



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE AGRONOMIA

**ESTIMATIVA DA TOXICIDADE AGUDA E DO TEMPO DE MORTALIDADE DE
FORMULAÇÃO À BASE DE *Bacillus thuringiensis* À *Helicoverpa armigera* (Hübner)**

DENISE PELICOLI

BRASÍLIA, DF
SETEMBRO – 2022

DENISE PELICOLI

**ESTIMATIVA DA TOXICIDADE AGUDA E DO TEMPO DE MORTALIDADE DE
FORMULAÇÃO À BASE DE *Bacillus thuringiensis* À *Helicoverpa armigera* (Hübner)**

Monografia apresentada à Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como
parte das exigências do curso de Graduação em
Agronomia, para a obtenção do título de Engenheira
Agrônoma

Orientador(a): PROF^a. DR^a. CRISTINA SCHETINO
BASTOS

**BRASÍLIA, DF
SETEMBRO-2022**

FICHA CATALOGRÁFICA

PP384e	Pelicioli, Denise Estimativa da toxicidade aguda e do tempo de mortalidade de formulação á base de <i>Bacillus thuringiensis</i> à <i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner). / Denise Pelicioli; orientador Cristina Schetino Bastos . -- Brasília, 2022. 35 p.
	Monografia (Graduação - Agronomia) -- Universidade de Brasília, 2022.
	1. Instares . 2. produto biológico. 3. bactéria. 4. broca gigante. 5. lagarta das maçãs. I. Schetino Bastos , Cristina , orient. II. Título.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

PELICIOLI. D. . Estimativa da toxicidade aguda e do tempo de mortalidade de formulação á base de *Bacillus thuringiensis* à *Helicoverpa armigera* (Hübner). Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 35p. Monografia de Graduação.

Cessão de direitos

Nome do Autor: Denise Pelicioli.

Título: Estimativa da toxicidade aguda e do tempo de mortalidade de formulação á base de *Bacillus thuringiensis* à *Helicoverpa armigera* (Hübner).

Ano: 2022

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desse relatório e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação, e nenhuma parte desse relatório pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

**ESTIMATIVA DA TOXICIDADE AGUDA E DO TEMPO DE MORTALIDADE DE
FORMULAÇÃO À BASE DE *Bacillus thuringiensis* À *Helicoverpa armigera* (Hübner)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como parte das exigências do curso de Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

APROVADO POR:

CRISTINA SCHETINO BASTOS, DSc. Fitotecnia – Entomologia/ Universidade de Brasília/ ORIENTADORA/ E-mail: cschetino@unb.br

FERNANDO AUGUSTO DA SILVEIRA, DSc. Microbiologia Agrícola/ Moara Bioestimulantes Agroambientais/ AVALIADOR EXTERNO/ E-mail: fernando@moara.com.br

FLÁVIO LEMES FERNANDES, DSc. Entomologia/Universidade Federal de Viçosa – Rio Paranaíba/ AVALIADOR/ E-mail: flaviofernandes@ufv.br

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela minha vida e por ter me guiado até aqui. Aos meus pais Jair Pelicioli e Sonia Adelaide Giacomini que sempre estiveram ao meu lado me dando todo apoio e estrutura para suportar todo esse processo.

As minhas queridas colaboradoras e amigas Sabrina Nunes Leão e Êmily Dias Monteiro Guimarrães que fizeram parte de todas as montagens e avaliações do trabalho.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Cristina Schetino Bastos pela dedicação, compreensão e amizade nessa jornada.

Agradeço a empresa MOARA Bioestimulantes Agroambientais pela parceria e em especial ao Diretor de P&D Fernando Augusto da Silveira por todo o suporte e capacitação para a obtenção de um ótimo resultado.

E por fim agradeço a todos os professores e outros profissionais que tive oportunidade de conhecer durante o processo de formação.

RESUMO

O relato de *Helicoverpa armigera* no Brasil, até então considerada praga quarentenária ausente, ocorreu em 2013. A partir de sua ocorrência, essa espécie altamente polífaga e com relatos de resistência a vários inseticidas, passou a ser objeto de pesquisas visando seu manejo. O objetivo deste trabalho foi estimar as concentrações e tempos letais de mortalidade de diferentes estágios de *H. armigera* expostas à uma formulação de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Para tal, foram testadas cinco concentrações do bioinseticida correspondentes à 0,2 L/ha, 0,6 L/ha, 1,0 L/ha, 2,0 L/ha e 3,0 L/ha, além dos controles negativo (água destilada) e positivo (UPMYL produto comercializado pela UPL, Ituverava/SP na concentração de 0,6 L/ha) sobre seis fases das lagartas: neonatas, 1º., 2º., 3º., 4º e 5º. ínstaes, utilizando 32 repetições. Os dados de mortalidade foram avaliados 24, 48, 72, 96 e 120 h após o tratamento das dietas com as soluções. Os dados de mortalidade foram usados para cálculo da porcentagem média de mortalidade \pm EPM e em análise de Probit a $P > 0,05$ para estimar as faixas de concentrações e tempos letais. Tendo em vista os dados de mortalidade média, a concentração requerida para causar mortalidades aceitáveis e acima de 70% em lagartas neonatas e de 1º. ínstar foi de 200 mL/ha, enquanto que no caso das lagartas de 2º. e 3º. ínstaes, essa concentração foi de 600 mL/ha. O TL50 reduziu com o aumento da concentração do produto, independente do ínstar avaliado. Em média, foram requeridos 4 a 5 dias para que o efeito tóxico agudo sobre aproximadamente 100% das lagartas neonatas, de 1º., 2º. e 3º. ínstaes fossem observados, quando se utilizaram as concentrações de 200, 600 ou 1.000 mL/ha. As estimativas obtidas para as concentrações letais foram muito variáveis e apresentaram grande amplitude dos intervalos de confiança. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que as lagartas de *H. armigera* devem ser monitoradas frequentemente priorizando o controle das lagartas neonatas, de 1º. e 2º. ínstaes, que são mais suscetíveis à ação da formulação e, dentro do prazo normalmente requerido para ação do produto, de até cinco dias após a aplicação, será obtido o efeito de toxicidade aguda, com conseqüente mortalidade da praga. Tendo em vista a amplitude dos intervalos de confiança obtidos, a concentração do produto que mais se aproxima daquela a ser usada nessa circunstância é a de 600 mL/ha. Entretanto, esses resultados precisam ser validados em outros ambientes e com outras populações.

Palavras-chave: Ínstaes, produto biológico, bactéria, broca gigante, lagarta das maçãs.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo geral	2
2.2 Objetivos específicos	2
3 REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1 <i>Helicoverpa armigera</i> Hübner(Lepidoptera: Noctuidae)	3
3.1.1 Ocorrência no Brasil e no mundo	3
3.1.2 Descrição e injúria	5
3.1.3 Controle	6
3.4 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> (Btk)	7
4. MATERIAL E MÉTODOS	9
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
8 REFERÊNCIAS	21

1 INTRODUÇÃO

O Brasil, tem em uma das suas bases econômicas, o agronegócio. O setor foi responsável por 27,4% do Produto Interno Bruto - PIB brasileiro. Elevou sua participação em 8,36% em 2021, a despeito dos resultados adversos do clima sobre a produção das safras agrícolas. Nos segmentos primário e de insumos sustentaram altas de destaque na movimentação comercial em 2021, de 17,52% e 52,63%, respectivamente (CNA; CEPEA, 2022). Esses números referendam a importância dos mecanismos de defesa fitossanitária e controle das pragas e doenças relacionadas aos sistemas produtivos do agronegócio brasileiro.

As espécies exóticas invasoras (EEI) são definidas como quaisquer espécies, subespécies ou táxons introduzidos a qualquer momento fora de sua área de distribuição natural, sejam eles deliberados ou não e que colocam acidentalmente em perigo a agricultura, a segurança alimentar e o meio ambiente (CDB, 1992). No mundo contemporâneo é crescente o número de infestações biológicas causadas pelas mudanças climáticas, perda da biodiversidade e fragmentação dos ecossistemas afetando o potencial de dispersão e ocorrência de espécies exóticas invasoras (BEBBER et al., 2014). Nesse sentido, em 2013 a espécie *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) foi excluída da lista de pragas quarentenária ausente (A1) do Brasil (BRASIL, 2013a) em virtude do relato de sua ocorrência no país no ano anterior (CZEPAK et al., 2013 a ; SPECHT et al., 2013). A partir dos relatos iniciais de sua ocorrência, alguns inseticidas sintéticos foram registrados em caráter emergencial, sendo que muitos já possuíam relatos de resistência da praga (JORNAL DA USP, 2018). Pouco tempo após o relato inicial de sua ocorrência no país, o inseto já estava amplamente disseminado nas várias áreas agrícolas, quando um amplo padrão de distribuição normalmente requer vários meses para ocorrer (BUENO et al., 2014). Mundialmente, o inseto está presente em países da América do Sul, África, Europa, Ásia e Oceania (HAILE et al., 2021).

A espécie *H. armigera* é considerada altamente polífaga, sendo capaz de infestar muitas espécies agrícolas e olerícolas tais como algodão, sorgo, girassol, grão de bico, soja, fumo, milho, tomate, alface, pimenta, vários tipos de feijão e plantas ornamentais (ZALUCKI et al., 1986; ZALUCKI et al., 1994). A lagarta de *H. armigera* pode se alimentar tanto das folhas quanto das flores e frutos, sendo as características do seu ciclo biológico otimizadas quando se alimentam das estruturas reprodutivas de seus hospedeiros (ZALUCKI et al., 1986; LIU et al., 2010) e daí a denominação vulgar de

lagartas das maçãs, brocas gigantes e semelhantes. Os danos mundiais causados pelas lagartas de *H. armigera* nas diversas culturas que ataca foram estimados em US\$ 5 bilhões por ano (LAMMERS & MACLEOD, 2007).

Todos esses fatos, tornam essa espécie um problema de preocupação mundial (KRITICOS et al., 2015). Desta forma, alternativas ao seu manejo devem ser buscadas. Atualmente existem inúmeros inseticidas sintéticos registrados para o controle da espécie infestando, por exemplo, a soja (BRASIL, 2022c). Entretanto, os únicos produtos que não possuem restrição de uso, independentemente do cultivo em que são usados são os biológicos, incluindo as formulações à base de *Bacillus thuringiensis* (BRASIL, 2022c). As formulações à base de *Bt* agem em vários grupos de inseto, incluindo Lepidoptera. No Brasil, além de existirem formulações comerciais à base de *Bt*, para uso em pulverização (BRASIL, 2022), várias toxinas dessa bactéria estão inseridas em plantas geneticamente modificadas comercializadas no país (CTNBio, 2022) e essa estratégia se constitui na principal medida de manejo adotada para Lepidoptera-praga nos mais diferentes cultivos. Apesar dessa conjuntura, os trabalhos que tenham testado as concentrações e tempos letais de ação dos produtos à base de *Bt*, especialmente sobre *H. armigera*, são escassos (HASHEMITASSUJI et al., 2015), não existindo relatos anteriores de trabalhos nesse sentido que já tenham sido desenvolvidos no Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- ✓ Avaliar a mortalidade e o tempo de letalidade de *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* sobre diferentes ínstaes de *Helicoverpa armigera*.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Estimar as faixas de concentração letal de uma formulação à base de *B. thuringiensis* var *kurstaki* sobre todos os ínstaes de lagartas de *H. armigera*;

- ✓ Estimar o tempo de letalidade de uma formulação à base de *B. thuringiensis* var *kurstaki* sobre todos os ínstaes de lagartas de *H. armigera*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Helicoverpa armigera* Hübner(Lepidoptera: Noctuidae)

3.1.1 Ocorrência no Brasil e no mundo

A espécie *Helicoverpa armigera* Hübner estava incluída na lista de pragas quarentenárias A1 (ausentes do Brasil) até 2013, quando a Instrução Normativa (IN) MAPA no. 59, de 18 de dezembro de 2013 (BRASIL, 2013a) a excluiu da lista de pragas quarentenárias ausentes da IN no. 41 de 1º. de julho de 2008 (BRASIL, 2008b). Apesar deste fato, o momento exato de sua chegada ao continente sul-americano é desconhecido: uma análise populacional das mariposas de *Helicoverpa* do estado de Mato Grosso em 2006 não detectou sua presença, sugerindo que a chegada dessa espécie no Brasil, pode ter ocorrido após 2006 (STACKE et al. 2018; JONES et al., 2019).

Já na safra 2011/2012, foi descrito um amplo surto de lagartas de *H. armigera* na região oeste da Bahia, em especial nas lavouras de algodão. Nesta época, foram verificadas perdas de até 80% da produção desta lavoura, segundo relatos dos produtores (ÁVIALA et al., 2013). Na safra subsequente de 2012/2013 foi estimado que 46% do valor total gasto para o controle de pragas em lavouras de algodão foi devido às ações de controle direcionadas à *H. armigera*. O número de pulverizações na cultura aumentou cerca de 10 a 15% e os gastos passaram de US\$400 para US\$ 800 por hectare, algo ligado diretamente aos ataques da lagarta e à dificuldade de seu controle (MIRANDA, 2013; GABRIEL, 2013).

Além do algodoeiro, em 2013, foi relatada a ocorrência da lagarta em altas infestações no país, em diferentes estados e atacando várias culturas (CZEPAK et al., 2013a; SPECHT et al., 2013). Nesse aspecto, as culturas mais afetadas foram algodão, milho, soja, feijão, tomate e sorgo (ÁVIALA et al., 2013). Na mesma safra 2012/2013, ataques de lagartas *H. armigera* foram observados em lavouras de soja nos estados do Maranhão e do Piauí. No Mato Grosso foi observado ataques às culturas de algodão, soja e milho e em Goiás os danos foram mais pronunciados no tomate e na soja (ÁVIALA et al., 2013). No estado de Mato Grosso do Sul, foram observadas lagartas de *H. armigera*,

prejudicando as lavouras de algodão e soja apenas na região de Chapadões (entorno de Chapadão do Sul), enquanto na região sul do Paraná, principalmente no entorno de Ponta Grossa, observou danos severos nos estágios iniciais de desenvolvimento da soja (ÁVIALA et al., 2013).

A safrinha de milho de 2013 foi marcada pela elevada ocorrência de lagartas de *H. armigera* nas regiões produtoras referenciais, talvez a maior já apontada desde o início do cultivo das sementes de milho geneticamente modificado (Bt) (ÁVIALA et al., 2013). No início, produtores do oeste do Paraná observaram que os insetos se alimentavam na soja tiguera, porém, após aplicação do dessecante na soja, as lagartas se deslocavam para as plantas de milho. Em algumas localidades dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, os produtores de milho safrinha também observaram a presença de lagartas de *Helicoverpa* sp. em lavouras de milho Bt (ÁVIALA et al., 2013).

Vale destacar que apesar do registro inicial ter ocorrido apenas em 2013, é muito provável que a espécie já estivesse presente no Brasil anteriormente, tendo em vista que a distinção de outras espécies da subfamília Heliothinae que ocorrem no país baseada apenas em características morfológicas (*Helicoverpa zea* ou *Heliothis virescens*) é limitada (POMARI-FERNANDES et al., 2015). Outro fato que pode confirmar sua presença no Brasil mesmo antes dos registros iniciais de sua ocorrência terem sido feitos foi sua ampla disseminação no país, logo no primeiro ano de ocorrência, quando um amplo padrão de distribuição normalmente requer vários meses para ocorrer (BUENO et al., 2014). Além disso, a espécie se disseminou pela América Latina pouco tempo após os relatos de sua detecção, onde se tornou estabelecida e deslocou ou hibridizou com *H. zea*, algo que sugere múltiplas introduções a partir de diferentes origens e contribui para a ampla resistência da praga a múltiplos pesticidas (TEMBROCK et al., 2019) e para a ocorrência de alta diversidade genética, sem que haja uma estrutura definida para a população de *H. armigera* na América do Sul (GONÇALVES et al., 2019). A sua faixa de ocorrência inclui países da América do Sul, África, Europa, Ásia e Oceania (HAILE et al., 2021). Por esta razão e tendo por base a rápida ampliação de sua faixa de ocorrência e a habilidade da praga em migrar grandes distâncias auxiliada pelas correntes de ventos, aliado ao seu grande poder destrutivo e resistência a inúmeros pesticidas, países como os Estados Unidos já adotam programa de monitoramento da praga visando permitir sua detecção precoce e coibir sua introdução no país (KRITICOS et al., 2015; HAILE et al., 2021).

3.1.2 Descrição e injúria

Helicoverpa armigera é uma praga importante de inúmeras plantas cultivadas, destacando-se por se adaptar a diversos ambientes e hospedeiros, possuir alto potencial reprodutivo, diapausa facultativa desencadeada pelo frio em países de clima subtropical e temperado e elevada capacidade de dispersão (FITT, 1989; CABI, 2014). Em países tropicais, a proporção do inseto que entra em diapausa é muito pequena, permitindo que várias gerações se sobreponham ao longo dos ciclos de cultivo (FITT, 1989; CABI, 2014).

Os principais hospedeiros da praga são algodão, amendoim, feijão, fumo, grão de bico, soja, sorgo, milho e tomate, além de ornamentais e hortaliças (EPPO, 2007; CABI, 2014). Na Austrália, 35 família botânicas são relatadas como hospedeiras da praga (ZALUCKI et al., 1986; ZALUCKI et al., 1994) e, no mundo todo, 68 famílias botânicas, dessas porém, somente 14 famílias possuem registro de conter um hospedeiro em todas as áreas geográficas de ocorrência (CUNNINGHAM & ZALUCKI, 2014).

A espécie possui desenvolvimento completo ou holometabólico, completando seu ciclo biológico em cerca de 30 dias, do ovo até a emergência do adulto, que pode variar com a alimentação e com as condições climáticas (GUEDES et al., 2013, CZEPAK et al., 2013b). As fêmeas podem depositar entre 500-1000 ovos dependendo do hospedeiro e das condições ambientais (MIRONIDIS & SAVOPOULOU-SOULTANI, 2008). As lagartas passam por 5-7 ínstaes e seu desenvolvimento é otimizado em temperaturas que variam de 31 a 34°C (MIRONIDIS & SAVOPOULOU-SOULTANI, 2008).

A lagarta de *H. armigera* pode se alimentar de diferentes partes das plantas, incluindo as folhas de inúmeros hospedeiros (ZALUCKI et al., 1986), porém sua sobrevivência, fecundidade e outras características do ciclo biológico são incrementadas quando se alimentam das flores e frutos (LIU et al., 2010) e daí a denominação vulgar de lagartas das maçãs, brocas gigantes e semelhantes. Os danos mundiais causados pelas larvas de *H. armigera* nas diversas culturas que ataca foram estimados em US\$ 5 bilhões por ano (LAMMERS & MACLEOD, 2007).

Stacke et al. (2018) destacam que o potencial causador de injúria de *H. armigera* quando comparado a outras espécies de lepidópteros em soja, é maior haja vista que consome os pontos de crescimento da soja e danifica também as estruturas

reprodutivas. Os pesquisadores avaliaram os danos causados por essa espécie, definindo a redução de produtividade ocasionada para 1 lagarta/m², de modo a permitir calcular o nível de dano econômico (NDE) e assim realizar o controle no momento correto. Concluíram que existe variabilidade do dano causado em função do estágio de desenvolvimento da cultura da soja.

Suzana et al. (2015) e De Souza & Costa (2020) acreditam que o aumento da população de lagartas do gênero *Helicoverpa* e os consequentes danos aos sistemas de produção foram causados por um processo cumulativo de práticas de culturais inadequadas caracterizadas por plantios sucessivos de espécies vegetais hospedeiras (milho, soja e algodão), em monocultivos em grandes áreas e contíguas, e manejo inapropriado de agrotóxicos. Isso tornou o agroecossistema progressivamente suscetível a doenças e insetos ao longo dos anos, por falta de alimentos, criadouros e abrigo, além de eliminar seus inimigos naturais.

3.1.3 Controle

Ávila et al., (2013) reforçam que o primeiro passo para um efetivo manejo da praga é o monitoramento ovos, lagartas e adultos de *H. armigera*, sendo este um fator chave para o sucesso das estratégias do MIP. Com base nessas informações, serão definidas decisões ou táticas de controle, como a necessidade de realizar ou não o controle químico ou biológico em um determinado momento, a escolha do agente a ser usado, a dose a ser empregada, o modo de pulverização, dentre outros. Os adultos de *H. armigera* são monitorados com o uso de armadilhas luminosas ou armadilhas contendo o feromônio sexual.

Dentre as ferramentas do Manejo Integrado de Pragas (MIP), o controle químico é o mais utilizado para *H. armigera* na maior parte dos países onde ela ocorre (VOJOURI et al., 2016; FATHIPOUR & SEDARATIAN, 2013). Por se tratar de uma praga quarentenária, quando de sua detecção inicial no Brasil, não havia produtos registrados para o seu controle, o que fez com que alguns produtos fossem liberados em caráter emergencial até março de 2016 (BRASIL, 2013a; BRASIL, 2015). Para o controle da lagarta infestando a soja, estão registrados 67 formulações de produtos sintéticos distribuídos em diferentes grupos químicos tais como Avermectina, Carbamato, Benzoiluréia, Oxadiazina, Diamida, Fosforado, Análogo de Pirazol, Espinosina, Diacilhidrazina e Piretróide (BRASIL, 2022c). Todavia, essa espécie é reconhecida como

amplamente resistente a inúmeros grupos de inseticidas (WANG et al., 2021). Desta forma, o manejo baseado exclusivamente no controle químico não é recomendável.

O uso de plantas geneticamente modificadas é considerado um dos pilares do manejo de populações de Lepidoptera. Plantas transgênicas contendo toxinas de *Bt*, principalmente aquelas que expressam mais de uma proteína, são uma tecnologia muito promissora para o controle de larvas de *H. armigera* (ÁVIALA et al., 2013). A tecnologia é considerada eficiente no controle da praga especialmente tendo em vista a inexistência de resistência cruzada entre os inseticidas para os quais há relatos de resistência da praga e algumas toxinas de *Bt*, a exemplo de Cry2AB (BIRD & DOWNES, 2014).

Em relação ao controle biológico atualmente, existem 32 produtos comerciais biológicos registrados para o controle da praga em todas as culturas que ela infesta sem restrições, com 19 formulações à base da bactéria *Bacillus thuringiensis*, 11 à base do vírus da Poliedrose Nuclear e 2 à base de *Isaria fumosorosea* (BRASIL, 2022c). No que concerne os inimigos naturais, em várias regiões produtoras do Brasil, tem sido relatada o controle biológico natural exercido por predadores tais como os besouros da família Carabidae (*Lebia* spp. e *Calosoma granulatum* Coleoptera: Carabidae) e parasitóides, principalmente as vespínhas do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e moscas da família Tachinidae (CORRÊA-FERREIRA et al., 2016). Entre os agentes de controle, os parasitoides foi o grupo que mais colaborou na diminuição da população de *Helicoverpa* nas lavouras de soja do Paraná, representando no geral 48,9%. Em menor escala observou-se a ocorrência de patógenos (11,1%) e nematóides (0,9%) (CORRÊA-FERREIRA et al., 2016). Apesar de existirem 13 produtos à base de *T. pretiosum* registrados, não há relatos de registro para o controle de *H. armigera*, havendo entretanto, registro para o controle de *H. zea* (BRASIL, 2022c).

3.4 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk)

O uso de produtos sintéticos tem levado, ao longo das últimas décadas, a diversos problemas como poluição do solo, água e fontes de alimentos, e geração de uma pressão seletiva que causa o surgimento de pragas resistentes (JALLOULI et al. 2020). Conseqüentemente, alternativas a esses produtos têm sido buscadas e, em decorrência desse fato, tem crescido a importância e a relevância dos produtos biológicos, que surgem como alternativa a esses produtos, já que não apresentam tantas restrições de uso

(JALLOULI et al. 2020). *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é uma das bactérias mais estudadas em biotecnologia industrial e comercializada como um biopesticida ambientalmente sustentável (JALLOULI et al. 2020). A bactéria *Bt* é um microrganismo encontrado naturalmente no solo que possui em seu DNA genes que codificam proteínas inseticidas, conhecidas como cristais *Bt* ou proteínas *Btk* (JALLOULI et al. 2020).

A classificação dos cristais de proteína *Bt* é baseada na sua estrutura (deduzida da sequência de DNA) e também na faixa de hospedeiros sobre as quais são ativos (COOPER, 1994).

Formulações à base de *Bt* têm sido utilizadas para o controle de insetos lepidópteros, dípteros e coleópteros desde a década de 70 do século passado (KAUR, 2000). No início do novo milênio novas cepas de *Bt* que abrigam novos tipos de genes inseticidas foram descobertas em todo o mundo, cepas recombinantes com toxicidade aumentada foram construídas, o espectro inseticida ampliado, e as proteínas cristalinas inseticidas (ICPs) foram modificadas por mutagênese para melhorar sua ação inseticida (KAUR, 2000).

Bravo & Soberon (2007) descrevem que as famílias de proteínas *cry* e *cyt* de *Bt* são um grupo diversificado de proteínas com atividade contra insetos de diferentes ordens - Lepidoptera, Coleoptera, Diptera e também contra outros invertebrados como nematóides. As proteínas *cry* compreendem pelo menos 50 subgrupos com mais de 200 membros cuja ação primária é romper as células epiteliais do intestino médio, inserindo-as na membrana alvo (BRAVO & SOBERON, 2007). A proteína *cry* ao alcançar o intestino médio do organismo alvo é degradada parcialmente e uma parte pequena com atividade tóxica é liberada. Essa parte menor somente apresentará toxicidade caso se acoplar numa região específica das células que recobrem o intestino dos animais (receptor de proteína), sendo que esse receptor só existe em algumas espécies de larvas de insetos (BRAVO & SOBERON, 2007).

Produtos à base de *Bt* agem por ingestão e, desta forma, para agir os cristais proteicos precisam ser dissolvidos no ambiente alcalino do intestino médio do inseto, que destrói as pontes de sal existentes entre as subunidades proteicas (COOPER, 1994). Como consequência, as toxinas ativadas se ligam às células epiteliais receptoras do intestino médio do inseto, causando sua ruptura, paralisia do funcionamento do órgão, cessação da alimentação e morte do inseto (COOPER, 1994).

Regode et al. (2016) estudaram características das proteases bacterianas intestinais envolvidas na ativação da protoxina *cry1Ac* inativa (pro-*cry1Ac*) em toxina

ativa em *H. armigera*. Proteases produzidas por bactérias do intestino médio estão envolvidas no processamento proteolítico da protoxina e desempenham um papel importante na indução da patogenicidade de toxinas de *B. thuringiensis* na lagarta.

Várias toxinas de *Bt* se mostram efetivas contra *H. armigera* incluindo *cry1A*, *cry2A* (GUJAR et al., 2007), VIP3Aa (WEI et al., 2017), dentre outros, no que pese já existirem alguns relatos de resistência (ZHANG et al., 2021) em função da ampla disseminação dessas toxinas nas espécies vegetais cultivadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados na Fazenda Simone no laboratório MOARA Bioestimulantes Agroambientais, localizada no Núcleo Rural Rio Preto, Brasília (DF), coordenadas 15°45'56.0''S e 47°28'57.3''O. Os experimentos foram conduzidos em laboratório em condições controladas de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas e UR de 60%. Os ovos e a dieta artificial usada na alimentação de *H. armigera* foram comprados no website pragas.com. Utilizou-se nos bioensaios o bioinseticida *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* estirpe S1450, cepa pertencente à EMBRAPA.

O produto à base de formulação de *Bacillus thuringiensis* utilizado no ensaio foi produzido em biorreator com capacidade de 2000 L em escala industrial com concentração $2,0 \times 10^9$ UFC/mL. Essa formulação passa por alguns processos, que se inicia na ativação da bactéria preparo do inóculo em laboratório, preparo dos equipamentos e processo de produção.

Todas as matérias primas utilizadas são esterilizadas a $122,5^{\circ}\text{C}$ por 2 horas, garantindo um produto final sem contaminantes, esse processo até o produto final leva 48 horas. Todo o processo é automatizado, possui controle de aeração, controle de temperatura e controle de pH. Durante o processo são coletadas amostras para o acompanhamento do desenvolvimento da bactéria. Após o produto ser envasado ele passa por um controle de qualidade, que é a obtenção do resultado da concentração e da pureza do produto .

Foram testadas cinco concentrações do bioinseticida à base de Btk correspondentes à 0,2 L/ha, 0,6 L/ha, 1,0 L/ha, 2,0 L/ha e 3,0 L/ha, além dos controles negativo (água destilada) e positivo (UPMYL produto comercializado pela UPL, Ituverava/SP na concentração de 0,6 L/ha) sobre seis fases das lagartas: neonatas, 1°, 2°, 3°, 4° e 5°. ínstares. Utilizou-se como volume de calda 100 L/ha. O delineamento

experimental foi o inteiramente casualizado com 32 repetições. O pH da solução diluente no caso utilizamos água destilada foi pH 7,0, e da formulação a base de Bt foi pH 6,49.

As soluções foram preparadas no momento da utilização (Figura 1). Cada repetição foi representada por uma célula de 4 por 6 cm (L x C) preenchida com 5 mL com de dieta artificial conforme (RIBEIRO, 2017). As soluções de tratamento foram aplicadas diretamente sobre as dietas contidas nas células e que serviram de alimentação para as lagartas (Figura 2). Após a aplicação, a solução de tratamento foi uniformizada sobre a dieta de tal forma a permitir sua distribuição homogênea, conforme representado na Figura 3. Em seguida, as células tratadas foram mantidas sob câmara de fluxo laminar, até a a secagem da solução e, em seguida, procedeu-se a transferência das lagartas para as células, com auxílio de um pincel fino (Figura 4).

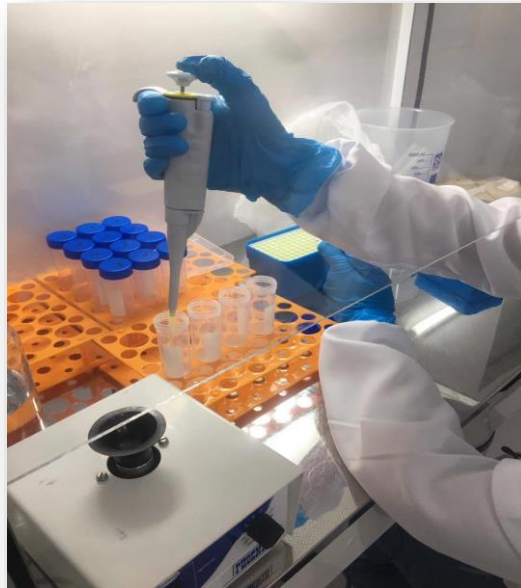


Figura 1. Preparo das soluções de tratamento. Foto: Pelicioli, D.

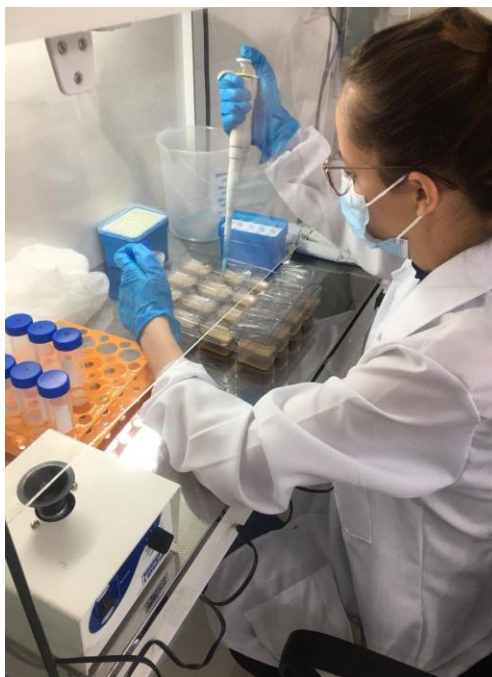


Figura 2. Aplicação das soluções de tratamento. Foto: Pelicioli, D.

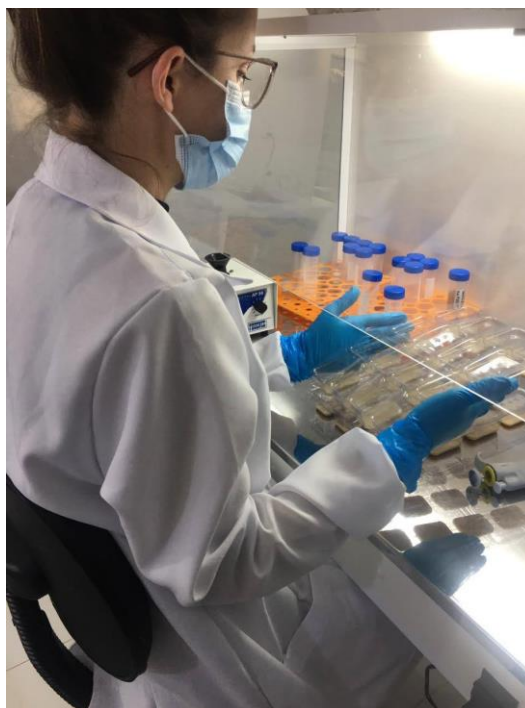


Figura 3. Uniformização das soluções de tratamento sobre a dieta. Foto: Pelicioli, D.



Figura 4. Transferência das lagartas para células. Foto: Pelicioli, D.

As bandejas tratadas e contendo as lagartas sob teste foram mantidas sob temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, fotofase de 12 horas e UR de 60%. As avaliações da mortalidade das lagartas foram feitas 24, 48, 72, 96 e 120 h após o contato das lagartas com os tratamentos. A lagarta foi considerada morta quando não exibia nenhum movimento. Os dados de mortalidade após 96 h do tratamento para as diferentes concentrações testadas foram convertidos em porcentagem de mortalidade e utilizados para plotagem da média em um gráfico, acompanhado do erro padrão da média (EPM), utilizando o Sigma Plot para a montagem do gráfico. Tendo em vista que a mortalidade ocorrida na testemunha de todos os ínstares testados foi em média inferior 2%, a mortalidade ocorrida nos tratamento não foi corrigida para a mortalidade ocorrida na testemunha.

Os dados de número de lagartas mortas foram submetidos ainda à análise de Probit a $P > 0,05$ para determinar as concentrações (mL/ha) que causavam mortalidade em cada tempo de avaliação e para cada um dos estágios do inseto testado. Semelhantemente, os tempos de mortalidade (min) associados às diferentes probabilidades foram testados para cada concentração avaliada e para os diferentes estágios do inseto testados. Foram representadas apenas as CL_{50} e as TL_{50} dos dados que se ajustaram à distribuição de Probit. As análises foram realizadas no SAS System (SAS, 2002).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da mortalidade média das diferentes fases das lagartas de *H. armigera* submetidas às diferentes concentrações da formulação de *Bt*, 4 dias após o tratamento, permitem observar que no caso das neonatas e das lagartas de 1º. ínstar, a menor concentração de 200 mL/ha já foi capaz de proporcionar mortalidade significativa e acima ou bem próxima de 80% (Figura 5). Já no caso das lagartas de 2º. e 3º. instares, foi necessário uma concentração maior e equivalente a 600 mL/ha, para proporcionar mortalidades iguais ou acima de 75% (Figura 5). Já no caso das lagartas de 4º. e 5º. ínstars, mesmo a maior concentração, de 3.000 mL/ha, proporcionou mortalidades abaixo de 70% (Figura 5). Os resultados obtidos são compatíveis com o esperado e explicados pelos efeitos do produto, que age de maneira mais eficiente sobre indivíduos mais jovens quando comparado aos indivíduos mais velhos (SANAHUJA et al., 2011). Nesse sentido, Li & Bouwer (2012) ao testarem a toxicidade de toxinas *cry* de *Bt* para lagartas neonatas e de segundo ínstar de *Bt* também observaram menor suscetibilidade das lagartas de 2º. ínstar, quando comparadas às neonatas.

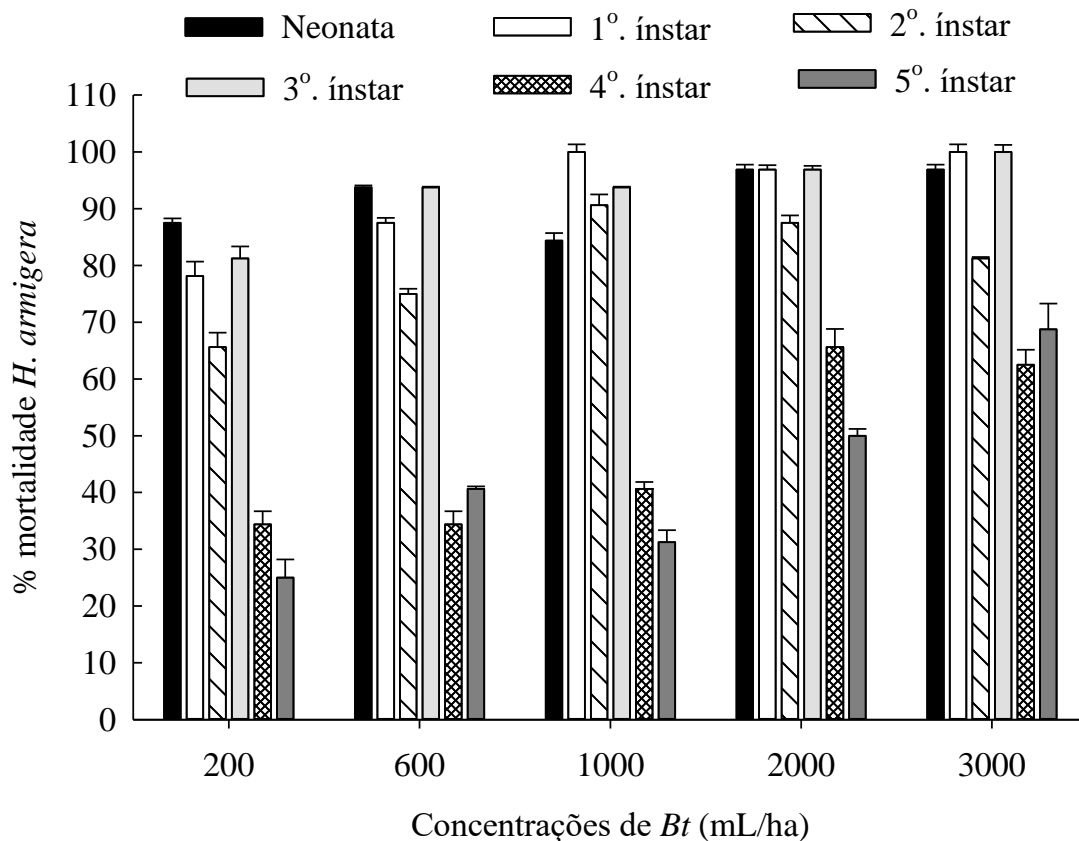


Figura 5. Porcentagem de mortalidade de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) 96 h (4 dias) após o tratamento com diferentes concentrações de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

De modo geral, o tempo requerido para causar mortalidade em 50% das lagartas de *H. armigera* (TL₅₀ em min) reduziu mediante aumento da concentração da formulação à base de *Bt*, independentemente do ínstar testado (Tabela 1). Entretanto, de maneira geral, o tempo requerido para causar a mortalidade de 50% das lagartas aumentou, a medida que elas ficaram mais velhas (Tabela 1). A única exceção foram os TL₅₀s estimados para o 2º. e 3º. ínstars que foram bem próximos entre si (Tabela 1). A partir do 4º. e 5º. ínstars os TL₅₀s aumentaram consideravelmente, sendo que mesmo nas concentrações mais altas, de 2.000 e 3.000 mL/ha, respectivamente, seriam requeridos sete e seis dias, para matar aproximadamente 100% das lagartas de 4º. e 5º. ínstar (Tabela 1). No caso das lagartas neonatas e de 1º. ínstar, mesmo utilizando as concentrações mais baixas, de 200 mL/ha e 600 mL/ha, respectivamente, seriam requeridos cerca de quatro e cinco dias para que 100%

das lagartas morressem (Tabela 1). A partir do 2º. ínstar, a expectativa de morte de 100% das lagartas dentre desse intervalo de tempo de cerca de 5 dias, se dá apenas mediante a exposição à concentração de 1.000 mL/ha (Tabela 1).

Tabela 1. Tempo que causa mortalidade (min.) em 50% da população (TL₅₀) de diferentes ínstares de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) expostos a diferentes concentrações de formulação à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

Ínstar	Concentração (mL/ha)	GL ^a	n ^b	Inclinação ± EPM ^c	TL ₅₀ (95% IC) ^d	χ ²	Valor de P
Neonata	200	3	160	3,64 ± 0,51	49,83 (41,92 ± 57,55)	4,40	0,22
	600	3	160	3,32 ± 0,51	39,05 (31,10 ± 46,14)	5,90	0,12
	1000	3	160	2,74 ± 0,73	38,78 (3,75 ± 62,82)	7,29	0,06
Primeiro	200	3	160	6,44 ± 0,93	66,43 (59,63 ± 72,90)	3,24	0,36
	600	3	160	5,61 ± 0,76	57,91 (51,16 ± 64,37)	2,16	0,54
	2000	3	160	7,45 ± 1,14	50,36 (44,46 ± 55,53)	0,75	0,86
	3000	3	160	7,98 ± 1,25	45,54 (40,35 ± 50,32)	2,03	0,57
Segundo	200	3	160	6,19 ± 1,42	73,52 (49,51 ± 99,36)	7,14	0,07
	600	3	160	7,32 ± 1,06	71,47 (65,01 ± 77,77)	3,14	0,37
	1000	3	160	6,77 ± 0,98	56,18 (49,83 ± 61,89)	1,49	0,68
	2000	3	160	5,59 ± 0,74	56,09 (49,37 ± 62,46)	2,41	0,49
	3000	3	160	5,79 ± 0,79	64,54 (57,58 ± 71,39)	5,91	0,12
Terceiro	200	3	160	4,46 ± 0,64	62,77 (54,57 ± 70,80)	5,19	0,16
	600	3	160	5,97 ± 0,80	48,08 (41,85 ± 53,77)	4,89	0,18
	1000	3	160	6,09 ± 0,82	46,89 (41,00 ± 52,38)	1,86	0,60
	2000	3	160	5,93 ± 0,78	45,52 (39,63 ± 51,02)	4,42	0,22
	3000	3	160	5,03 ± 0,98	41,16 (24,58 ± 56,35)	6,52	0,09

...continuação Tabela 1

Ínstar	Concentração (mL/ha)	GL ^a	n ^b	Inclinação ± EPM ^c	TL ₅₀ (95% IC) ^d	χ ²	Valor de P
Quarto	200	3	160	5,25 ± 1,31	127,74 (110,98 ± 176,29)	2,27	0,52
	600	3	160	4,83 ± 1,16	124,96 (108,16 ± 170,83)	1,96	0,58
	1000	3	160	7,56 ± 1,57	110,00 (101,00 ± 125,27)	1,51	0,68
	2000	3	160	5,48 ± 0,89	84,38 (75,90 ± 94,10)	1,43	0,71
Quinto	200	3	160	3,49 ± 1,02	165,10 (126,58 ± 389,19)	0,64	0,89
	600	3	160	2,56 ± 0,60	125,41 (99,38 ± 206,22)	2,71	0,44
	1000	3	160	4,47 ± 1,00	120,03 (103,80 ± 159,43)	0,29	0,96
	2000	3	160	4,67 ± 0,86	98,55 (87,53 ± 115,99)	0,66	0,88
	3000	3	160	3,59 ± 0,56	69,83 (60,11 ± 80,86)	0,46	0,93

^aGraus de liberdade; ^bnúmero de insetos tratados; ^cinclinação da curva dose-mortalidade e seu erro padrão da média (EPM); ^dvalores de tempo letal e seu respectivo intervalo de confiança (IC a 95%).

As concentrações que causaram 50% de mortalidade nas lagartas neonatas, de 1º, 2º e 3º. ínstaes de *H. armigera* assumiram valores desproporcionalmente elevados quando os intervalos de avaliação foram inferiores a três (72 h) ou quatro (96 h) dias (Tabela 2). A concentração requerida para matar aproximadamente 100% das lagartas neonatas três dias após a exposição (72 h) foi de 170,64 mL/ha (Tabela 2); no caso das lagartas de 1º, 2º e 3º. ínstaes essas concentrações foram de 110,3, 123,4 e 71,9 mL/ha, aos quatro dias após a exposição (96 h) (Tabela 2). A concentração estimada para matar 100% das lagartas de 4º e 5º. ínstaes cinco dias (120 h) após a exposição seria de 1.164,7 mL/ha e de 1.638,2 mL/ha, respectivamente (Tabela 2). Todavia, há que se considerar a amplitude dos intervalos de confiança na confiabilidade das estimativas, sendo que na maioria dos casos eles foram bastante amplos (Tabela 2). Desta forma, se considerarmos por exemplo, a amplitude do intervalo de confiança na expectativa de mortalidade de 100% das lagartas neonatas, a concentração requerida seria de aproximadamente 674 mL/ha (Tabela 2). As inclinações das curvas variaram de $0,67 \pm 0,31$ a $7,98 \pm 1,25$ (Tabelas 1 e 2). Maiores inclinações correspondem a um maior efeito tóxico sobre os ínstaes testados.

Estudos realizados com *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae), obtiveram uma CL_{50} de 0,46 (0,43-0,49) mg mL⁻¹ após 108 horas da exposição de lagartas de quarto ínstar (CASTRO & CASTRO, 2019), o que corrobora os resultados encontrados no presente trabalho de maior resistências de lagartas de ínstaes mais velhos à ação das toxinas de *Bt*. Esses efeitos de aumento da tolerância das lagartas aos produtos usados para o seu controle à medida que ficam mais velhas são observados inclusive para produtos sintéticos, como foi verificado mediante o aumento na concentração (CL_{50}) do Spinosad requerida para matar lagartas da traça-do-tomateiro do primeiro para o terceiro ínstar (HASHEMITASSUJI et al., 2015).

Formulações à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (linhagem local DOR Bt-1) foram altamente eficientes no controle de *H. armigera* infestando girassol, especialmente quando usadas em mistura com ácido bórico (um adjuvante), três dias após a pulverização e mesmo quando usadas na menor concentração de 1mL/L sob condições de campo. Entretanto, como se tratava de uma formulação sólida, a eficácia foi aumentada mediante redução no tamanho da partícula da formulação (DEVI & VINEELA, 2014).

Desta forma, faz-se necessário evidenciar que existem fatores que podem alterar a suscetibilidade das pragas às toxinas de *Bt*, e estes incluem: variabilidade entre diferentes populações geográficas (VAN FRANKENHUYZEN, 2009; LI & BOUWER, 2012; SEBASTIÃO et al., 2015), as táticas de controle utilizadas na área

(CHANDRASHEKAR et al., 2005), a metodologia adotada nos protocolos dos bioensaios e as condições experimentais, além do vigor da população que podem afetar a capacidade do inseto em suportar o estresse imposto pelo *Bt* (AVILLA et al., 2005; BIRD & AKHURST, 2007). Além disso, o carreador usado na formulação pode alterar grandemente sua eficácia (SWAMI et al., 2017).

Tabela 2. Concentração de formulação à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (mL/ha) que causa 50% de mortalidade (CL₅₀) em diferentes ínstares de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes tempos de avaliação.

Ínstar	Tempo de avaliação (h)	GL	n	Inclinação ± EPM	CL ₅₀ (95% IC)	χ ²	Valor de P
Neonata	24	1	96	0,74 ± 0,33	3.019 (1.233 ± 94.640.993)	0,04	0,84
	48	1	96	0,68 ± 0,25	670,85 (91,61 ± 1,731)	2,18	0,14
	72	2	128	0,81 ± 0,28	85,32 (0,63 ± 251,62)	2,44	0,29
Primeiro	48	2	128	0,68 ± 0,25	2.862 (1.308 ± 70.379)	0,03	0,98
	72	2	128	1,22 ± 0,29	188,31 (52,50 ± 334,94)	2,11	0,35
	96	2	128	1,26 ± 0,41	55,15 (1,13 ± 144,48)	0,92	0,63
Segundo	72	2	128	1,22 ± 0,33	363,72 (152,32 ± 563,81)	2,51	0,28
	96	1	96	0,74 ± 0,36	61,69 (3,01 x 10 ⁻¹⁷ ± 212,64)	0,08	0,78
Terceiro	24	3	160	2,53 ± 1,03	7.431 (4.075 ± 1.020.460)	1,88	0,60
	48	1	96	0,67 ± 0,31	980,37 (273,84 ± 45.552)	0,17	0,68
	72	2	128	1,01 ± 0,39	46,22 (0,01 ± 149,73)	0,58	0,75
	96	2	128	1,15 ± 0,40	35,93 (0,09 ± 123,01)	0,70	0,70
	120	3	160	1,49 ± 0,50	45,52 (0,54 ± 122,90)	3,73	0,29
Quarto	72	1	96	1,13 ± 0,38	3.556 (1.660 ± 72.722)	0,39	0,53
	96	1	96	1,57 ± 0,61	1.196 (757,12 ± 2.616)	0,40	0,52
	120	3	160	1,08 ± 0,26	582,35 (300,74 ± 896,71)	2,49	0,78
Quinto	96	2	128	0,91 ± 0,27	1.632 (910,15 ± 4.211)	3,30	0,19
	120	3	160	1,12 ± 0,26	819,08 (495,04 ± 1.267)	0,90	0,82

^aGraus de liberdade; ^bnúmero de insetos tratados; ^cinclinação da curva dose-mortalidade e seu erro padrão da média (EPM); ^dvalores de tempo letal e seu respectivo intervalo de confiança (IC a 95%).

7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que as lagartas de *H. armigera* devem ser monitoradas frequentemente priorizando o controle das lagartas neonatas, de 1º. e 2º. ínstaes, que são mais suscetíveis à ação da formulação e, dentro do prazo normalmente requerido para ação do produto, de até cinco dias após a aplicação, será obtido o efeito de toxicidade aguda, com conseqüente mortalidade da praga. Tendo em vista a amplitude dos intervalos de confiança obtidos, a concentração do produto que mais se aproxima daquela a ser usada nessa circunstância é a de 600 mL/ha. Entretanto, tendo em vista que esses resultados foram obtidos em ensaios *in vitro* e com lagartas obtidas de criação massal, é importante considerar que essa recomendação pode variar consideravelmente a campo, principalmente mediante interação com os fatores abióticos e exposição de populações submetidas à pressão de seleção impostas pelas toxinas *Bt* incorporadas nas plantas cultivadas, assim como devido à variabilidade entre populações e até mesmo entre híbridos provenientes do cruzamento de diferentes espécies. Desta forma, faz-se necessário em uma próxima etapa, fazer a validação dos resultados obtidos no presente trabalho em outros ambientes, assim como testar outras populações da praga.

8 REFERÊNCIAS

ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. 2013. Em <www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/963341/1/CT201323REVATONLINE.pdf> Acesso em 18 de junho de 2022.

AVILLA, C.; VARGAS-OSUNA, E.; GONZÁLEZ-CABRERA, J.; FERRÉ J.; GONZÁLEZ-ZAMORA, J.E. Toxicity of several delta-endotoxins of *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Spain. *Journal of Invertebrate Pathology*, 90: 51–4. 2005.

BEBBER, D. P.; HOLMES, T.; GURR, S. J. The global spread of crop pests and pathogens.p.1398–1407,2014:Disponível em:<http://www.cabi.org/cpc/datasheet/26757>
Acesso em 18 de junho de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 59, DE 18 DE DEZEMBRO DE 2013a. Disponível em: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/cefiti/leg/IN59-2013.pdf>. Acesso em: 15 de setembro de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 41, DE 1º DE JULHO DE 2008b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/publicacoes-sementes-e-mudas/INN41de1dejulhode2008.pdf>. Acesso em: 15 de setembro de 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Agrofit. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Consulta em: 15 de setembro de 2022c.

BRAVO, A., GILL, S. S., SOBERON, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49(4), 423-435. 2007.

BIRD, L.J.; DOWNES, S.J. Toxicity and cross-resistance of insecticides to cry2ab-resistant and cry2ab-susceptible *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 107: 1923-1930, 2014.

BIRD L.J., AKHURST R.J. Variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae) in 27 Australia to two *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Invertebrate Pathology*, 94: 84–94. 2007.

BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; MIKAMI, A.Y.; POMARI-FERNANDES A.; BORTOLOTTI, O.C. Mais temidas. Caderno Técnico Cultivar Grandes Culturas, Julho:1-11, 2014.

CABI. Crop Protection Compendium. *Helicoverpa armigera*. 2014. CDB. Convention on Biological Diversity. Disponível em: < <https://www.cbd.int/> > Acesso em: 21 de junho de 2022.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA); Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea). PIB-AGRO/CEPEA: PIB DO AGRO CRESCE 8,36% EM 2021; PARTICIPAÇÃO NO PIB BRASILEIRO CHEGA A 27,4%. Disponível em: https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_CNA_PIB_JAn_De1z_2021_Março2022.pdf Acesso em: 21 de junho de 2022.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Inimigos naturais de *Helicoverpa armigera* em soja. Comunicado Técnico 80. EMBRAPA Milho e Soja. Londrina, PR Agosto, 2014.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110113, 2013a.

CZEPAK, C.; ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; ALBERNAZ, K. C. Praga da vez. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, n. 176, p. 4-11, 2013b.

CHANDRASHEKAR, K., KUMARI, A., KALIA, V., GUJAR, G.T. Baseline susceptibility of the American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) to *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* and its endotoxins in India. Current Science, 88: 167–175. 2005.

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA (CTNBio). Liberações comerciais: plantas. Disponível em: [http://ctnbio.mctic.gov.br/liberacao-comercial/-/document_library_display/SqhWdohU4BvU/view/614405;jsessionid=1B4748CC1D9EF19E222A0357D84D41AE.columba? 110_INSTANCE_SqhWdohU4BvU_redirect=htp%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fliberacao-comercial%3Bjsessionid%3D1B4748CC1D9EF19E222A0357D84D41AE.columba%3Fp_p_id%3D110_INSTANCE_SqhWdohU4BvU%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_stat%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-2%26p_p_col_count%3D3#/liberacao-comercial/consultar-processo](http://ctnbio.mctic.gov.br/liberacao-comercial/-/document_library_display/SqhWdohU4BvU/view/614405;jsessionid=1B4748CC1D9EF19E222A0357D84D41AE.columba?_110_INSTANCE_SqhWdohU4BvU_redirect=htp%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Fliberacao-comercial%3Bjsessionid%3D1B4748CC1D9EF19E222A0357D84D41AE.columba%3Fp_p_id%3D110_INSTANCE_SqhWdohU4BvU%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_stat%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-2%26p_p_col_count%3D3#/liberacao-comercial/consultar-processo). Acesso em: 16 de setembro de 2022.

CUNNINGHAM, J.P.; ZALUCKI, M.P. Understanding heliothine pests: What is a host plant? *Journal of Economic Entomology*. 107: 881–896, 2014.

COOPER, D. *Bacillus thuringiensis* toxins and mode of action. *Agriculture, Ecosystems, and Environment*, 49: 21-26, 1994.

CASTRO & CASTRO, B.M.; MARTINEZ, L.C.; BARBOSA, S.G.; SERRÃO, J.E.; WILCKEN, C.F.; SOARES, M.A.; SILVA, A.A.; CARVALHO, A.G.; ZANUNCIO, J.C. Toxicity and cytopathology mediated by *Bacillus thuringiensis* in the midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Scientific Reports*, 9: 6667, 2019.

DEVI, P.S.; VINEELA, V. Suspension concentrate formulation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* for effective management of *Helicoverpa armigera* on sunflower (*Helianthus annuus*). *Biocontrol, Science and Technology*, 25: 329-336, 2014.

DE SOUSA, C. C.; COSTA, M. F. MELHORAMENTO DE SOJA VISANDO RESISTÊNCIA À *Helicoverpa armigera*: UMA REVISÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS/ Soybean breeding aiming at resistance to *Helicoverpa armigera*: a review and future prospects. *Jornal Interdisciplinar de Biociências*, 5: 24-29, 2020.

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization. Data sheets on quarantine *Helicoverpa armigera*. 2007. Disponível em < http://www.eppo.int/QUARANTINE/insects/Helicoverpa_armigera/HELIAR_ds.pdf >. Acesso em 10 de junho de 2022.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. Annual Review of Entomology, 34: 17–52, 1989.

GABRIEL, D. Lagarta *Helicoverpa*: mais um sério problema. 2013 Em < <http://repositoriobiologico.com.br/jspui/bitstream/123456789/262/2/Lagarta%20Helicoverpa%20mais%20um%20s%C3%A9rio%20problema.pdf> > Acesso em 17 de junho de 2022.

GONÇALVES, R.M.; MASTRANGELO, T.; RODRIGUES, J.C.V.; PAULO, D.F.; OMOTO, C.; CORRÊA, A.S.; AZEREDO-ESPIN, A.M.L. Invasion origin, rapid population expansion, and the lack of genetic structure of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) in the Americas. Ecology and Evolution, 9: 7378-7401, 2019.

GUEDES, J. V. C.; ARNEMANN, J. A.; PERINI, C. R.; ARRUE, A.; ROHRIG, A. Manejar ou perder. Revista Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, n. 176 , p. 12-16, 2013.

GUJAR, G.T.; KALIA, V.; KUMARI, A.; SINGH, B.P.; MITTAL, A.; NAIR, R.; MOHAN, M. *Helicoverpa armigera* baseline susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins and resistance management for Bt cotton in India. Journal of Invertebrate Pathology, 95: 214-219, 2007.

HAILE, F.; NOWATZKI, T.; STORER, N. Overview of pest status, potential risk, and management considerations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) for U.S. soybean production. Journal of Integrated Pest Management, 12: 3, 2021.

HASHEMITASSUJI, A.; SAFARALIZADEH, M.H.; ARAMIDESH, S.; HASHEMITASSUJI, Z. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and Spinosad on three larval stages 1st, 2nd and 3rd of tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in laboratory conditions. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 48: 377-384, 2015.

JALLOULI, W., DRISS, F., FILLAUDEAU, L., ROUIS, S. Review on biopesticide production by *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* since 1990: Focus on bioprocess parameters. Process Biochemistry, 98: 224-232. 2020.

JONES, C. M., PARRY, H., TAY, W. T., REYNOLDS, D. R., CHAPMAN, J. W. Movement ecology of pest *Helicoverpa*: implications for ongoing spread. Annual review of entomology, 64: 277-295. 2018.

JORNAL DA USP. Praga invasora resiste a inseticidas recomendados pelo governo. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-agrarias/praga-invasora-resiste-a-inseticidas-recomendados-pelo-governo/>. Acesso em: 16 de setembro de 2022.

KAUR, S. Molecular approaches towards development of novel *Bacillus thuringiensis* biopesticides. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16: 781-793. 2000.

KRITICOS, D.J.; OTA, N.; HUTCHISON, W.D.; BEDDOW, J.; WALSH, T.; TAY, W.T.; BORCHERT, D.M.. PAULA-MORAES, S.V.; CZEPACK, C.; ZALUCKI, M.P. The potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in North America: is it just a matter of time? Plos One, 10: e0133224, 2015.

LAMMERS, J. W.; MACLEOD, A. report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808). Plant Protection Service and Central Science Laboratory, European Union, 18p. 2007.

Liu, Z.D.; Scheirs, J.; Heckel, D.G. Host plant flowering increases both adult oviposition preference and larval performance of a generalist herbivore. Environmental Entomology, 39: 552–560, 2010.

LI, H.; BOUWER, G. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109: 110-116, 2012.

MIRANDA, J. E. Perdas por Pragas e Impacto Sobre o Custo de Produção do Algodão Brasileiro nas Safras 2011/2012 e 2012/2013. IN: 9º Congresso Brasileiro do Algodão. Embrapa Algodão, Núcleo do Cerrado, p. 2, 2013.

MIRONIDIS, G.K.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Development, survivorship, and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) under constant and alternating temperatures. *Environmental Entomology*. 37: 16–28, 2008.

POMARI-FERNANDES, A.; BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R. *Helicoverpa armigera*: current status and future perspectives in Brazil. *Current Agricultural Science and Technology*, 21: 1-7, 2015.

REGODE, V., KURUBA, S., MOHAMMAD, A. S., SHARMA, H. C. Isolation and characterization of gut bacterial proteases involved in inducing pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* toxin in cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Frontiers in microbiology*, 7: 1567, 2016.

RIBEIRO, Z. A. Dieta artificial e metodologia de criação massal para o bem-estar de *Helicoverpa armigera*. Jaboticabal, 2017 vi, 122 p.;29 https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/148902/ribeiro_za_dr_jabo.pdf?sequence=3&isAllowed=y.

STACKE, R. F., ARNEMANN, J. A., ROGERS, J., STACKE, R. S., STRAHL, T. T., PERINI, C. R., GUEDES, J. V. Damage assessment of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean reproductive stages. *Crop Protection*, 112, 10-17. 2018.

STACKE, R. F.; DOSSIN, M. F.; COLPO, T.; ARNEMANN, J. A.; ROGERS, J.; STACKE, R. S.; STRAHL, T.; PERINI, C. R.; POZEBON, H.; CAVALLIN L. A.; GUEDES, J. V.C. Quais os danos de *Helicoverpa armigera* em soja no Brasil? Disponível em: <https://maissoja.com.br/quais-os-danos-de-helicoverpa-armigera-em-soja-no-brasil2quais-os-danos-de-helicoverpa-armigera-em-soja-no-brasil/>. Acesso em: 23 de junho de 2022.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V. de; YANO, S. A. C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 48: 689-692, 2013.

SUZANA, C. S., DAMIANI, R., FORTUNA, L. S., SALVADORI, J. R. Desempenho de larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes fontes alimentares. Pesquisa Agropecuária Tropical, 45: 480-485. 2015.

SEBASTIÃO, I., LEMES, A.R.N., FIGUEIREDO, C.S., POLANCZYK, R.A., DESIDÉRIO, J.A., LEMOS, M.V.F. Toxicidade e capacidade de ligação de proteínas Cry1 a receptores intestinais de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Pesquisa Agropecuária Brasileira, 50: 999-1005. 2015.

SAS. The SAS system. Version 9.00. Cary: SAS Institute, 2002.

SWAMI, D.; PAUL, B.; DOTASARA, S.K. Effect of carriers on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (hd-1) formulations. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5: 590-594, 2017.

TEMBROCK, L.R.; TIMM, A.E.; ZINK, F.A.; GILLIGAN, T.M. Phylogeography of the recent expansion of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in South America and the Caribbean basin. Annals of the Entomological Society of America, 112: 388-401, 2019.

VAN FRANKENHYUZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* Crystal proteins. Journal of Invertebrate Pathology 101: 1-16. 2009.

WEI, Y.; WU, S.; YANG, Y.; WU, Y. Baseline susceptibility of field populations of *Helicoverpa armigera* to *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa toxin and lack of cross-resistance between vip3aa and cry toxins. *Toxins*, 9: 127, 2017.

WANG, Q.; RUI, C.; WANG, L.; NAHIYOON, S.A.; HUANG, W.; ZHU, J.; JI, X.; YANG, Q.; YUAN, H.; CUI, L. Field-evolved resistance to 11 insecticides and the mechanisms involved in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science*, 77: 5086-5095, 2021.

ZALUCKI, M.P.; DAGLISH, G.; FIREMPONG, S.; TWINE, P. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera, Noctuidae) in Australia—What do we know? *Australian Journal of Zoology*. 34: 779–814, 1986.

ZALUCKI, M.P.; MURRAY, D.A.H.; GREGG, P.C.; FITT, G.P.; TWINE, P.H.; JONES, C. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Heliothis punctigera* (Wallengren) in the inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. *Australian Journal of Zoology*. 42: 329–346, 1994.

HANG, D.; JIN, M.; YANG, Y.; ZHANG, J.; YANG, Y.; LIU, K.; SOBERÓN, M.; BRAVO, A.; XIAO, Y.; WU, K. Synergistic resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt toxins linked to cadherin and ABC transporters mutations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 137: 103635, 2021.