

SELEÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS PARA CONTROLE DE PUPAS DE *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae)

Mateus Tondini Castanheira, João Victor Queroz Ribeiro, João Paulo Soares de Oliveira, Victor Humberto Ribeiro de Oliveira, Lucas Silva de Faria, Vanessa Andaló

Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, Minas Gerais
(mateus.castanheira@ufu.br).

RESUMO: A cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merr., enfrenta desafios crescentes no manejo de pragas, especialmente considerando a lagarta *Spodoptera cosmioides*. Embora a soja Bt seja eficaz contra outras pragas, a baixa eficiência da proteína Cry1Ac contra *Spodoptera* spp., combinada com a crescente resistência a inseticidas químicos, destaca a necessidade de novas estratégias. Este estudo teve como objetivo selecionar isolados de nematoides entomopatogênicos, por meio da virulência, em função da mortalidade em pupas de *S. cosmioides*. O experimento avaliou a virulência de seis populações de NEP's contra pupas de *S. cosmioides* em laboratório. As lagartas foram criadas com dieta artificial, e as pupas expostas a suspensões de NEP's. Os resultados mostraram que todos os isolados de NEP's causaram mortalidade em pupas de *S. cosmioides*, variando de 22,92% a 37,50%, significativamente superior ao grupo controle (6,25%). Embora não tenha ocorrido diferença entre os isolados testados, a mortalidade causada pelos NEP's demonstra potencial. Com base na virulência e em características biológicas, os isolados *Heterorhabditis amazonensis* MC01 e *Steinernema feltiae* foram selecionados para estudos futuros. A escolha se deu por *H. amazonensis* MC01 ser um isolado nativo, sugerindo melhor adaptação, e por *S. feltiae* exibir um comportamento de busca ativa pelo hospedeiro, característica desejada para busca de pupas, e por pertencer a gênero distinto do outro nematoide selecionado. Essa pesquisa força o valor dos NEP's como uma ferramenta promissora e ambientalmente segura no manejo integrado de pragas da soja, visando o desenvolvimento de estratégias de controle biológico mais sustentáveis para espécies desafiadoras como *S. cosmioides*.

Palavras-chave: controle biológico, Heterorhabditidae, soja.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a principal cultura agrícola do Brasil, com vasta área de cultivo e produção expressiva na safra 2023/24, gerando bilhões de dólares, e atuando como insumo essencial em diversas cadeias produtivas, como as de farelo, óleos e biodiesel (Conab, 2024; Embrapa, 2024).

Para o controle de pragas, a soja geneticamente modificada que expressa proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) tem sido uma alternativa consolidada ao controle químico (Parisi et al., 2016). No Brasil, a adoção da soja Bt com a proteína Cry1Ac, aprovada em 2010 (CTNBio, 2010), foi rápida e eficaz contra a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*) e a lagarta-falsa-medideira (*Chrysodeixis includens*) (Bernardi et al., 2016). No entanto, a proteína Cry1Ac apresenta baixa eficiência contra espécies do gênero *Spodoptera*, como *Spodoptera cosmioides* (Bernardi et al., 2014), o que têm elevado a importância das espécies de *Spodoptera* em cultivos de soja (Bernardi et al., 2014).

O manejo de *Spodoptera* spp. tem sido majoritariamente químico, mas a ocorrência de resistência entre essas espécies é um desafio crescente (Carvalho et al., 2013; Su e Sun, 2014; Saleem et al., 2016), sugerindo que a tolerância natural pode levar à evolução de populações resistentes a inseticidas (Alyokhin e Chen, 2017).

Diante disso, há grande interesse na busca por novas soluções eficazes. Os nematoides entomopatogênicos (NEP's) dos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* surgem como promissores agentes de controle biológico. Esses nematoides penetram no hospedeiro e liberam bactérias simbióticas, causando a morte por septicemia em até 48 horas. Suas vantagens incluem adaptabilidade, busca ativa por pragas, alta virulência, segurança ambiental, facilidade de multiplicação e compatibilidade com outros defensivos, tornando-os uma ferramenta valiosa no manejo de pragas (Grewal, Ehlers e Shapiro-Ilan, 2005; Leite, 2006). Com isso, tem-se como objetivo selecionar isolados de nematoides entomopatogênicos, por meio da virulência, que causem mortalidade em pupas de *S. cosmioides*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, MG (Latitude: 18°44'5''S, Longitude: 47°29'47''O; altitude média de 890 m). Os insetos da espécie *S. cosmioides* utilizados foram obtidos da criação mantida no laboratório.

Criação e manutenção de *Spodoptera cosmioides*

As lagartas foram acondicionadas em potes de 100 mL, contendo aproximadamente 2 cm³ de dieta artificial sólida e três lagartas por pote. Pequenos furos nas tampas garantiram a ventilação. A dieta, conforme Nalin et al. (1991), é composta por feijão carioquinha, germe de

trigo, levedo de cerveja, nipagin, ácido ascórbico, ácido sórbico, formol e ágar, diluídos em água. Após preparo e solidificação em câmara de fluxo laminar foi armazenada em geladeira.

As lagartas foram alimentadas com essa dieta desde o primeiro estágio larval até a fase de pupa. Na fase de pupa, as mesmas foram transferidas para placas de Petri de 9 cm de diâmetro forradas com papel filtro e, posteriormente, para gaiolas de PVC (20 cm altura x 15 cm diâmetro interno), revestidas internamente com papel sulfite para ovoposição dos adultos. Mariposas adultas receberam dieta líquida à base de açúcar, mel e ácido ascórbico embebidas em algodão. Os ovos depositados no papel sulfite foram posteriormente recortados e fixados em novas tampas de potes com dieta, reiniciando o ciclo. A manipulação das larvas foi realizada com pincéis de cerdas número 0.

Multiplicação e manutenção dos nematoides entomopatogênicos

Os NEP's provenientes do banco de entomopatógenos do Laboratório de Entomologia da UFU, foram multiplicados em larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). Juvenis infectantes (JI's) foram inoculados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) com larvas de *T. molitor* e papel filtro esterilizado, mantidas em câmara climatizada tipo B.O.D. a $25\pm 2^\circ\text{C}$. Após a mortalidade, as larvas com sintomatologia de infecção por nematoide foram transferidas para câmara seca por três a seis dias para multiplicação dos NEP. Posteriormente, as larvas foram colocadas em armadilhas de White (White, 1927) para a coleta dos JI's.

Avaliação da virulência

A virulência foi avaliada utilizando seis populações de NEP dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* contra pupas de *S.cosmioides* em condições de laboratório. A viabilidade inicial dos JI's foi confirmada pela motilidade antes da aplicação.

Em cada placa de Petri de vidro (9 cm de diâmetro) com duas folhas de papel filtro, foram dispostas 10 pupas de *S. cosmioides*. Foi aplicada uma suspensão de nematoide de 1,5 mL por placa, na concentração de 80 JI's por lagarta. Os JI's utilizados tiveram no máximo três dias de emergência e foram armazenados a $16\pm 2^\circ\text{C}$ por até cinco dias. A concentração das suspensões foi determinada com microscópio estereoscópio em placas de microtitulação de 96 poços.

Cada placa de Petri constituiu uma repetição, totalizando oito repetições por tratamento em um delineamento inteiramente casualizado. O grupo controle recebeu apenas água destilada.

As placas foram seladas com Parafilm e mantidas em B.O.D. a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 70% UR e 12h de fotoperíodo. A mortalidade foi avaliada após 96 horas. As lagartas mortas foram mantidas em câmara seca por dois dias a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e então dissecadas para confirmação da mortalidade causada pelo nematoide sob microscópio estereoscópio.

Os dados de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925). Os dados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,05$) utilizando o software estatístico Speed Stat 2.3 (CARVALHO e MENDES, 2017).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação a mortalidade de pupas de *S. cosmioides* pelos nematoides entomopatogênicos testados observou-se que não houve diferença significativa entre as espécies de nematoides pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (Tabela 1).

Tabela 1 – Mortalidade (%) de pupas de *Spodoptera cosmioides* em função da aplicação de nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório

Tratamento	Mortalidade(%)
<i>Steinernema brazilense</i>	37,50±11,18a
<i>Heterorhabditis</i> sp. MC02	33,33 ± 6,46 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. MC03	33,33 ± 10,20 a
<i>Steinernema feltiae</i>	29,17 ± 10,20 a
<i>H. amazonensis</i> MC01	27,08 ± 9,41 a
<i>Steinernema carpocapsae</i>	22,92 ± 5,10 a
Controle	6,25 ± 6,84 b
CV(%)	32,32

Nota: Médias seguidas com letras iguais não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. M ± DP (M).

Fonte:elaboradopelopróprioautor.

Dos seis isolados avaliados, todos demonstraram mortalidade a *S. cosmioides*, sendo que três isolados causaram mortalidade acima de 30%, sendo eles: *Steinernema brazilense*, 37,50%; *Heterorhabditis* sp. MC02, 33,33%; e *Heterorhabditis* sp. MC03, 33,33%.

Alguns estudos evidenciam que o estágio pupal apresenta maior resistência à ação de nematoides entomopatogênicos em relação às fases larvais, refletindo na redução da mortalidade. Kaya e Hara (1980) já evidenciaram tal diferença, observando baixa mortalidade das pupas, em contrapartida elevada mortalidade em estágio larval. Resultados com *Spodoptera frugiperda* reforçam em resultados: enquanto lagartas de 3° e 4° atingiram alta porcentagem de

mortalidade, pupas expostas a *Heterorhabditis indica* e *Steinernema carpocapsae* apresentaram redução na mortalidade (Shah et al., 2022).

Como alternativa de controle biológico para pragas agrícolas, o potencial de uso dos NEP's já foi intensamente descrito, pois reduzem a densidade de insetos e, conseqüentemente os danos (Denno *et al.*, 2008). A variação na mortalidade entre os isolados dentro das famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae justifica o estudo da patogenicidade de novos isolados (Santos *et al.*, 2011).

Considerando que não houve diferença entre os nematoides *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* serão selecionados para realização de testes subsequentes. *Heterorhabditis amazonensis* MC01 por ser uma espécie nativa, isolada no município de realização dos experimentos, com melhor adaptação as condições locais, além de ser uma espécie com boa capacidade de busca pelo hospedeiro. *Steinernema feltiae* também possui capacidade de busca pelo hospedeiro e é de gênero distinto do outro nematoide selecionado, *H. amazonensis* MC01. *Steinernema brasiliense* não foi selecionado, pois além de não ter diferido dos demais NEP's, ainda são poucos os estudos sobre seu comportamento de busca pelo hospedeiro no solo. Essa característica é importante para a realização dos testes em campo, já que o hospedeiro são pupas, não se locomovem, fazendo com que o nematoide precise se deslocar para encontrar o inseto.

4 CONCLUSÕES

Todos os nematoides testados foram patogênicos a pupas de *S. cosmioides*, não apresentando diferença estatística significativa em relação à virulência ao hospedeiro nas condições testadas. Os isolados *H. amazonensis* MC01 e *S. feltiae* foram selecionados para dar seqüência aos testes considerando o controle de pupas de *S. cosmioides*.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.

ALYOKHIN, A.; CHEN, Y. H. Adaptation to toxic hosts as a factor in the evolution of insecticide resistance. **Current Opinion in Insect Science**, v. 21, p. 33-38, 2017.

BERNARDI, O. et al. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to the Cry1Ac toxin in genetically modified soybean. **Crop Protection**, v. 62, p. 100-107, 2014.

BERNARDI, O. et al. Manejo da resistência de insetos a plantas Bt. Engenheiro Coelho: **PROMIP – Manejo Integrado de Pragas**, 2016.

CARVALHO, M. A.; MENDES, S. M. **Speed Stat 2.3: software para análise estatística de experimentos**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2017.

CARVALHO, R. A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e62268, 2013.

CONAB. Último levantamento da safra 2023/2024 estima produção de grãos em 298,41 milhões de toneladas. 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/imprensa/noticias/item/11833-ultimo-levantamento-da-safra-2023-2024-estima-producao-de-graos-em-298-41-milhoes-de-toneladas>. Acesso em: 25 out. 2024.

CTNBIO – COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA. Comunicado n. 6, de 18 de março de 2010. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, n. 53, Seção 3, p. 48, 19 mar. 2010.

DENNO, R. F. et al. Life-history patterns promote persistence of specialist natural enemies. *BioScience*, v. 58, n. 4, p. 283-292, 2008.

EMBRAPA. Soja em números (safra 2023/24). 2024. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 27 out. 2024.

GREWAL, P. S.; SELVAN, S.; GAUGLER, R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. **Journal of Thermal Biology**, v. 19, n. 4, p. 245-253, 1994.

NALIN, R. S. et al. Desenvolvimento de dieta artificial para criação massal de *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 20, n. 2, p. 355-363, 1991.

PARISI, C. et al. In the market for GM crop regulation. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 1, p. 19-21, 2016.

SALEEM, M. et al. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* from Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. **Crop Protection**, v. 79, p. 177-184, 2016.

SANTOS, V.; MOINO JUNIOR, A.; ANDALÓ, V.; MOREIRA, C. C.; OLINDA, R. A. Virulence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the control of *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1150–1158, 2011.

SHAH, M. M. et al. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes against different developmental stages of *Spodoptera frugiperda*. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 32, n. 1, p. 1-7, 2022.

SU, J.; SUN, X. High level of metaflumizone resistance and multiple insecticide resistance in field populations of *Spodoptera exigua* in Guangdong Province of China. **Crop Protection**, v. 61, p. 58-63, 2014.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, n. 1709, p. 302-303, 1927.