

ANTAGONISMO DE ISOLADOS FUNGICOS DA LAGARTA DO CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) EM CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*)

LORENZONI, Andressa L.¹

FRUET, Thomas K.²

RESUMO

Este estudo investigou as interações entre fungos entomopatogênicos e saprofíticos isolados da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), uma praga significativa na cultura do milho. O objetivo foi avaliar a capacidade de inibição mútua desses fungos em condições controladas. Para tanto, utilizou-se o inóculo de *Metharhizium anisopliae* e oito isolados provenientes da lagarta-do-cartucho. Foram conduzidos testes de antagonismo em placas de Petri, em cultura pareada. Os resultados revelaram variações significativas na capacidade de inibição entre os fungos testados e diferentes interações antagônicas. A análise das interações competitivas entre os fungos revelou uma diversidade significativa nos tipos de antagonismos observados, sendo que o antagonismo do tipo CA1, crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista após o deadlock inicial com contato micelial, foi o mais prevalente, indicando estratégias de inibição entre os fungos analisados. Destacam-se o inóculo de *M. anisopliae* e o isolado Verde como as maiores porcentagens de inibição, tornando o isolado Verde um potencial promissor para a aplicação desses isolados como agentes de controle biológico.

PALAVRAS-CHAVE: Controle Biológico; Cultura Pareada; Entomopatogênicos.

INTRODUÇÃO

A agricultura é um dos setores da economia com significativa participação no mercado, antes caracterizada por cultivos únicos, passando por uma transformação significativa, expandindo-se para uma ampla diversificação de produções atualmente (RONCON, 2011).

O milho (*Zea mays*), encontra-se entre os principais cereais cultivados em todo o mundo, presente na alimentação humana, animal e na indústria (PINHEIRO, *et al.*, 2021). O cultivo do cereal é uma atividade em que os pequenos e médios agricultores predominam assim, com a crescente demanda e com o consumidor mais exigente, várias empresas do setor desenvolveram diversas cultivares com mais números de grãos, maiores espigas e maior tolerância às pragas e doenças, para consequentemente, aumentar a produção (FILHO, 2002).

Ainda assim, as plantas de milho podem ser atacadas por pragas desde a germinação das sementes e emergência das plantas até a fase de maturação fisiológica dos grãos (ÁVILA, 2015). Segundo Filho e colaboradores (2016), algumas destas pragas afetam tanto a parte aérea

¹Andressa Letícia Lorenzoi, Acadêmica de graduação de Ciências Biológicas, licenciatura do centro universitário FAG. alorenzoni@minha.fag.edu.br

² Thomas ²Kehrwald Fruet. Orientador. Doutor em Biologia Comparada, UEM. Docente do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário FAG. thomas@fag.edu.br

quanto a parte subterrânea das plantas, tornando seus danos mais difíceis de serem identificados, além disso, algumas pragas podem transmitir doenças às plantas.

A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), é uma praga de destaque na cultura do milho, capaz de reduzir a produção em até 34 a 52%. Seu ciclo de vida é de 30 dias em laboratório e a uma única fêmea pode depositar entre 1.500 a 2.000 ovos em toda sua vida, demonstrando seu potencial danoso. As larvas apresentam cabeça preta e corpo claro ao eclodir e escurecem após 3 dias, podendo atingir um comprimento de 35 mm (VALICENTE, 2015).

Segundo Moreira e Aragão (2009), inicialmente, as larvas raspam a superfície foliar, deixando uma membrana translúcida, à medida que crescem, elas se alojam no cartucho do milho, onde consomem folhas novas e a parte apical do colmo, evidenciando seu ataque por folhas recortadas e detritos no cartucho. Ademais, podem atacar as plântulas desde a fase inicial da lavoura, resultando em murcha, tombamento e morte, o que pode reduzir significativamente o estande da cultura.

No Brasil, o ataque de pragas é mais severo por conta das condições climáticas de um país tropical, com temperaturas mais altas e ambiente mais úmidos, onde o controle de pragas pode ser feito de forma cultural, química ou biológica (BRASIL, 2020). Nesse contexto, o controle químico é o método mais utilizado para proteger as plantações de danos causados por insetos, neste utiliza-se os inseticidas químicos a fim de controlar, repelir e prevenir insetos que prejudicam economicamente diversas plantas cultivadas. Como consequência, afeta negativamente outros organismos que desempenham papéis importantes, como a reciclagem de nutrientes do solo, a polinização das culturas e a alimentação de espécies de pragas (OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Já o controle biológico é a regulação de populações de organismos vivos através de inimigos naturais com objetivo de controlar as pragas agrícolas, podendo ser com insetos benéficos, tais como predadores e parasitoides, ou microrganismos como fungos, vírus e bactérias, específicos para controlar as pragas-alvo (EMBRAPA, 2006).

Fungos entomopatogênicos são microrganismos que causam doenças aos insetos e ácaros-praga, levando-os à morte (PICANÇO, 2010). Eles penetram na cutícula dos insetos, se multiplicam e causam a morte por destruição dos tecidos. Esses fungos emergem do corpo dos insetos mortos, liberando esporos para disseminação, resultando em alta mortalidade de insetos. Os insetos infectados param de se alimentar, movem-se lentamente e ficam presos em folhas ou galhos antes de morrer. Após a infecção, sua coloração pode mudar para creme, verde, avermelhada ou marrom, devido ao crescimento do fungo (VALICENTE, 2009).

Entretanto, sabe-se que os microrganismos não estão isolados no meio ambiente, e sim realizando diferentes tipos de interações ecológicas inter e intraespecíficas. Assim, o estudo das interações entre microrganismos desempenha um papel essencial na compreensão dos fatores que governam a coexistência entre espécies e sua atividade biológica. Essas interações são classificadas com base em seus efeitos, podendo ser benéficos ou prejudiciais para as populações envolvidas. Na competição microbiana, a aquisição de recursos nutricionais destaca-se como um ponto crítico, onde algumas populações microbianas podem obter nutrientes essenciais ao secretar enzimas que induzem a lise e digestão de células pertencentes a outras populações, justificando suas atividades biológicas (CAVALCANTE, *et al.*, 2017).

Desse modo, com o aumento significativo das infestações de pragas nas atividades agrícolas e a crescente demanda por métodos de controle que minimizem o impacto ambiental, torna-se necessário conduzir pesquisas para entender como interações microbianas desempenham um papel benéfico para a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas.

Nesse ínterim, o objetivo deste trabalho foi explorar as interações antagônicas dos fungos isolados da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) de um cultivo de milho (*Zea mays*) sustentável, e comparar com o inóculo (*Metharhizium anisopliae*) utilizado no controle biológico desta cultura, a fim de pôr similaridade de interação, buscar novos isolados e/ou confirmar a eficiência do controle realizado.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

Foram utilizadas oito linhagens de fungos isolados de lagartas *Spodoptera frugiperda*, coletadas de uma cultura de milho sustentável, no município de Juti-MS e cedidas para o desenvolvimento desta pesquisa pelo produtor. Tais isolados foram fornecidos em meio Batata Dextrose Ágar (BDA) e foram denominados com a letra inicial de lagarta (L) e a numeração de acordo com a lagarta que foi extraído o fungo. Assim, identificadas como L11 e L12 os extraídos da lagarta um; L21 da lagarta dois; L31 da lagarta três; L41 e L42 da lagarta quarto. Nas quatro lagartas pode-se obter dois fungos em comum, denominados pela sua coloração: Rosa e Verde. Além desses isolados, como referência, foi utilizado o inóculo de *Metarhizium anisopliae*, o qual foi utilizado no cultivo de onde as pragas foram coletadas.

Cada linhagem de fungo foi ativada em placas de Petri, inoculadas em três pontos com distâncias de 5 cm entre eles em meio BDA, acondicionadas em estufa Binder a temperatura de 27°C por sete dias.

As interações competitivas entre os fungos isolados foram avaliadas em experimentos de cultura dupla em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro), contendo BDA sendo que em cada placa, dois discos miceliais de isolados diferentes foram inoculados na superfície do ágar com 6 cm de distância entre si,

Para o controle negativo, foi inoculado somente um disco do fungo em um polo da placa. Imediatamente, após a inoculação, as placas foram seladas com plástico filme e incubadas em estufa Binder a 27°C por 7 dias, totalizando 108 placas de pareamentos. Os testes foram realizados em triplicata.

As interações competitivas entre os organismos foram avaliadas com base na escala de Badalyan e colaboradores (2002) e a área do crescimento fúngico foi quantificado utilizando o software ImageJ® 1.46r. Para calcular o índice de inibição, foi aplicado o cálculo: $Im\%: 100 - (MT/MC) \times 100$, onde Im%: Índice de inibição em porcentagem do crescimento micelial, MT: Média da área da triplicata aferida para o tratamento em cm² e MC: Média da área da triplicata do controle em cm².

A média da porcentagem de inibição de cada isolado foi comparada com o inóculo pelo teste de Tukey (5% de significância) utilizando o programa *Graph Pad Prism*®, versão 4.00 para Windows (Graph Pad Software, San Diego, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de avaliar a capacidade de inibição entre os fungos isolados de *S. frugiperda*, após morte inferida pelo controle biológico de *M. anisopliae* em cultura de milho sustentável, os isolados fungicos, assim como o inóculo (*M. anisopliae*) foram submetidos ao teste de antagonismo, e a porcentagem de inibição de cada interação encontra-se descrito na Tabela 1. Verificou-se que todos os fungos testados apresentaram seu crescimento influenciado em algum grau de porcentagem quando presente em contato com pelo menos dois de seus antagonistas.

Dentro da abordagem sustentável de cultivo, o controle biológico de doenças em plantas, consiste na redução da densidade de patógenos e atividades determinantes da doença, destacando-se a importância dos microrganismos antagonistas, que por definição refere-se a agentes biológicos que têm capacidade de interferir de forma intra ou interespecíficas (MICHEREFF, 2001).

Microrganismos têm a capacidade de interagir uns com os outros, criando ambientes desfavoráveis para o desenvolvimento de outros microrganismos por meio da produção de me-

Tabela 1 – Teste de antagonismo dos isolados de *S. frugiperda* e do inóculo *M. anisopliae*.

Fungo testado: Inóculo Média do Inóculo (cm ²) 70,44			Fungo testado: L21 Média do L21 (cm ²) 49,88			Fungo testado: L42 Média do L42 (cm ²) 60,98		
Fungo antagonista	Crescimento micelial Inóculo	Im %	Fungo antagonista	Crescimento micelial L21	Im %	Fungo antagonista	Crescimento micelial L42	Im %
L11	61,90	12,1	Inóculo	0,99	98,0	Inóculo	2,8	95,4
L12	69,93	0,7	L11	45,35	9,1	L11	60,98	0,0
L21	70,00	0,6	L12	49,88	0,0	L12	38,41	37,0
L31	47,50	32,6	L31	25,95	48,0	L21	10,13	83,4
L41	70,44	0,0	L41	46,83	6,1	L31	16,79	72,5
L42	68,09	3,3	L42	49,88	0,0	L41	46,72	23,4
Rosa	60,29	14,4	Rosa	41,69	16,4	Rosa	33,19	45,6
Verde	50,98	27,6	Verde	1,04	97,9	Verde	60,98	0,0

Fungo testado: L11 Média do L11 (cm ²) 2,9			Fungo testado: L31 Média do L31 (cm ²) 73,48			Fungo testado: Rosa Média do Rosa (cm ²) 40,62		
Fungo antagonista	Crescimento micelial IL11	Im %	Fungo antagonista	Crescimento micelial L31	Im %	Fungo antagonista	Crescimento micelial Rosa	Im %
Inóculo	0,72	75,2	Inóculo	22,01	70,0	Inóculo	8,7	78,6
L12	2,10	27,6	L11	69,36	5,6	L11	40,62	0,0
L21	1,74	40,0	L12	52,92	28,0	L12	35,94	11,5
L31	0,39	86,6	L21	41,29	43,8	L21	15,72	61,3
L41	1,44	50,3	L41	62,61	14,8	L31	28,3	30,3
L42	1,37	52,8	L42	54,82	25,4	L41	38,58	5,0
Rosa	0,86	70,3	Rosa	42,54	42,1	L42	33,19	18,3
Verde	0,64	77,9	Verde	17,13	76,7	Verde	3,55	91,3

Fungo testado: L12 Média do L12 (cm ²) 38,55			Fungo testado: L41 Média do L41 (cm ²) 37,79			Fungo testado: Verde Média do Verde (cm ²) 61,57		
Fungo antagonista	Crescimento micelial L12	Im %	Fungo antagonista	Crescimento micelial L41	Im %	Fungo antagonista	Crescimento micelial Verde	Im %
Inóculo	1,45	96,2	Inóculo	0,82	97,8	Inóculo	17,07	72,3
L11	37,99	1,5	L11	37,79	0,0	L11	61,57	0,0
L21	13,53	64,9	L12	29,15	22,9	L12	61,57	0,0
L31	19,2	50,2	L21	10,25	72,9	L21	61,57	0,0
L41	34,04	11,7	L31	6,19	83,6	L31	53,51	13,1
L42	27,49	28,7	L42	16,8	55,5	L41	61,57	0,0
Rosa	25,86	32,9	Rosa	30,97	18,0	L42	61,57	0,0
Verde	3,23	91,6	Verde	3,81	89,9	Rosa	61,57	0,0

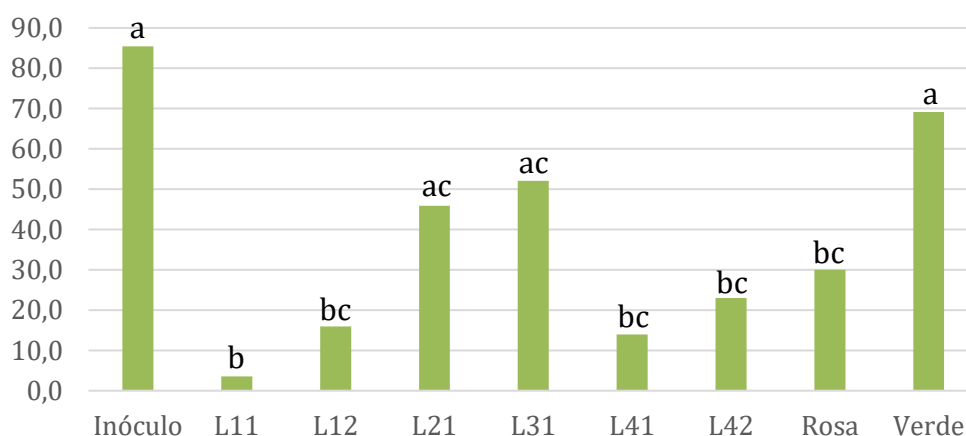
Im%: porcentagem de inibição do fungo antagonista sobre o fungo testado; Crescimento micelial medido em cm²; inóculo *M. anisopliae*.

tabólitos tóxicos, os quais possuem habilidade de inibir ou prejudicar o crescimento de outros (GABARDO, *et al.* 2020). Para o mesmo autor, a geração de metabólitos pode resultar na quebra completa da estrutura celular do alvo, e esse efeito pode ocorrer sem a necessidade de contato físico direto entre os microrganismos.

A média da porcentagem de inibição dos dados da tabela 1 encontra-se ilustrada na figura 1 assim, dentre os fungos avaliados, foi possível agrupar estatisticamente ao inóculo (85,4% de inibição) o isolado Verde (69,1%), que apresentou maior média da capacidade inibitória frente aos demais fungos testados.

Certos fungos têm a capacidade de inibir o desenvolvimento de outros, estabelecendo uma dinâmica competitiva no ambiente, sendo por recursos como nutrientes e espaço (NASSER, *et al.*, 2003). Para otimizar a eficácia de microrganismos na agricultura, é vantajoso realizar uma pré-seleção das espécies a serem utilizadas, e a preferência recai sobre aquelas que demonstram maior competitividade, apresentando habilidade satisfatória em inibi-las (FÉLIX, 2019), assim infere-se que o isolado Verde possui maior probabilidade de ter obtido sucesso na colonização e desenvolvimento nas lagartas do cartucho, sendo, portanto, promissor às pesquisas futuras.

Figura 1 – Média da porcentagem de inibição entre os fungos isolados de *S. frugiperda* mais o 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 ($p < 0,05$).



Fonte: A autora.

Ao analisar as interações que ocorreram no teste de antagonismo, constatou-se que todos os isolados testados manifestaram a interação do tipo “CA1” com pelo menos um dos seus antagonistas. Quando analisadas os tipos de interações antagônicas agrupadas estatisticamente, foi verificado que o inóculo e o isolado Verde apresentaram todas (100%) das interações

antagônicas do tipo CA1 (crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista, após *deadlock* inicial com contato micelial), (Figura 2).

O antagonismo que maior apresenta relevância ao nível dos fungos é ocorre quando o contato entre os micélios de duas espécies, resultando em alterações morfológicas nos fungos interativos, que visam aumentar a resistência à penetração do micélio do fungo invasor ou permitir o crescimento micelial sobre ou através da colônia fúngica oponente. O micélio formado pode ser de várias formas: denso, no qual age como uma “barreira” contra a invasão, pode haver a criação de um micélio “invasivo” com várias frentes de crescimento; pode haver a formação de um micélio com crescimento aéreo e ou ainda a criação de cordões miceliais com estruturas rizomórficas (BAPTISTA, *et al.*, 2011). Dentro deste contexto, pode-se inferir que, a similaridade estatística baseada na porcentagem de inibição descrita anteriormente, se deva ao tipo de interação mais agressiva e eficiente em uma competição microbiana fúngica (CA1), o qual o isolado Verde se equivaleu ao inóculo.

Figura 2 – Tipo de interação CA1 (crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista após *deadlock* inicial com contato micelial) apresentada entre Inóculo /Verde e seus oponentes.



Fonte: A autora.

Um segundo grupo (estatisticamente definido como ac) com maior potencial inibitório dentre as interações testadas, é formado pelo isolado L31 e L21, que apresentam porcentagens de inibição de 52,1% e 45,9% respectivamente (Figura 1).

Além do isolado L31 e L21 apresentar a interação do tipo CA1, o fungo L21 também apresentou a interação do Tipo B ("deadlock" a distância) com 40% de inibição sobre o fungo L11 (Tabela 1). Este tipo de inibição do crescimento do fungo adversário é comumente associado à liberação de compostos voláteis e/ou difusíveis, sendo que as reações observadas nesse tipo de antagonismo variam amplamente, dependendo da combinação específica de espécies fúngicas envolvidas. Nesse sentido, as respostas mais evidentes incluem a destruição e vacuolização das hifas ou a substituição delas pelo micélio da espécie invasora (BAPTISTA, *et al.*, 2011).

Apesar da interação do tipo B do fungo L21 representar apenas 12,5% da sua atividade testada, tal interação se torna promissora pelo fato de liberar metabólitos que justificam tal inibição, podendo estes serem isolados e suas atividades biológicas avaliadas.

O maior agrupamento estatístico é composto por 4 isolados fungicos que apresentaram porcentagem de inibição entre 15% e 31%, sendo eles L12 (16,0%), L41 (13,9%), L42 (23,0%) e Rosa (30,0%) (figura 1) e interações antagônicas do Tipo A ("deadlock" com contato micelial). Na interação do tipo "A" os fungos apresentam contato micelial onde uma competição se instala por espaço, assim, um deles impede o acesso ao espaço do outro e consequentemente, aos nutrientes, inibindo assim o seu crescimento (WENZEL, *et al.*, 2012).

Em consonância com Almeida e colaboradores (2013), analisando o antagonismo de isolados provenientes da macrófita aquática *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth frente ao fitopatógeno *Alternaria alternata*, verificou-se que os isolados AZ33, AZ26 e AZ13 demonstraram interação do tipo "A", com índices de antagonismo de 57%, 49% e 38%, respectivamente. Apesar dos índices encontrados pelo autor serem superiores ao encontrados nesta pesquisa, a presença deste tipo de interação, se mostra importante, afirmam os autores, visto que, esta interação competitiva por espaço visa selecionar possíveis microrganismos que podem ser utilizados como promissores controladores biológicos, pois evidencia a eficiência na conquista territorial dentro de uma associação entre dois fungos.

O isolado L11 apresentou a menor porcentagem de inibição (3,5%) (Figura 1). Tal fato se deve, possivelmente, porque este isolado não apresentou crescimento expressivo em laboratório, do seu micélio vegetativo (Figura 3).

A análise do antagonismo em condições de laboratório é uma abordagem empregada para ajudar na seleção em grande escala de agentes de biocontrole. Sob esse aspecto, Costa e pesquisadores (2019), analisando a capacidade de *Trichoderma* spp. contra o fitopatógeno

Colletotrichum gloesporioides, verificou-se que dentre 10 isolados de *Trichoderma* spp. testados pelo antagonismo em placa, dois obtiveram índice de antagonismo significativo.

Os ensaios conduzidos *in vitro* oferecem uma direção útil na seleção de isolados, no entanto, nota-se que a presença de efeitos inibitórios em condições laboratoriais não garante, necessariamente, a eficácia de antagonismo quando aplicado *in vivo*.

Figura 3 – Antagonismo entre os fungos L11 – L12.



L11 X L12

Fonte: A autora.

A seleção apropriada de espécies ou isolados antagonistas é uma fase essencial e complexa, sendo a natureza do patógeno alvo um dos fatores preponderantes. Por conseguinte, microrganismos podem exibir propriedades antagônicas excelentes em condições controladas, mas podem não manifestar a mesma eficácia no ambiente natural, especialmente, se não colonizarem eficientemente os hospedeiros (MICHEREFF, 2001).

Neste contexto, verificou-se que as interações indicaram diferentes capacidades antagônicas, revelando a complexidade das interações no ambiente microbiano. Em suma, observou-se que o inóculo de *Metarhizium anisopliae* e o isolado Verde se destacaram com as maiores porcentagens de inibição.

CONCLUSÃO

Os isolados fúngicos apresentaram três interações antagônicas entre si, sendo a interação CA1, crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista, após *deadlock* inicial com contato micelial, presente em todas os testes do inóculo *Metarhizium anisopliae* frente aos isolados fúngicos testados. Dentre os fungos avaliados, o isolado Verde apresentou a mesma

atividade antagônica que o inóculo, além de similaridade estatística quanto a porcentagem de inibição, possibilitando inferir que o isolado em questão possui significativo potencial para mitigar os danos causados por *S. frugiperda* na agricultura.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. T.; ORLANDELLI, R. C.; POLONIO, J. C.; SANTOS, M. S.; PAMPHILE, J. A. **AVALIAÇÃO DE ISOLADOS ENDOFÍTICOS DE *Eichornia azurea* (Sw.) Kunth COM ATIVIDADE ANTAGONÍSTICA CONTRA O FITOPATÓGENO *Alternaria alternata*.** 2013. Disponível em: <chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.unicesumar.edu.br/epcc/2013/wp-content/uploads/sites/82/2016/07/Tiago_Tognolli_de_Almeida.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2023.

ÁVILA, C. J. **Manejo integrado das principais pragas que atacam a cultura do milho no país.** Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantasartigo2.pdf>. Acesso em: 22 out. 2023.

BADALYAN, S. M.; INNOCENTI, G.; GARIBYAN, N. G. Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. **Phytopathologia Mediterrânea**, v. 41, p. 200–225, 2002.

BAPTISTA, P.; TAVARES, R.; NETO, T. L. **A importância das interações entre fungos do solo em agroecologia.** 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/267266344_A_importancia_das_interaccoes_entre_fungos_do_solo_em_agroecologia>. Acesso em: 19 nov. 2023.

BRASIL. Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Vegetal. **O que você precisa saber sobre defensivos agrícolas.** 2020. Disponível em: <chromeextension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://sindiveg.org.br/wpcontent/uploads/2021/11/bxresolucao.pdf>. Acesso em: 23 out. 2023.

CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. **INTERAÇÕES BIÓTICAS ENTRE ACTINOBACTÉRIAS E RIZÓBIOS EM SOLOS DA REGIÃO SEMIÁRIDA BRASILEIRA.** 2017. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.conhecer.org.br/enciclop/2017b/biol/interacoes%20Bioticas.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2023

COSTA, K. K.; RUFINO, C. P. B.; MACEDO, P. E. F.; NOGUEIRA, S. R. **ANTAGONISMO DE *Trichoderma* spp. SOBRE *Colletotrichum gloeosporioides*, AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE DE *Euterpe precatória*.** 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/1743/1574>. Acesso em: 21 nov. 2023.

EMBRAPA. **Controle Biológico.** 2006. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.embrapa.br/documents/1355163/

1994475/fold06-08_controleBiologico.pdf/71cf43ce-0f8e-46da-ac5a-4c76688170e5>. Acesso em: 24 ago. 2023.

FÉLIX, T. **FUNGOS ENDOFÍTICOS EM ESPÉCIES AGRÍCOLAS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA**. 2019. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/30360/1/MONOGRAFIA%20ESPECIALIZA%C3%87%C3%83O%20EM%20MICROBIOLOGIA%20APLICADA%202019%20%20Thais%20Felix%20Miranda%20%20Fungos%20Endof%C3%ADticos%20em%20Esp%C3%A9cies%20Agr%C3%ADcolas%20de%20Import%C3%A2ncia%20Econ%C3%B4mica.pdf>. Acesso em: 21 nov. 2023.

FILHO, I. A. P. **O Cultivo do Milho Verde**. 1 ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 217 p

FILHO, J. A. W.; RIBEIRO, L. P.; CHIARADIA, L. A.; MADALÓZ, J. C.; NESI, C. N. **Pragas e doenças do milho. Diagnose, danos e estratégias de manejo**. 2016. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://circam.epagri.sc.gov.br/circam_arquivos/agroconnect/boletins/BT_PragasDoencasMilho.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2023.

GABARDO, G.; PRIA, M. D.; PRESTES, A. M. C.; SILVA, H. L. **Trichoderma asperellum e Bacillus subtilis como antagonistas no crescimento de fungos fitopatogênicos in vitro**. 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/14663/12145>. Acesso em: 20 nov. 2020.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de Fitopatologia**. 2001. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://www.conhecer.org.br/download/TECNICAS%20DE%20PRODUCAO%20SUSTENTAVEL/Leitura%203.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2023.

MOREIRA, H. J. C.; ARAGÃO, F. D. **Manual de Pragas do Milho**. 2009. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/downloads/manual%20de%20pragas%20do%20milho.pdf>. Acesso em: 22 out. 2023.

NASSER, P. P.; SOUZA, S. M. C.; BATISTA, L. R.; MERCER, J. R. **IMPLICAÇÕES DO FUNGO Aspergillus niger var. niger SOBRE O CRESCIMENTO DE ISOLADOS DE Aspergillus DA SEÇÃO Circumdati E PRODUÇÃO DE OCRATOXINA A**. 2003. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://www.scielo.br/j/cagro/a/z8BvPDcS5sF5qy5h7TVYNxL/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 21 nov. 2023.

OLIVEIRA, M. M. F.; SOARES, C. S.; NOGUEIRA, D. C.; MACEDO, A. F.; SILVA, L. F.; ROCHA, E. A. A.; FERNANDES, F. L. **Controle químico por meio de desalojantes e outros compostos nas caldas de inseticidas no manejo de pragas**. 2023. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fdownloads.editoracientifica.com.br%2Farticles%2F230212233.pdf>. Acesso em: 22 out. 2023.

PICANÇO, M. C. **Manejo Integrado de Pragas**. 2010. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclclefindmkaj/https://www.ica.ufmg.br/wpcontent/uploads/2017/06/apostila_entomologia_2010.pdf>. Acesso em: 23 out. 2023.

PINHEIRO, L. S.; GATTI, V. C. M.; OLIVEIRA, J. T.; SILVA, J. N.; SILVA, V. F. A.; SILVA, P. A. **Características agro econômicas do milho:** uma revisão. *Natural Resources*, v.11, n.2, p.13-21, 2021.

REIS, T. C. **CONTROLE BIOLÓGICO COM OS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS *Beauveria bassiana* E *Metarhizium anisopliae* E SUAS INTERAÇÕES COM *Palmistichus elaeisis* E GLIFOSATO.** Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/bitstream/1/1897/1/tatiane_carla_reis.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2023.

RONCON, N. **A importância do setor agrícola para a economia brasileira.** 2011. Disponível em: <<https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0811260631.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2023.

VALICENTE, F. H. **Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho.** 2015. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125260/1/circ-208.pdf>>. Acesso em: 22 out. 2023.

VALICENTE, F. H. **Controle biológico de pragas com entomopatógenos.** 2009. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://core.ac.uk/download/pdf/45503565.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2023.

WENZEL, J. B.; SIQUEIRA, A. L.; GONÇALVES, F. A.; HEIN, D. P. R.; SILVEIRA, J. A.; ROMANI, S. **Isolamento e atividade antagonística de fungos endofíticos de soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** 2012. Disponível em: <<https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1343/467>>. Acesso em: 20 nov. 2023.

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

Eu, Andressa Letícia Lorenzoni, Carteira de identidade número 12.399.554-6, aluna regularmente matriculada no curso de graduação de Ciências Biológicas do Centro Universitário da Fundação Assis Gurgacz – FAG, sob registro acadêmico número 202010504 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.

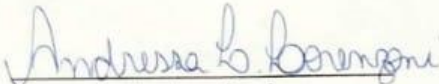
Declaro ainda que me comprometo a cumprir rigorosamente os prazos definidos para entrega das diversas etapas do trabalho, bem como a estar em todos os encontros previstos com o professor orientador.

Professor orientador: Thomas Kehrwald Fruet

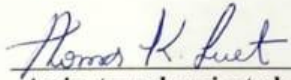
Título provisório:

Mortalidade e viabilidade de fungos isolados de *Spodoptera frugiperda* de produção orgânica de milho no estado do Mato Grosso do Sul – MS

Cascavel, 02 de agosto de 2023.



Assinatura do aluno



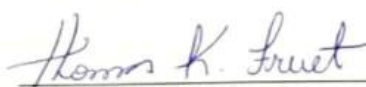
Assinatura do orientador

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

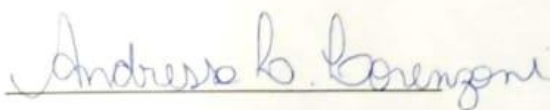
Eu, acadêmico (a) Andressa Letícia Lorenzoni, juntamente com meu professor(a) orientador(a) Thomas Kehrwald Fruet, docente do curso de Ciências Biológicas, viemos por meio deste solicitar a composição da banca de defesa pública do Trabalho de Conclusão de curso intitulado **ANTAGONISMO DE ISOLADOS FUNGICOS 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, 01 de novembro de 2023.



THOMAS KEHRWALD FRUET
RG: 82992278/SSPPR
CPF: 063.857.589-31



ANDRESSA LETÍCIA LORENZONI
RA: 202010504
RG: 12.399.554-6

ANEXO C – ACOMPANHAMENTO DAS ORIENTAÇÕES DE TCC

Acadêmico: Andressa Letícia Lorenzoni
Orientador: Thomas Kehrwald Fruet

RA: 202010504
Período: 8º

Data	Atividades desenvolvidas	Assinatura do aluno	Assinatura do orientador
02/08	Início das pesquisas	Andressa	
09/08	Orientação da metodologia	Andressa	
15/08	Orientação da metodologia	Andressa	
24/08	Orientação da metodologia	Andressa	
28/08	Encaminhamento de pesquisas	Andressa	
31/08	Encaminhamento de pesquisas	Andressa	
06/09	Encaminhamento de pesquisas	Andressa	
14/09	Orientação sobre o escrito	Andressa	
21/09	Análise dos resultados	Andressa	
28/09	Ajuste da metodologia	Andressa	
05/10	Orientação do escrito	Andressa	
19/10	Análise dos resultados	Andressa	
26/10	Análise dos resultados	Andressa	
09/11	Orientação dos resultados	Andressa	
16/11	Orientação dos resultados	Andressa	
24/11	Orientação do escrito	Andressa	
23/11	Finalização	Andressa	

Assinatura do Orientador: _____

Thomas Kehrwald Fruet

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

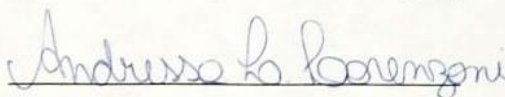
Eu, Vanusa de Souza, RG **6153339-7**, CPF **014904259-00**, e-mail **vanusa.souza@escola.pr.gov.br**, telefone **(45) 988156267**, declaro para os devidos fins que realizei a correção ortográfica e gramatical do artigo intitulado **ANTAGONISMO DE ISOLADOS FUNGICOS DA LAGARTA DO CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*)**, de autoria de **Andressa Letícia Lorenzoni**, acadêmico (a) regularmente matriculado no Curso de Ciências Biológicas da Faculdade Assis Gurgacz.

Por ser verdade, firmo o presente documento.

Cascavel, 22 de novembro de 2023.



(Vanusa de Souza – Professora de Língua Portuguesa)



Nome e assinatura do acadêmico

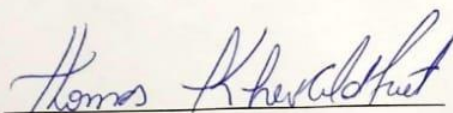
ANEXO E – DECLARAÇÃO DE INEXISTÊNCIA DE PLÁGIO

ANDRESSA LETÍCIA LORENZONI

**AVAL ANTAGONISMO DE ISOLADOS FUNGICOS DA LAGARTA DO
CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE
MILHO (*Zea mays*)**

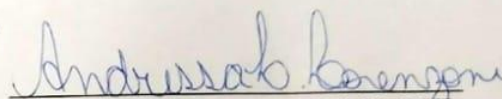
Eu Andressa Letícia Lorenzoni, aluno (a) da Graduação de Ciências Biológicas, da Faculdade Assis Gurgacz, declaro, para os devidos fins, que o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em anexo, requisito necessário à obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas, encontra-se plenamente em conformidade 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 DOXWEB 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 processos administrativos da FAG - Faculdade Assis Gurgacz e sanções legais.

Cascavel, 23 de novembro de 2023.



THOMAS KEHRWALD FRUET

RG: 82992278/SSPPR
CPF: 063.857.589-31



ANDRESSA LETÍCIA LORENZONI

RA: 202010504
RG: 12.399.554-6



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **antagonismo de isolados fungicos da lagarta**

Date: 22/11/2023 12:54

User: Andressa Letícia Lorenzoni

Email: andressalorenzoni8@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 INTERNETAuthenticity Calculated: **95 %**

Occurrence of Links:

1 % <https://posticsenasp.ufsc.br/files/2014/04/abntnbr6022.pdf>**Autenticidade em relação à INTERNET****Texto verificado (Internet)****Links por Ocorrência (Internet)**Fragmento: **ANTAGONISMO DE ISOLADOS FUNGICOS**http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Julio_Cesar_Polonio.pdfFragmento: **DO CARTUCHO (Spodoptera frugiperda)**<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>Fragmento: **da lagarta-do-cartucho (Spodoptera**<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>Fragmento: **oito isolados provenientes da lagarta-do-cartucho,**<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>Fragmento: **do tipo CA1 (crescimento parcial do fungo**https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNICESU_-1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=enFragmento: **antagonista após o deadlock inicial com contato micelial)**

[https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/ UNICESU -1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=en](https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNICESU-1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=en)

Fragmento: **PALAVRAS-CHAVE: Controle Biológico,**

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **E SUBTÍTULO DO ARTIGO EM LÍNGUA ESTRANGEIRA ABSTRACT (RESUMO EM LÍNGUA ESTRANGEIRA - INGLÊS) Elemento opcional. Versão do resumo na língua do texto, para o idioma de divulgação internacional, com as mesmas características**

<https://posticsenasp.ufsc.br/files/2014/04/abntnabr6022.pdf>

Fragmento: **(PALAVRAS-CHAVE EM LÍNGUA ESTRANGEIRA - INGLÊS) : Elemento opcional. versão das palavras-chave na língua do texto para a mesma língua do resumo**

<https://posticsenasp.ufsc.br/files/2014/04/abntnabr6022.pdf>

[https://www2.unifap.br/alexandresantiago/files/2012/](https://www2.unifap.br/alexandresantiago/files/2012/03/Manual_TCC_artigo_cientifico_posgraduacao.pdf)

[03/Manual_TCC_artigo_cientifico_posgraduacao.pdf](https://www2.unifap.br/alexandresantiago/files/2012/03/Manual_TCC_artigo_cientifico_posgraduacao.pdf)

Fragmento: **INTRODUÇÃO A agricultura é um dos setores da economia com participação significativa no mercado, evoluindo das monoculturas para as grandes diversificações de produção encontradas nos dias de hoje (RONCON,**

<https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0811260631.pdf>

Fragmento: **as plantas de milho podem ser atacadas por pragas desde a germinação das**

https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantas-artigo2.pdf

<https://revistacultivar.com.br/artigos/controle-de-pragas-que-atacam-plantulas-do-milho>

Fragmento: **psicologia dos grãos (ÁVILA, 2015).**

https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantas-artigo2.pdf

Fragmento: **influenciam tanto a parte aérea**

https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantas-artigo2.pdf

Fragmento: **A lagarta-do-cartucho (Spodoptera**

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **inicialmente, as larvas raspam a**

https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantas-artigo2.pdf

<https://revistacultivar.com.br/artigos/controle-de-pragas-que-atacam-plantulas-do-milho>

Fragmento: **do milho, onde consomem folhas novas**

https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantas-artigo2.pdf

Fragmento: **do colmo, evidenciando seu ataque**

<https://revistacultivar.com.br/artigos /controle-de-pragas-que-atacam-plantulas-do-milho>

Fragmento: **no cartucho Podem atacar as plântulas desde a fase**

<https://revistacultivar.com.br/artigos/controle-de-pragas-que-atacam- Fragmento plantulas-do-milho>

: **biológico é a regulação do equilíbrio dos organismos vivos através de inimigos naturais.Tem por objetivo controlar as pragas agrícolas,**

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/187691 /1/fold2006008.pdf>

Fragmento: **insetos benéficos, tais como predadores e parasitoides, ou microrganismos como fungos, vírus e bactérias, específicos para controlar as pragas-alvo (EMBRAPA,**

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/ infoteca/bitstream/doc/187691/1/fold2006008.pdf>

Fragmento: **do cartucho (Spodoptera frugiperda)**

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **em meio BDA (Batata Dextrose Ágar),**

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **utilizando o software ImageJ® 1.46r.**

https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNICESU -1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=en

Fragmento: **$Im\% = 100 - (MT/MC) \times 100$, onde $Im\%$ = Índice de especificidade em percentagem**

<https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/15832/12983>

Fragmento: **micelial, MT = Média da área da triplicata aferida para o tratamento em cm^2 , e MC = Média da área da triplicata do controle em cm^2 .**

http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Julio_Cesar_Polonio.pdf
<https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/15832/12983>

Fragmento: **entre os fungos isolados de *S. frugiperda***

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **dos isolados de *S. frugiperda* e do**

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **Im% Fungo antagonista Crescimento**

http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Julio_Cesar_Polonio.pdf

Fragmento: **61,57 Fungo antagonista Crescimento**

http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Julio_Cesar_Polonio.pdf

Fragmento: **Im%: porcentagem de inibição do fungo**

<https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/15832/12983>

Fragmento: **isolados de S. frugiperda mais o**

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33508/1/Efeito-diferentes-2.pdf>

Fragmento: **antagônicas do tipo CA1 (crescimento**

https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNICESU-1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=en

Fragmento: **antagonista após deadlock inicial com contato micelial) (Figura**

https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNICESU-1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=pt

Fragmento: **do Tipo A ("deadlock " com contato micelial). Na interação do tipo A**

https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/UNICESU-1_1f77b9d3fdb96151b074d97b97aa1064?lng=en

<https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/bbr/article/view/15832/12983>

http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Julio_Cesar_Polonio.pdf

Fragmento: **contato micelial onde uma competição**

http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Julio_Cesar_Polonio.pdf



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda



Relatório DOCxWEB

DOCXWEB.COM

Ajuda

Title: **antagonismo de isolados fungicos da lagarta**

Date: 22/11/2023 12:54

User: Andressa Letícia Lorenzoni

Email: andressalorenzoni8@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: **95 %**

Occurrence of Links:

1 % <https://posticsenasp.ufsc.br/files/2014/04/abntnabr6022.pdf>**Autenticidade em relação à INTERNET****Texto verificado (Internet)**

ANTAGONISMO DE FUNGICOS ISOLADOS DA LAGARTA DO CARTUCHO (*Spodoptera frugiperda*) DE CULTIVO SUSTENTÁVEL DE MILHO (*Zea mays*),

LORENZONI, Andressa L. 1

FRUET, Thomas K.2

RESUMO

Este estudo investigou as interações entre fungos entomopatogênicos e saprofíticos isolados da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), uma praga significativa na cultura do milho. O objetivo foi avaliar a capacidade de inibição indireta desses fungos em condições controladas. Utilizando o inóculo de *Metharizium anisopliae* e oito isolados provenientes da lagarta-do-cartucho, foram prolongados testes de antagonismo em placas de Petri, em cultura pareada. Os resultados revelaram variações específicas na capacidade de prevenção entre os resultados testados. Destacam-se o inóculo de *M. anisopliae* e o isolado Verde como os mais eficazes, apresentando as maiores porcentagens de inibição, tornando-os um potencial promissor para a aplicação desses isolados como agentes de controle biológico. Uma análise das interações competitivas entre os fungos revelou uma

diversidade significativa nos tipos de antagonismos observados. O antagonismo do tipo CA1 (crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista após o impasse inicial com contato micelial) foi o mais prevalente, trazendo estratégias de prevenção entre os fungos aplicados. PALAVRAS-CHAVE: Controle Biológico, cultura pareada, entomopatogênicos. TÍTULO E SUBTÍTULO DO ARTIGO EM LÍNGUA ESTRANGEIRA ABSTRACT (RESUMO EM LÍNGUA ESTRANGEIRA - INGLÊS) Elemento opcional. Versão do resumo na língua do texto, para o idioma de divulgação internacional, com as mesmas características do Resumo PALAVRAS -CHAVE (PALAVRAS-CHAVE EM LÍNGUA ESTRANGEIRA - INGLÊS): Elemento opcional. versão das palavras-chave na língua do texto para a mesma língua do resumo Se colocar o título em inglês deve colocar as palavras chaves também. INTRODUÇÃO A agricultura é um dos setores da economia com participação significativa no mercado, evoluindo das monoculturas para as grandes diversificações de produção encontradas nos dias de hoje (RONCON, 2011).

O milho (*Zea mays*), encontra-se entre os principais cereais cultivados em todo o mundo, presente na alimentação humana, animal e na indústria (PINHEIRO, et al., 2021). O cultivo do cereal é uma atividade onde os pequenos e médios agricultores predominam assim, com a crescente demanda e com o consumidor mais exigente, várias empresas do setor desenvolveram diversas cultivares com mais números de grãos, maiores espigas e maior tolerância a extensivas e doenças, para consequentemente, aumentar a produção (FILHO, 2002).

Ainda assim, as plantas de milho podem ser atacadas por pragas desde a germinação das sementes e emergência das plantas até a fase de maturação fisiológica dos grãos (ÁVILA, 2015). Segundo Filho e colaboradores (2016), algumas destas sugestões são tanto a parte aérea quanto a parte subterrânea das plantas, tornando seus danos mais difíceis de serem identificados, além disso, algumas podem transmitir doenças às plantas.

A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), é uma praga de destaque na cultura do milho, capaz de reduzir a produção em até 34 a 52%. Seu ciclo de vida é de 30 dias em laboratório e uma única fêmea pode depositar entre 1.500 a 2.000 ovos em toda sua vida, demonstrando seus potenciais danos. As larvas apresentam cabeça preta e corpo claro ao eclodir e escurecem após 3 dias, podendo atingir um comprimento de 35 mm (VALICENTE, 2015).

Segundo Moreira e Aragão (2009), inicialmente, as larvas raspam a superfície foliar, deixando uma membrana translúcida, à medida que cresce, elas se alojam no cartucho do milho, onde consomem folhas novas e a parte apical do colmo, evidenciando seu ataque por folhas recortadas e detritos no cartucho. Podem atacar as plântulas desde a fase inicial do trabalho, resultando em murcha, tombamento e morte, o que pode reduzir significativamente o estado da cultura.

No Brasil, o ataque de pragas é mais severo por conta das condições climáticas de um país tropical, com temperaturas mais altas e ambiente mais úmido, onde o controle de pragas pode ser feito de forma cultural, química ou biológica. O controle cultural faz pelo uso de técnicas agrícolas como alterar os tipos de culturas plantadas, preparar o solo preferencial e eliminar os resíduos das colheitas anteriores (SINDIVEG, 2020).

O controle químico é o método mais utilizado para proteger as plantações de danos causados por insetos, neste utiliza-se os inseticidas químicos para controlar, repelir e prevenir insetos que prejudicam economicamente diversas plantas cultivadas. Como consequência, qualidades outros organismos que desempenham papéis importantes, como a reciclagem de nutrientes do solo, a polinização das culturas e a alimentação de espécies de pragas (OLIVEIRA et al., 2023).

O controle biológico é uma regulação de população de organismos vivos através de inimigos naturais. Tem por objetivo controlar as pragas agrícolas, podendo ser com insetos benéficos, tais como predadores e parasitoides, ou microrganismos como fungos, vírus e bactérias, específicos para controlar as pragas-alvo (EMBRAPA, 2006).

Fungos entomopatônicos são microrganismos que causam doenças aos insetos e ácaros-praga levando-os a morte (PICANÇO, 2010). Eles penetram na cutícula dos insetos, se multiplicam e causam a morte por destruição dos tecidos. Esses fungos emergem do corpo dos insetos mortos, liberando esporos para disseminação, resultando em alta mortalidade de insetos. Os infectados param de se alimentar, movem-se lentamente e ficam presos em folhas ou galhos antes de morrer. Após a infecção, sua coloração pode mudar para creme, verde, avermelhada ou marrom devido ao crescimento do fungo (VALICENTE, 2009).

Entretanto, sabe-se que os microrganismos não estão isolados no meio ambiente, e sim realizam diferentes tipos de interações ecológicas entre e intraespecíficas. Assim, o estudo das interações entre microrganismos desempenha um papel essencial na compreensão dos fatores que governam a coexistência entre espécies e sua atividade biológica. Essas interações são baseadas em seus efeitos, podendo ser benéficas ou prejudiciais para as situações envolvidas. Na competição microbiana, a aquisição de recursos nutricionais destaca-se como um ponto crítico, onde algumas populações microbianas podem fornecer nutrientes essenciais para secretar enzimas que induzem a lise e digestão de células pertencentes a outras nações, justificando suas atividades biológicas (CAVALCANTE, et al

.2017).

Com o aumento das infestações de pragas nas atividades agrícolas e a crescente demanda por métodos de controle que minimizam o impacto ambiental, torna-se necessário conduzir pesquisas para entender como os fungos interagem com outros fungos que desempenham um papel negativo na significativa de matéria orgânica, contribuindo assim para a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas.

O objetivo desse trabalho foi isolar os fungos da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) de um cultivo de milho orgânico, com o intuito de explorar a interação antagonica entre esses microrganismos em condições controladas, a fim de selecionar possíveis isolados promissores para o controle biológico. Esses isolados foram comparados com um inóculo puro (*M. anisopliae*) utilizado no controle biológico, a fim de pôr similaridade de interação, buscar novos isolados e ou confirmar a eficiência do controle realizado.

ENCAMINHAMENTO METODOLÓGICO

Foram utilizadas 8 linhagens de fungos isolados de lagartas *Spodoptera frugiperda*, coletadas de uma cultura de milho orgânico, no município de Juti – MS e cedidas para o desenvolvimento desta pesquisa pelo produtor. Tais isolados foram fornecidos em meio BDA (Batata Dextrose Ágar), e identificados como L11, L12, L21, L31, L41, L42, Rosa e Verde. Além desses isolados, como referência, foi utilizado o inóculo de *Metarhizium anisopliae* puro, o qual foi utilizado no cultivo de onde as indiretamente foram coletadas.

Cada linhagem de fungo foi ativada em placas de Petri, inoculadas em 3 pontos com distâncias de 5 cm entre eles em meio BDA, acondicionadas em estufa Fichário a temperatura de 27° C por sete dias, proporcionando assim as condições ideais para o crescimento do fungo.

As interações competitivas entre os fungos isolados foram avaliadas em experimentos de cultura dupla em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro), contendo 40 ml de BDA, sendo que em cada placa, dois discos miceliais de isolados diferentes foram colocados na superfície do ágar com 6 cm de distância entre eles. Os testes foram realizados em triplicata e para o controle negativo, foi inoculado somente um disco do fungo em um polo da placa. perfeitamente após a inoculação, as placas foram seladas com papel filme e incubadas em estufa Binder a 25°C por 7 dias, totalizando 108 placas de pareamentos.

As interações competitivas entre os organismos foram avaliadas com base na escala de Badalyan e colaboradores (2002), e a área de crescimento fúngico foi quantificada utilizando o software ImageJ® 1.46r. Para calcular o índice de prevenção, foi aplicado o cálculo: $Im\% = 100 - (MT/MC) \times 100$, onde $Im\%$ = Índice de inibição em porcentagem do crescimento micelial, MT = Média da área da triplicata aferida para o tratamento em cm^2 , e MC = Média da área da triplicata do controle em cm^2 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de avaliar a capacidade de prevenção entre os fungos isolados de S. frugiperda após morte inferida pelo controle biológico de M. anisopliae em cultura de milho sustentável, os isolados fúngicos assim como o inóculo (M. anisopliae) foram submetidos ao teste de antagonismo, e a percentagem de limitação de cada interação encontra-se especificada na Tabela 1. Verificou-se que todos os fungos testados tiveram seu crescimento influenciado em algum grau de porcentagem quando apresentados em contato com pelo menos 2 de seus antagonistas.

Dentro da abordagem sustentável de cultivo, o controle biológico de doenças em plantas, consiste na redução da densidade de patógenos e atividades determinantes da doença, destacando-se a importância dos microrganismos os antagonistas, que por definição se refere a agentes biológicos que têm capacidade de interferir nos processos internos dos fitopatógenos (MICHEREFF, 2001). Segundo Gabardo e pesquisadores (2020), os microrganismos têm a capacidade de interagir uns com os outros, criando ambientes desfavoráveis para o desenvolvimento de outros microrganismos por meio da produção de metabólitos tóxicos, os quais possuem habilidade de inibir ou habilidades o crescimento de outros.

Tabela 1 – Teste de antagonismo dos isolados de S. frugiperda e do inóculo M. anisopliae.

Fungo testado: Média do Inóculo (cm²) Fungo testado: Média do L21 (cm²) Fungo testado: Média do L42 (cm²) Inóculo

70,44 L21 49,88 L42 60,98

Fungo antagonista Crescimento micelial Inóculo Im% Fungo antagonista Crescimento micelial L21 Im% Fungo antagonista Crescimento micelial L42 Im%

L11 61,90 12,1 Inóculo 0,99 98,0 Inóculo 2,8 95,4

L12 69,93 0,7 L11 45,35 9,1 L11 60,98 0,0

L21 70,00 0,6 L12 49,88 0,0 L12 38,41 37,0

L31 47,50 32,6 L31 25,95 48,0 L21 10,13 83,4

L41 70,44 0,0 L41 46,83 6,1 L31 16,79 72,5

L42 68,09 3,3 L42 49,88 0,0 L41 46,72 23,4

Rosa 60,29 14,4 Rosa 41,69 16,4 Rosa 33,19 45,6

Verde 50,98 27,6 Verde 1,04 97,9 Verde 60,98 0,0

Fungo testado: Média do L11 (cm²) Fungo testado: Média do L31 (cm²) Fungo testado: Média do Rosa (cm²)

L11 2,9 L31 73,48 Rosa 40,62

Antagonista de fungo Crescimento micelial IL11 Im% Antagonista de fungo Crescimento micelial L31 Im% Antagonista de fungo Crescimento micelial Rosa Im%

Inóculo 0,72 75,2 Inóculo 22,01 70,0 Inóculo 8,7 78,6

L12 2,10 27,6 L11 69,36 5,6 L11 40,62 0,0

L21 1,74 40,0 L12 52,92 28,0 L12 35,94 11,5

L31 0,39 86,6 L21 41,29 43,8 L21 15,72 61,3
 L41 1,44 50,3 L41 62,61 14,8 L31 28,3 30,3
 L42 1,37 52,8 L42 54,82 25,4 L41 38,58 5,0
 Rosa 0,86 70,3 Rosa 42,54 42,1 L42 33,19 18,3
 Verde 0,64 77,9 Verde 17,13 76,7 Verde 3,55 91,3

Fungo testado: Média do L12 (cm2) Fungo testado: Média do L41 (cm2) Fungo testado: Média do Verde (cm2)

L12 38,55 L41 37,79 Verde 61,57

Fungo antagonista Crescimento micelial L12 Im% Fungo antagonista Crescimento micelial L41 Im% Fungo antagonista Crescimento micelial Verde Im%

Inóculo 1,45 96,2 Inóculo 0,82 97,8 Inóculo 17,07 72,3

L11 37,99 1,5 L11 37,79 0,0 L11 61,57 0,0

L21 13,53 64,9 L12 29,15 22,9 L12 61,57 0,0

L31 19,2 50,2 L21 10,25 72,9 L21 61,57 0,0

L41 34,04 11,7 L31 6,19 83,6 L31 53,51 13,1

L42 27,49 28,7 L42 16,8 55,5 L41 61,57 0,0

Rosa 25,86 32,9 Rosa 30,97 18,0 L42 61,57 0,0

Verde 3,23 91,6 Verde 3,81 89,9 Rosa 61,57 0,0

Im%: porcentagem de inibição do fungo antagonista sobre o fungo testado; Crescimento micelial medido em cm2; inóculo M. anisopliae.

Para o mesmo autor, a geração de metabólitos pode resultar na quebra completa da estrutura celular do alvo, e esse efeito pode ocorrer sem a necessidade de contato físico direto entre os microrganismos.

Com o objetivo de verificar quais os fungos testados apresentaram maior capacidade de inibir seus antagonistas, a média da porcentagem de proteção dos dados da tabela 1 encontra-se ilustrada na figura 1. Dentre os fungos avaliados, foi possível agrupar estatisticamente ao inóculo (85, 4% de efeito inibitório) ou isolado Verde (69,1%), o qual foi considerado maior média da capacidade inibitória frente a muitos fungos testados.

Certos fungos têm a capacidade de inibir o desenvolvimento de outros, estabelecendo uma dinâmica competitiva no ambiente, sendo por recursos como nutrientes e espaço (NASSER, et al. 2003). Para melhorar o desempenho de microrganismos na agricultura, é vantajoso uma pré-seleção das espécies a serem utilizadas, e a preferência recai sobre aquelas que demonstram maior eficácia, apresentando habilidade satisfatória em inibi-las (FÉLIX, 2019), assim inferimos que o isolado Verde possui maior probabilidade de obter sucesso na colonização e desenvolvimento nas lagartas do cartucho, sendo, portanto, promissor para pesquisas futuras.

Figura 1 – Média da porcentagem de inibição entre os fungos isolados de S. frugiperda mais o 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 ($p < 0,05$).

Ao analisar as interações que ocorreram no teste de antagonismo, constatou-se que todos os isolados testados manifestaram a interação do tipo "CA1" com pelo menos um dos seus antagonistas. Quando foram observados os tipos de interações antagônicas agrupadas estatisticamente, foi verificado que o inóculo e o isolado Verde continham todas (100%) das interações antagônicas do tipo CA1 (crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista após deadlock inicial com contato micelial) (Figura 2).

O antagonismo que tem maior relevância ao nível dos fungos é quando ocorre o contato entre os micélios de duas espécies fúngicas, resultando em alterações morfológicas nos fungos interativos, que visam aumentar a resistência à penetração do micélio do fungo invasor ou permitir o crescimento micelial sobre ou através da colônia fúngica oponente. O micélio formado pode ser de várias formas: denso, não qual idade como uma "barreira" contra a invasão, pode haver a criação de um micélio "invasivo" com várias frentes de crescimento; pode haver a formação de um micélio com crescimento aéreo e ou ainda a criação de cordões miceliais com estruturas rizomórficas (BAPTISTA, et al. 2011). Dentro deste contexto pode-se inferir que a similaridade estatística baseada na percentagem de exclusão descrita anteriormente, se deva ao tipo de interação mais prejudicial e eficiente em uma competição microbiana fúngica (CA1), ou qual o isolado Verde se equivaleu ao inóculo. Figura 2 – Tipo de interação CA1 (crescimento parcial do fungo testado sobre o fungo antagonista após deadlock inicial com contato micelial) apresentado entre Inóculo - L42 e Verde - L31.

Um segundo grupo (estatisticamente definido como ac) com maior potencial inibitório dentre as interações experimentais, é formado por isolados L31 e L21, que apresentam porcentagens de inibição de 52,1% e 45,9% respectivamente (Figura 1).

Além do isolado L31 e L21 apresentam uma interação do tipo CA1, o fungo L21 também apresentou a interação do Tipo B ("deadlock" a distância) com 40% de vantagem sobre o fungo L11 (Tabela 1). Este tipo de inibição do crescimento do fungo oponente é facilmente incluído na liberação de compostos voláteis e/ou difusíveis, sendo que as observações observadas nesse tipo de antagonismo variam amplamente, dependendo da combinação específica de espécies fúngicas envolvidas. As respostas mais evidentes incluem a destruição e vacuolização das hifas ou a substituição delas pelo micélio da espécie invasora (BAPTISTA, et al. 2011). Apesar da interação do tipo B do fungo L21 representar apenas 12,5% da sua atividade experimental, tal interação se torna promissora pelo fato de liberar metabólitos que justificam tal interferência, podendo estes serem isolados e suas atividades biológicas avaliadas.

O maior agrupamento estatístico é composto por 4 isolados fúngicos que contêm percentagem de proteína entre 15% e 31%, sendo eles L12 (16,0%), L41 (13,9%), L42 (23,0%) e Rosa (30,0%) (figura 1) e interações antagônicas do Tipo A ("deadlock" com contato micelial). Na interação do tipo Os fungos apresentam contato micelial onde uma competição se instala por espaço, assim um deles impede o acesso ao espaço do outro e consequentemente aos nutrientes, inibindo assim o seu crescimento (WENZEL, et al. 2012). Almeida e colaboradores (2013), analisando o antagonismo de isolados provenientes da macrófita aquática *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth frente ao fitopatógeno *Alternaria alternata*,

fornecido que os isolados AZ33, AZ26 e AZ13 apresentaram interação do tipo A, com índices de antagonismo de 57 %, 49% e 38% respectivamente. Apesar dos índices encontrados pelo autor serem superiores ao encontrado nesta pesquisa, a presença deste tipo de interação, se mostra importante, afirma os autores, visto que esta interação competitiva por espaço visa selecionar possíveis microrganismos que podem ser usados como promessas biológicas, pois evidencial a eficiência na conquista territorial dentro de uma associação entre dois fungos.

O isolado L11 apresentou menor porcentagem de inibição (3,5%) (Figura 1). Tal fato se deva possivelmente porque este isolado não apresentou crescimento expressivo em laboratório, do seu micélio vegetativo (Figura 3).

Figura 3 – Antagonismo sem resultado entre os fungos L11 – L12.

A análise do antagonismo em condições de laboratório é uma abordagem empregada para ajudar na seleção em grande escala de agentes de biocontrole. Costa e pesquisadores (2019), analisando a capacidade de isolados de *Trichoderma* spp. contra o fitopatógeno *Colletotrichum gloesporioides*, é fornecido que dentre 10 isolados de *Trichoderma* spp. testados pelo antagonismo em placa, dois obtiveram índice de antagonismo significativo. Os ensaios conduzidos in vitro oferecem uma direção útil na seleção de isolados, no entanto, observa-se que a presença de efeitos inibitórios em condições laboratoriais não garante necessariamente a eficácia de antagonismo quando aplicado in vivo.

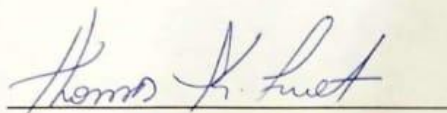
Links por Ocorrência (Internet)

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

**ANEXO F – AUTORIZAÇÃO PARA ENCAMINHAMENTO DO TCC PARA
DEFESA**

Eu, Professor (a) Thomas Kehrwald Fruet, docente do curso de Ciências Biológicas, orientador do acadêmico Andressa Letícia Lorenzoni, na elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado: ANTAGONISMO DE ISOLADOS FUNGICOS 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: 82992278/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

