

SCREENING E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS ISOLADOS DA LAGARTA DO CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*)

Ulrich, Gabriela¹
Fruet, Thomas Kehrwald²

RESUMO

O presente trabalho investigou a similaridade morfofisiológica de oito diferentes tipos de fungos isolados de lagartas do cartucho coletadas em cultivo sustentável de milho, no município de Juti, MS. Os fungos foram analisados quanto à produção de esporos e características morfofisiológicas em comparação com um inóculo (*Metarhizium anisopliae*) utilizado no controle biológico. As estruturas reprodutivas foram observadas por meio da técnica de microcultivo em microscopia. Os resultados indicaram variações estatisticamente significativas na produção de esporos entre os isolados, com destaque para os fungos L12 e L21 que foram agrupados ao inóculo, e os isolados L31 e Verde que apresentaram contagem estatisticamente diferente entre si e superior ao inóculo. A análise macroscópica revelou comportamentos semelhantes entre L21, Verde e o inóculo, após serem submetidos a técnica de microcultivo verificou-se que as estruturas reprodutivas do isolado Verde foram semelhantes às descritas para o fungo inóculo. Assim conclui-se que dentre os isolados avaliados, o exemplar que apresentou características morfofisiológicas ao inóculo foi o isolado Verde.

PALAVRAS-CHAVE: Quantificação; Conídios; Controle Biológico; Microcultivo.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um importante fornecedor global de alimentos, devido à sua diversidade geográfica que facilita o cultivo de muitas culturas agrícolas (ARTUZO *et al.* 2019). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), as previsões são promissoras para a produção brasileira de grãos na safra 2022/2023, que deverá atingir um recorde de 317,6 milhões de toneladas, representando um aumento de 16,5% em relação à safra anterior (CONAB, 2023).

Por outro lado, essas produções estão constantemente ameaçadas pela presença de pragas agrícolas, cuja infestação pode resultar em significativas perdas, atingindo até 40% da produção anual. Esses eventos adversos não apenas comprometem a quantidade de colheita, mas também provocam um encarecimento dos produtos no mercado interno (CEPEA, 2019).

-
1. Gabriela Ulrich. Acadêmico de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG. gulrich@minha.fag.edu.br
 2. Thomas Kehrwald Fruet. Orientador. Doutor em Biologia Comparada, UEM. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. thomas@fag.edu.br

No Brasil, uma das principais pragas agrícolas é a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), que representa uma ameaça constante às culturas, incluindo o milho (*Zea mays*) e outras importantes (MEDEIROS, 2010).

Na agricultura e na gestão de pragas são aplicadas diversas estratégias para manter o equilíbrio nos ecossistemas e proteger as culturas. Entre essas estratégias, destacam-se o controle biológico, o uso de defensivos agrícolas, todos contemplados no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Cada uma dessas abordagens desempenha um papel fundamental na proteção das plantações e na redução dos danos causados por pragas e doenças (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

E, neste sentido, o controle biológico destaca-se como estratégia sustentável, reduzindo a dependência de agrotóxicos, equilibrando populações de pragas e seus inimigos naturais. Isso não apenas minimiza o risco de contaminação ambiental, como também elimina resíduos tóxicos, oferecendo uma opção segura para os agricultores e contribuindo para uma agricultura mais amiga do meio ambiente (EMBRAPA, 2011).

Os estudos de Filho e Rodrigues (2015) enfatizam a importância do controle biológico, um mecanismo natural essencial na regulação de populações de seres vivos por meio de inimigos naturais. Essa abordagem, promovida tanto pelo ser humano quanto de forma espontânea, busca preservar o equilíbrio ambiental, a biodiversidade e é reconhecida como sustentável na proteção das culturas agrícolas.

A eficácia do controle biológico, especialmente para pequenos produtores, é respaldada por casos de sucesso no combate a pragas específicas, sendo a utilização de esporos fúngicos, conforme indicado por Borges (2011), uma estratégia relevante. Esses esporos promovem um aumento no ambiente de microrganismos, multiplicando naturalmente os entomopatógenos e contribuindo para um controle eficiente e duradouro na gestão integrada de pragas.

Desta maneira, o presente trabalho objetivou verificar se isolados fúngicos da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) mortas por controle biológico em um cultivo de milho (*Zea mays*) sustentável, apresentam, similaridade morfofisiológica ao inóculo (*M. anisopliae*).

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

Previamente, oito diferentes linhagens de fungos foram isolados de quatro lagartas-do-cartucho (*S. frugiperda*), coletadas na cultura orgânica do milho (*Z. mays*) no

município de Juti – MS, e cedidas para o desenvolvimento desta pesquisa pelo laboratório particular Cavalca. Os isolados foram denominados com a letra inicial de lagarta (L) e a numeração de acordo com a lagarta que foi extraído o fungo, identificadas assim como os extraídos da lagarta 1: L11 e L12; da lagarta 2: L21; lagarta 3: L31; lagarta 4: L41 e L42; nas quatro lagartas pode-se obter um fungo em comum, denominados pela sua coloração: Rosa e Verde. Os isolados foram fornecidos em meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Além desses isolados, como referência, foi utilizado o inóculo de *Metarhizium anisopliae*, o qual foi utilizado no cultivo de onde as pragas foram coletadas.

O processo de ativação dos fungos consistiu no plaqueamento dos isolados em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), onde cada variedade de fungo foi replicada em dez placas de Petri em 3 pontos com distância de 5cm. As placas foram então incubadas em uma estufa (Binder), mantidas a uma temperatura de 27°C por um período de sete dias, com o intuito de promover o crescimento dos fungos. Em casos de crescimento menos expressivo, até três fragmentos de fungo foram aplicados em uma única nova placa, enquanto em situações com maior crescimento, apenas um quadrado foi utilizado.

Após o período de incubação, foram selecionadas duas placas de cada isolado, com três pontos de inoculação, para fins de quantificação. Para isso, os fungos foram coletados da superfície do meio presentes nas placas e transferidos para um tubo de fundo chato e denominado de “PURO” com 10 ml de água destilada, previamente autoclavada com Tween 80, e agitada no vortex para homogeneização. Essa etapa foi importante para garantir a completa dissolução do fungo no líquido, facilitando a análise subsequente.

Uma vez que se obteve a solução homogênea "PURO", retirou-se 1 ml da solução e adicionada a um tubo de fundo chato contendo 9 ml de Tween 80 denominado 10^{-2} , em seguida, homogeneizada a solução no agitador vortex e, posteriormente, realizada uma diluição seriada nos tubos 10^{-3} , 10^{-4} .

A análise dos conídios e a observação de suas formas foi realizada em uma câmara de *Neubauer* usando 1 ml da diluição desejada, buscando obter contagem entre 100 a 200 conídios por quadrante. Foram realizadas contagens referentes a 16 quadrantes, e a média destes foi multiplicada pelo fator de correção 10 e pela diluição utilizada para gerar a concentração (UFC/mL).

Para o procedimento de microcultivo, foram esterilizadas por autoclavagem seis placas de Petri, cada uma contendo uma lâmina, uma lamínula, papel filtro e dois palitos de dente. A lâmina foi posicionada sobre os dois palitos, e colocado um bloco de

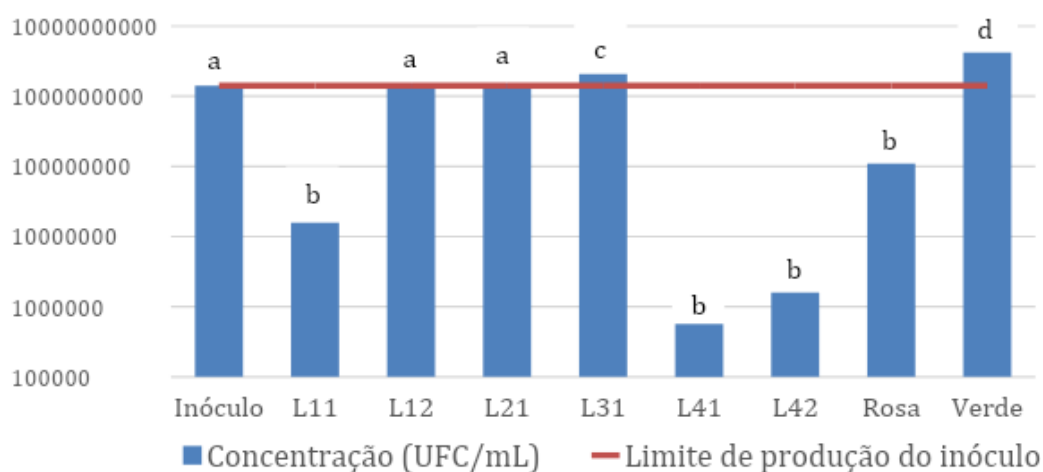
aproximadamente 1 cm² de meio BDA. Utilizando uma agulha de inoculação previamente esterilizada por flambagem, foram coletados espécimes fúngicos da superfície do meio e inseridos nas quatro laterais do bloco de BDA. Foi adicionada uma lamínula sobre o meio BDA e o papel de filtro, no fundo da placa foi embebida em água destilada estéril, e incubadas a 27°C por 7 dias. Subsequentemente, foram realizadas observações das estruturas reprodutivas por meio de micriscopia sendo este processo realizado em duplicata.

Posteriormente os dados foram tabulados e analisados estatisticamente quanto à variância (teste F – *Ordinaryone-way* ANOVA) e os valores de UFC/mL comparados com o inóculo utilizado no controle biológico da área pelo teste de Tukey, ambos a 5% de significância, utilizando o programa *Graph Pad Prism*[®], versão 4.00 para Windows (Graph Pad Software, San Diego, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos isolados de *S. frugiperda* e o isolado *M. anisopliae* tiveram suas produções de esporos quantificadas, e suas concentrações encontram-se dispostas na Figura 1, juntamente com a estatística de comparação das médias entre as produções.

Figura 1 – Contagem da produção de esporos dos fungos isolados de *S. frugiperda* e inóculo *M. anisopliae*. Letras iguais significam similaridade estatística assim como, letras diferentes significam diferença estatística para o teste de anova duas vias, post hoc teste Tukey (p<0,05).



Os isolados L12 e L21 apresentaram produção de esporos com igualdade estatística ao inóculo, enquanto os demais isolados foram estatisticamente diferentes. Usando como

referência o limite de produção de conídios do inóculo (linha vermelha figura 1), verificou-se que os isolados L11, L41, L42 e Rosa pertencem ao mesmo grupo, e possuem produção inferior e estatisticamente diferente da referência (inóculo).

Já os isolados L31 e Verde, apesar de apresentarem-se agrupados isoladamente (c e d), ambos apresentaram produção superior ao inóculo e são estatisticamente diferentes entre si e da referência (Figura 1).

A produção de esporos é uma técnica comumente utilizada para a padronização de concentrações em diversas pesquisas, como Marques *et al* (2004) que utilizou a quantificação para testar a germinação de conídios de três fungos (*Beauveria bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*) sobre interação com o óleo de nim (*Azadirachta indica*). A técnica de produção de esporos foi essencial para demonstrar que, apesar das variações na contagem da esporulação, a germinação dos conídios permaneceu inalterada, indicando o potencial de utilização conjunta de esporos dos fungos avaliados com o óleo de nim no controle biológico de insetos, sem prejudicar a eficácia do tratamento.

Já Melo e colaboradores (2007) utilizaram a quantificação para verificar o desenvolvimento dos fungos (*M. anisopliae* 959 e *B. bassiana* 986) sobre a cutícula da pulga (*Ctenocephalides felis felis*) ambos na concentração 10^8 UFC/ml. Assim como Thomazoni *et al.* (2013) aplicou a técnica para avaliar a viabilidade ao inocular 100 μ L de uma suspensão de conídios (1×10^5 UFC/mL) quanto a mortalidade da lagarta *S. frugiperda*.

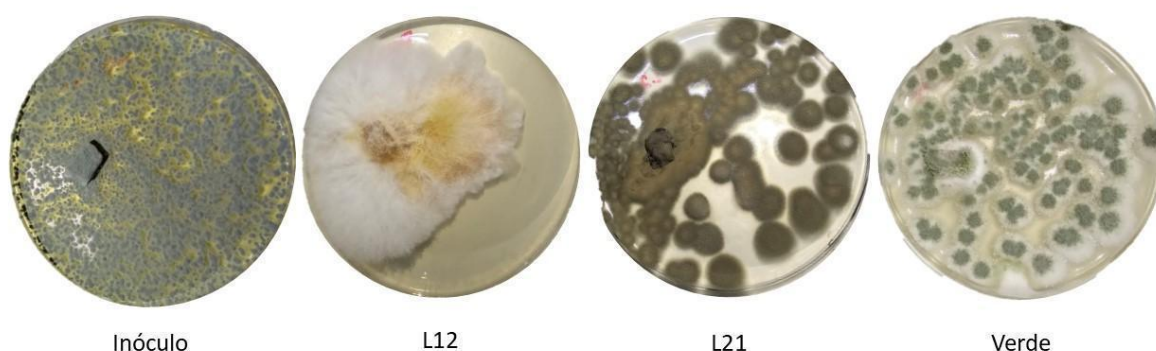
Dentro deste contexto a presente pesquisa pode usar a contagem da produção de conídios como ferramenta inicialmente exploratória para comparar e, estatisticamente, ranquear os isolados que apresentam ou não, similaridade com a referência. Assim, os isolados L12, L21, L31 e Verde se apresentaram quanto a esta variável como candidatos mais promissores à analogia ao inóculo.

A análise macroscópica do comportamento das estruturas vegetativas e reprodutivas do crescimento em placa, de todos os isolados, foram confrontadas macroscopicamente com o inóculo (*M. anisopliae*). Dentre os isolados, apenas o L21 e o Verde apresentaram estruturas vegetativas com crescimento branco seguido de micélio reprodutivo com esporulação verde, comportamento micelial este, similar ao inóculo (Figura 2). Vale salientar ainda que, estes dois isolados foram aqueles que, na avaliação de produção de esporos, apresentaram contagem estatisticamente diferentes e superior ao inóculo (Figura 1).

As estruturas vegetativas e reprodutivas também foram utilizadas por Salomão et al. (2008), como técnica para agrupar e/ou excluir, e posteriormente identificar fungos

filamentosos termorresistentes isolados durante o processamento de néctar de maçã. Para o autor, a análise macroscópica revelou características capazes de distinguir cepas como *Neosartorya fischeri*, *Byssoschlamys fulva* e *Eupenicillium* sp. A aplicação da mesma técnica no presente estudo, também permitiu verificar características macroscópicas do micélio vegetativo e reprodutivo, similares entre L21, verde e inóculo, o qual também se diferem de L12 (Figura 2).

Figura 2 – Análise macroscópica em placa dos isolados, que apresentaram contagem de esporos estatisticamente igual ou superior ao inóculo (*M. anisopliae*).



A análise macroscópica em placa auxilia na classificação dos fungos em resposta a sua fisiologia, estudos mostram que mesmas espécies adicionadas em meios de cultura nutricionalmente diferentes, altera-se a fisiologia fúngica e consequentemente seu comportamento macroscópico em placa. Dentro deste contexto, Saldanha e colaboradores (2021) cultivaram *B. bassiana*, *C. fumosorosea* e *M. anisopliae* em meios de cultura alternativos, e a observação macroscópica revelou características distintas nas colônias, como cor e textura, alterando o crescimento vegetativo e esporulação.

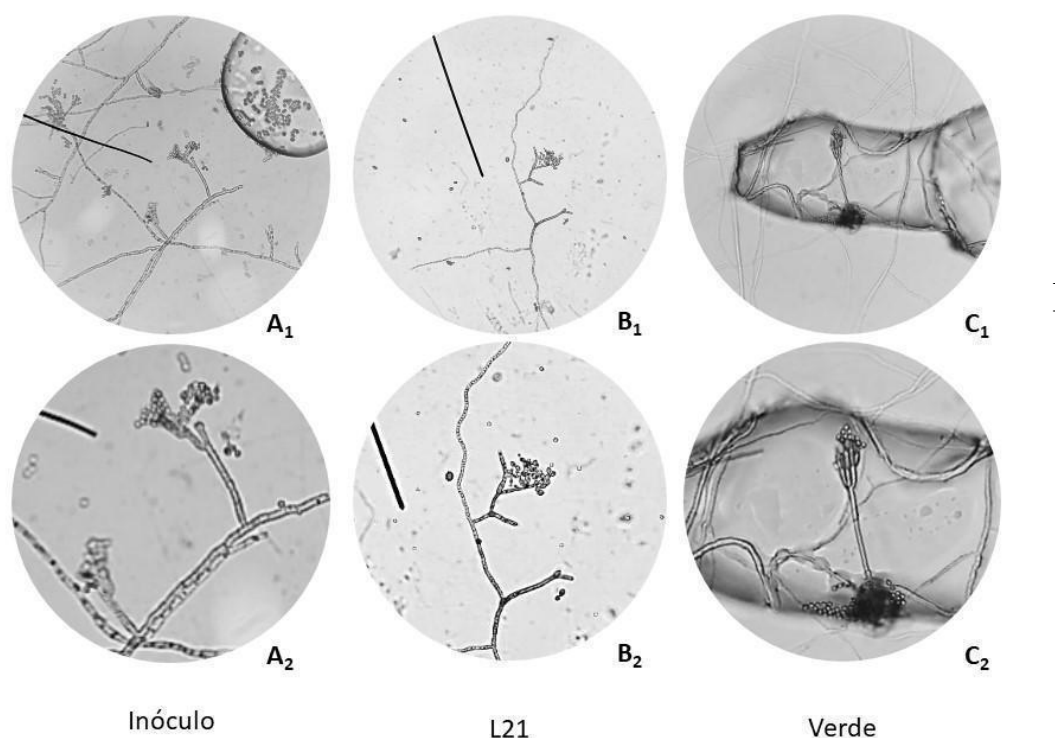
Com objetivo diferente de Saldanha e colaboradores (2021), no presente estudo buscou-se padronizar as variáveis: fonte nutricional, temperatura, tempo de crescimento e umidade, pois tal padronização facilita a diferenciação morfológica dentre os isolados de *S. frugiperda* e facilitando a busca por similaridade para com o inóculo *M. anisopliae*.

Com base nos resultados encontrados na produção de esporos e na análise macroscópica dos isolados em placa, os fungos L21, verde e o inóculo foram submetidos a técnica de microcultivo a fim de visualizar suas estruturas de reprodução, demonstradas na figura 3.

O *M. anisopliae* apresenta estruturas reprodutivas compostas por conidióforos e conídios, sendo que os conidióforos especializados e hialinos, ramificam-se para formar

fiálides, onde ocorre a mitose, gerando a produção de conídios esverdeados, inseridos basipetalmente. Estudos citológicos revelam variações nos conídios, incluindo formas cilíndricas, globosas, ovóides, elípticas, triangulares, alantoides e hialodídimas (LEÃO, 2011).

Figura 3 – Microscopia do micélio reprodutivo dos isolados L21, verde e inóculo (*M. anisopliae*) em aumento de 400X (A₁, B₁ e C₁) e aumento não determinado (A₂, B₂ e C₂).



O mesmo autor afirma ainda que, o ciclo biológico do *M. anisopliae* inicia-se com a germinação dos conídios, dando origem a tubos germinativos e formando um micélio com hifas delgadas e em determinadas regiões do micélio, surgem os conidióforos, responsáveis pela geração de conídios. A coloração dos conídios evolui de branca para esverdeada com o amadurecimento da colônia.

Tais características podem ser visualizadas na figura 2 (L21 e verde) e na imagem do microcultivo do inóculo (figura A e A1), o qual se assemelha às estruturas de reprodução do isolado verde (Figura C e C1). Leão (2011) salienta ainda que o conidióforo e os conídios são estruturas reprodutivas complexas e essenciais para compreender a biologia e o potencial de disseminação, característico do *M. anisopliae*.

Nos estudos de Jones (2017), onde se avaliou onze isolados do fungo *M. anisopliae*, para o controle biológico do carrapato bovino (*Rhipicephalus microplus*), a técnica de microcultivo foi empregada para avaliar a morfologia, também o potencial de conidiogênese e sua relação com a virulência por similaridade com o isolado *M. anisopliae* utilizado na cultura, também por técnicas macro e microscópicas.

Na pesquisa de Silva (2019), para identificar amostras fúngicas do solo após isolamento, a análise macroscópica seguida da microscópica (microcultivo) foi utilizada a fim de promover agrupamentos por similaridade e posteriormente a identificação taxonômica molecular. O isolado nativo identificado como LCM S04 (*M. anisopliae*), teve sua persistência ambiental monitorada em condições de semi-campo.

O trabalho de Silva (2019) corrobora com a sequência experimental desenvolvida na presente pesquisa, que após a aplicação das técnicas de produção de esporos, análise macroscópica em placa e microscopia do microcultivo, pode ranquear e inferir um dos oito isolados com similaridade morfofisiológica ao inóculo. Trabalhos futuros com aplicação da técnica de análise percentual de mortalidade e identificação genética das espécies isoladas podem fornecer dados importantes e conclusivos para a continuidade da pesquisa.

CONCLUSÃO

Dentre os exemplares fúngicos isolados da lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*) apenas o isolado Verde apresentou similaridade morfofisiológica com o inóculo (*M. anisopliae*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTUZO, D. F. *et al.* **O potencial produtivo brasileiro: Uma análise histórica da produção de milho.** *Revista em agronegócio e meio ambiente.* Maringá(PR), 2019.

Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/rama/article/view/5327/3421>

Acesso em: 20 de jul. 2023.

BORGES, Z. S. **Benefícios do Controle Biológico de pragas.** EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Brasília (DF), 2011. Disponível em:

<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2378422/prosa-rural---beneficios-do-controle-biologico-de-pragas#:~:text=O%20controle%20biol%C3%B3gico%20de%20pragas,busc%20por%20uma%20agricultura%20sustent%C3%A1vel>. Acesso em: 14 de nov. 2023.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **O Brasil deve produzir a maior safra histórica de grãos no ciclo 2022/2023, com 317,6 milhões de toneladas.** 2023.

Disponível em:

<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5074-brasil-deve-produzir-maior-safra-historica-de-graos-no-ciclo-2022-2023-com-317-6-milhoes-de-toneladas> Acesso em: 20 de jul. 2023.

CEPEA - CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA - ESALQ/USP. **Mensuração econômica da incidência de pragas e doenças no Brasil: uma aplicação para as culturas de soja, milho e algodão.** Piracicaba (SP), 2019. Disponível em: https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_EstudoPragaseDoencas_Parte%201.pdf Acesso em: 21 de jul. 2023.

FILHO, P. A. I.; RODRIGUES, S. A. J. **Sorgo: Controle Biológico.** EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Brasília (DF), 2015.

Disponível em:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1015627/1/Controlebiologico.pdf>

Acesso em: 22 de jul. 2023.

JONES, E. A. **Seleção de isolados de *Metarhizium* spp. para o controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*: ensaios in vitro da virulência e conidiogênese.** Dissertação (Mestrado em Ciências, Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017. Disponível em:

<https://tede.ufrj.br/bitstream/jspui/2168/2/2017%20-%20Giselle%20Arieiro%20Jones.pdf>

Acesso em: 21 de nov. 2023.

LEÃO, M. P. C. **Expressão diferencial de genes envolvidos na virulência durante a germinação, conidiogênese e patogênese em *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*.** Universidade Federal de Pernambuco centro de ciências biológicas departamento de micologia pós-graduação em biologia de fungos. Recife (PE), 2011. Disponível em:

https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/714/1/arquivo6499_1.pdf Acesso em: 19 de

nov. 2023.

MEDEIROS, A. M. **Princípios e práticas ecológicas para o manejo de insetos-praga na agricultura.** Brasília (DF), 2010. Disponível em:

<https://www.emater.df.gov.br/wp-content/uploads/2018/06/praticas-insetos-praga.pdf> Acesso em: 21 de jul. 2023.

MARQUES, P. R.; MONTEIRO, C. A.; PEREIRA, T.G. **Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*).** Ciência Rural. Santa Maria (RS), 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/RymkrNkFDcMhDCcpkFkJyLf/?format=pdf> Acesso em: 19 de nov. 2023.

MELO, D. R.; CRUZ, G. B.; REIS, R. C. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P.

DESENVOLVIMENTO DOS FUNGOS *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF, 1879) SOROKIN, 1883 E *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN, 1912 SOBRE *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835). 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/wnbQtLdt7sPy4jhT5mcQtB/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 21 de nov. 2023.

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, S. T. A. **A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente.** Porto Alegre (RS), 2009. Disponível em:

<http://www.revista.liberato.com.br/index.php/revista/article/view/142/132> Acesso em: 22 de jul. 2023.

SALDANHA, M. A.; COSTA, E. C.; MUNIZ, M. F. B.; QUEVEDO, A. C.; SARZI, J. S. **Caracterização morfofisiológica de fungos entomopatogênicos.** Acta Biológica

Catarinense. Santa Maria (RS), 2021. Disponível em:

<https://periodicos.univille.br/ABC/article/view/1705/1417> Acesso em: 19 de nov. 2023.

SALOMÃO, B. C. M.; MASSAGUER, P. R.; ARAGÃO, G. M. F. **Isolamento e seleção de fungos filamentosos termorresistentes em etapas do processo produtivo de néctar de maçã.** 2008. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cta/a/xc5NMhwsMp47VLVH6P7VyJQ/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 21 de nov. 2023.

SILVA, E. M. **Persistência Ambiental de um Isolado Nativo de Metarhizium e Eficiência no Controle de Rhipicephalus microplus em Condições de Semi-campo.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019. Disponível em:

<https://tede.ufrj.br/bitstream/jspui/5086/2/2019%20-%20Emily%20Mesquita%20da%20Silva.pdf> Acesso em: 21 de nov. 2023.

THOMAZONI, D.; FORMENTINI, M. A.; ALVEZ, L. F. A. **Patogenicidade de isolados de fungos entomopatogênicos à Spodoptera frugiperda (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).** Cascavel - PR Brasil, 2014. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/aib/a/vXVpy4N4fHzzwznVzqWmNVc/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 21 de nov. 2023.

**ANEXO A – TERMO DE COMPROMISSO DO ALUNO ORIENTADO DO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO.**

**ANEXO A – TERMO DE COMPROMISSO DO ALUNO ORIENTADO DO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO.**

Eu, Gabriela Ulrich, Carteira de identidade número 10.633.920-1, aluno regularmente matriculado no curso de graduação de Ciências Biológicas do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz – FAG, sob registro acadêmico número 202010666 declaro estar ciente das regras definidas pelo colegiado do curso de Ciências Biológicas para o processo de realização do trabalho de conclusão de curso, cumprindo, assim os créditos da disciplina: Trabalho de Conclusão de Curso.

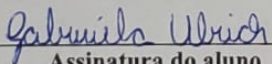
Declaro ainda que me comprometo a cumprir rigorosamente os prazos definidos para entrega das diversas etapas do trabalho, bem como a estar em todos os encontros previstos com o professor orientador.

Professor orientador: Thomas Kehrwald Fruet

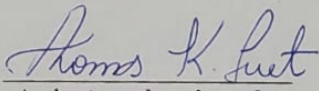
Título provisório:

*SCREENING E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS
ISOLADOS DA LAGARTA-DO-CARTUCHO (Spodoptera frugiperda) DE CULTIVO
SUSTENTÁVEL DE MILHO (Zea mays)*

Cascavel, 23 de novembro de 2023.



Assinatura do aluno



Assinatura do orientador

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

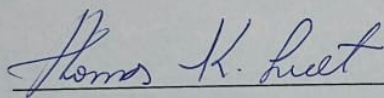
ANEXO B: SOLICITAÇÃO DE COMPOSIÇÃO DE BANCA DE DEFESA DE TCC.

**ANEXO B: SOLICITAÇÃO DE COMPOSIÇÃO DE BANCA DE DEFESA DE
TCC**

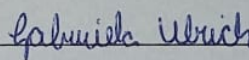
Eu, acadêmico(a) Gabriela Ulrich, juntamente com meu professor(a) orientador(a) Thomas Kehrwald Fruet, docente do curso de Ciências Biológicas, viemos por meio deste solicitar a composição da banca de defesa pública do Trabalho de Conclusão de curso intitulado *SCREENING E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS ISOLADOS DA LAGARTA-DO-CARTUCHO (Spodoptera frugiperda)* DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*), com os professores citados abaixo:

Thomas Kehrwald Fruet	Orientador
Kelen Cristiane Baratela Simm	Titular
Joselaine Viganó	Titular
Carlos Eduardo Alessio	Suplente

Cascavel, 23 de novembro de 2023.



THOMAS KEHRWALD FRUET
RG: 82.992.278/SSPPR
CPF: 063.857.589-31



GABRIELA ULRICH
RA: 202010666
RG: 10.633.920-1

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

ANEXO C – ACOMPANHAMENTO DAS ORIENTAÇÕES DE TCC.

ANEXO C – ACOMPANHAMENTO DAS ORIENTAÇÕES DE TCC

Acadêmico: Gabriela Ulrich RA: 202010666

Orientador: Thomas Kehrwald Fruct Período: 02/08 a 23/11

Data	Atividades desenvolvidas	Assinatura do aluno	Assinatura do orientador
02/08	Início da pesquisa	Gabriela	[Assinatura]
09/08	Orientação metodologia	Gabriela	[Assinatura]
15/08	Orientação metodologia	Gabriela	[Assinatura]
24/08	Orientação metodologia	Gabriela	[Assinatura]
28/08	Encaminhamento pesquisa	Gabriela	[Assinatura]
31/08	Encaminhamento pesquisa	Gabriela	[Assinatura]
06/09	Encaminhamento pesquisa	Gabriela	[Assinatura]
14/09	Orientação escrita	Gabriela	[Assinatura]
21/09	Análise dos resultados	Gabriela	[Assinatura]
28/09	Ajuste metodologia	Gabriela	[Assinatura]
05/10	Orientação escrita	Gabriela	[Assinatura]
19/10	Análise dos resultados	Gabriela	[Assinatura]
26/10	Análise resultados	Gabriela	[Assinatura]
09/11	Orientação resultados	Gabriela	[Assinatura]
16/11	Orientação resultados	Gabriela	[Assinatura]
24/11	Orientação escrita	Gabriela	[Assinatura]
23/11	Finalização	Gabriela	[Assinatura]

Assinatura do Orientador:

Thomas Kehrwald Fruct

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

ANEXO D – DECLARAÇÃO DE REVISÃO ORTOGRÁFICA E GRAMATICAL DO TCC.



ANEXO D – DECLARAÇÃO DE REVISÃO ORTOGRÁFICA E GRAMATICAL DO TCC

Eu, Andressa Almeida Federizzi, RG 8.602.701-1, CPF 081.466.429-69, e-mail profandressadb@gmail.com, telefone 45 9 99176481, declaro para os devidos fins que realizei a correção ortográfica e gramatical do artigo intitulado SCREENING E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CONÍDIOS DE FUNGOS ISOLADOS DA LAGARTA DO CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*), de autoria de Gabriela Ulrich, acadêmico(a) regularmente matriculado no Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Assis Gurgacz.

Por ser verdade, firmo o presente documento.

Cascavel, 23 de novembro de 2023.

Andressa Almeida Federizzi
Mestre em Letras/ Unioeste 2018
Registro nº 3287, livro 5, p. 60.

Gabriela Ulrich

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902

ANEXO E – DECLARAÇÃO DE INEXISTÊNCIA DE PLÁGIO.



ANEXO E – DECLARAÇÃO DE INEXISTÊNCIA DE PLÁGIO

GABRIELA ULRICH

SCREENING E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS ISOLADOS DA LAGARTA-DO-CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*)

Eu Gabriela Ulrich, aluno(a) da Graduação de Ciências Biológicas, da Faculdade Assis Gurgacz, declaro, para os devidos fins, que o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em anexo, requisito necessário à obtenção do grau de Bacharel ou Licenciado em Ciências Biológicas, encontra-se plenamente em conformidade com os critérios técnicos, acadêmicos e científicos de originalidade. Declaro ainda que, com exceção das citações diretas e indiretas claramente indicadas e referenciadas, este trabalho foi escrito por mim e portanto não contém plágio, fato este que pode ser comprovado pelo relatório do DOCXWEB que se encontra junto a este documento. Eu estou consciente que a utilização de material de terceiros incluindo uso de paráfrase sem a devida indicação das fontes será considerado plágio, e estará sujeito à processo administrativos da FAG - Faculdade Assis Gurgacz e sanções legais.

Cascavel, 23 de novembro de 2023.

THOMAS KEHRWALD FRUET

RG: 82.992.278/SSPPR
CPF: 063.857.589-31

GABRIELA ULRICH

RA: 202010666
RG: 10.633.920-1

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **avaliacao da viabilidade entre fungos entomopatoge**

Date: 22/11/2023 10:22

User: Gabriela Ulrich

Email: gabrielaulrich1@gmail.com

Revision: 1

Comments :
- If you have any doubts about the interpretation of the report, click on the 'Help' button.
- If you have received this report from another person and there is a suspicion of violation of the most sensitive information presented below, please use the search text and perform a new search on docxweb.com.
- Other information is available in the rest of the report's expandable tabs.

Authenticity with regard to INTERNET

Authenticity Calculated: **100 %**

Autenticidade em relação à INTERNET

%	Ocorrência de Links
Nenhuma equivalência encontrada.	

Texto verificado (Internet)

file:///C:/Users/PC/Downloads/avaliacao_da_viabilidade_entre_fungos_entomopatoge.html

1/2



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **avaliacao da viabilidade entre fungos entomopatoge**

Date: 22/11/2023 10:22

User: Gabriela Ulrich

Email: gabrielaulrich1@gmail.com

Revision: 1

Comments :
- If you have any doubts about the interpretation of the report, click on the 'Help' button.
- If you have received this report from another person and there is a suspicion of violation of the most sensitive information presented below, please use the search text and perform a new search on docxweb.com.
- Other information is available in the rest of the report's expandable tabs.

Authenticity with regard to INTERNET

Authenticity Calculated: **100 %**

Autenticidade em relação à INTERNET

Texto verificado (Internet)

INTRODUÇÃO

O Brasil é um importante fornecedor global de alimentos, devido à sua diversidade geográfica que facilita o cultivo de muitas culturas agrícolas (ARTUZO et al. 2019). Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento, as projeções são promissoras para a produção brasileira de grãos na safra 2022/2023, onde a mesma deverá atingir um recorde de 317,6 milhões de toneladas, representando um aumento de 16,5% em relação à safra anterior (CONAB, 2023).

file:///C:/Users/PC/Downloads/avaliacao_da_viabilidade_entre_fungos_entomopatoge.html

1/6

Por outro lado, essas produções estão constantemente ameaçadas pela presença de práticas agrícolas agrícolas, cuja infestação pode resultar em perdas significativas, atingindo até 40% da produção anual. Esses eventos adversos não apenas comprometem a quantidade de colheita, mas também provocam um encarecimento de produtos no mercado interno (CEPEA, 2019).

No Brasil, uma das principais previsões agrícolas é a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), representa uma ameaça constante às culturas, incluindo o milho (*Zea mays*) e outras importantes (MEDEIROS, 2010). E neste sentido o controle biológico destaca-se como estratégia sustentável, reduzindo a dependência de agrotóxicos, equilibrando as leis e os seus inimigos naturais. Isso não apenas minimiza o risco de contaminação ambiental, mas também elimina resíduos tóxicos, oferecendo uma opção segura para os agricultores e contribuindo para uma agricultura mais amiga do meio ambiente (EMBRAPA, 2011).

Na agricultura e na gestão de diretrizes, são diversas estratégias aplicadas para manter o equilíbrio nos ecossistemas e proteger as culturas. Entre essas estratégias, destacam-se o controle biológico, o uso de defensivos agrícolas e o Manejo Integrado de Pragas (MIP). Cada uma dessas abordagens desempenha um papel fundamental na proteção das plantações e na redução dos danos causados por pragas e doenças (RIBAS; MATSUMURA, 2009).

Os estudos de Filho e Rodrigues (2015) enfatizam a importância do controle biológico, um mecanismo natural essencial na regulação da população dos seres vivos por meio de inimigos naturais. Essa abordagem, promove a vida tanto pelo ser humano quanto de forma espontânea, buscando a preservação do equilíbrio ambiental, da biodiversidade e é reconhecida como sustentável na proteção das culturas agrícolas.

A eficácia do controle biológico, especialmente para pequenos produtores, é respaldada por casos de sucesso no combate às pragas específicas, sendo a utilização de esporos fúngicos, conforme indicado por Borges (2011), uma estratégia relevante. Esses esporos promovem um aumento no ambiente de microrganismos, multiplicando naturalmente os entomopatogênicos e contribuindo para um controle eficiente e duradouro na gestão integrada de proteção.

Destá maneira, o presente trabalho objetivou verificar se exemplares de *Spodoptera frugiperda*, coletadas de um cultivo sustentável de milho apresentam, dentre os fungos isolados, algum exemplar com similaridade morfológica e de produção de conídios com o isolado utilizado na cultura como controle biológico.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

Previamente, oito diferentes tipos de fungos foram isolados de três lagartas-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), coletadas na cultura orgânica do milho no município de Juti – MS, e cedidas para o desenvolvimento desta pesquisa.

Os isolados foram plaqueados em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), onde cada variedade de fungo foi replicada em um total de dez placas de Petri. O processo de ativação dos inóculos consistiu na aplicação de um quadrado de ágar contendo o fungo em cada placa. Em casos de crescimento menos expressivo, até três fragmentos de fungo foram aplicados em uma única nova placa, enquanto em situações com maior crescimento, apenas um quadrado foi utilizado. As placas foram então incubadas em uma estufa (binder), mantidas a uma temperatura de 27°C por um período de sete dias, com o intuito de promover o crescimento dos fungos.

Após o período de incubação, foram selecionadas duas placas de cada tipo de fungo para fins de quantificação. Para isso, foram raspados os fungos presentes nas placas e o transferimos para um tubo de fundo chato denominado de "10-1", onde adicionamos 10 ml de água destilada previamente autoclavada com Tween 80 e agitada no vortex para homogeneização. Essa etapa foi importante para garantir a completa dissolução do fungo no líquido, facilitando a análise subsequente.

Uma vez que obtivemos a solução homogênea "10-1", retiramos 1 ml da solução e o adicionamos a um tubo de fundo chato contendo 9 ml de Tween 80 denominado 10-2, em seguida, homogeneizado a solução no agitador vortex e, posteriormente, retiramos 1 ml da solução da diluição 10-2 e o transferimos para a diluição 10-3 onde contém 9 ml de Tween 80. Posteriormente, homogeneizado no agitador vortex e retirado 1 ml da diluição 10-3 e transferido para o tubo de diluição 10-4 que contém 9 ml de Tween 80.

A análise dos conídios e a observação de suas formas foi realizada, iniciando a partir da diluição 10-3 utilizando um microscópio e um contador, examinamos a amostra em uma câmara de Neubauer onde foi usado 1 ml da diluição desejada, buscando obter contagem entre 100 a 200 conídios por quadrante. Foram realizadas contagens referentes a 16 quadrantes, e a média destes foi multiplicada pelo fator de correção 10 e pela diluição utilizada para gerar o número de conídios por mL. Esse processo permitiu uma avaliação detalhada das características dos conídios de cada tipo de fungo isolado das lagartas.

Em seguida, de acordo com a morfologia em placa e com os dados de similaridade na contagem e forma dos conídios, com o inóculo utilizado no controle biológico na lavoura, os fungos foram submetidos a análise da estrutura de reprodução utilizando a técnica de microcultivo.

Para o procedimento de microcultivo, foram esterilizadas por autoclavagem seis placas de Petri, cada uma contendo uma lâmina, uma laminula, papel de filtro e dois palitos de dente. A lâmina foi posicionada sobre os dois palitos, sobre a qual foi colocado um bloco de aproximadamente 1 cm² de meio BDA. Utilizando uma agulha de inoculação previamente esterilizada por flambagem, foram coletados espécimes fúngicos da superfície e inseridos nos quatro cantos do bloco de BDA. Posteriormente, foi adicionada uma laminula sobre o meio BDA e o papel de filtro, no fundo da placa foi embebida em água destilada.

Os fungos observados compreendiam o VERDE, o INÓCULO e o L21. Este processo foi conduzido em duplicata. As placas contendo os cultivos fúngicos foram então mantidas em uma estufa Binder a uma temperatura controlada de 25°C por um período de 5 dias. Subsequentemente, foram realizadas observações das estruturas reprodutivas por meio de um microscópio. Posteriormente os dados foram tabulados e analisados estatisticamente quanto à variância (teste F – Ordinary one-way ANOVA) e os valores de UFC/mL comparados com o inóculo utilizado no controle biológico da área pelo teste de Dunnett's, ambos a 5% de significância, utilizando o programa Graph Pad Prism®, versão 4.00 para Windows (Graph Pad Software, San Diego, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fungos isolados de S. frugiperda e o isolado M. anisopliae tiveram suas produções esporos quantificadas, e suas concentrações encontram-se dispostas na Figura 1, juntamente com a estatística de comparação das médias entre as produções.

Os isolados L12 e L21 apresentaram produção de esporos com igualdade estatística ao inóculo, enquanto os demais isolados apresentaram diferença estatística. Usando como referência o limite de produção de conídios do inóculo verificou-se que os isolados L11, L41, L42 e Rosa pertencem ao mesmo grupo, e possuem produção inferior e estatisticamente diferente da referência (inóculo). Já os isolados L31 e Verde apesar de apresentarem-se agrupados isoladamente (c e d) ambos apresentaram produção superior ao inóculo e são estatisticamente diferentes entre si e da referência (Figura 1).

A produção de esporos é uma técnica comumente utilizada para a padronização de concentrações em diversas pesquisas, como Marques et al (2004) que utilizou a quantificação para testar a germinação de conídios de três fungos (*Beauveria bassiana*, *M. anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*) sobre interação com o óleo de nim (*Azadirachta indica*). A técnica de produção de esporos foi essencial para demonstrar que, apesar das variações na contagem da esporulação, a germinação dos conídios permaneceu inalterada, indicando o potencial de utilização conjunta de esporos dos fungos avaliados com o óleo de nim no controle biológico de insetos, sem prejudicar a eficácia do tratamento.

Já Melo e colaboradores (2007) utilizaram a quantificação para verificar o desenvolvimento dos fungos (*M. anisopliae* 959 e *B. bassiana* 986) sobre a cutícula da pulga (*Ctenocephalides felis felis*) ambos na concentração 108 conídios/mL. Assim como Thomazoni et al. (2013) aplicou a técnica para avaliar a viabilidade ao inocular 100 µL de uma suspensão de conídios (1 x 105 conídios/mL) quanto a mortalidade da lagarta *S. frugiperda*.

Dentro deste contexto a presente pesquisa pode usar a contagem da produção de conídios como ferramenta inicialmente exploratória para comparar, e estatisticamente ranquear os isolados que apresentam ou não, similaridade com a referência. Assim os isolados L12, L21, L31 e Verde se apresentaram quanto a esta variável, como candidatos mais promissores à atividade

entomopatogênica análoga ao inóculo.

A análise macroscópica do comportamento das estruturas vegetativas e reprodutivas do crescimento em placa, de todos os isolados, foram confrontadas macroscopicamente com o inóculo (*M. anisopliae*). Dentre os isolados, apenas o L21 e o Verde apresentaram estruturas vegetativas com crescimento branco seguido de micélio reprodutivo com esporulação verde, comportamento micelial este, similar ao inóculo (Figura 2). Vale salientar ainda que, estes dois isolados foram aqueles que na avaliação de produção de esporos, apresentaram contagem estatisticamente diferentes e superior ao inóculo (Figura 1).

As estruturas vegetativas e reprodutivas também foram utilizadas como técnica para agrupar e/ou excluir, e posteriormente identificar fungos filamentosos termoresistentes isolados durante o processamento de néctar de maçã por Salomão et al. (2008).

Para o autor, a análise macroscópica revelou características capazes de distinguir cepas como *Neosartorya fischeri*, *Byssoschlamys fulva* e *Eupenicillium* sp. A aplicação da mesma técnica no presente estudo, também permitiu verificar características macroscópicas do micélio vegetativo e reprodutivo, similares entre L21, verde e inóculo, o qual também se diferem de L12 (Figura 2).

A análise macroscópica em placa além de auxiliar na classificação dos fungos em resposta a sua fisiologia, estudos mostram que quando os mesmos exemplares são adicionados em meios de cultura diferentes, a alteração fisiológica do isolado passa a ser percebida nas respostas macroscópicas que ele apresenta em placa. Dentro deste contexto, Saldanha e colaboradores (2021) cultivaram *B. bassiana*, *C. fumosorosea* e *M. anisopliae* em meios de cultura alternativos, observação macroscópica revelou características distintas nas colônias, como cor e textura, alterando o crescimento vegetativo e esporulação, fornecendo informações sobre o comportamento dos isolados.

Com objetivo diferente de Saldanha e colaboradores (2021), o presente estudo buscou-se padronizar as variáveis: fonte nutricional, temperatura, tempo de crescimento e umidade, pois tal padronização facilita a diferenciação morfológica dentre os isolados de *S. frugiperda* e busca a similaridade para com o inóculo *M. anisopliae*. Com base nos resultados encontrados na produção de esporos e na análise macroscópica dos isolados em placa, os fungos L21, verde e o inóculo foram submetidos a técnica de microcultivo a fim de visualizar suas estruturas de reprodução, demonstradas na figura 3.

O *M. anisopliae* apresenta estruturas reprodutivas compostas por conidióforos e conídios, sendo que os conidióforos especializados e hialinos, ramificam-se para formar fiáides, onde ocorre a mitose, gerando a produção de conídios esverdeados, inseridos basipetalmente. Estudos citológicos revelam variações nos conídios, incluindo formas cilíndricas, globosas, ovóides, elípticas, triangulares, alantoides e hialodidimas (LEÃO, 2011).

O mesmo autor afirma ainda que o ciclo biológico do *M. anisopliae* inicia-se com a germinação dos conídios, dando origem a

tubos germinativos e formando um micélio com hifas delgadas e em determinadas regiões do micélio, surgem os conidióforos, responsáveis pela geração de conídios. A coloração dos conídios evolui de branca para esverdeada com o amadurecimento da colônia.

Tais características podem ser visualizadas na figura 2 (L21 e verde) e também na imagem do microcultivo do inóculo (figura A e A1) o qual se assemelha às estruturas de reprodução do isolado verde (Figura C e C1). Leão (2011) salienta ainda que o conidióforo e os conídios são estruturas reprodutivas complexas e essenciais para compreender a biologia e o potencial de disseminação, característico do *M. anisopliae*.

Nos estudos de Jones (2017), onde se avaliou onze isolados do fungo *M. anisopliae*, para o controle biológico do carrapato bovino (*Rhipicephalus microplus*), a técnica de microcultivo foi empregada para avaliar a morfologia e também o potencial de conidiogênese e sua relação com a virulência.

Assim como na pesquisa de Silva (2019), que para identificar amostras fúngicas do solo, após isolamento utilizou uma análise macroscópica seguida da microscópica (microcultivo) a fim de promover agrupamentos por similaridade e posteriormente a identificação taxonômica molecular. O isolado nativo identificado como LCM S04 (*M. anisopliae*), teve sua persistência ambiental monitorada em condições de semi-campo. O trabalho de Silva (2019) corrobora com a sequência experimental desenvolvida na presente pesquisa, que buscou pelo isolamento dos fungos presentes em lagartas do cartucho de uma cultura de milho sustentável e identificação.

por similaridade com o isolado *M. anisopliae* utilizado na cultura, também por técnicas macro e microscópicas.

CONCLUSÃO/CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em síntese, o trabalho foi desenvolvido para avaliar, a similaridade morfológica entre os fungos isolados da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e o inóculo *M. anisopliae*, em que seu objetivo foi alcançado de maneira esclarecedora. Os resultados destacaram semelhanças visuais notáveis nas estruturas reprodutivas, tanto na análise macroscópica em placas de cultura quanto na observação microscópica por meio da técnica de microcultivo. A análise quantitativa dos conídios reforçou a equivalência morfológica, fornecendo uma compreensão detalhada das características dessas estruturas.

Links por Ocorrência (Internet)

[Relatório DOCxWEB](#)[DOCXWEB.COM](#)[Ajuda](#)[Relatório DOCxWEB](#)[DOCXWEB.COM](#)[Ajuda](#)

Title: **avaliacao da viabilidade entre fungos entomopatoge**

Date: 22/11/2023 10:22

User: Gabriela Ulrich

Email: gabrielaulrich1@gmail.com

Revision: 1

Comments :

- If you have any doubts about the interpretation of the report, click on the 'Help' button.
- If you have received this report from another person and there is a suspicion of violation of the most sensitive information presented below, please use the search text and perform a new search on docxweb.com.
- Other information is available in the rest of the report's expandable tabs.

Authenticity with regard to INTERNET

Authenticity Calculated: **100 %**

Autenticidade em relação à INTERNET

Texto verificado (Internet)

Links por Ocorrência (Internet)

Nenhuma equivalência encontrada.

ANEXO F – AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA DEFESA.



ANEXO F – AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA DEFESA

Eu, Professor (a) Thomas Kehrwald Fruet, docente do curso de Ciências Biológicas, orientador da acadêmica Gabriela Ulrich, na elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: *SCREENING E AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPOROS DE FUNGOS ISOLADOS DA LAGARTA-DO-CARTUCHO (Spodoptera frugiperda) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (Zea mays)* declaro estar de acordo com o envio do trabalho sob minha orientação para avaliação da banca e defesa pública.

Cascavel, 23 de novembro de 2023.

THOMAS KEHRWALD FRUET

RG: 82.992.278/SSPPR

CPF: 063.857.589-31

Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG

Avenida das Torres, 500 – Loteamento Fag
Cep: 85806-095 Cascavel – Pr
Telefone: (45) 3321-3900 Fax: (45) 3321-3902