma eficiência de controle que os inseticidas químicos, com o benefício de não deixar resíduos químicos e podendo ser utilizados com menor risco aos inimigos naturais (Li *et al.*, 2017).

Todavia, a tecnologia de bioinseticida *Bt* necessita de melhorias em alguns segmentos, pois ainda tem baixa permanência em campo, devido a ação da temperatura e radiação UV, que degradam o produto e cujo efeito é agravado no verão. Além disso, esses produtos apresentam baixa compatibilidade com inseticidas químicos para mistura em tanque, forçando o operador a realizar aplicações individuais, acarretando em maior custo na adoção dessa tecnologia (GLARE *et al.*, 2012).

As de plantas transgênicas, com a produção são uma alternativa que pode minimizar o uso de inseticidas químicos sintéticos. Estas plantas expressão as proteínas, com ação inseticida, de Bt as mais comuns são as proteínas Cry. Assim, essas proteínas são ingeridas pelas lagartas, quando está se alimenta das folhas. São dissolvidas no intestino médio em pH alcalino e são convertidas proteoliticamente em polipeptídeos menores e mais potentes. Estes polipeptídeos, ao se conectarem aos sítios receptores específicos das células do intestino médio dos insetos, originam poros que ocasionam a quebra das células, resultando na morte do inseto por septicemia (BOBROWSKI *et al.*, 2002).

Pesquisas da Embrapa Soja revelam que duas populações de lepidópteros, *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidae) coletadas no Paraná e São Paulo foram selecionadas para resistência a Cry1Ac (BUENO; SOSA-GÓMEZ, 2021).

Entre as razões para a seleção de populações resistentes, acredita-se que à falta de plantio de áreas de refúgio, onde 20% da área cultivada de soja deve ser destinada a variedades não-Bt, pode ter potencializado a pressão de seleção, e favorecido a seleção de indivíduos resistentes (BERNARDI *et al.*, 2015).

Além disso, é importante considerar que a recomendação mais eficaz de manejo dessas lagartas é a implementação do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Essa abordagem preconiza o uso de múltiplos métodos de controle, como aplicação de inseticidas e utilização de agentes de controle biológico (ROGGIA *et al.*, 2013; BERNARDI *et al.*, 2015;).

#### 2.4.1 Controle Biológico de *Spodoptera* spp.

Dentre os inimigos naturais do complexo de pragas do gênero *Spodoptera* o mais conhecido é o parasitoide *Telenomus remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Scelionidae), que atua parasitando os ovos, sendo que cada fêmea pode parasitar até 270 ovos (Kenis *et al.*, 2019). No milho o parasitoide pode atuar num raio de 20m de onde foi liberado e é capaz de parasitar até 73% das posturas realizadas na área (POMARI, 2011).

O principal fator limitante para uso de *T. remus* no controle biológico é a criação massal, necessitando de hospedeiros alternativos, além do fato da soja ser atacada por uma variedade de lagartas que não são parasitadas pelo *T. remus*, o que o torna um agente muito específico (Bueno *et al.*, 2012).

Destaca-se a espécie *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), conhecida por sua capacidade de parasitar ovos de diversas espécies de *Spodoptera* spp. Essa espécie mostra uma eficácia maior ao parasitar ovos de *S. eridania*, devido à disposição singular dos ovos, que não são depositados em camadas sobrepostas. Apesar de ocorrer em menor escala, também é observado parasitismo em ovos das espécies *S. frugiperda* e *S. cosmioides* (LI *et al.*, 2023).

Estudos revelaram que gerações de *T. pretiosum* submetidas consecutivamente ao mesmo hospedeiro, no caso *S. frugiperda*, levaram os parasitoides a apresentarem aprendizagem e até preferência para tal hospedeiro, e esse processo apesar de revelador compromete a criação massal, pois demandaria de uma criação *in vivo* de *Spodoptera* spp. (VARGAS *et al.*, 2021).

Além dos exemplos citados, *Spodoptera* spp. possuem diversos agentes de controle biológico que em ambiente equilibrado, são capazes de manter suas populações sob controle. No entanto, o aumento do uso de inseticidas e o uso de produtos sem seletividade na soja, levou a considerável diminuição da ocorrência destes inimigos naturais, fazendo que as populações dessas pragas, anteriormente consideradas secundárias, tornem-se de importância primária (BUENO; BATISTELA; MOSCARDI, 2010).

Assim, também se faz necessário a busca por inimigos naturais que são alternativos para o controle desses insetos. Nesse sentido, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEP) vem sendo considerado e avaliado para algumas lagartas do complexo *Spodoptera*.

#### 2.4.1.1 Nematoides Entomopatogênicos

Existem diversas famílias de nematoides que apresentam ação patogênica sobre os insetos, no entanto, as famílias Steinernematidae e Heterorhabditidae, são consideradas com maior potencial para uso no controle biológico, e por isso são as mais estudadas (ALVES; LOPES, 2008; VOSS *et al.*, 2009).

São denominados NEP aqueles conhecidos por sua associação simbiótica com bactérias, que são liberadas na hemolinfa do inseto ao penetrar pelos orifícios naturais como boca, anus e espiráculos, onde estas se multiplicam, excretam toxinas e causam a morte do inseto por septicemia, em até 72 horas (GREWAL; LEWIS; SHAPIRO-ILAN, 2005).

As bactérias associadas aos NEP são da família Enterobacteriaceae, gêneros *Xenorhabdus* e *Photorhabdus*, que associam-se aos NEP dos gêneros *Steinernema* e *Heteorhabditis*, respectivamente, mas que apresentam um comportamento semelhante no ciclo de vida dos nematoides (GREWAL, 2002).

Durante seu ciclo de vida, os NEP possuem a fase de ovo, quatro fases larvais (juvenis) e a fase adulta, que ocorrem dentro do inseto hospedeiro. No estágio de Juvenis Infectantes (JI), possuindo o tamanho entre 400 a 900 µm, dependendo da espécie, os NEP são encontrados no solo, onde buscam ativamente por hospedeiros (POINAR; KARUNAKAR; DAVID, 1992; VOSS *et al.*, 2009; NEGRISOLI JUNIOR; NEGRISOLI; LEMOS, 2016).

O ciclo de vida dos NEP do gênero *Steinernema*, conforme estudado por NGUYEN; SMART (1992), inicia-se com a entrada dos JI no inseto, ocorrendo pela boca ou espiráculos. Após atingir o hemoceloma e liberar bactérias, o JI se desenvolve alimentando-se ativamente das bactérias no cadáver. Os juvenis crescem, originando adultos de primeira geração (machos ou fêmeas), que podem copular se ambos estiverem no mesmo cadáver.

Os ovos fertilizados são inicialmente postos, alguns retidos no abdômen da fêmea até a eclosão dos juvenis de estágio 1 (J1). Esses J1 rompem a parede do corpo da mãe, sendo liberados no inseto onde se alimentam. Alguns J1 se transformam em J2 e, posteriormente, em JI (J3 infectantes), retendo a cutícula anterior. Outros J1 completam o ciclo, passando por J2, J3, J4 e adultos de segunda

geração, menores que os da primeira. Esses adultos copulam, liberando novos ovos e juvenis (NGUYEN; SMART, 1992). Quando os recursos alimentares se esgotam, os ciclos cessam, e os JIs migram para o ambiente.

O ciclo de *Heterorhabditis*, semelhante ao de *Steinernema*, os vermes adultos de primeira geração são hermafroditas com morfologia de fêmeas protândricas. Suas gônadas inicialmente produzem espermatozoides, armazenados na espermateca à espera dos ovócitos. Essas "fêmeas hermafroditas" completam o ciclo após a produção dos ovócitos (NGUYEN; SMART, 1992).

As infecções bem-sucedidas de insetos por *Heterorhabditis* podem ocorrer com a entrada de apenas um JI, pois não é necessário que adultos de primeira geração copulem para a produção de ovos fertilizados, ao contrário do que ocorre em *Steinernema*. Em contraste com *Steinernema*, os JI de *Heterorhabditis* não dependem de orifícios naturais do inseto para a penetração, pois possuem um dente córneo que lhes permite perfurar a cutícula, especialmente em áreas mais finas e flexíveis, como entre os segmentos apendiculares (FORST; CLARKE, 2002).

No ciclo de *Heterorhabditis*, observa-se o fenômeno predominante de endotoquia matricida, em que os ovos eclodem dentro do corpo da mãe, e os juvenis rompem a parede para serem liberados, resultando na morte da fêmea ou hermafrodita. A partir da segunda geração, surgem machos e fêmeas e a reprodução passa a ocorrer por fertilização cruzada entre eles (CICHE *et al.*, 2008).

A decomposição do cadáver do hospedeiro é retardada devido a liberação de antibióticos pelas bactérias simbióticas, o que proporciona alimento abundante para no mínimo um ciclo do nematoide dentro do hospedeiro (VOSS *et al.*, 2009).

As bactérias *Photorhabdus luminescens*, como o próprio nome indica é bioluminescente, propriedade observada devido a produção da enzima luciferase, semelhante a produzida por microorganismos marinhos bioluminescentes e vaga-lumes (PARECER; AHMADJIAN, 2000; VIVIANI *et al.*, 2016). *P. luminescens* também sintetiza um pigmento do tipo antraquinona e antibióticos da classe dos estilbenos conservando o cadáver do inseto por mais tempo e favorecendo o ciclo do nematoide (BRACHMANN *et al.*, 2007; CLARKE, 2008; JOYCE *et al.*, 2008). Por sua vez,

bactérias do gênero *Xenorhabdus* não apresentam bioluminescência nem síntese de pigmentos, e seus metabólitos secundários são antibióticos de diferentes classes: xenocumarinas e xenorhabdinas (PARECER; AHMADJIAN, 2000).

Estudos revelaram que as primeiras toxinas produzidas por *Photorhabdus* são proteínas que atuam na resposta imunológica dos insetos infectados, (AU *et al.*, 2004; DOWLING *et al.*, 2004; WATERFIELD *et al.*, 2005) impedindo processos fagocíticos do sistema imune do inseto hospedeiro (BRUGIRARD-RICAUD *et al.*, 2004). Desta forma as bactérias simbiotes são essenciais para os NEP causarem a morte do inseto hospedeiro (DOWLING *et al.*, 2004).

A liberação das bactérias pelos NEP ocorre de 30 minutos a até 6 horas após a infecção, e os NEP do gênero *Heterorhabditis* spp. apresentam a liberação em menor período (Li *et al.*, 2009). Logo após a invasão do JI na hemocele do hospedeiro, se inicia a resposta do sistema imunológico, sendo comum a defesa por encapsulamento em cápsulas celulares ou não celulares (formadas por melanina) (ALMENARA; ROSSI; CAMARGO, 2012).

No entanto, os NEP podem resistir à resposta imune do hospedeiro usando três métodos de defesa: a evasão, a tolerância e a supressão. A evasão consiste no não reconhecimento do nematoide pelas defesas do inseto; a tolerância é a capacidade de alguns nematoides escaparem do encapsulamento (JI escapam liberando proteínas de superfície que permitem a modulação da resposta imunológica). Por sua vez a supressão, é resultado de uma infecção com grande número de indivíduos, onde muitos JI invadem o mesmo inseto, e o sistema imunológico acaba sobrecarregado ( MAIZELS; BLAXTER; SCOTT, 2001; ALMENARA; ROSSI; CAMARGO, 2012).

A intensidade das respostas imunes é influenciada tanto pela espécie do NEP quanto pela espécie do inseto hospedeiro. Mesmo isolados de mesma espécie de NEP desencadearam distintas intensidades de respostas imunes na mesma espécie de hospedeiro (Li *et al.*, 2007).

As bactérias simbiotes também sofrem com a ação da imunidade dos insetos por meio de atividades enzimáticas, por este motivo, elaboram fatores de

virulência que efetivamente suprimem as respostas imunológicas do hospedeiro com complexos de toxinas, proteases, lipases e lipopolissacarídeos. Essa variedade de agentes virulentos age sinergicamente para comprometer a defesa imune do inseto hospedeiro, permitindo a disseminação eficaz das bactérias e facilitando o sucesso do parasitismo pelos nematoides (OWUAMA, 2001).

As Surface Coat Proteins (SCP) interferem com o sistema imune do hospedeiro ativando a repostas de supressão e evasão frente à imunidade do inseto. A composição das SCP varia significativamente entre diferentes espécies e mesmo entre linhagens distintas de NEP, e a eficácia protetora dessas proteínas contra melanização e encapsulamento depende da suscetibilidade inicial da larva infectada a cada espécie ou linhagem (LI *et al.*, 2007).

Uma vez morto o hospedeiro, os JI podem se desenvolver e se reproduzir dentro de seus hospedeiros e esse processo é conhecido por produção *in vivo*, sendo que a capacidade de multiplicação em um hospedeiro é um fator importante para a utilização de um isolado ou espécie em programas de controle (MOLINA; MOINO JR.; CAVALCANTI, 2004), pois isolados com boa produção nos hospedeiros proporcionam uma manutenção do mesmo a campo. Poinar *et al.* (1992) em estudo de produção de JIs, obtiveram 100.000 a 300.000 JI por inseto de *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae).

De acordo com Dolinski *et al.* (2017), a produção de *Heterorhabditis baujardi* em larvas de *G. mellonella* pode variar de 100 a 150 mil JI. A produção dos JI pode estar diretamente ligada com o tamanho do inseto (ADAMS; NGUYEN, 2002), mas depende também de outros fatores, como a capacidade do NEP em evadir o sistema imune do inseto, ou deste em se defender do ataque do nematoide (ALMENARA; ROSSI; CAMARGO, 2012), além disso, a falta de água pode fazer com que os NEP entrem em anidrobiose quiescente, fazendo com que o NEP permaneça no solo em uma espécie de dormência, e só despertar quando a condição ambiental for novamente favorável (WOMERSLEY, 1990).

Outro fator importante a ser destacado quanto aos NEP, é a capacidade de busca. Em geral, são conhecidas duas estratégias: algumas espécies são consideradas “cruiser”, ou seja, são nematoides ativos, capazes de buscar ativamente no solo por hospedeiros viáveis, percebendo a presença dos insetos devido aos

diversos compostos voláteis e CO<sub>2</sub> liberados pelas pragas (BELL, 1990; LEWIS; GAUGLER; HARRISON, 1992, 1993).

Os nematoides *Steinernema* exibem uma estratégia de emboscada chamada "ambusher". Os JI permanecem imóveis no solo, aguardando a presença de insetos em movimento, essa abordagem eficientemente preserva sua energia até encontrarem um hospedeiro adequado, logo são menos influenciadas pelos sinais liberados no meio ambiente com o CO<sub>2</sub> (LEWIS; GAUGLER; HARRISON, 1992, 1993).

Estudos indicam, que as plantas ao serem atacadas liberam exsudatos radiculares que são como indicadores da ação das pragas, e podem servir como atrativos para o nematoide. Em estudo realizado por Andaló *et al.* (2017), observou-se que quando aplicados os exsudatos radiculares em plantas não atacadas pela *S. frugiperda*, JI de *Heterorhabditis amazonensis* (isolado RSC5) tiveram a atividade semelhante aquelas observadas em plantas atacadas pela lagartas, comprovando que estes compostos voláteis liberados no momento do ataque da praga beneficia a ação dos NEP no controle.

A efetividade dos tratamentos no campo varia significativamente da condição apresentada no campo, por exemplo, *S. glaseri* demonstra uma redução de 80% nas populações de escarabeídeos na China, mas revela baixa eficácia em plantações de cana-de-açúcar na Flórida (SOSA-JR; HALL; WILLIAM J. SCHROEDER, 1993). Estes resultados destacam a necessidade constante de pesquisas direcionadas à escolha criteriosa de linhagens específicas para cada área tratada e para o controle de cada praga específica.

#### 2.4.2 Nematoides Entomopatogênicos no controle de *Spodoptera* spp.

Muitos insetos mostram resistência natural ou comportamental que dificulta o controle por NEP. Para efetivamente combater as pragas, é necessário desenvolver estratégias de controle biológico que identifiquem quais insetos podem ser alvo e a combinação ideal de métodos para o controle. Investigações anteriores em ambientes laboratoriais e em estufas desempenham um papel crucial na avaliação

das taxas de infectividade de determinadas espécies de insetos em relação à linhagem específica de nematoides escolhida (LI *et al.*, 2009; ANDALÓ *et al.*, 2010).

Andalo *et al.* (2010), avaliaram a eficiência de controle de 17 isolados, duas espécies de NEP se destacaram na eficiência *Steinernema arenarium* (Nematoda: Rhabditida) e *H. amazonensis*, no controle da *S. frugiperda*, obtendo em laboratório 85% e 90% e em casa-de-vegetação 77,2% e 87,5% de mortalidade, na concentração de 200 JI/Larva. Isolados da espécie *H. amazonensis* foram capazes de se deslocar até 60 cm no solo, em busca da *S. frugiperda* (ANDALÓ *et al.*, 2012).

Um ensaio com lagartas de *S. littoralis* utilizou-se 15 isolados de NEP, entre eles *S. carpocapsae*, *Steinernema longicaudum* (Nematoda: Rhabditida) e *H. indica* promoveram 100% mortalidade, posteriormente foram testados em diferentes temperaturas. Quando em baixas temperaturas (10° e 15°C) o isolado mais virulento foi de *S. carpocapsae*, posteriormente foi avaliada a infectividade em pupas, aplicando 100JIs por pupa, o mais virulento também foi o *S. carpocapsae*, com 45,83% de mortalidade (YAN *et al.*, 2020).

Para avaliar as discrepâncias entre várias bactérias simbióticas em relação à taxa de mortalidade de insetos, células bacterianas isoladas de culturas de *S. carpocapsae* (All e Mexican), *S. glaseri*, *H. bacteriophora* (HP88) e *Heterorhabditis* sp. (IS), foram diretamente injetadas na hemolinfa e comparadas à aplicação dos mesmos isolados na forma de JI, a uma taxa de 50 JI por lagarta de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae). Não foram observadas diferenças significativas nas mortalidades resultantes das diferentes formas de aplicação. Entretanto, destacam-se divergências na resposta imune dos insetos, evidenciadas pelos diferentes níveis de melanização e encapsulamento entre os dois isolados de *S. carpocapsae* (GLAZAR; GALPER; SHARON, 1991).

A utilização da mesma espécie de NEP não garante uma mortalidade uniforme, ressaltando a importância da seleção criteriosa do isolado como o primeiro passo em pesquisas dessa natureza.

As pupas de *Spodoptera* sp. também podem ser afetadas pela ação de NEP. Em bioensaio em laboratório para avaliar a eficiência de sete isolados de NEP no controle de *S. frugiperda* em seis instares larvais na dose de 25JIs/cm<sup>2</sup> e pupa na

dose de 600JIs/5mL, Acharya *et al.* (2020) obtiveram 100% de mortalidade nos instares larvais após 72 horas, e em até 77% das pupas não se observou emergência dos adultos, quando tratadas com os isolados *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida), *H. indica*, e *S. longicaudum*.

Um aspecto crucial ao examinar distintos isolados é a concentração de JI, pois uma quantidade excessiva pode comprometer a viabilidade de estudos aplicados (ALVES *et al.*, 2009). Em estudo com isolados de *H. bacteriophora*, foi realizado por Alonso & Román (2018), testaram três diferentes concentrações (1000, 3000 e 5000JIs/mL) em pré-pupas e pupas de *S. frugiperda*, obtendo 92% e 87% em laboratório e 78% e 62% em casa-de-vegetação, respectivamente, na maior dose testada, 5000JIs/mL.

Ao testar a suscetibilidade da *S. littoralis* em cinco diferentes instares larvais, a isolados de *Steinernema monticolum* e *H. bacteriophora*, Sobhy *et al.* (2020), determinaram que a melhor concentração para controle é de 200JIs/placa de Petri, com 100% de mortalidade. Este mesmo valor foi obtido no ensaio de Andaló *et al.* (2010) quando utilizou três concentrações distintas para o controle de *S. frugiperda*.

A proliferação dentro do inseto hospedeiro é um sinal de que os NEP têm a capacidade de se disseminar no ambiente, elevando potencialmente a taxa de mortalidade ao longo do tempo. Embora algumas espécies de NEP como *Steinernema glaseri* e *S. arenarium* não tenham sido capazes de se reproduzir em cadáveres de *S. frugiperda*, o isolado de *S. carpocapsae*, por outro lado, se reproduziu (Molina *et al.*, 2004).

Salvadori (2011), obteve produção de JIs em todos os oito isolados de NEPs testados, destaque para NEPET (Nematoide Entomopatogênico da Embrapa Trigo) 12, 15 e 30 com 6225, 5769, 6006 JIs produzidos por lagarta respectivamente, todos isolados pertencentes a família Heterorhabditidae, os demais isolados pertencentes a família Steinernematidae, produziram menos JI.

Existem diversos trabalhos que comprovam a letalidade dos NEP a *Spodoptera* spp., sendo que a eficiência de controle está associada a espécie, ao isolado e à concentração dos JI utilizada, porém nenhum trabalho com *S. cosmioides*.

### 3 OBJETIVOS

O objetivo do estudo foi avaliar a produção *in vivo*, mortalidade e virulência de nematoides entomopatogênicos sobre *S. cosmioides*, em condições de laboratório e em casa-de-vegetação.

#### 3.1 Objetivos Específicos

- Selecionar de isolados de nematoides entomopatogênicos patogênicos a larvas de *S. cosmioides*, selecionar destacando os que apresentarem maior virulência.
- Avaliar a eficiência de NEP sobre lagartas e pupas de *S. cosmioides*.
- Avaliar diferentes concentrações de NEP e determinar a melhor para o controle da *S. cosmioides*.
- Avaliar a produção *in vivo* de NEP usando larvas de *S. cosmioides* como hospedeiro;
- Avaliar a eficiência de NEP sobre *S. cosmioides* em condições de casa-de-vegetação aplicados na fase vegetativa da cultura da soja.
- Avaliar a eficiência de NEP sobre *S. cosmioides* em condições de casa-de-vegetação aplicados na fase reprodutiva da cultura da soja.

#### REFERÊNCIAS

- ACHARYA, R.; HWANG, H. S.; MOSTAFIZ, M. M.; YU, Y. S.; LEE, K. Y. Susceptibility of various developmental stages of the fall armyworm, *spodoptera frugiperda*, to entomopathogenic nematodes. **Insects**, v. 11, n. 12, p. 1–13, 2020.
- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and Systematics. *In*: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: CABI Publishing, 2002. p. 1–33.
- ALMENARA, D. P.; ROSSI, C.; CAMARGO, M. R. Nematoides entomopatogênicos. *In*: GUIMARAES, F.; FERNANDES, R.; LOPES, E. **Tópicos Avançados em**

**Entomologia Molecular.** [s.l.] Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas, 2012. p. 01–40.

ALONSO, A. A. A.; ROMÁN, M. N. M. **Efecto de tres concentraciones de heterorhabditis bacteriophora poinar en la mortalidad de prepupas y pupas de spodoptera frugiperda en laboratorio e invernadero.** 2018. Universidad Nacional de Trujillo, 2018.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. *In: Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz.* Piracicaba, SP, Brasil: ESALQ, 2008. p. 171–202.

ALVES, V. S.; MOINO JUNIOR, A.; C., S.-C. L. V.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G. C. Patogenicidade De Nematóides Entomopatogênicos a Cochonilha-Da-Pseudococcidae ) Em Laboratório. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p. 67–73, 2009.

ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JUNIOR, A. Host-seeking behavior of the Heterorhabditis amazonensis nematode in response to stimulant sources<sup>1</sup>. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 265–272, 2017.

ANDALÓ, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO, A. Heterorhabditis amazonensis n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. **Nematology**, v. 8, n. 6, p. 853–867, 2006.

ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, C. C.; JUNIOR, A. M. Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of Spodoptera frugiperda Avaliação de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório e casa-de-vegetação visando ao. **Ciencia Rural**, v. 40, p. 1860–1866, 2010.

ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, C.; FREIRE, M.; MOINO, A. Movement of Heterorhabditis amazonensis and Steinernema arenarium in search of corn fall armyworm larvae in artificial conditions. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 3, p. 226–230, 2012.

AU, C.; DEAN, P.; REYNOLDS, S. E.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Effect of the insect pathogenic bacterium Photorhabdus on insect phagocytes. **Cellular**

**Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 89–95, 2004.

BARBOSA, A.; SILVA, D.; MOREIRA DE BRITO, J. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. **Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 361, p. 248–258, 2015. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/at/index>>.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em cebola, mamona, soja e feijão. **Ciência Rural**, v. 33, p. 993–998, 2003.

BELL, W. J. **Searching Behaviour The behavioural ecology of finding resources**. London: Chapman & Hall, 1990. 358 p.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; C., O. **Manejo da resistência de insetos a planta Bt**. [s.l.] PROMIP Manejo integrado de pragas, 2015. 1–45 p.

BOBROWSKI, V. L.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H.; PINTO, L. M. N.; FIUZA, L. M. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* isolates from south Brazil and their toxicity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 25, n. 2, p. 129–135, 2002.

BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; WILSON FERNANDES, G. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Bragantia**, v. 72, n. 1, p. 61–70, 2013.

BRACHMANN, A. O.; JOYCE, S. A.; JENKE-KODAMA, H.; SCHWÄR, G.; CLARKE, D. J.; BODE, H. B. A Type II Polyketide Synthase Is Responsible for Anthraquinone Biosynthesis in *Photobacterium luminescens*. **Chembiochem : a European journal of chemical biology**, v. 8, n. 14, p. 1721–1728, set. 2007.

BROOKES, G. The farm level economic and environmental contribution of Intacta soybeans in South America: the first five years. **GM Crops and Food**, v. 9, n. 3, p. 140–151, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/21645698.2018.1479560>>.

BRUGIRARD-RICAUD, K.; GIVAUDAN, A.; PARKHILL, J.; BOEMARE, N.; KUNST, F.; ZUMBIHL, R.; DUCHAUD, E. Variation in the Effectors of the Type III Secretion System among *Photobacterium* Species as Revealed by Genomic Analysis. **Journal of bacteriology**, v. 186, n. 13, p. 4376–4381, jul. 2004.

BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. de F.; FRANÇA-NETO, J. de B.; NAIME NISHIKAWA, M. A.; FILHO, A. L. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937–945, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.021>>.

BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; MOSCARDI, F. Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade. **Circular Técnica**, v. 79, 2010.

BUENO, A. de F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Ocorrência de *Rachiplusia* nu e *Crociosema* aporema em soja-Bt na safra 20/21 e principais orientações de manejo aos produtores para a safra 21/22. **Nota Técnica**, p. 1–6, 2021.

BUENO, A. de F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. Inimigos naturais das pragas da soja. *In*: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja - Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. [s.l: s.n.]p. 493–629.

CÂMARA, G. M. Produção de Cana, Mandioca e Soja - INTRODUÇÃO AO AGRONEGÓCIO SOJA. **USP/ESALQ – Departamento de Produção vegetal**, v. 584, p. 1–30, 2015.

CHAPMAN, R. F. **The insects structure and function**. 5. ed. [s.l.] Cambridge University Press, 2013. 962 p.

CICHE, T. A.; KIM, K. S.; KAUFMANN-DASZCZUK, B.; NGUYEN, K. C. Q.; HALL, D. H. Cell invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 8, p. 2275–2287, 2008.

CLARKE, D. J. *Photorhabdus*: A model for the analysis of pathogenicity and mutualism. **Cellular Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 2159–2167, 2008.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira 2023/2024**. [s.l: s.n.]v. 11110 p.

CONTE, O.; TEIXEIRA DE OLIVEIRA, F.; HARGER, N.; SPALDING CORRÊA-FERREIRA, B.; DA AGRICULTURA, M.; ABASTECIMENTO, P. E. **Resultados do**

**Manejo Integrado de Pragas da Soja na Safra 2013/14 no Paraná Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Soja.** Londrina: Embrapa Soja, 2020.

CRUZ, I. **A LAGARTA-DO-CARTUCHO NA CULTURA DO MILHO.** [s.l: s.n.]v. 2145 p.

DE FREITAS BUENO, R. C. O.; DE FREITAS BUENO, A.; 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**, v. 67, n. 2, p. 170–174, 2011.

DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; LEITE, L. G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. **World Journal of Agricultural Research**, v. 5, p. 233–239, 2017.

DOWLING, A. J.; DABORN, P. J.; WATERFIELD, N. R.; WANG, P.; STREULI, C. H.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. The insecticidal toxin Makes caterpillars floppy (Mcf) promotes apoptosis in mammalian cells. **Cellular Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 345–353, 2004.

FARINELLI, R.; FILHO, D. F. ( Lepidoptera : Noctuidae ) em cultivares de milho. **Evaluation**, p. 197–202, 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529–535, 2019.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura.** Brasília, DF: Embrapa, 2020. v. 7510 p.

FORST, S. .; CLARKE, D. J. Bacteria-nematode symbiosis. *In*: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology.** Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 57–77.

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

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.;

MARRONE, P.; MORIN, L.; STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250–258, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.003>>.

GLAZAR, I.; GALPER, S.; SHARON, E. Virulence of the nematode (Steinernematids and Heterorhabditis)-bacteria (*Xenorhabdus* spp.) complex to the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 57, n. 1, p. 94–100, 1991.

GREWAL, P. . Formulation and application technology. *In*: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: CABI Publishing, 2002. p. 265–287.

GREWAL, P. S.; LEWIS, E. E.; SHAOIRO-ILAN, D. I. **Nematodes as Biocontrol Agents**. Wallingford: CABI Publishing, 2005. 505 p.

GUO, J.; WU, S.; ZHANG, F.; HUANG, C.; HE, K.; BABENDREIER, D.; WANG, Z. Prospects for microbial control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: a review. **BioControl**, v. 65, n. 6, p. 647–662, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10526-020-10031-0>>.

HOFFMAN-CAMPO, C. B.; OLIVEIRA, E. B. de; MOSCARDI, F. Criação massal da lagarta da soja. **Documentos da Embrapa Soja**, v. 10, p. 1–23, 1985.

JOYCE, S. A.; BRACHMANN, A. O.; GLAZER, I.; LANGO, L.; SCHWÄR, G.; CLARKE, D. J.; BODE, H. B. Bacterial Biosynthesis of a Multipotent Stilbene. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, v. 47, n. 10, p. 1942–1945, 2008.

KAYA, H. K.; HARA, a H. Susceptibility of Various Species of Lepidopterous Pupae to the Entomogenous Nematode *Neoplectana carpocapsae*. **Journal of nematology**, v. 13, n. 3, p. 291–4, 1981. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2618115&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

KENIS, M.; DU PLESSIS, H.; VAN DEN BERG, J.; BA, M. N.; GOERGEN, G.; KWADJO, K. E.; BAOUA, I.; TEFERA, T.; BUDDIE, A.; CAFÀ, G.; OFFORD, L.; RWOMUSHANA, I.; POLASZEK, A. *Telenomus remus*, a candidate parasitoid for the biological control of *Spodoptera frugiperda* in Africa, is already present on the continent. **Insects**, v. 10, n. 4, p. 1–10, 2019.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J. F.; GAUGLER, R. A conservation approach to using entomopathogenic nematodes in turf and landscapes. *In*: P. BARBOSA. **Conservation biological control**. San Diego: CA: Academic Press, 1998. p. 235–254.

LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. Entomopathogenic nematode host finding: Response to host contact cues by cruise and ambush foragers. **Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 309–315, 1992.

LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. **Canadian Journal of Zoology**, v. 71, n. 4, p. 765–769, 1993.

LI, H.; CHEN, Z.; YU, Z. *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol. *In*: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. **Bacillus Thuringiensis and Lysinibacillus Sphaericus: Characterization and use in the Field of Biocontrol**. Cham: Academic Press Inc., 2017. p. 185–212.

LI, T. H.; DE FREITAS BUENO, A.; DESNEUX, N.; ZHANG, L.; WANG, Z.; DONG, H.; WANG, S.; ZANG, L. S. Current status of the biological control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by egg parasitoids. **Journal of Pest Science**, v. 96, n. 4, p. 1345–1363, 2023.

LI, X.; COWLES, E. A.; COWLES, R. S.; GAUGLER, R.; COX-FOSTER, D. L. Characterization of immunosuppressive surface coat proteins from *Steinernema glaseri* that selectively kill blood cells in susceptible hosts. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 165, n. 2, p. 162–169, 2009.

LI, X. Y.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; GAUGLER, R.; COX-FOSTER, D. L. Relationship between the successful infection by entomopathogenic nematodes and the host immune response. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 3–4, p. 365–374, 2007.

LUGINBILL, P. Maringá Management Utilização E Uma Visão Abrangente Do Mercado Soybean : Origin , Classification , Use and an Including Vision of Market. **Associate Entomologist**, v. 34, n. 1, p. 91, 1928.

LUZ, P. M. C.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. V.; MALAQUIAS, J. V.; FERREIRA, L. F. M.; OTANÁSIO, P. N.; DINIZ, I. R. Owlet moths (Lepidoptera: Noctuoidea) associated with bt and non-bt soybean in the Brazilian savanna. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 2, p. 248–256, 2019.

MAIZELS, R. M.; BLAXTER, M. L.; SCOTT, A. L. Immunological genomics of *Brugia malayi*: Filarial genes implicated in immune evasion and protective immunity. **Parasite Immunology**, v. 23, n. 7, p. 327–344, 2001.

MENDES, W. S.; SILVA, I. J.; FONTES, D. O.; RODRIGUEZ, N. M.; MARINHO, P. C.; SILVA, F. O.; AROUCA, C. L. C.; SILVA, F. C. O. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 207–213, 2004.

MIRANDA, J. E.; RODRIGUES, S. M. M.; ALBUQUERQUE, F. A. de; SILVA, C. A. D. da; ALMEIDA, R. P. de; RAMALHO, F. de S. Guia de Identificação de Pragas do Algodoeiro. **Embrapa**, v. 1, p. 66, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/algodao/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1026739/guia-de-identificacao-de-pragas-do-algodoeiro>>.

MOHAMED, H. O.; SHAIRRA, S. A. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes against the new invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 33, n. 1, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s41938-023-00669-0>>.

MOLINA, J. P. A.; MOINO JR., A.; CAVALCANTI, R. S. Produção in vivo de nematoides entomopatogênicos em diferentes insetos hospedeiros. **Arq. Inst. Biol.**, v. 71, n. 3, p. 347–354, 2004.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. D. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. *In*: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 213–334.

NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; NEGRISOLI, S. C. R. C.; LEMOS, B. S. **Efeito de**

**Crioprotetores na sobrevivência de Heterorhabditis sp. AL39 (Rhabditida: Heterorhabditidae) em Laboratório.** Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2016. v. 39

NERI, D. K. P.; MORAES, J. C.; GAVINO, M. A. NO MANEJO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO *Spodoptera frugiperda*. **EMBRAPA**, p. 1167–1174, 2005. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1344498/2767891/manejo-da-lagarta-do-cartucho-em-milho.pdf/a2f4a72a-9889-4c38-b88d-31e29556911d>>.

NGUYEN, K. B. Tabular Keys to species of *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *In*: HUNT, D. J.; NGUYEN, K. B. **Advances in entomopathogenic nematode taxonomy and phylogeny**. 12. ed. [s.l.] Brill Leiden-Boston, 2016. p. 59–100.

NGUYEN, K. B.; GINARTE, C. M. A.; LEITE, L. G.; SANTOS, J. M. do.; HAKAKAVA, R. *Steinernema brazilense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Mato Grosso, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, n. 1, p. 8–20, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.09.004>>.

NGUYEN, K. B.; SMART, G. C. Life Cycle of *Steinernema scapterisci* Nguyen & Smart, 1990. **Journal of nematology**, v. 24, n. 1, p. 160–9, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19283218><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2619230>>.

NOCCHI, M. J. **Manejo de Spodoptera Cosmioides (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) com produtos biológicos e químico**. 2017. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2017.

ÖĞRETMEN, A.; YÜKSEL, E.; CANHILAL, R. Susceptibility of larvae of wireworms (*Agriotes* spp.) (Coleoptera: Elateridae) to some Turkish isolates of entomopathogenic nematodes under laboratory and field conditions. **Biological Control**, v. 149, n. November 2019, 2020.

ORCIAL, C. B.; HOSHINO, A. T.; PAZINI, J. de B.; BARROSO, G.; HATA, F. T. Manejo de pragas com artrópodes. *In*: CONRADO, M.; ADENEY, M.; BUENO, F.; MIGUEL, S.; JULIANO, M.; DA SILVA, C. **BIOINSUMOS NA CULTURA DA SOJA**. [s.l.] Embrapa, 2022. p. 435–449.

OWUAMA, C. I. Entomopathogenic symbiotic bacteria, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* of nematodes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 5, p. 505–515, 2001.

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

PARECER, S.; AHMADJIAN, V. Bacterial Associations of Bacteria, Protozoa and Animals. *In: Symbiosis: An Introduction to Biological Associations*. New York, New York: Oxford: Oxford University Press, 2000. p. 33–50.

POGUE, M. G. A world revision of the genus *Spodoptera* guenee (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, v. 43, n. 0065–8170, p. 202, 2002.

POINAR, G. O.; KARUNAKAR, G. K.; DAVID, H. *Heterorhabditis indicus* n. sp. (Rhabditida, Nematoda) from India: Separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 15, n. 5, p. 467–472, 1992. Disponível em: <isi:A1992JQ74000013>.

POLANCZYK, R. A.; FRANKENHUYZEN, K.; PAULI, G. *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol. *In: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. Bacillus Thuringiensis and Lysinibacillus Sphaericus: Characterization and use in the Field of Biocontrol*. [s.l: s.n.]p. 173–184.

POMARI, A. F. **Parasitismo de *Telenomus remus* NIXON (Hymenoptera: Scelionidae) em ovos de *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) pragas de algodão, milho e soja**. 2011. Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina, 2011.

PRABOWO, H.; ADIKADARSIH, S.; DAMAIYANI, J. Mass production of the entomopathogenic nematode, *steinernema carpocapsae* on *tenebrio molitor* and *spodoptera litura*. **Biodiversitas**, v. 20, n. 5, p. 1344–1349, 2019.

RAHATKHAH, Z.; KARIMI, J.; GHADAMYARI, M.; BRIVIO, M. F. Immune defenses of

*Agriotes lineatus* larvae against entomopathogenic nematodes. **BioControl**, v. 60, n. 5, p. 641–653, 2015.

RAO, T.; JURAT-FUENTES, J. L. Advances in the use of entomopathogenic bacteria/microbial control agents (MCAs) as biopesticides in suppressing crop insect pests. *In*: BIRCH, N.; GLARE, T. **Biopesticides for sustainable agriculture**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, 2020. p. 99–134.

RATNAKALA, B.; KALLESHWARASWAMY, C. M.; RAJKUMAR, M.; MALLIKARJUNA, H. B. Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in India. **Biological Control**, v. 185, n. November 2022, p. 105304, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105304>>.

RODRIGUEIRO, T. S. C.; GINARTE, C. M. A.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; GOULART, R. M.; GIOMETTI, F. H. C. Eficiência De *Heterorhabditis Indica* Ibcn-N05 (Rhabditida: Heterorhabditidae) No Controle De *Alphitobius Diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) Sob Comedouros De Granja Avícola. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 279–284, 2008.

ROGGIA, S.; PASINI, A.; LOFEGO, A. C.; SISMEIRO, M. N. S.; CAMPOS, T. A.; SILVA, J. E. P.; OLIVEIRA, M. F. Soja Bt: flutuação de pragas e predadores. **Siconbiol**, v. 13, p. 1–2, 2013.

SÁENZ-APONTE, A.; CORREA-CUADROS, J. P.; RODRÍGUEZ-BOCANEGRA, M. X. Foliar application of entomopathogenic nematodes and fungi for the management of the diamond back moth in greenhouse and field. **Biological Control**, v. 142, n. November 2019, p. 104163, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104163>>.

SALVADORI, J. M. **Caracterização da patogenicidade de nematoides entomopatogênicos e de bacterias associadas para o controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae)**. 2011. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

SANTOS, A. IBM SPSS como Ferramenta de Pesquisa Quantitativa. **Programa de Estudos Pós-Graduados em Administração Pontifícia Universidade Católica De**

São Paulo – Puc-Sp Ibm, p. 1–5, 2018.

SANTOS, K. B. dos; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 903–910, 2005.

SANTOS, K. B.; NEVES, P.; MENEGUIM, A. M.; DOS SANTOS, R. B.; DOS SANTOS, W. J.; BOAS, G. V.; DUMAS, V.; MARTINS, E.; PRAÇA, L. B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 50, n. 2, p. 157–163, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.03.014>>.

SANTOS, M. S.; SANTOS, J. V. C.; SILVA, D. M.; SUTIL, W. P.; BUENO, A. F. Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda*, *S. cosmioides* e *Helicoverpa armigera* alimentando-se de soja: bases para o manejo dessas lagartas. **18ª Jornada Acadêmica da Embrapa Soja: Resumos expandidos**, v. 453, n. 2176–2937, p. 80–86, 2023.

SHIELDS, E. J. Utilizing Persistent Entomopathogenic Nematodes in a Conservation or a More Classical Biological Control Approach. *In*: CAMPOS-HERRERA, R. **Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests**. Neuchâtel: Springer International Publishing, 2015. p. 165–184.

SOBHY, H. M.; ABDEL-BARY, N. A.; HARRAS, F. A.; FARAGALLA, F. H.; HUSSEINEN, H. I. Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, 2020a.

SOBHY, H. M.; ABDEL-BARY, N. A.; HARRAS, F. A.; FARAGALLA, F. H.; HUSSEINEN, H. I. Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, 2020b.

SOSA-JR, O.; HALL, D. G.; WILLIAM J. SCHROEDER. Mortality of sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) treated with entomopathogenic nematodes in field and

laboratory trials. **Journal of American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 13, p. 18–21, 1993.

STOCK, S. P.; GOODRICH-BLAIR, H. **Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2012. 373–426 p.

TEODORO, A. V.; PROCÓPIO, S. O.; BUENO, A. F.; NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; CARVALHO, H. W. L.; NEGRISOLI, C. R. C. B.; BRITO, L. F.; GUZZO, E. C. *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae): Novas Pragas de Cultivos da Região Nordeste. **Embrapa**, v. 131, p. 1–7, 2013.

TURLINGS, T. C. J.; HILTPOLD, I.; RASMANN, S. The importance of root-produced volatiles as foraging cues for entomopathogenic nematodes. **Plant and Soil**, v. 358, n. 1–2, p. 51–60, 2012.

USDA. World agricultural production. **World Agricultural Production**, p. 37, 2024.

VALICENTE, F. H.; FONSECA, M. M. Susceptibilidade da lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, A DIFERENTES ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, 2004.

VARGAS, C. C.; REDAELLI, L. R.; SANT'ANA, J.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M. Influence of semiochemicals present in the scales of *Spodoptera frugiperda* on chemotactic behavior of *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 169, n. 4, p. 393–402, 2021.

VIVIANI, V. R.; SIMÕES, A.; BEVILAQUA, V. R.; GABRIEL, G. V. M.; ARNOLDI, F. G. C.; HIRANO, T. Glu311 and Arg337 Stabilize a Closed Active-Site Conformation and Provide a Critical Catalytic Base and Counteraction for Green Bioluminescence in Beetle Luciferases. **Biochemistry**, v. 55, n. 34, p. 4764–4776, ago. 2016.

VOSS, M.; ANDALÓ, V.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R.; BARBOSA-NEGRISOLI JUNIOR, A. S. Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização de nematoides entomopatogênicos. **Embrapa Trigo**, 2009.

WATERFIELD, N.; HARES, M.; YANG, G.; DOWLING, A.; FFRENCH-CONSTANT, R.

Potentiation and cellular phenotypes of the insecticidal toxin complexes of *Photorhabdus* bacteria. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 373–382, 2005.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, p. 302–303, 1927.

WOMERSLEY, H. B. . Biogeography of Australasian marine macroalgae. *In: **Biology of Marine Plants***. Longman Cheshire, Melbourne: Clayton, M.N. y R.J. King, 1990. p. 368–381.

YAĞCI, M.; YÜCEL, C.; ERDOĞUŞ, F. D.; BENK, G.; KEPENEKCI, İ. Biological control potential of local entomopathogenic nematodes against the different stage larvae of cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 32, n. 1, 2022.

YAN, X.; SHAHID ARAIN, M.; LIN, Y.; GU, X.; ZHANG, L.; LI, J.; HAN, R. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 1, p. 64–72, 2020.

ZAMORA, M. J. R. **Caracterización de aislados nativos de nematodos entomopatógenos y uso potencial contra *Spodoptera frugiperda***. 2019. Universidad Nacional Agraria, 2019. Disponible em: <<https://repositorio.una.edu.ni/3830/1/tnh10r696a.pdf>>.

ZENKER, M. M.; SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Immature stages of *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 1, p. 99–107, 2007.

#### **4 ARTIGO - Eficiência de nematoides entomopatogênicos aplicados em lagartas e pupas de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório e casa-de-vegetação.**

##### 4.1 Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar o uso de nematoides entomopatogênicos (NEP) como estratégia de controle de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório e casa-de-vegetação. Em laboratório foram utilizados 18 isolados de NEP, dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, sobre lagartas de *S. cosmioides*, avaliando-se, a eficiência de diferentes concentrações sobre lagartas, e sobre pupas, a capacidade de produção do nematoide usando *S. cosmioides* como hospedeiro e o consumo foliar das lagartas após infecção pelo nematoide. Em casa-de-vegetação foi avaliada a eficiência do nematoide no controle de lagartas e pupas de *S. cosmioides* após aplicação foliar. Os isolados mais virulentos sobre lagartas de *S. cosmioides* foram UEL 08 (90%), IBCB 10 (92%), IBCB 06 (95%), e IBCB 02 (97,5%), e no teste de concentrações a concentração de 200JI /lagarta foi a mais eficaz para os isolados avaliados. No bioensaio de suscetibilidade de pupas, os isolados UEL 08 e IBCB 02 causaram a maior mortalidade, e estes dois isolados também conseguiram multiplicar-se e completar seu ciclo de vida usando *S. cosmioides* como hospedeiro, sendo que o isolado UEL 08 alcançou produção de  $2,0 \times 10^5$  JI/ lagarta e  $3,7 \times 10^3$  JI/pupa, enquanto o isolado IBCB 02 multiplicou-se apenas em lagartas com produção de  $1,3 \times 10^5$  JI/lagarta. Com relação ao consumo foliar de soja por lagartas infectadas, constatou-se uma redução significativa de 64% quando infectadas pelo isolado UEL 08 e de 62% quando infectadas pelo isolado IBCB 02. Em casa-de-vegetação, os isolados UEL 08 e IBCB 06 causaram 85% e 95% de mortalidade em lagartas e 50% e 57,5% de mortalidade sobre pupas.

**Palavra-chave:** Controle Biológico, Heterorhabditidae, Steinernematidae, pragas da soja.

## **Efficiency of entomopathogenic nematodes applied to caterpillars and pupae of *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and greenhouse conditions.**

### 4.2 Abstract

The aim of this study was to evaluate the use of entomopathogenic nematodes (NEP) as a control strategy for *Spodoptera cosmioides* in laboratory and greenhouse conditions. In the laboratory, 18 isolates of NEP, from the *Heterorhabditis* and *Steinernema* genera, were used on *S. cosmioides* caterpillars, evaluating the efficiency of different concentrations on caterpillars and pupae, the nematode's production capacity using *S. cosmioides* as a host and the leaf consumption of caterpillars after infection by the nematode. The efficiency of the nematode in controlling *S. cosmioides* after foliar application and the survivability of the Infective Juveniles (IJ) were evaluated in the greenhouse. The most virulent isolates on *S. cosmioides* caterpillars were UEL 08 (90%), IBCB 10 (92%), IBCB 06 (95%), and IBCB 02 (97.5%), and in the concentration test the concentration of 200IJ/caterpillar was the most effective for all isolates. In the evaluation of pupal susceptibility, isolates UEL 08 and IBCB 02 caused the greatest mortality. These two isolates were also able to multiply and complete their life cycle using *S. cosmioides* as a host, with isolate UEL 08 achieving production of  $2.0 \times 10^5$  IJ/caterpillar and  $3.7 \times 10^3$  IJ/pupa, while isolate IBCB 02 multiplied only in caterpillars with production of  $1.3 \times 10^5$  IJ/caterpillar. About soybean leaf consumption by infected caterpillars, there was a significant reduction of 64% when infected by the UEL 08 isolate and 62% when infected by the IBCB 02 isolate. In the greenhouse, isolates UEL 08 and IBCB 06 caused 85% and 95% mortality in caterpillars and 50% and 57.5% mortality in pupae.

**Keyword:** Biological control, *Heterorhabditidae*, *Steinernematidae*, soybean pests.

### 4.3 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) é uma das culturas agrícolas com maior expressividade não apenas na América do Sul (Brookes, 2018), mas também em diversos outros países ao redor do mundo (USDA, 2024) entre os quais o Brasil, se destaca como o maior produtor e exportador mundial desta leguminosa (CONAB, 2024). Apesar desse sucesso, a produção dessa leguminosa pode ser significativamente reduzido quando não manejada corretamente.

A ocorrência de pragas está entre os principais fatores limitantes para a produção de soja, sendo os lepidópteros considerados o principal grupo de insetos que se alimentam principalmente das folhas e também das vagens (LUZ *et al.*, 2019). Entre esses lepidópteros, a espécie *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) (LUZ *et al.*, 2019) na sua fase larval é capaz de consumir quase o dobro de área foliar quando comparada a outras espécies (BUENO *et al.*, 2011).

As lagartas de *S. cosmioides* demonstram capacidade de consumo durante o período de transição do quinto para o sexto instar, consumindo até 150cm<sup>2</sup> de área foliar, sendo que, este comportamento persiste mesmo em plantas de soja que expressam proteínas Cry como Cry1Ac (SILVA *et al.*, 2014) e também possuem tolerância à proteína Cry2Aa (SANTOS *et al.*, 2009). Seu ataque em surtos ocasiona severos danos nas plantas, podendo atacar desde plantas recém emergidas prejudicando o estande, até à fase reprodutiva, quando causam desfolha e prejudicam o enchimento de grãos (TEODORO *et al.*, 2013).

Na busca por ferramentas que viabilizem o controle, o uso de nematoides entomopatogênicos (NEP) pode consistir uma alternativa, já que há relato de eficiência destes agentes sobre várias espécies do gênero *Spodoptera* como: a *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775) (Lepidoptera: Noctuidae) (Prabowo; Adikadarsih; Damaiyani, 2019; Yan *et al.*, 2020), *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) (Sobhy *et al.*, 2020; Yağcı *et al.*, 2022) e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (ANDALÓ *et al.*, 2010; ALONSO; ROMÁN, 2018; ZAMORA, 2019; ACHARYA *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2020; MOHAMED; SHAIRRA, 2023; RATNAKALA *et al.*, 2023;). Por outro lado, não há

registros de estudos sobre o uso de NEP como forma de controlar populações de *S. cosmioides*.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar se os NEP são virulentos sobre lagartas e pupas de *S. cosmioides* e se possuem potencial para uso como ferramenta no controle deste inseto, através de testes em laboratório e casa-de-vegetação.

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

##### 4.4.1 Criação de *Spodoptera cosmioides*

Os insetos da espécie *S. cosmioides* foram provenientes de criação estabelecida no Laboratório de Entomologia da Embrapa Soja, Londrina, PR mantida a  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12 h de fotófase e 60% de umidade relativa. Para manutenção da criação, insetos em fase adulta de *S. cosmioides* foram mantidos em recipientes plásticos de PVC (20x20cm) com tampa de voil, forrados com papel sulfite e contendo mel em solução aquosa a 10% para alimentação. Para oviposição foram colocadas no interior dos recipientes duas folhas (HOFFMAN-CAMPO *et al.*, 1985).

Os ovos foram retirados e transferidos para frascos plásticos 500mL com tampa de papel e contendo dieta artificial descrita por Hoffman-Campo *et al.* (1985). Assim que as lagartas atingiram o segundo instar, elas foram acondicionadas em duplas dentro de copos plásticos de 50mL contendo dieta, fechadas com tampa de papelão, até atingir o estágio desejado. Insetos que não foram utilizados, assim que atingiram a fase de pupa, foram acondicionados em caixas de acrílico (11x11x3,5 cm), e quando adultos, reintroduzidas na criação.

#### 4.4.2 Obtenção e Produção dos Nematoides Entomopatogênicos

Os isolados de NEP utilizados no experimento foram fornecidos pelo Laboratório de Ensaio com Inimigos Naturais de Pragas – LabINP da UENP, campus de Cornélio Procópio (Tabela 01).

**Tabela 1** – Isolados de nematoides entomopatogênicos aplicados sobre *Spodoptera cosmioides* em condições de laboratório.

<b>Gênero e Espécie</b>	<b>Isolado</b>	<b>Origem</b>
<i>Steinernema puertoricense</i>	CER 246	Rio Verde, GO, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	IBCB 46	Santo Antônio de Posse, SP, Brasil
<i>Steinernema rarum</i>	PAM 25	Aceguá, RS, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	IBCB 44	Santa Adélia, SP, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UEL 07	Londrina, PR, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UENP 02	Ribeirão Claro, PR, Brasil
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	HP 88	Nova Jersey, Estados Unidos
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	NEPET 11	Palmeira das Missões, RS, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	MC 03	Monte Carmelo, MG, Brasil
<i>Heterorhabditis sp.</i>	UENP 03	Ribeirão Claro, PR, Brasil
<i>Steinernema feltiae</i>	IBCB 47	Alemanha
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UENP 06	Ribeirão Claro, PR, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	MC 01	Monte Carmelo, MG, Brasil
<i>Steinernema diaprepesi</i>	AM 163	Sinop, MT, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UEL 08	Londrina, PR, Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	IBCB 10	Santa Fé do Sul, SP, Brasil

<i>Steinernema brazilense</i>	IBCB 06	Porto Murtinho, MT, Brasil
<i>Steinernema carpocapsae</i>	IBCB 02	Florida, Estados Unidos

---

A manutenção dos isolados foi feita pelo método *in vivo* utilizando larvas de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) de acordo com método descrito por Molina; Lopes (2001). Os Juvenis Infectantes (JI) em suspensão aquosa foram armazenados em Erlenmeyer com aeração forçada, por um período de no máximo sete dias para serem utilizados nos experimentos.

#### 4.4.3 Bioensaio de seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos

Foram utilizadas placas de acrílico com 12 poços de 2,5cm de diâmetro contendo papel filtro duplo no fundo, onde foi colocada uma lagarta de quinto instar de *S. cosmioides* por poço, e os isolados de NEP foram aplicados sobre o inseto na concentração de 200JI/inseto suspensos em 0,5 mL de água de acordo com metodologia adaptada de (STOCK; GOODRICH-BLAIR, 2012). Cada placa com 12 poços representou uma repetição e cada tratamento teve quatro repetições. No tratamento controle, cada poço da placa recebeu apenas 0,5 mL de água destilada.

O bioensaio foi mantido em câmara climatizada a  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa (UR) média de 65% e fotoperíodo 14 horas, e avaliação se deu 72 horas após a inoculação. A mortalidade por NEP foi confirmada por meio de dissecação das lagartas com auxílio microscópio estereoscópico de 100 vezes. Se atendidos os pressupostos de normalidade pelo programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (SANTOS, 2018) os dados foram submetidos a análise de Variância (teste F), e, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $P\leq 0,05$ ) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019). Os quatro isolados mais virulentos ou que provocaram mortalidade acima de 90% foram selecionados para os demais bioensaios.

#### 4.4.4 Bioensaio de diferentes concentrações de nematoides entomopatogênicos sobre *Spodoptera cosmioides*

Os isolados selecionados no experimento anterior UEL 08, IBCB10, IBCB06 e IBCB02 foram avaliados nas concentrações: 0 (controle), 25, 50, 100 e 200 JI/inseto. O bioensaio foi realizado, em placas acrílico com 12 poços de 2,5 cm de diâmetro seguindo a mesma metodologia descrita no bioensaio de seleção de isolados.

Se atendidos os pressupostos de normalidade, os dados foram submetidos a análise de Variância (teste F), e, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019). Os quatro isolados mais virulentos ou que provocaram mortalidade acima de 90% foram selecionados para os demais bioensaios.

As medias de mortalidade e concentração de JI foram submetidos a análise de regressão pelo programa SISVAR (Ferreira, 2019) e gerado gráficos com auxílio do Excel.

#### 4.4.5 Bioensaio de virulência de nematoides entomopatogênicos sobre pupas de *Spodoptera cosmioides*

Foram utilizados os quatro isolados de melhor desempenho no teste sobre lagartas e na concentração de 200JI/pupa. O bioensaio foi realizado seguindo a metodologia adaptada de (STOCK; GOODRICH-BLAIR, 2012) conforme descrito no experimento de seleção de isolados. Em cada parcela foram utilizadas 10 pupas de *S. cosmioides* (Figura 1) e cada tratamento foi repetido quatro vezes, e o tratamento controle recebeu apenas 0,5 mL de água destilada.



**Figura 1** - Placa de acrílico correspondente a uma parcela utilizada no bioensaio de nematoides entomopatogênicos sobre pupas de *Spodoptera cosmioides*.

O bioensaio foi mantido em câmara climatizada a  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ , a UR média de 65% e fotoperíodo 14 horas, e a mortalidade das pupas foi avaliada 72 horas após a inoculação, e confirmada por meio de dissecação com auxílio microscópio estereoscópio de 100x.

Posteriormente, se atendidos os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade pelo programa SPSS (SANTOS, 2018) os dados de mortalidade foram submetidos a análise de Variância (teste F), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P\leq 0,05$ ) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019).

#### 4.4.6 Produção *in vivo* de nematoides entomopatogênicos usando *Spodoptera cosmioides* como hospedeiro

Para avaliar a produção, foram utilizadas lagartas de quinto instar e pupas de dois dias *S. cosmioides*, que foram previamente pesadas e dispostas individualmente em placas de Petri de 5cm de diâmetro. Em seguida, os NEP foram aplicados sobre os insetos com auxílio de uma micropipeta na concentração de 200 JIs/inseto.

Após a inoculação o bioensaio foi mantido em câmara climatizada a  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $60\pm 10\%$  e fotoperíodo 14 horas sem fotoperíodo por 72 horas, quando os insetos mortos foram transferidos para placas limpas contendo um papel filtro. Após sete dias, as lagartas e pupas foram transferidas para armadilhas de White modificadas (WHITE, 1927) para coleta dos JI.

Foi realizada a contagem diária dos JI até o esgotamento da produção (MOLINA; MOINO JR.; CAVALCANTI, 2004) se atendidos os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade pelo programa SPSS (Santos, 2018), as médias de produção foram submetidas a análise de Variância (teste F), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P\leq 0,05$ ) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019). Também foi feita análise de regressão e cálculo da curva de produção em função do tempo pelo mesmo programa.

#### 4.4.7 Bioensaio de consumo de área foliar de soja por *Spodoptera cosmioides* após infecção por nematoides entomopatogênicos

Para este experimento, foram coletadas folhas de soja de plantas mantidas em casa-de-vegetação (variedade M6510). As folhas foram provenientes do terço médio e superior de plantas de soja em R5, sempre optando por folhas inteiras e sem manchas, que após a coleta foram higienizadas em solução hipoclorídrica a 1%, após 2 minutos foram secas com papel. Em seguida, as folhas tiveram a área foliar determinada usando um medidor de área foliar LI – 3100C.

As folhas foram então dispostas em placas de Petri de 9cm de diâmetro contendo papel filtro umedecido com 3mL de água destilada e autoclavada, em seguida foi colada uma lagarta de *S. cosmioides* de quinto instar por placa de Petri. Dez placas representaram uma repetição, e foram realizadas quatro repetições por tratamento.

Por último, os isolados de NEP (UEL 08 e IBCB 02) foram aplicados sobre o papel de filtro no volume de 0,5mL de suspensão contendo 200JI/inseto (placa) sendo que o tratamento controle recebeu apenas 0,5mL de água destilada e autoclavada. Ainda um segundo tratamento controle (controle positivo) foi realizado,

no qual não foram adicionadas lagartas ou nematoides às placas, com objetivo de avaliar se houve redução de área foliar apenas pela perda de umidade das folhas.

O bioensaio foi avaliado a cada seis horas até completar 72 horas, totalizando 12 avaliações. Em cada avaliação, verificou-se se as lagartas estavam vivas e quando necessário foi adicionada uma nova folha com o propósito de sempre haver alimento disponível para os insetos.

Após o período de 72 horas foi avaliado novamente a área foliar e feito o cálculo da área consumida pelas lagartas. Se atendidos os pressupostos de normalidade pelo programa SPSS (SANTOS, 2018), as médias de consumo foram submetidas a análise de Variância (teste F), e, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019). Os dados de mortalidade coletados nas avaliações realizadas de 6 a 72 horas após a inoculação dos JI, foram submetidos a análise de regressão pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019) e os gráficos foram feitos com auxílio do programa Excel.

#### 4.4.8 Bioensaio da virulência de nematoides entomopatogênicos sobre *Spodoptera cosmioides* em casa-de-vegetação

O bioensaio para avaliar a virulência de NEP sobre *S. cosmioides* em condições de casa-de-vegetação foi conduzido na Embrapa Soja, localizada no distrito da Warta, município de Londrina – PR ( $23^{\circ}11' S$ ,  $51^{\circ}11' W$ , altitude de 630m). Os ensaios foram realizados utilizando os isolados UEL 08 e IBCB 02.

Para conduzir os bioensaios em casa-de-vegetação, sementes da variedade M6510 de soja foram inicialmente semeadas em recipientes plásticos de 2,5 litros, contendo 1,5 kg de solo (latossolo vermelho escuro). O solo foi irrigado com 500 mL de água e, posteriormente, recebeu irrigação diária por aspersores. Quando as plantas alcançaram o estágio reprodutivo (R5) (Figura 2), cinco lagartas de *S. cosmioides*, no quinto instar, foram liberadas na parte superior das plantas de cada vaso e cinco pupas foram dispostas sobre o solo do vaso. Cada repetição foi composta por dois vasos, e cada tratamento foi replicado quatro vezes.

Em seguida, com auxílio de um aerógrafo (Vonder 50psi) os isolados de NEP (UEL 08 e IBCB 02) foram pulverizados no topo das plantas um volume de 14

mL de suspensão/planta contendo 10.000JI/recipiente. No tratamento controle foi aplicado o mesmo volume de água destilada e autoclavada. Em seguida os vasos foram cobertos com tecido voil, e mantidos em condições de casa-de-vegetação (Figura 2).



**Figura 2** - A: Plantio de sementes de soja. B: Soja em estágio R5 e vasos individualizados com gaiolas de voil.

As condições ambientais foram monitoradas durante a condução do experimento, sendo que a temperatura média de 27 °C e UR média foi de 85%. A avaliação da mortalidade de *S. cosmioides* foi realizada após 72 horas, quando as lagartas e pupas mortas foram coletadas, e dissecadas com auxílio microscópio estereoscópio de 100x para confirmara infecção por NEP. Se atendidos os pressupostos de normalidade utilizando o programa SPSS (SANTOS, 2018). As médias foram submetidas a análise de Variância (teste F), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) pelo programa SISVAR (FERREIRA, 2019).

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.1 Seleção de isolados de nematoides entomopatogênicos

No bioensaio de seleção de isolados de NEP sobre *S. cosmioides* constatou-se patogenicidade dos 18 isolados avaliados sobre as lagartas do inseto (Tabela 2). Os isolados CER 246, IBCB 46, PAM 25, IBCB 44, UEL 07, UENP 02, HP 88 e NEPET 11 apesar de se diferenciarem do tratamento controle, provocaram as menores mortalidades em lagartas de *S. cosmioides*.

Os melhores percentuais de mortalidade foram obtidos com os isolados UEL 08, IBCB 10, IBCB 06 e IBCB 02, alcançando valor máximo de 97,5% de mortalidade e sem diferir entre si, e por isso, foram selecionados para serem utilizados nos testes subsequentes.

A eficiência dos NEP poder estar vinculada ao seu tamanho, conforme relatado na literatura para *S. frugiperda*, onde observou-se que diferentes espécies de NEP exibiram virulência variada aos seis estágios larvais do inseto, e *Heterorhabditis indica* e *S. carpocapsae* considerados JI pequenos, com 500 e 581  $\mu\text{m}$ , respectivamente, foram altamente virulentos nos estágios iniciais, enquanto *Steinernema arenarium* (1.082  $\mu\text{m}$ ) e *Steinernema longicaudum* (832  $\mu\text{m}$ ) foram mais virulentos nos instares mais avançados (ACHARYA *et al.*, 2020).

**Tabela 2** – Porcentagem de mortalidade ( $\pm$ D.P.) de lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides* causada por nematoides entomopatogênicos (200 Juvenis Infectantes/inseto) em condições de laboratório.

<b>Espécie</b>	<b>Isolados</b>	<b>Mortalidade Total (%)</b>
Controle	-	0,0 ±0,0 e
<i>Steinernema puertoricense</i>	CER 246	30,0 ±7,1 d
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	IBCB 46	32,5 ±8,3 d
<i>Steinernema rarum</i>	PAM 25	42,5 ±5 c
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	IBCB44	42,5 ±8,3 c
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UENP 06	45,0 ±4,3 c
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UENP 02	45,0 ±11,2 c
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	HP 88	45,0 ±5,0 c
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	NEPET 11	52,0 ±14,8 c
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	MC 03	55,0 ±7,1 c
<i>Heterorhabditis sp.</i>	UENP 03	62,5 ±10,9 b
<i>Steinernema feltiae</i>	IBCB 47	65,0 ±11,2 b
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UEL 07	67,5 ±4,3 b
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	MC 01	80,0 ±7,1 b
<i>Steinernema diaprepesi</i>	AM 163	82,5 ±5 b
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	UEL 08	90,0 ±4,3 a
<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	IBCB 10	92,0 ±5 a
<i>Steinernema brasiliensis</i>	IBCB 06	95,0 ±4,3 a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	IBCB 02	97,5 ±4,3 a
<b>P valor</b>		0,277
<b>C.V. (%)</b>		17,04

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram significativamente pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 5\%$ ).

No entanto, o tamanho não parece ter sido o fator determinante para a virulência dos isolados avaliados sobre *S. cosmioides*, pois entre os isolados com maior virulência, IBCB 10 e UEL 08 (*H. amazonensis*) (Andaló; Nguyen; Moino, 2006) e CB02 (*S. carpocapsae*) são considerados isolados com JI pequenos 589 e 558  $\mu\text{m}$ , respectivamente (NGUYEN, 2016), mas o isolado CB 10 (*S. brasilense*) possui quase o dobro do tamanho destes (1157  $\mu\text{m}$ ) (NGUYEN *et al.*, 2010).

Também entre os isolados com pior desempenho, encontramos isolados com disparidade de tamanho: IBCB 46, UENP 02 e 06 são da espécie *H. amazonensis* e tem JI com tamanho pequeno (589  $\mu\text{m}$ ), assim como PAM 25 da espécie *S. rarum* (511  $\mu\text{m}$ ), enquanto o isolado CER 246 da espécie *S. puertoricense* é considerado grande (1171  $\mu\text{m}$ ) (NGUYEN, 2016).

Além do tamanho, a força das respostas imunológicas é influenciada tanto pelo NEP quanto pelo inseto hospedeiro (RAHATKHAH *et al.*, 2015). Mesmo isolados pertencentes à mesma espécie de NEP provocaram intensidades diferentes de respostas imunológicas no mesmo hospedeiro (GLAZAR; GALPER; SHARON, 1991; RAHATKHAH *et al.*, 2015; ÖĞRETMEN; YÜKSEL; CANHILAL, 2020), refletindo-se na virulência dos isolados. Este fato também foi observado neste trabalho, pois os diferentes isolados da espécie *H. amazonensis* (IBCB 44, IBCB 46, UEL 07, UEL 08, UENP 02, UENP 06, IBCB 10, MC 01, MC 03 e NEPET 11) apresentaram variação de virulência sobre *S. cosmioides*.

Além dos fatores inerentes ao NEP e ao hospedeiro, há que se considerar a bactéria simbiote. Ao penetrar no inseto, o NEP pode levar até seis horas para liberar a bactéria simbiote no hospedeiro, após o NEP liberar a bactéria no hemocele, a bactéria começa a se alimentar e reproduzir rapidamente na hemolinfa, secretando toxinas letais ao inseto (ALMENARA; ROSSI; CAMARGO, 2012). Mesmo entre espécies idênticas de NEP, podem surgir variações nos níveis de resposta imune observados no inseto hospedeiro em função de diferenças encontradas entre as cepas da bactéria simbiote (GLAZAR; GALPER; SHARON, 1991; Rahatkhah *et al.*, 2015).

#### 4.5.2 Avaliação de diferentes concentrações de nematoides entomopatogênicos sobre *Spodoptera cosmioides*

Todas as concentrações testadas demonstraram virulência contra lagartas de *S. cosmioides*. No entanto, observou-se que concentrações mais baixas (25, 50 e 100) resultaram em menor mortalidade quando comparadas à concentração de 200 JI/lagarta (Tabela 3, Figura 3).

Em estudo realizado por Sobhy *et al.* (2020), foram utilizadas as concentrações de 50, 100, 200, 400, 800 e 1600 JI/placa de Petri em *S. littoralis* e *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando *H. bacteriophora* (HP 88) em condições de laboratório. Neste estudo observou-se que quanto maior a concentração, maior a mortalidade, até atingir 100% de mortalidade na concentração de 200JI/lagarta. No entanto, a concentração de 800JI/placa possibilitou alcançar 100% de mortalidade de forma mais rápida, mas os autores afirmam que, mesmo alcançando a mortalidade total mais rapidamente, a concentração ideal é sempre a menor possível, ou seja, 200JI/lagarta.

Quanto maior a concentração de JI necessária para matar um hospedeiro, menor é a viabilidade de sua utilização comercial. Se em laboratório são necessárias altas concentrações de NEP para atingir uma mortalidade satisfatória, quando extrapolado para uso em casa-de-vegetação ou campo, as concentrações teriam de ser maiores ainda devido aos vários fatores de desativação, como de umidade e temperatura, inviabilizando economicamente sua utilização (ALVES *et al.*, 2009).

No estudo conduzido por Andaló *et al.* (2010), 17 isolados do nematoide entomopatogênico (NEP) foram testados contra a praga *S. frugiperda*, utilizando-se concentrações que variaram de 150 a 350 JI/lagarta. Dentre esses isolados, destacaram-se o *Steinernema arenarium* e o RSC 02 (*H. amazonensis*), que apresentaram os índices de mortalidade mais elevados. Especificamente, na concentração de 200 JI/lagarta, o *S. arenarium* alcançou uma eficácia de controle de 100%, enquanto o RSC 02 atingiu 97,6% de mortalidade.

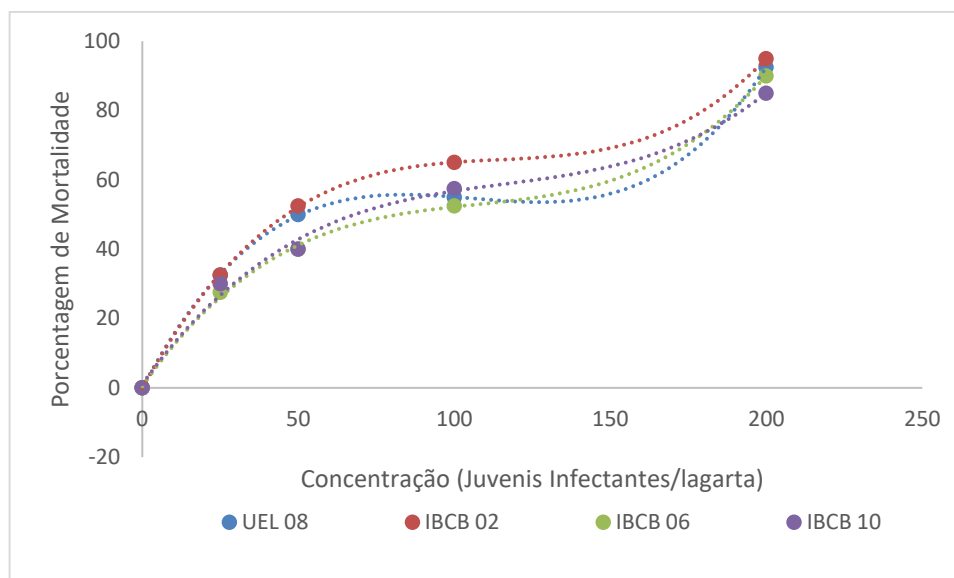
**Tabela 3** Porcentagem de mortalidade ( $\pm$ D.P.) de lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides* submetidas a diferentes concentrações de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório.

Concentração	UEL 08	IBCB 02	IBCB 06	IBCB 10
<b>25 JI/Lagarta</b>	32,5 ±8,3 c	32,5 ±14,8 c	27,5 ±8,3 c	30,0 ±10,0 c
<b>50 JI/Lagarta</b>	50,0 ±11,2 bc	52,5 ±8,3 bc	40,0 ±7,0 bc	40,0 ±12,2 bc
<b>100 JI/Lagarta</b>	55,0 ±5,0 b	65,0 ±5,0 b	52,5 ±8,3 b	57,5 ±10,9 b
<b>200 JI/Lagarta</b>	92,5 ±8,3 a	95,0 ±5,0 a	90,0 ±7,0 a	85,0 ±5,0 a
<b>P valor</b>	0,071	0,122	0,052	0,093
<b>C.V.%</b>	15,22	17,78	14,55	18,06

\* Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 5\%$ ).

Isolados que têm elevada virulência em baixas concentrações em bioensaios laboratoriais podem ser a chave para a utilização em larga escala e, comparando-se a outros estudos com lagartas de *Spodoptera* spp., os valores alcançados neste estudo podem ser considerados promissores.

Como comparativo, podemos citar o trabalho desenvolvido por Yağcı *et al.* (2022), onde foram utilizados quatro isolados, *S. carpocapsae* (TOKAT-BAKIŞLI05), *S. feltiae* (Tokat-Emir), *H. bacteriophora* (TOK-20), *H. bacteriophora* (11 KG) de NEP nas concentrações, 250, 500 e 1000 JI/lagarta, sobre lagartas de sexto instar de *S. littoralis*. Apenas o isolado Tokat-Emir provocou 95,24% de mortalidade na concentração de 500JI/lagarta. O isolado IBCB 02, de mesma espécie de NEP, alcançou uma mortalidade semelhante (95%) utilizando uma concentração 2,5 vezes menor em lagartas de *S. cosmioides*.



Equações:

$$\text{UEL 08} = y = 5\text{E-}05x^3 - 0,0169x^2 + 1,7072x - 0,1134. R^2 = 0,9999$$

$$\text{IBCB 02} = y = 0,0002x^3 - 0,0254x^2 + 1,8929x - 0,2857. R^2 = 0,9989$$

$$\text{IBCB 06} = y = 3\text{E-}05x^3 - 0,0112x^2 + 1,2864x + 0,4403. R^2 = 0,9992$$

$$\text{IBCB 10} = y = 3\text{E-}05x^3 - 0,0098x^2 + 1,2538x + 1,0673. R^2 = 0,9949$$

**Figura 3** - Curva de regressão demonstrando a porcentagem de mortalidade de lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides* tratadas com diferentes concentrações de isolados de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório.

#### 4.5.3 Avaliação da infectividade de nematoides entomopatogênicos sobre pupas de *Spodoptera cosmioides*

Os melhores resultados foram observados com os isolados IBCB 02 e UEL 08 (Figura 4), que não diferiram entre si (Tabela 04). Dentre os isolados testados, IBCB 10 não apresentou diferença do controle, obtendo pior resultado de mortalidade.

Em pesquisa envolvendo pupas de *S. littoralis*, o isolado Mex (*S. carpocapsae*), aplicado nas concentrações de 50 e 100 JI/pupa causou 10% e 45,83% de mortalidade, respectivamente (YAN *et al.*, 2020) a taxa de mortalidade foi inferior mesmo utilizando metodologia similar ao presente trabalho. No entanto, como a concentração foi inferior a utilizada neste trabalho, podemos supor que este fator afetou diretamente a mortalidade das pupas de *S. littoralis*.

Em outro estudo para avaliar a mortalidade de lagartas e pupas de *S. frugiperda*, a mortalidade de pupas foi avaliada pela emergência das mariposas, utilizando as seguintes espécies de NEP na concentração de 600JI/inseto: *S. carpocapsae* (33%), *S. longicaudum* (37%), *H. indica* (40%), *S. arenarium* (57%), *H. bacteriophora* (60%) e *Heterorhabditis* sp. (90%) (ACHARYA ET AL., 2020) . As espécies *S. carpocapsae* e *S. longicaudum* obtiveram menor taxa de eclosão, e sua eficiência se assemelhou ao resultado obtido para o isolado IBCB 02, comprovando a suscetibilidade de pupas de *Spodoptera* sp. a NEP.

**Tabela 4** – Porcentagem de mortalidade de pupas de *Spodoptera cosmioides*, causada por isolados de nematoides entomopatogênicos (200 Juvenis Infectantes/pupa) em condições de laboratório.

<b>Isolados</b>	<b>Mortalidade Total (%)</b>	<b>Mortalidade Confirmada (%)</b>
<b>Controle</b>	0 ±0,0	-
<b>IBCB 10</b>	20 ±7,0	20,0 bc
<b>IBCB 06</b>	30 ±12,2	30,0 b
<b>IBCB 02</b>	70 ±8,3	70,0 a
<b>UEL 08</b>	82,5 ±7,0	82,5 a
<b>P valor</b>		0,085
<b>C. V. (%)</b>		18,32

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 5\%$ ).

Em estudo com pupas de *S. frugiperda* inoculadas com *H. indica* e *S. carpocapsae* cujos adultos emergiram, mas morreram após 48 horas (RATNAKALA et al., 2023). Isso implica que algumas pupas contaminadas com JI, conseguem sobreviver até a fase adulta, mas estes provocaram a morte em seu hospedeiro após a emergência.



**Figura 4** – Dissecação de pupa de *Spodoptera cosmioides*, 72 horas após inoculação com *Heterorhabditis amazonensis* (UEL 08).

Nesta fase há a formação de cavidades e invaginações o que pode dificultar a chegada dos JI até o hemocele, além dos hemócitos estarem com sua atividade aumentada, fagocitando tecidos larvais para reconstituição em novos tecidos, essa constante atividade pode facilitar o encontro das bactérias excretadas pelos JI, aumentando a resposta imune da pupa (CHAPMAN, 2013).

#### 4.5.4 Produção *in vivo* de nematoides entomopatogênicos usando *Spodoptera cosmioides* como hospedeiro

Todos os isolados avaliados foram capazes de se reproduzir em lagartas de *S. cosmioides*, e os melhores resultados foram observados para os isolados IBCB

02 e UEL 08 (Tabela 5). Quando observada a emergência de JI em pupas, o único isolado que foi capaz de se reproduzir foi o UEL 08, porém, houve uma menor produção quando comparada à produção em lagartas.

A taxa de reprodução e a capacidade de produção dos NEP são afetadas pelo tipo de hospedeiro, pela espécie de NEP e a concentração de JI utilizada como inóculo (ACHARYA *et al.*, 2020; YAN *et al.*, 2020). Prabowo *et al.* (2019) avaliaram a produção de JI em lagartas de *S. litura* utilizando *S. carpocapsae* em quatro concentrações, 100, 200, 300, 400JI/lagarta e obtiveram as seguintes produções:  $1,13 \times 10^4$ ,  $1,46 \times 10^4$ ,  $1,52 \times 10^4$  e  $1,94 \times 10^4$  JI/lagarta, respectivamente, corroborando com os dados observados neste trabalho, onde a quantidade de JI coletada na concentração de 200JI foi semelhante à aqui obtida para o isolado IBCB 02, pertencente a mesma espécie.

**Tabela 5** – Produção média de Juvenis Infectantes de nematoides entomopatogênicos emergidos de lagartas e pupas de *Spodoptera cosmioides*.

Isolados	Lagartas (JI/Inseto)	Pupas (JI/Inseto)
IBCB 06	$2,1 \times 10^4$ c	0,0 b
IBCB 10	$4,2 \times 10^4$ bc	0,0 b
IBCB 02	$1,3 \times 10^5$ a	0,0 b
UEL 08	$2,0 \times 10^5$ a	$3,7 \times 10^3$ a
<b>P valor</b>	0,741	0,091
<b>C. V. (%)</b>	24,72	18,66

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 5\%$ ).

A incapacidade de produção dos isolados IBCB 02, 08 e 10 em pupas, pode ser atribuída ao estado fisiológico tanto do hospedeiro quanto do próprio nematoide. É possível que os JI tenham ingressado no hospedeiro a custo de grande gasto energético, em um estado enfraquecido, resultando da dificuldade em penetrar a pupa do inseto, quando comparada a lagarta; o ambiente interno do hospedeiro não

proporcionou as condições ideais para o crescimento e reprodução dos nematoides (KAYA; HARA, 1981).

A produção de JI pelo inseto alvo é crucial em estratégias de controle biológico. A introdução controlada de organismos benéficos em áreas infestadas, conhecida como estratégia inoculativa, visa estabelecer uma população capaz de controlar a praga sem a necessidade de aplicações posteriores (SHIELDS, 2015). Quando os NEP podem se reproduzir em seus hospedeiros, caracterizando o controle biológico conservativo, há uma ampliação das possibilidades de redução de pragas (LEWIS; CAMPBELL; GAUGLER, 1998). Assim, o quanto maior a produção de JI maior é a persistência no ambiente (Rodrig\Ueiro *et al.*, 2008), conseqüentemente a efetividade de controle biológico, promovendo um equilíbrio natural duradouro que limita o aumento populacional da praga.

Portanto, a maior capacidade de reprodução do JI não apenas intensifica o impacto do controle biológico, mas também sustenta uma abordagem mais conservativa, promovendo a manutenção do equilíbrio de forma duradoura. Essa estratégia não apenas pode reduzir o uso de métodos químicos e os problemas advindos de sua utilização, mas também fomenta práticas agrícolas mais sustentáveis e amigáveis com o meio ambiente.

#### 4.5.5 Avaliação de consumo foliar de soja por *Spodoptera cosmioides* após infecção por nematoides entomopatogênicos

Não houve redução de área foliar por perda de umidade (controle positivo). Quanto aos tratamentos com lagartas, observou-se redução significativa no consumo foliar quando estas estavam infectadas por NEP (Tabela 7).

*Spodoptera cosmioides* em seu último instar, consome aproximadamente 185,4 cm<sup>2</sup> de folhas de soja, quase o dobro em comparação com *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae) e *S. frugiperda* (BUENO *et al.*, 2011). Neste estudo, observamos que *S. cosmioides* foi capaz de consumir a área foliar em média 28,52cm<sup>2</sup> em 72 horas. Por outro lado, ao ser inoculada com os isolados UEL 08 e IBCB 02 o consumo foi significativamente menor comparado ao tratamento controle (Figura 5).

**Tabela 6** – Consumo foliar de soja por lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides* ao longo de 72 horas infectadas por nematoides entomopatogênicos.

<b>Isolados</b>	<b>Área foliar (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Redução de consumo (%)</b>
<b>UEL 8</b>	10,23 ±1,62b	62,08%±5,78
<b>IBCB 02</b>	10,96 ±2,01b	60,59%±7,29
<b>Controle</b>	28,52 ±1,50a	-
<b>P valor</b>	0,053	
<b>C. V. (%)</b>	12,01	

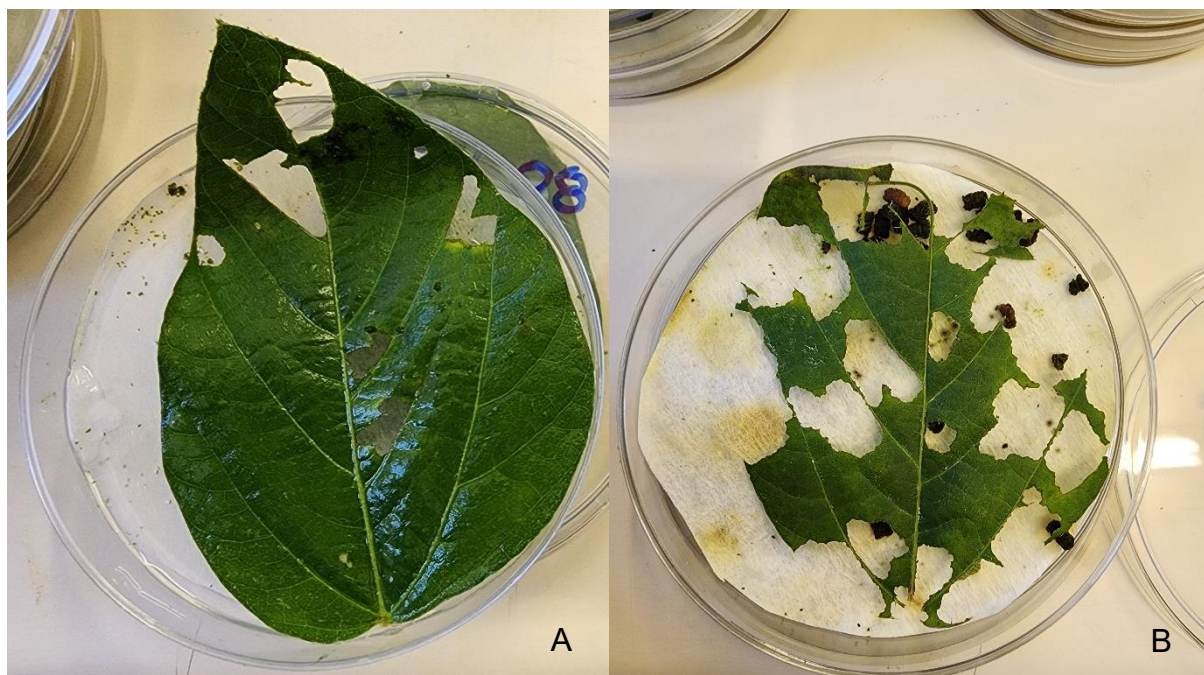
\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 5\%$ ).

Sáenz-Aponte *et al.* (2020) avaliaram a redução do consumo foliar de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em plantas de brócolis após aplicação de *H. bacteriophora* (isolado HNI0100). Segundo os autores, houve correlação inversa entre a concentração de JI e o consumo foliar, pois conforme a concentração de JI aumentou, houve redução do consumo foliar por parte dos insetos. No entanto, é importante notar que, apesar da diferença na redução no consumo, não houve diferença significativa na mortalidade dos insetos entre as diferentes concentrações testadas (300, 600 e 1200 JI/cm<sup>2</sup>).

Esses resultados indicam que o NEP quando aplicado em área foliar em concentrações mais elevadas, tem um impacto na redução do consumo foliar, mas não resulta em diferenças substanciais na mortalidade dos insetos. Sugerindo que o efeito do tratamento pode estar mais relacionado à repelência ou inibição do consumo e não somente a mortalidade direta dos insetos.

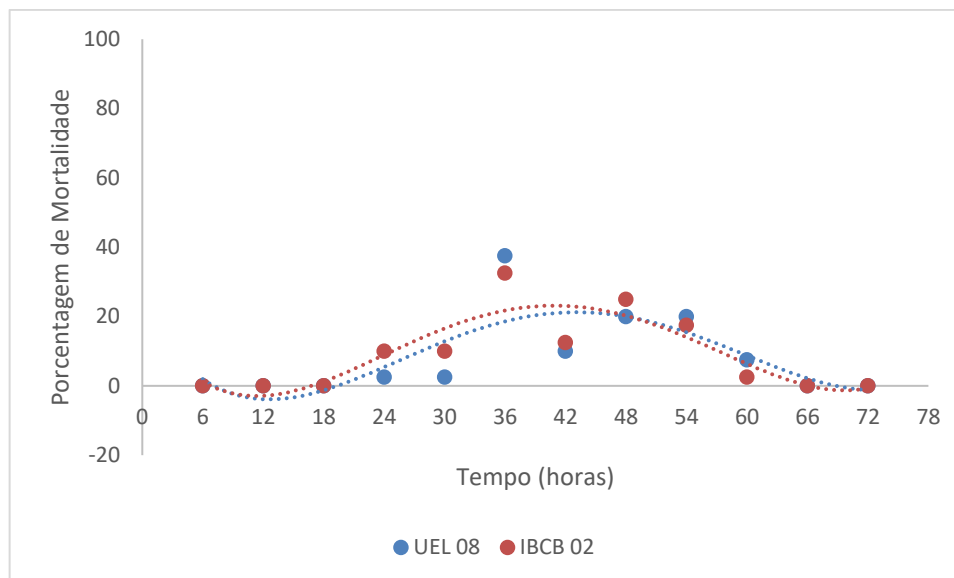
Essas observações podem ter implicações importantes no desenvolvimento de estratégias de manejo integrado de pragas, destacando a capacidade do NEP em reduzir o dano foliar em plantas.

**Figura 5** - A: unidade experimental após 72 horas de Inoculação do isolado UEL 8. B: unidade experimental do tratamento controle após 72 horas.



Quando consideradas as avaliações ao longo do tempo, foram observados dois picos de mortalidade das lagartas de *S. cosmioides*, na sexta (36 horas) e na nona (48 horas) avaliações (Figura 6). A virulência, ou seja, a rápida mortalidade de lagartas promovida pelos NEP também pode influenciar a redução do consumo foliar (SÁENZ-APONTE; CORREA-CUADROS; RODRÍGUEZ-BOCANEGRA, 2020), ambos os isolados foram iguais tanto na área reduzida quanto no tempo para causar mortalidade.

Mohamed;Shairra (2023), avaliaram a mortalidade de *S. frugiperda* nos seus seis instares com os isolados *S. carpocapsae* e *H. indica*, nas concentrações de 150, 300, 600, 1200, 2400 JI/lagarta no período de 48, 72, 96, 120, 164, 188 horas após inoculação dos JI. O isolado *H. indica* provocou 100% de mortalidade dos insetos de sexto instar entre 120 e 188 horas, nas concentrações de 600, 1200 e 2400 JI/lagarta. Já *S. carpocapsae* foi mais virulento causando a morte de 100% das lagartas em todas as concentrações em 72 horas, de forma semelhante ao isolado IBCB 02, também da mesma espécie *carpocapsae* utilizado no presente estudo.



Equações:

UEL 08:  $y = 3E-05x^4 - 0,0051x^3 + 0,2727x^2 - 4,6867x + 21,288$ .  $R^2 = 0,5807$

IBCB 02:  $y = 3E-05x^4 - 0,0057x^3 + 0,2863x^2 - 4,5169x + 19,192$ .  $R^2 = 0,752$

**Figura 6** – Avaliação da mortalidade de nematoides entomopatogênicos UEL 08 e IBCB 02, inoculadas em lagartas de quinto instar de *Spodoptera cosmioides*, no período de seis em seis horas até 72 horas.

Quando os NEP são aplicados em larvas menores, como as de *G. mellonella* e *Agriotes lineatus* (Linnaeus, 1767) (Coleoptera: Elateridae), que possuem 25 e 18mm, respectivamente, a resposta imune destes insetos tendem a cair 12 a 16 horas após a entrada do JI no hemocele, todas as larvas morreram após 24 horas (Rahatkah *et al.*, 2015). As lagartas de *S. cosmioides*, possuem um tamanho aproximado de 48mm (TEODORO *et al.*, 2013), possivelmente o tamanho do inseto influenciou no tempo necessário para causar sua morte.

A aplicação dos NEP acarretou uma redução do consumo foliar de soja pelas lagartas de *S. cosmioides* de até 62% em 72 horas após a aplicação quando comparada ao tratamento controle. Os danos das lagartas afetam diretamente a produtividade quando ocorre no período reprodutivo da soja (SANTOS *et al.*, 2023).

#### 4.5.5 Bioensaio em casa-de-vegetação

Ambos os isolados avaliados apresentaram patogenicidade sobre lagartas de *S. cosmioides* em condições de casa-de-vegetação, tanto para lagartas como para pupas, alcançando valores de mortalidade de até 95% e 57,5%, respectivamente (Tabela 07).

Os valores de mortalidade obtidos para lagartas foram semelhantes aos obtidos em laboratório, indicando que o NEP foi eficiente na localização e infecção do hospedeiro, mesmo quando aplicado em parte aérea da planta (Figura 7 e 8).

Vários fatores podem contribuir para a eficiência do JI em encontrar o hospedeiro, como por exemplo o stress sofrido pela planta, que devido a alimentação dos insetos faz com que estas liberem exsudados capazes de sinalizar aos NEP os atraindo para encontro com a praga (TURLINGS; HILTPOLD; RASMANN, 2012). Também, compostos liberados pelo inseto podem servir de guia para a orientação do nematoide, como por exemplo a liberação de CO<sub>2</sub>, fezes ou outros (Lewis; Gaugler; Harrison, 1992, 1993).

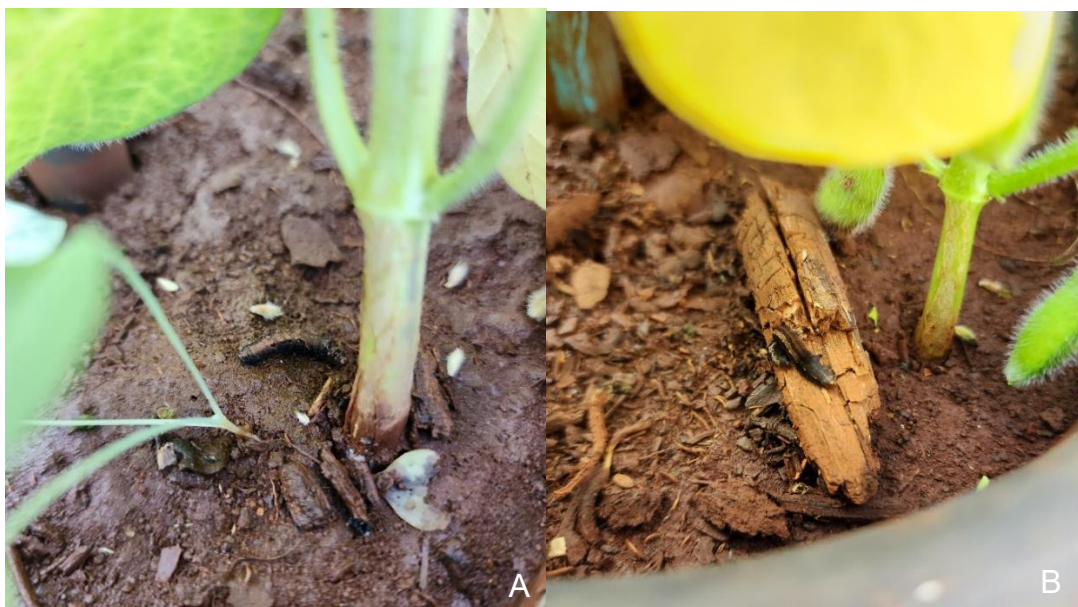
**Tabela 7** – Porcentagem de mortalidade de lagartas e pupas de *Spodoptera cosmioides* causadas por nematoides entomopatogênicos em condições de casa-de-vegetação.

Isolados	Lagartas	Pupas
UEL 08	85 ±5,0 a	50 ±7,07 a
IBCB 02	95 ±5,0 a	57,5 ±8,29 a
Controle	0,0 ±0,0 b	0,0 ±0,0b
P valor	0,093	0,324
C. V. (%)	7,86	14,09

\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 5\%$ ).

Esta menor mortalidade de pupas em relação à mortalidade de lagartas já era esperada, Alonso;Román (2018) utilizando pupas de *S. frugiperda*, avaliaram as concentrações de 1000, 3000 e 5000 JI de *H. bacteriophora*, em laboratório as

mortalidades foram de 75, 87 e 92%. Quando as mesmas concentrações foram avaliadas em casa-de-vegetação, os valores foram de 55, 70 e 80%, respectivamente.



**Figura 7**– Lagarta de *Spodoptera cosmioides* morta após 72 horas da inoculação do isolado UEL 08 em condições de casa-de-vegetação após pulverização das plantas.

Os exsudados emitidos pela planta atacada por insetos sinaliza aos JI a presença possíveis hospedeiros, os atraindo (ANDALÓ *et al.*, 2017), o que pode ter contribuído para a atração e controle das lagartas de *S. cosmioides* pelos isolados UEL 08 e IBCB 02. A mortalidade de lagartas nas folhas (Figura 8) mostra que a pulverização foi eficiente. Essa compreensão do mecanismo de ação pode ser crucial para otimizar a aplicação prática dessa abordagem no manejo de pragas, destacando a importância do contato entre os JI e a superfície da folha para maximizar os efeitos benéficos dos NEP.



**Figura 8** – Lagartas de *Spodoptera cosmioides* mortas pelos isolados UEL 08 (A e B) e IBCB 02 (C e D) sobre as folhas de soja.

A redução na mortalidade das pupas em casa-de-vegetação quando comparadas no laboratório, pode ser explicada pela ausência de fezes e pela falta de produção de exsudados pelas plantas. Como não há consumo durante essa fase do inseto, não ocorre a produção de fezes, e a ausência de exsudados das plantas diminui a sinalização para os JI. Além disso, a planta exercer uma barreira física no momento da aplicação, conhecido como “efeito guarda-chuva” (CARVALHO, 2013), desta forma reduzindo a mortalidade, quando comparadas com os valores obtidos em condições de laboratório.

Os dados encontrados neste trabalho, sugerem que os isolados UEL 08 e IBCB 02 podem ser empregados para o controle simultâneo de larvas e pupas de *S. cosmioides*, com a perspectiva de produção de JI no inseto hospedeiro e redução do consumo da área foliar de soja. Os resultados atuais estabelecem uma fundação para a implementação da estratégia de utilização de NEP no controle efetivo de *S. cosmioides* no ambiente de cultivo.

#### 4.6 Conclusão

Os isolados avaliados foram virulentos a lagartas de *S. cosmioides*, com destaque para UEL 08, IBCB 02, IBCB 06 e IBCB 10 causando os maiores níveis de mortalidade. A concentração de JI foi fixada em 200 por inseto, e os isolados IBCB 02 e UEL 08 foram os mais eficazes na mortalidade de pupas e produção de JI. Ambos os isolados reduziram o consumo foliar em lagartas, resultando em mais de 85% de mortalidade. Concluímos que UEL 08 e IBCB 02 têm potencial para controle de lagartas e pupas de *S. cosmioides*.

#### REFERÊNCIAS

- ACHARYA, R.; HWANG, H. S.; MOSTAFIZ, M. M.; YU, Y. S.; LEE, K. Y. Susceptibility of various developmental stages of the fall armyworm, *spodoptera frugiperda*, to entomopathogenic nematodes. **Insects**, v. 11, n. 12, p. 1–13, 2020.
- ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and Systematics. *In*: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: CABI Publishing, 2002. p. 1–33.

ALMENARA, D. P.; ROSSI, C.; CAMARGO, M. R. Nematoides entomopatogênicos. *In: GUIMARAES, F.; FERNANDES, R.; LOPES, E. Tópicos Avançados em Entomologia Molecular*. [s.l.] Revista Tropic: Ciências Agrárias e Biológicas, 2012. p. 01–40.

ALONSO, A. A. A.; ROMÁN, M. N. M. **Efecto de tres concentraciones de heterorhabditis bacteriophora poinar en la mortalidad de prepupas y pupas de spodoptera frugiperda en laboratorio e invernadero**. 2018. Universidad Nacional de Trujillo, 2018.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B. Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios. *In: Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz*. Piracicaba, SP, Brasil: ESALQ, 2008. p. 171–202.

ALVES, V. S.; MOINO JUNIOR, A.; C., S.-C. L. V.; ANDALÓ, V.; SOUZA, G. C. Patogenicidade De Nematóides Entomopatogênicos a Cochonilha-Da-Pseudococcidae ) Em Laboratório. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 76, n. 1, p. 67–73, 2009.

ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JUNIOR, A. Host-seeking behavior of the Heterorhabditis amazonensis nematode in response to stimulant sources<sup>1</sup>. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 265–272, 2017.

ANDALÓ, V.; NGUYEN, K. B.; MOINO, A. Heterorhabditis amazonensis n. sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Amazonas, Brazil. **Nematology**, v. 8, n. 6, p. 853–867, 2006.

ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, C. C.; JUNIOR, A. M. Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of Spodoptera frugiperda Avaliação de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório e casa-de-vegetação visando ao. **Ciencia Rural**, v. 40, p. 1860–1866, 2010.

ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, C.; FREIRE, M.; MOINO, A. Movement of Heterorhabditis amazonensis and Steinernema arenarium in search of corn fall armyworm larvae in artificial conditions. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 3, p. 226–230, 2012.

AU, C.; DEAN, P.; REYNOLDS, S. E.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Effect of the insect pathogenic bacterium *Photorhabdus* on insect phagocytes. **Cellular Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 89–95, 2004.

BARBOSA, A.; SILVA, D.; MOREIRA DE BRITO, J. Controle biológico de insetos-pragas e suas perspectivas para o futuro. **Agropecuária Técnica**, v. 36, n. 361, p. 248–258, 2015. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/at/index>>.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Biologia comparada de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em cebola, mamona, soja e feijão. **Ciência Rural**, v. 33, p. 993–998, 2003.

BELL, W. J. **Searching Behaviour The behavioural ecology of finding resources**. London: Chapman & Hall, 1990. 358 p.

BERNARDI, O.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; C.; O. **Manejo da resistência de insetos a planta Bt**. [s.l.] PROMIP Manejo integrado de pragas, 2015. 1–45 p.

BOBROWSKI, V. L.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H.; PINTO, L. M. N.; FIUZA, L. M. Characterization of two *Bacillus thuringiensis* isolates from south Brazil and their toxicity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 25, n. 2, p. 129–135, 2002.

BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; WILSON FERNANDES, G. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Bragantia**, v. 72, n. 1, p. 61–70, 2013.

BRACHMANN, A. O.; JOYCE, S. A.; JENKE-KODAMA, H.; SCHWÄR, G.; CLARKE, D. J.; BODE, H. B. A Type II Polyketide Synthase Is Responsible for Anthraquinone Biosynthesis in *Photorhabdus Luminescens*. **Chembiochem : a European journal of chemical biology**, v. 8, n. 14, p. 1721–1728, set. 2007.

BROOKES, G. The farm level economic and environmental contribution of Intacta soybeans in South America: the first five years. **GM Crops and Food**, v. 9, n. 3, p. 140–151, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/21645698.2018.1479560>>.

BRUGIRARD-RICAUD, K.; GIVAUDAN, A.; PARKHILL, J.; BOEMARE, N.; KUNST, F.; ZUMBIHL, R.; DUCHAUD, E. Variation in the Effectors of the Type III Secretion

System among *Photorhabdus* Species as Revealed by Genomic Analysis. **Journal of bacteriology**, v. 186, n. 13, p. 4376–4381, jul. 2004.

BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. de F.; FRANÇA-NETO, J. de B.; NAIME NISHIKAWA, M. A.; FILHO, A. L. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, n. 7, p. 937–945, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.021>>.

BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; MOSCARDI, F. Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade. **Circular Técnica**, v. 79, 2010.

BUENO, A. de F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Ocorrência de *Rachiplusia* nu e *Crociosema* aporema em soja-Bt na safra 20/21 e principais orientações de manejo aos produtores para a safra 21/22. **Nota Técnica**, p. 1–6, 2021.

BUENO, A. de F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R. Inimigos naturais das pragas da soja. *In*: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja - Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. [s.l: s.n.]p. 493–629.

CÂMARA, G. M. Produção de Cana, Mandioca e Soja - INTRODUÇÃO AO AGRONEGÓCIO SOJA. **USP/ESALQ – Departamento de Produção vegetal**, v. 584, p. 1–30, 2015.

CHAPMAN, R. F. **The insects structure and function**. 5. ed. [s.l.] Cambridge University Press, 2013. 962 p.

CICHE, T. A.; KIM, K. S.; KAUFMANN-DASZCZUK, B.; NGUYEN, K. C. Q.; HALL, D. H. Cell invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 8, p. 2275–2287, 2008.

CLARKE, D. J. *Photorhabdus*: A model for the analysis of pathogenicity and mutualism. **Cellular Microbiology**, v. 10, n. 11, p. 2159–2167, 2008.

CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira 2023/2024**. [s.l: s.n.]v. 11110 p.

CONTE, O.; TEIXEIRA DE OLIVEIRA, F.; HARGER, N.; SPALDING CORRÊA-FERREIRA, B.; DA AGRICULTURA, M.; ABASTECIMENTO, P. E. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na Safra 2013/14 no Paraná Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2020.

CRUZ, I. **A LAGARTA-DO-CARTUCHO NA CULTURA DO MILHO**. [s.l: s.n.]v. 2145 p.

DE FREITAS BUENO, R. C. O.; DE FREITAS BUENO, A.; 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**, v. 67, n. 2, p. 170–174, 2011.

DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; LEITE, L. G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. **World Journal of Agricultural Research**, v. 5, p. 233–239, 2017.

DOWLING, A. J.; DABORN, P. J.; WATERFIELD, N. R.; WANG, P.; STREULI, C. H.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. The insecticidal toxin Makes caterpillars floppy (Mcf) promotes apoptosis in mammalian cells. **Cellular Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 345–353, 2004.

FARINELLI, R.; FILHO, D. F. ( Lepidoptera : Noctuidae ) em cultivares de milho. **Evaluation**, p. 197–202, 2006.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529–535, 2019.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas da agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2020. v. 7510 p.

FORST, S. .; CLARKE, D. J. Bacteria-nematode symbiosis. *In*: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 57–77.

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

920 p.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; MARRONE, P.; MORIN, L.; STEWART, A. Have biopesticides come of age? **Trends in biotechnology**, v. 30, n. 5, p. 250–258, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.003>>.

GLAZAR, I.; GALPER, S.; SHARON, E. Virulence of the nematode (Steinernematids and Heterorhabditis)-bacteria (*Xenorhabdus* spp.) complex to the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 57, n. 1, p. 94–100, 1991.

GREWAL, P. . Formulation and application technology. *In*: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**. New Jersey: CABI Publishing, 2002. p. 265–287.

GREWAL, P. S.; LEWIS, E. E.; SHAOIRO-ILAN, D. I. **Nematodes as Biocontrol Agents**. Wallingford: CABI Publishing, 2005. 505 p.

GUO, J.; WU, S.; ZHANG, F.; HUANG, C.; HE, K.; BABENDREIER, D.; WANG, Z. Prospects for microbial control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: a review. **BioControl**, v. 65, n. 6, p. 647–662, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10526-020-10031-0>>.

HOFFMAN-CAMPO, C. B.; OLIVEIRA, E. B. de; MOSCARDI, F. Criação massal da lagarta da soja. **Documentos da Embrapa Soja**, v. 10, p. 1–23, 1985.

JOYCE, S. A.; BRACHMANN, A. O.; GLAZER, I.; LANGO, L.; SCHWÄR, G.; CLARKE, D. J.; BODE, H. B. Bacterial Biosynthesis of a Multipotent Stilbene. **Angewandte Chemie (International ed. in English)**, v. 47, n. 10, p. 1942–1945, 2008.

KAYA, H. K.; HARA, a H. Susceptibility of Various Species of Lepidopterous Pupae to the Entomogenous Nematode *Neoplectana carpocapsae*. **Journal of nematology**, v. 13, n. 3, p. 291–4, 1981. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2618115&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

KENIS, M.; DU PLESSIS, H.; VAN DEN BERG, J.; BA, M. N.; GOERGEN, G.; KWADJO, K. E.; BAOUA, I.; TEFERA, T.; BUDDIE, A.; CAFÀ, G.; OFFORD, L.;

RWOMUSHANA, I.; POLASZEK, A. *Telenomus remus*, a candidate parasitoid for the biological control of *Spodoptera frugiperda* in Africa, is already present on the continent. **Insects**, v. 10, n. 4, p. 1–10, 2019.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J. F.; GAUGLER, R. A conservation approach to using entomopathogenic nematodes in turf and landscapes. *In*: P. BARBOSA. **Conservation biological control**. San Diego: CA: Academic Press, 1998. p. 235–254.

LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. Entomopathogenic nematode host finding: Response to host contact cues by cruise and ambush foragers. **Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 309–315, 1992.

LEWIS, E. E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. **Canadian Journal of Zoology**, v. 71, n. 4, p. 765–769, 1993.

LI, H.; CHEN, Z.; YU, Z. *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol. *In*: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. **Bacillus Thuringiensis and Lysinibacillus Sphaericus: Characterization and use in the Field of Biocontrol**. Cham: Academic Press Inc., 2017. p. 185–212.

LI, T. H.; DE FREITAS BUENO, A.; DESNEUX, N.; ZHANG, L.; WANG, Z.; DONG, H.; WANG, S.; ZANG, L. S. Current status of the biological control of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by egg parasitoids. **Journal of Pest Science**, v. 96, n. 4, p. 1345–1363, 2023.

LI, X.; COWLES, E. A.; COWLES, R. S.; GAUGLER, R.; COX-FOSTER, D. L. Characterization of immunosuppressive surface coat proteins from *Steinernema glaseri* that selectively kill blood cells in susceptible hosts. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 165, n. 2, p. 162–169, 2009.

LI, X. Y.; COWLES, R. S.; COWLES, E. A.; GAUGLER, R.; COX-FOSTER, D. L. Relationship between the successful infection by entomopathogenic nematodes and the host immune response. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 3–4, p. 365–374, 2007.

LUGINBILL, P. Maringá Management Utilização E Uma Visão Abrangente Do Mercado Soybean : Origin , Classification , Use and an Including Vision of Market. **Associate Entomologist**, v. 34, n. 1, p. 91, 1928.

LUZ, P. M. C.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. V.; MALAQUIAS, J. V.; FERREIRA, L. F. M.; OTANÁSIO, P. N.; DINIZ, I. R. Owllet moths (Lepidoptera: Noctuoidea) associated with bt and non-bt soybean in the Brazilian savanna. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 2, p. 248–256, 2019.

MAIZELS, R. M.; BLAXTER, M. L.; SCOTT, A. L. Immunological genomics of *Brugia malayi*: Filarial genes implicated in immune evasion and protective immunity. **Parasite Immunology**, v. 23, n. 7, p. 327–344, 2001.

MENDES, W. S.; SILVA, I. J.; FONTES, D. O.; RODRIGUEZ, N. M.; MARINHO, P. C.; SILVA, F. O.; AROUCA, C. L. C.; SILVA, F. C. O. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 207–213, 2004.

MIRANDA, J. E.; RODRIGUES, S. M. M.; ALBUQUERQUE, F. A. de; SILVA, C. A. D. da; ALMEIDA, R. P. de; RAMALHO, F. de S. Guia de Identificação de Pragas do Algodoeiro. **Embrapa**, v. 1, p. 66, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/algodao/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1026739/guia-de-identificacao-de-pragas-do-algodoeiro>>.

MOHAMED, H. O.; SHAIRRA, S. A. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes against the new invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 33, n. 1, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s41938-023-00669-0>>.

MOLINA, J. P. A.; MOINO JR., A.; CAVALCANTI, R. S. Produção in vivo de nematoides entomopatogênicos em diferentes insetos hospedeiros. **Arq. Inst. Biol.**, v. 71, n. 3, p. 347–354, 2004.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. D. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. *In*: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.;

MOSCARDI, F. **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 213–334.

NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; NEGRISOLI, S. C. R. C.; LEMOS, B. S. **Efeito de Crioprotetores na sobrevivência de Heterorhabditis sp. AL39 (Rhabditida: Heterorhabditidae) em Laboratório**. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2016. v. 39

NERI, D. K. P.; MORAES, J. C.; GAVINO, M. A. NO MANEJO DA LAGARTA-DO-CARTUCHO *Spodoptera frugiperda*. **EMBRAPA**, p. 1167–1174, 2005. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1344498/2767891/manejo-da-lagarta-do-cartucho-em-milho.pdf/a2f4a72a-9889-4c38-b88d-31e29556911d>>.

NGUYEN, K. B. Tabular Keys to species of *Steinernema* and *Heterorhabditis*. In: HUNT, D. J.; NGUYEN, K. B. **Advances in entomopathogenic nematode taxonomy and phylogeny**. 12. ed. [s.l.] Brill Leiden-Boston, 2016. p. 59–100.

NGUYEN, K. B.; GINARTE, C. M. A.; LEITE, L. G.; SANTOS, J. M. do.; HARAKAVA, R. *Steinernema brazilense* n. sp. (Rhabditida: Steinernematidae), a new entomopathogenic nematode from Mato Grosso, Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 103, n. 1, p. 8–20, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.09.004>>.

NGUYEN, K. B.; SMART, G. C. Life Cycle of *Steinernema scapterisci* Nguyen & Smart, 1990. **Journal of nematology**, v. 24, n. 1, p. 160–9, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19283218><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2619230>>.

NOCCHI, M. J. **Manejo de Spodoptera Cosmioides (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) com produtos biológicos e químico**. 2017. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2017.

ÖĞRETMEN, A.; YÜKSEL, E.; CANHILAL, R. Susceptibility of larvae of wireworms (*Agriotes* spp.) (Coleoptera: Elateridae) to some Turkish isolates of entomopathogenic nematodes under laboratory and field conditions. **Biological Control**, v. 149, n. November 2019, 2020.

ORCIAL, C. B.; HOSHINO, A. T.; PAZINI, J. de B.; BARROSO, G.; HATA, F. T. Manejo

de pragas com artrópodes. *In*: CONRADO, M.; ADENEY, M.; BUENO, F.; MIGUEL, S.; JULIANO, M.; DA SILVA, C. **BIOINSUMOS NA CULTURA DA SOJA**. [s.l.] Embrapa, 2022. p. 435–449.

OWUAMA, C. I. Entomopathogenic symbiotic bacteria, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* of nematodes. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 5, p. 505–515, 2001.

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

PARECER, S.; AHMADJIAN, V. Bacterial Associations of Bacteria, Protozoa and Animals. *In*: **Symbiosis: An Introduction to Biological Associations**. New York, New York: Oxford: Oxford University Press, 2000. p. 33–50.

POGUE, M. G. A world revision of the genus *Spodoptera* guenee (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, v. 43, n. 0065–8170, p. 202, 2002.

POINAR, G. O.; KARUNAKAR, G. K.; DAVID, H. *Heterorhabditis indicus* n. sp. (Rhabditida, Nematoda) from India: Separation of *Heterorhabditis* spp. by infective juveniles. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 15, n. 5, p. 467–472, 1992. Disponível em: <isi:A1992JQ74000013>.

POLANCZYK, R. A.; FRANKENHUYZEN, K.; PAULI, G. *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol. *In*: FIUZA, L. M.; POLANCZYK, R. A.; CRICKMORE, N. **Bacillus Thuringiensis and Lysinibacillus Sphaericus: Characterization and use in the Field of Biocontrol**. [s.l: s.n.]p. 173–184.

POMARI, A. F. **Parasitismo de *Telenomus remus* NIXON (Hymenoptera: Scelionidae) em ovos de *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) pragas de algodão, milho e soja**. 2011. Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina, 2011.

PRABOWO, H.; ADIKADARSIH, S.; DAMAIYANI, J. Mass production of the

entomopathogenic nematode, *steinernema carpocapsae* on *tenebrio molitor* and *spodoptera litura*. **Biodiversitas**, v. 20, n. 5, p. 1344–1349, 2019.

RAHATKHAH, Z.; KARIMI, J.; GHADAMYARI, M.; BRIVIO, M. F. Immune defenses of *Agriotes lineatus* larvae against entomopathogenic nematodes. **BioControl**, v. 60, n. 5, p. 641–653, 2015.

RAO, T.; JURAT-FUENTES, J. L. Advances in the use of entomopathogenic bacteria/microbial control agents (MCAs) as biopesticides in suppressing crop insect pests. *In*: BIRCH, N.; GLARE, T. **Biopesticides for sustainable agriculture**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing, 2020. p. 99–134.

RATNAKALA, B.; KALLESHWARASWAMY, C. M.; RAJKUMAR, M.; MALLIKARJUNA, H. B. Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against invasive fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in India. **Biological Control**, v. 185, n. November 2022, p. 105304, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105304>>.

RODRIGUEIRO, T. S. C.; GINARTE, C. M. A.; LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; GOULART, R. M.; GIOMETTI, F. H. C. Eficiência De *Heterorhabditis Indica* Ibcn-N05 (Rhabditida: Heterorhabditidae) No Controle De *Alphitobius Diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) Sob Comedouros De Granja Avícola. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 3, p. 279–284, 2008.

ROGGIA, S.; PASINI, A.; LOFEGO, A. C.; SISMEIRO, M. N. S.; CAMPOS, T. A.; SILVA, J. E. P.; OLIVEIRA, M. F. Soja Bt: flutuação de pragas e predadores. **Siconbiol**, v. 13, p. 1–2, 2013.

SÁENZ-APONTE, A.; CORREA-CUADROS, J. P.; RODRÍGUEZ-BOCANEGRA, M. X. Foliar application of entomopathogenic nematodes and fungi for the management of the diamond back moth in greenhouse and field. **Biological Control**, v. 142, n. November 2019, p. 104163, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104163>>.

SALVADORI, J. M. **Caracterização da patogenicidade de nematoides entomopatogênicos e de bacterias associadas para o controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae)**. 2011. Universidade Federal do Rio

Grande do Sul, 2011.

SANTOS, A. IBM SPSS como Ferramenta de Pesquisa Quantitativa. **Programa de Estudos Pós-Graduados em Administração Pontifícia Universidade Católica De São Paulo – Puc-Sp Ibm**, p. 1–5, 2018.

SANTOS, K. B. dos; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. O. J. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 903–910, 2005.

SANTOS, K. B.; NEVES, P.; MENEGUIM, A. M.; DOS SANTOS, R. B.; DOS SANTOS, W. J.; BOAS, G. V.; DUMAS, V.; MARTINS, E.; PRAÇA, L. B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 50, n. 2, p. 157–163, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.03.014>>.

SANTOS, M. S.; SANTOS, J. V. C.; SILVA, D. M.; SUTIL, W. P.; BUENO, A. F. Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda*, *S. cosmioides* e *Helicoverpa armigera* alimentando-se de soja: bases para o manejo dessas lagartas. **18ª Jornada Acadêmica da Embrapa Soja: Resumos expandidos**, v. 453, n. 2176–2937, p. 80–86, 2023.

SHIELDS, E. J. Utilizing Persistent Entomopathogenic Nematodes in a Conservation or a More Classical Biological Control Approach. *In*: CAMPOS-HERRERA, R. **Nematode Pathogenesis of Insects and Other Pests**. Neuchâtel: Springer International Publishing, 2015. p. 165–184.

SOBHY, H. M.; ABDEL-BARY, N. A.; HARRAS, F. A.; FARAGALLA, F. H.; HUSSEINEN, H. I. Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, 2020a.

SOBHY, H. M.; ABDEL-BARY, N. A.; HARRAS, F. A.; FARAGALLA, F. H.; HUSSEINEN, H. I. Efficacy of entomopathogenic nematodes against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal**

of **Biological Pest Control**, v. 30, n. 1, 2020b.

SOSA-JR, O.; HALL, D. G.; WILLIAM J. SCHROEDER. Mortality of sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) treated with entomopathogenic nematodes in field and laboratory trials. **Journal of American Society of Sugar Cane Technologists**, v. 13, p. 18–21, 1993.

STOCK, S. P.; GOODRICH-BLAIR, H. **Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance**. [s.l.] Elsevier Ltd, 2012. 373–426 p.

TEODORO, A. V.; PROCÓPIO, S. O.; BUENO, A. F.; NEGRISOLI JUNIOR, A. S.; CARVALHO, H. W. L.; NEGRISOLI, C. R. C. B.; BRITO, L. F.; GUZZO, E. C. *Spodoptera cosmioides* (Walker) e *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae): Novas Pragas de Cultivos da Região Nordeste. **Embrapa**, v. 131, p. 1–7, 2013.

TURLINGS, T. C. J.; HILTPOLD, I.; RASMANN, S. The importance of root-produced volatiles as foraging cues for entomopathogenic nematodes. **Plant and Soil**, v. 358, n. 1–2, p. 51–60, 2012.

USDA. World agricultural production. **World Agricultural Production**, p. 37, 2024.

VALICENTE, F. H.; FONSECA, M. M. Susceptibilidade da lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, A DIFERENTES ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, 2004.

VARGAS, C. C.; REDAELLI, L. R.; SANT'ANA, J.; BLASSIOLI-MORAES, M. C.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M. Influence of semiochemicals present in the scales of *Spodoptera frugiperda* on chemotactic behavior of *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 169, n. 4, p. 393–402, 2021.

VIVIANI, V. R.; SIMÕES, A.; BEVILAQUA, V. R.; GABRIEL, G. V. M.; ARNOLDI, F. G. C.; HIRANO, T. Glu311 and Arg337 Stabilize a Closed Active-Site Conformation and Provide a Critical Catalytic Base and Counteraction for Green Bioluminescence in Beetle Luciferases. **Biochemistry**, v. 55, n. 34, p. 4764–4776, ago. 2016.

VOSS, M.; ANDALÓ, V.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R.; BARBOSA-NEGRISOLI

JUNIOR, A. S. Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização de nematoides entomopatogênicos. **Embrapa Trigo**, 2009.

WATERFIELD, N.; HARES, M.; YANG, G.; DOWLING, A.; FFRENCH-CONSTANT, R. Potentiation and cellular phenotypes of the insecticidal toxin complexes of *Photorhabdus* bacteria. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 373–382, 2005.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, p. 302–303, 1927.

WOMERSLEY, H. B. . Biogeography of Australasian marine macroalgae. *In*: **Biology of Marine Plants**. Longman Cheshire, Melbourne: Clayton, M.N. y R.J. King, 1990. p. 368–381.

YAĞCI, M.; YÜCEL, C.; ERDOĞUŞ, F. D.; BENK, G.; KEPENEKCI, İ. Biological control potential of local entomopathogenic nematodes against the different stage larvae of cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 32, n. 1, 2022.

YAN, X.; SHAHID ARAIN, M.; LIN, Y.; GU, X.; ZHANG, L.; LI, J.; HAN, R. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 113, n. 1, p. 64–72, 2020.

ZAMORA, M. J. R. **Caracterización de aislados nativos de nematodos entomopatógenos y uso potencial contra *Spodoptera frugiperda***. 2019. Universidad Nacional Agraria, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.una.edu.ni/3830/1/tnh10r696a.pdf>>.

ZENKER, M. M.; SPECHT, A.; CORSEUIL, E. Immature stages of *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 1, p. 99–107, 2007.