



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA – FAV

**ESTIMATIVA DE CONCENTRAÇÕES E TEMPOS LETAIS DE FORMULAÇÃO À
BASE DE *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* SOBRE DIFERENTES ÍNSTARES DE
Chrysodeixis includens (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ÊMILY DIAS MONTEIRO GUIMARÃES

BRASÍLIA, DF

SETEMBRO – 2022

ÊMILY DIAS MONTEIRO GUIMARÃES

**ESTIMATIVA DE CONCENTRAÇÕES E TEMPOS LETAIS DE FORMULAÇÃO À
BASE DE *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* SOBRE DIFERENTES ÍNSTARES DE
Chrysodeixis includens (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

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 a obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Schetino Bastos.

BRASÍLIA, DF

SETEMBRO – 2022

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

GUIMARÃES, E. D. M. Estimativa de concentrações e tempos letais de formulação à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre diferentes ínstares de *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 23p. Monografia de Graduação.

Cessão de direitos

Nome do Autor: Êmily Dias Monteiro Guimarães

Título: Estimativa de concentrações e tempos letais de formulação à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre diferentes ínstares de *Chrysodeixis includens* (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)..

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.

FICHA CATAOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G963e Guimarães, Êmily Dias Monteiro
 Estimativa de concentrações e tempos letais de formulação
base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre diferentes
ínstares de *Chrysodeixis includens* (Walker) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) / Êmily Dias Monteiro Guimarães; orientador
Cristina Schetino Bastos. -- Brasília, 2022.
 23 p.

 Monografia (Graduação - Agronomia) -- Universidade de
Brasília, 2022.

 1. Inseticida microbiano. 2. bactéria. 3. imaturos. I.
Schetino Bastos, Cristina, orient. II. Título.

à

**ESTIMATIVA DE CONCENTRAÇÕES E TEMPOS LETAIS DE FORMULAÇÃO À
BASE DE *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* SOBRE DIFERENTES ÍNSTARES DE
Chrysodeixis includens (Walker) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

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.agr.br**

**ERNANDES RODRIGUES DE ALENCAR, DSc. Engenharia Agrícola/Universidade
Federal de Viçosa – Viçosa/ AVALIADOR/ E-mail: ernandes.alencar@ufv.br**

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por não ter me deixado desistir durante a caminhada, à Profa. Dra. Cristina pelo profissionalismo e por ter sido super conselheira e amiga e que vem contribuindo e me guiando no processo de desenvolvimento acadêmico, *In memoriam de Iracy da Silva Dias* minha avó materna, aos meus pais pelo apoio financeiro e fraterno e por todas instruções e incentivos desde pequena. De modo especial aos meus irmãos por toda compaixão, amor e carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus antes de tudo e todos, principalmente pelo fato de ter colocado e tirado pessoas da minha vida durante minha trajetória acadêmica, principalmente nessa fase final.

Agradeço por ter colocado pessoas essenciais como a Profa. Dra. Cristina e toda a equipe do laboratório de proteção de plantas da UnB.

De maneira especial agradeço as minhas as amigas Denise Pelicioli e Sabrina Leão, que contribuíram na execução deste trabalho.

À minha amiga Ana Paula Perotto por ter me apoiado e incentivado muito nesse último semestre.

Aos meus irmãos Emanuély e Arthur por toda paciência, cuidado e atenção desde a implantação do experimento até a finalização da escrita deste trabalho.

Aos meus pais Neto e Giselly, por terem me incentivado a chegar até aqui e insistirem para que eu continue a me especializar.

Agradeço a minha avó Maria Aparecida por todas as orações e palavras de apoio.

Agradeço ao meu namorado que mesmo chegando em minha vida nessa reta final me motivou diariamente com palavras de incentivo e apoio.

Por fim aos demais familiares e amigos que se fizeram presente de alguma forma: Jair Pelicioli, Greisson, Jordânia, Gabriella Barbosa, Joyce Senna, Amanda e Letícia, Flávia Nobre, Aline Guimarães e família.

RESUMO

Apesar de até recentemente ser considerada praga secundária da soja, atualmente a lagarta *Chrysodeixis includens* é considerada praga-chave da cultura em função dos relatos de resistência a inseticidas e da mudança nas condições do cultivo. Logo, alternativas ao seu controle devem ser buscadas. Esse trabalho objetivou estimar as concentrações letais e os tempos letais de uma formulação em larga escala de inseticida biológico à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, para lagartas de *Chrysodeixis includens*. Foram testadas cinco concentrações da formulação à base de *Bt* (0,2, 0,6, 1,0, 2,0 e 3,0 L/ha) além das testemunhas positiva (Metomil, 0,6 L/ha, Upmyl®, UPL, Ituverava, SP) e negativa (água) sobre seis ínstaros do inseto: neonatas, 1º., 2º., 3º., 4º. e 5º. ínstar. A mortalidade foi avaliada 24, 48, 72, 96 e 120 h após o tratamento. Os dados de mortalidade 72 e 96 h após o tratamento foram usados para calcular a porcentagem média de mortalidade \pm EPM. Os dados relativos ao número de insetos mortos em relação aos testados nas diferentes concentrações e tempos de avaliação foram usados em estimativas das concentrações e tempos letais, empregando a análise de Probit à $P > 0,05$. A formulação testada à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* apresentou alta efetividade no controle das lagartas neonatas até o quarto ínstar de *C. includens* quando se usou a concentração de 600 mL/ha, causando a morte de aproximadamente 100% das lagartas em até 6 dias. Esse tempo de mortalidade foi reduzido para aproximadamente quatro dias, quando se utiliza a concentração de 1.000 mL/ha. Todavia, há que se considerar que após a ingestão das toxinas de *Bt* as lagartas deixam de se alimentar e, nesse sentido, o tempo de mortalidade pode não ser justificável para que se empregue a maior concentração. Não é recomendável utilizar a formulação para o controle de lagartas de 5º. ínstar. Os resultados encontrados no presente trabalho são promissores e podem se constituir em alternativa aos produtos para os quais têm sido detectada resistência da praga. Todavia, estudos adicionais em outros ambientes e com populações encontradas a campo devem ser realizados a fim de validar os resultados encontrados no presente trabalho.

Palavras-chave: Inseticida microbiano, bactéria, imaturos.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo geral	2
2.2 Objetivo específico	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1 Soja (<i>Glycine max</i>)	3
3.2 Lagarta-falsa-medideira: <i>Chrysodeixis includens</i>	5
3.3 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	7
4 MATERIAL E MÉTODOS	8
4.1 Obtenção dos insetos e implantação do Bioensaio	8
4.2 Produção da formulação	8
4.3 Formulação testada e modo de exposição	9
4.4 Avaliação de mortalidade de <i>Chrysodeixis includens</i> e análise dos dados	10
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
7. REFERÊNCIAS	18

1. INTRODUÇÃO

Chrysodeixis includens (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) conhecida vulgarmente como falsa-medideira é considerada uma praga chave para a cultura da soja (DEGRANDER e VIVAN, 2010). As larvas desse lepidóptero, apresentam tegumento de coloração verde clara, e possuem uma série de linhas brancas longitudinais sobre o dorso e três pares de falsas pernas na região abdominal (DEGRANDER e VIVAN, 2010). O deslocamento dessas larvas assemelha-se ao de medir-palmo, originando o nome vulgar dessa espécie (DEGRANDER e VIVAN, 2010). Apesar de apresentar especial relevância para a cultura da soja, principalmente em função dos relatos de resistência a vários inseticidas usados na cultura (STACKE et al., 2019; STACKE et al., 2020) e o risco iminente de evolução de resistência às toxinas de *Bt* presentes na soja transgênica (TABASHINIK e CARRIÈRE, 2017) no que pese ainda se manter suscetível à principal toxina de *Bt* presente nas cultivares de soja (*cry1AC*) (HORIKOSHI et al., 2021), esta espécie possui uma lista de mais de 175 plantas hospedeiras (WILLE et al., 2017).

Assim, trata-se de uma espécie de hábito polífago, destacando-se como praga desfolhadora, influenciando diretamente a rentabilidade e qualidade da produção, desde a germinação até a colheita (WARMLING, 2018). Apesar de anteriormente ser considerada praga secundária da soja, recentemente adquiriu o *status* de praga-chave em função de sua ocorrência irrestrita em todos os estados do Brasil, sua alta polifagia e as dificuldades encontradas para o seu controle atribuídas ao hábito da praga que permanece protegida da ação direta dos produtos no terço mediano e inferior das plantas (BALDIN et al., 2014; SPECHT et al., 2015), à resistência à inseticidas e à mortalidade de agentes de controle biológico, especialmente fungos entomopatogênicos, em função do amplo e disseminado uso de fungicidas na soja para controle de fitopatógenos (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

Em função de todos esses problemas, associado ao uso de inseticidas sintéticos e de alteração do *status* da praga, as formulações à base de produtos biológicos cresceram em importância no manejo de *C. includens* e, nesse aspecto, as formulações à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* constituem-se em alternativas promissoras ao controle desse inseto (CARVALHO et al., 2020). As bactérias *B. thuringiensis* apresentam uma grande diversidade biológica e podem sintetizar diferentes proteínas tóxicas a diversas pragas (MONERAT, 2018). Estas toxinas são altamente específicas aos seus insetos-alvo, e não causam danos à saúde humana, e possuem efeito não poluente ao meio ambiente

por serem completamente biodegradáveis (WHITELEY e SCHNEPF, 1986; BRAVO et al., 2005; MONNERAT et al., 2007).

B. thuringiensis é capaz de sintetizar proteínas que sintetizam diferentes tipos de toxinas, sendo as mais difundidas as toxinas *cry*, que estão no cristal produzido pela bactéria e possuem ação entomopatogênica sendo tóxicas a insetos de diversas ordens (HABIB e ANDRADE, 1998; MONNERAT e BRAVO, 2000). A ação das toxinas *cry* ocorre após a sua ingestão pelos insetos, que fazem com que as larvas percam sua agilidade e o tegumento adquire tonalidade de cor marrom-escuro (HABIB e ANDRADE, 1998; MONNERAT e BRAVO, 2000). Após a morte, a larva apresenta cor negra, característica das infecções provocadas por este microrganismo (HABIB e ANDRADE, 1998; MONNERAT e BRAVO, 2000).

Bacillus thuringiensis é o principal princípio ativo de natureza biológica produzido e utilizado no mundo (MONNERAT, 2018). Nos anos 60, os trabalhos de isolamento de *B. thuringiensis* se intensificaram, o que permitiu a descoberta da estirpe de *B. thuringiensis* subespécie *kurstaki*, chamada HD-1 (DULMAGE, 1970). As formulações da maior parte dos produtos biológicos agrícolas existentes no mercado são baseadas nas estirpes das subespécies *kurstaki* HD-1 (HARRISON e BONNING, 2000) e *aizawai* (BRAVO et al., 2011), respondendo por 2 % do total de inseticidas comercializados no mundo.

Há cerca de 20 produtos à base de *B. thuringiensis* registrados no mercado para o controle de pragas agrícolas e estes produtos comerciais têm como princípios ativos as linhagens *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* e *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* e ainda uma estirpe recombinante *B. thuringiensis* *kurstaki* e *B. thuringiensis* *azaiwai* que são utilizados no controle de lagartas pertencentes à Ordem Lepidoptera (MONNERAT, 2018). No caso de *C. includens* infestando a soja, existem 10 formulações registradas para o seu controle sendo, entretanto, todos produtos sintéticos (BRASIL, 2022), não existindo nenhuma formulação à base de *Bt* registrada para o controle do inseto.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estimar as concentrações letais e os tempos letais de uma formulação em larga escala de inseticida biológico à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, para lagartas de *Chrysodeixis includens*.

2.2 Objetivo específico

Determinar as concentrações efetivas em causar toxicidade aguda e o tempo requerido para causar o efeito tóxico agudo de uma formulação à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre diferentes ínstaes de lagartas *Chrysodeixis includens*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Soja (*Glycine max*)

A soja, (*Glycine max* (L) Merrill), é classificada como uma oleaginosa da família Fabaceae (SANTOS, 2013). Segundo Hymowitz (1970) a soja tem como centro de origem o continente asiático e surgiu a partir da espécie ancestral *Glycine soja* na antiga China. Há referências bibliográficas que evidenciam o surgimento da soja domesticada em meados do Séc. XI a. C. na China (CÂMARA, 2015).

De acordo com a obra “Matéria Médica” escrita em 2838 a. C pelo imperador Shen Nung, a soja está entre “os cinco grãos sagrados”, juntamente com o arroz, a cevada, o milho e o trigo. Toda essa relevância dá-se pela essencialidade à estabilidade da civilização chinesa naquele tempo (CÂMARA, 2015).

A chegada da soja ao ocidente se deu através das primeiras embarcações europeias no fim do séc. XV e início do séc. XVI com a finalidade de realizar estudos científicos na busca por conhecimento a respeito da produtividade e do desenvolvimento da planta (CÂMARA, 2015). Mas, até o século XVII a comercialização da soja era restrita a países orientais com destaque para China, Manchúria e Japão (CÂMARA, 2015). Domesticada em latitudes entre 35 e 45° N, a soja foi disseminada para Europa e em seguida para as Américas (CAMPELO, 1998). O primeiro estado brasileiro a receber a soja foi a Bahia em 1882 e depois a região Sul do país, onde se obtiveram os melhores resultados de adaptação da cultura às condições da região (VERNETTI, 1983).

De acordo com Campelo (1998), os primeiros programas de melhoramento da soja ocorreram na região sul e basearam-se em introduções de genótipos desenvolvidos no sul dos EUA e depois no desenvolvimento de cultivares melhor adaptadas. Já nas regiões Norte e Nordeste, os programas de melhoramento, focaram em desenvolver genótipos com características de período juvenil longo (PALUDZYSZYN et al., 1993). A existência de germoplasma de soja adaptável às regiões tropicais permite que sua exploração

constitua uma atividade econômica alternativa (CAMPELO, 1998), contribuindo assim para a evolução do cultivo da soja em diferentes regiões do Brasil como ocorre atualmente.

A implantação do cultivo de soja no Brasil iniciou-se nos anos 70 e teve forte impulso a partir dos anos 90 (DALL'AGNOL, 2016). Anteriormente a esse período o Brasil teve diferentes ciclos produtivos voltados para produção agrícola do pau-brasil, da cana-de-açúcar, do cacau, do café, da borracha e, finalmente, o de soja (DALL'AGNOL, 2016). O primeiro cultivo comercial de soja no Brasil ocorreu em 1914 no Rio Grande do Sul. Porém só obteve reconhecimento como uma cultura de importância no fim dos anos 40 a partir do primeiro registro estatístico nacional de produção, correspondendo a 457 toneladas produzidas (DALL'AGNOL, 2016).

Atualmente, a produção de soja no mundo corresponde a aproximadamente 363 milhões de toneladas do grão (USDA, 2021), e o Brasil se destaca como o maior produtor mundial do grão, com cerca de 135 milhões de toneladas produzidas (CONAB, 2021) superando os Estados Unidos com 112,5 milhões de toneladas colhidas (USDA, 2021).

A soja é cultivada em todo território nacional, desde as altas latitudes da região sul, até as baixas latitudes. Resultando em produtividades médias superiores à média obtida pela soja norte-americana. Esse desenvolvimento produtivo foi possível, devido ao uso de cultivares devidamente adaptados à região tropical, como consequência do melhoramento vegetal combinado à adequada evolução da fertilidade do solo e adubação, além do desenvolvimento e aceitação de sistemas produtivos tais como o sistema de plantio direto e a adoção de práticas de manejo que visam ganhos em produtividade (CÂMARA, 2015).

Até 1999, o Paraná era o maior produtor brasileiro de soja. Atualmente, o estado do Mato Grosso é o líder nacional na produção da oleaginosa, com 10,294 milhões de hectares de área plantada (CONAB, 2021). Um fator positivo para o aumento de produção do estado foi atribuído ao aumento da área plantada, aumento na produtividade da terra e a incorporação de novas tecnologias de produção (TSUNECHIRO, 2004).

Como todo sistema de cultivo está sujeito a problemas, um dos maiores enfrentados na soja é a ocorrência de pragas tanto nos cultivos convencionais quanto nos orgânicos, afetando, portanto, a produtividade da soja (WARMLING, 2018).

3.2 Lagarta-falsa-medideira: *Chrysodeixis includens*

Chrysodeixis includens é um inseto praga pertencente à ordem Lepidoptera que ficou conhecido comumente como lagarta-falsa-medideira, tendo sido inicialmente denominada *Pseudoplusia includens*, tendo sua classificação revista em 2003 por Goater et al. (2003). Portanto, foi reclassificada no gênero *Chrysodeixis*, que é a classificação vigente (GOATER et al., 2003). De acordo com Specht et al. (2015) *C. includens* se alimenta de aproximadamente 174 espécies de plantas e, portanto, trata-se de uma praga polífaga que se adapta bem às diversas condições de clima e vegetação (SPECHT et al. 2015; NUNES et al. 2019).

O ciclo holometabólico da espécie é composto pelas fases de ovo, lagarta, pré-pupa, pupa e adulto, com duração média de 26,6 dias da fase de ovo até o período de pré-oviposição (MITCHELL, 1967; CANERDAY e ARANT, 1967). As fêmeas fazem sua oviposição de forma isolada e preferencialmente na face abaxial das folhas das espécies hospedeiras (VÁZQUEZ, 1988). São depositados cerca de 144 a 1.953 ovos/fêmea, podendo serem depositados até o sétimo dia de vida das fêmeas, inclusive cerca de 90% dessa oviposição é feita já próxima do sétimo dia de vida (VÁZQUEZ, 1988).

A distribuição geográfica de *C. includens* vai desde o norte do Estados Unidos até o Sul da América do Sul sendo, portanto, uma praga de distribuição restrita ao Hemisfério Ocidental. É comum a predominância de *C. includens* nas regiões produtoras de soja do Brasil devido a preferência alimentar da praga (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

A principal injúria causada por *C. includens* na cultura da soja segundo Baldin et al. (2014) é o aspecto rendilhado das folhas atacadas, tanto no estágio vegetativo da planta quanto no reprodutivo. Isso ocorre, pois *C. includens* não se alimenta das nervuras centrais e laterais das folhas. É comum a ocorrência simultânea ou tardia de outras lagartas tais como a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), o que segundo MOSCARDI et al. (2012) se encarrega de potencializar a desfolha provocada na cultura da soja.

Até as décadas de 70 e 80, *C. includens* era considerada praga secundária na cultura da soja (HEINRICHS e SILVA, 1976; PRADO et al., 1982; MORAES et al., 1991a, b). Segundo Guedes et al. (2015) as mudanças no manejo fitossanitário ocorrido entre 1970 e 2010 foram responsáveis pela alteração na composição da lepidofauna em soja. Nessa época as pulverizações de pesticidas tais como herbicidas, inseticidas e fungicidas eram menos frequentes do que atualmente e, conseqüentemente, lagartas como

a falsa-medideira eram mantidas sob baixa densidade populacional, em resposta a maior ocorrência de inimigos naturais (HEINRICHS; SILVA, 1975). Além disso, a maior incidência de insetos predadores e a maior predominância de fungos entomopatogênicos como *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson (doença branca) (SOSA-GÓMEZ; LASTRA; HUMBER, 2010), contribuía para manter o inseto sob menores densidades populacionais.

Com relação às formas de controle de *C. includens* destacam-se o uso de inseticidas sintéticos e as cultivares transgênicas de soja, que expressam proteínas inseticidas da bactéria *B. thuringiensis* (HORIKOSHI et al., 2021). Segundo Moscardi et al. (2012) as populações de *C. includens* ganharam destaque com o frequente uso de inseticidas piretroides, por serem não seletivos e acabarem por matar os inimigos naturais. Mas concomitantemente houve a introdução dos inseticidas do grupo das diamidas, que de acordo com Liu et al. (2010) teve intensivo uso nos cultivos de soja e acabou por reduzir a população de *A. gemmatilis* e aumentar a incidência de *C. includens*. Além disso, já existem relatos de populações resistentes a piretróides e a inseticidas do grupo dos reguladores de crescimento, inibidores da síntese de quitina (STACKE et al., 2019; STACKE et al., 2020). Logo, as alterações de manejo fitossanitário da soja no decorrer dos anos contribuíram para a prevalência de algumas espécies e redução de outras, assim como a predominância de *C. includens* e sua maior resistência a inseticidas (PERINI, 2018).

C. includens é um inseto praga de alta capacidade de consumo de área foliar e, portanto, é necessário realizar intenso monitoramento da praga durante todo o ciclo de desenvolvimento da planta (TOMQUELSKI et al., 2015). Seu controle no decorrer dos anos foi feito principalmente a partir de inseticidas sintéticos, mas essa técnica não tem sido tão eficiente, pois a praga tem alta capacidade de tolerância aos inseticidas, por ficar menos exposta às pulverizações devido ao hábito de permanecer na face abaxial das folhas (WARMLING, 2018) ou no dossel mediano e inferior das plantas, protegida da ação direta dos inseticidas (BALDIN et al., 2014; SPECHT et al., 2015). Além dos inseticidas químicos há outras alternativas de controle, como por exemplo o controle biológico à base de *B. thuringiensis*. De acordo com Waarmling (2018) tais produtos possuem eficiência e são mais seletivos do que os inseticidas sintéticos, sendo essa maior seletividade importante para um manejo fitossanitário cada vez mais responsável, pois além de minimizar danos à cultura atua ainda de forma econômica (MOURA e ROCHA,

2006) e também possibilita a conservação de inimigos naturais como predadores e parasitóides presentes em um agroecossistema (AVILA et al., 2013).

3.3 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

Entre as bactérias entomopatogênicas, as espécies de maior importância pertencem às famílias Enterobacteriaceae e Bacillaceae, além de alguns gêneros da ordem Pseudomonadales. Na família Bacillaceae, os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* são de grande importância, pois se caracterizam por apresentarem alta virulência, alta capacidade invasora e produção de toxinas, causando facilmente toxemias em insetos (GONÇALVES, 2008). De acordo com Müller-Cohn et al. (1996) o aumento dos custos e dos riscos dos inseticidas sintéticos, contribuiu com os avanços biotecnológicos da produção de bioinseticidas à base de *Bacillus* e outra contribuição é a possibilidade da criação de plantas transgênicas produtoras de toxina a partir desta bactéria.

A bactéria *B. thuringiensis* é um organismo de solo gram-positivo que, após a fase acelerada de crescimento, passa por um processo de esporulação devido à exaustão de nutrientes, produzindo um esporângio que contém um endósporo e estruturas cristalinas de proteínas (BRIGHENTI et al., 2005). Essas são as estruturas responsáveis pela ação entomopatogênica de produtos à base de *B. thuringiensis*. Esse cristal proteico é composto por um polipeptídeo denominado δ -endotoxina que quando ingerida por inseto em fases desencadeiam reações em série no organismo do alvo resultando na morte das mesmas, caracterizando, assim, o efeito do controle biológico (BRIGHENTI et al., 2005). Dessa forma, a proteína usada como bioinseticida tem participação importante em programas de controle biológico, pois não possui nenhum grau de toxicidade conhecida para os seres humanos e o ecossistema em geral (BRIGHENTI et al., 2005).

De acordo com Dulmage (1970) foi na década de 60 que ocorreu a descoberta da estirpe de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* chamada HD-1. Por sua vez, essa nova estirpe apresentou 200 vezes mais toxicidade que as outras estirpes normalmente encontradas em produtos comerciais (DULMAGE, 1970). Há evidência bibliográfica que demonstram que produtos à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* podem ser considerados bioinseticidas eficazes para lepidópteros (HABIB e ANDRADE, 1986; ATTANTHON et al., 1995; BEHLE et al., 1997). Os produtos contendo toxinas específicas para lepidópteros são os mais encontrados no mercado, pois a maioria dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* usados para controlar pragas agrícolas são formulados

com a linhagem HD-1, da subespécie *kurstaki*, que tem alta toxicidade e amplo espectro de ação (GOULART, 2010).

B. thuringiensis produz diferentes tipos de toxinas: as δ -endotoxinas, α -exotoxina, β -exotoxina, VIP (vegetative insecticidal proteins) e SIP (secreted insecticidal proteins) (ESTRUCH et al., 1996; HOFTE e WHITELEY, 1989; WARREN et al., 1998; HANSEN e SALAMITOU, 2000). A ação das toxinas *cry* ocorre após a sua ingestão pelos insetos. São sintomas da intoxicação por *B. thuringiensis* var. *kurstaki* redução alimentar ou abandono do alimento, paralisia do intestino, vômito, diarreia, e por fim paralisia total e morte do inseto alvo (ARONSON et al., 1986). As lagartas afetadas perdem a agilidade e adquirem tonalidade de cor marrom-escura (HABIB e ANDRADE, 1998; MONNERAT e BRAVO, 2000), sintomas estes característicos da intoxicação por *B. thuringiensis* var. *kurstaki*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção dos insetos e implantação do Bioensaio

O bioensaio em questão foi conduzido e instalado em sala de laboratório de empresa privada unidade WDR Indústria, localizada no Núcleo Rural Rio Preto, Planaltina, DF em BOD regulada para $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e Fotofase de 12h. Os insetos utilizados na instalação do bioensaio foram obtidos através de compra de ovos diretamente com a empresa Pragmas.com. Além dos ovos foram compradas também dietas artificiais específicas que segundo empresa fornecedora foi produzida de acordo com Ribeiro, (2017) contendo modificações.

4.2 Produção da formulação

A formulação do bioinseticida testado foi a base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* capaz de expressar as toxinas *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1B* e *cry2*. Essa formulação foi desenvolvida a partir da ativação das bactéria em meio líquido. Assim, distribuiu-se 100 mL de meio de cultura líquido previamente preparado e autoclavado em dois Erlenmeyers de 250 mL. A ativação da bactéria ocorreu através da adição de uma fita de preservação bacteriana feita em papel filtro para cada 100 mL por erlenmeyer. Em seguida, a solução foi levada para agitação a 130 RPM e 30°C por 72

horas em incubadora tipo *shake*. Após as 72h, transferiu-se 50 mL do inóculo produzido para dois erlenmeyers de 2 L de capacidade cada contendo 500 mL de meio de cultura líquido previamente preparado e estéril e repetindo o processo de incubação sob agitação por 72h. Assim, obteve-se aproximadamente um volume final de 1,1 L de inóculo. Para assegurar a pureza do inóculo foi feita uma microscopia a cada 24 h do preparo do inóculo, sendo feito ainda um controle de qualidade, caracterizado por diluições seriadas e plaqueamento por microgotas em placas de *Petri* incubadas por até 48 h a fim de se avaliar o crescimento bacteriano e a presença ou não de contaminantes. Ao fim do preparo e sob uma cabine de fluxo laminar, o inóculo é transferido para um frasco de borossilicato, com tampa adaptada para a recepção de mangueiras que são acopladas às válvulas do biorreator, para realizar então a inoculação em 2000 L do biorreator. O controle de qualidade da formulação deve assegurar que ela não apresente contaminantes em análises feitas sob meio de cultura sólido e em microscopia óptica e apresente uma média de concentração de $1,33 \times 10^9$ UFC/mL.

4.3 Formulação testada e modo de exposição

A formulação do bioinseticida testado é a base de *Bacillus thuringiensis* correspondente a cepa S1450 e subespécie *kurstaki* que segundo Monnerat et al. (1999) normalmente expressa as toxinas *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry2Aa* e *cry2Ab*, descritas como tóxicas a insetos da ordem Lepidoptera. De acordo com os testes de controle de qualidade, as amostras não apresentaram contaminantes em análises feitas sob meio de cultura sólido e em microscopia óptica e apresentaram uma média de concentração de $1,33 \times 10^9$ UFC/mL. O bioensaio foi conduzido em laboratório e consistiu em expor as lagartas a uma dieta artificial tratada com a formulação teste de um produto produzido em larga escala descrito anteriormente.

Para estabelecer as faixas de concentrações tempos de mortalidade foram testados sete tratamentos sendo, controle negativo (água), controle positivo (Metomil, 0,6 L/ha, Upmyl®, UPL, Ituverava, SP) e cinco concentrações da formulação à base de *Bt* correspondentes à 0,2, 0,6, 1,0, 2,0 e 3,0 L/ha, utilizando volume de calda de 100 L/ha. Cada tratamento continha 32 repetições, representadas pelas células das bandejas de 4x2 cm contendo a dieta. Os tratamentos foram testados sobre seis ínstaes do inseto: neonatas, 1º., 2º., 3º., 4º. e 5º. Ínstaes.

O preparo das soluções estoques foi feito no dia em que foram usadas, isto é, no mesmo dia em que as lagartas chegavam ou de acordo com as mudanças de ínstar. As soluções teste foram aplicadas sobre a dieta utilizando-se uma alíquota de 500 µL, seguido de homogeneização e secagem. Após a secagem das superfícies tratadas, as lagartas foram retiradas dos recipientes em que permaneciam com auxílio de pincéis aquarela (n°00) umedecidos em água estéril e transferidas para as células das bandejas previamente identificadas em relação ao tratamento e à repetição.

4.4 Avaliação de mortalidade de *Chrysodeixis includens* e análise dos dados

As bandejas contendo as lagartas sob teste foram mantidas em BOD regulada para as condições previamente mencionadas e as avaliações da mortalidade das lagartas foram realizadas 24, 48, 72, 96 e 120 h após o tratamento. A lagarta foi considerada morta quando não exibia nenhum movimento. Os dados de mortalidade após 72 h e 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.

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 testados. Os tempos de mortalidade (min) foram testados para cada concentração avaliada e para os diferentes estágios do inseto. 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 porcentagem de mortalidade média foram calculados levando em conta o tempo médio de ação tóxica aguda da formulação de *Bt* que, no caso da maioria dos Lepidoptera, é caracterizado pela cessação da alimentação logo após a ingestão da toxina, paralisia do intestino médio e morte em 2 a 4 dias (BRODERICK et al., 2009).

Com relação aos dados obtidos para neonatas, observa-se que há sobreposição das barras de erro padrão da média entre as diferentes concentrações testadas indicando que não há diferenças entre as mortalidades proporcionadas pelas diferentes concentrações (Figura 1). Portanto, 72 h após a exposição, a menor concentração de 200 mL/ha já foi suficiente para causar a mortalidade de quase 100% das lagartas neonatas (Figura 1). A

partir do 1º ínstar, a mortalidade foi melhor representada após 96h do tratamento das lagartas (Figura 1). Observando a sobreposição das barras do erro padrão, verifica-se que as concentrações de 200 e 600 mL/ha diferiram entre si e da concentração de 1.000 mL/ha (Figura 1), sendo que na concentração de 600 mL/ha, já se obtém uma mortalidade considerada significativa e acima de 70% (Figura 1). No caso do 2º. ínstar, mesmo a concentração mais baixa de 200 mL/ha, proporcionou mortalidade significativamente maior do inseto e acima de 80% do que a concentração de 600 mL/ha (Figura 1), não diferindo inclusive da concentração de 1.000 mL/ha (Figura 1). Semelhantemente, a mortalidade causada pela concentração de 200 mL/ha nas lagartas de terceiro ínstar não diferiu daquela causada pela concentração de 600 mL/ha e foi significativa, ambas sendo superiores à mortalidade causada pela concentração de 1.000 mL/ha (Figura 1). No caso das lagartas de quarto ínstar a concentração de 600 mL/ha proporcionou mortalidade significativa e acima de 70% e diferiu da concentração de 1.000 mL/ha, entretanto, o acréscimo na mortalidade entre essas duas concentrações foi de $\approx 3\%$ (Figura 1). Em relação ao 5º. ínstar, mesmo a concentração mais elevada e de 3.000 mL/ha, não foi suficiente para causar mortalidade significativa das lagartas (Figura 1), situando-se abaixo de 70%.

Esses resultados são compatíveis com o esperado, tendo em vista que ínstaes mais tardios se apresentam mais resistentes à ação do produto, requerendo maiores concentrações e ampliando o tempo de mortalidade, conforme já constatado para outras lagartas, a exemplo de lagartas de 4º. ínstar de *A. gemmatalis* expostas à CL_{50} de 0,46 (0,43–0,49) $mg mL^{-1}$ de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* linhagem HD-1 e demandaram 108 h para que o efeito tóxico agudo fosse observado (CASTRO e CASTRO et al., 2019).

Desta forma, em relação aos ínstaes que foram suscetíveis à ação da toxina (neonatas ao 4º. Ínstar), não se observa acréscimos significativos na mortalidade acima da concentração de 600 mL/ha, já que a mortalidade apresentada (igual ou próxima a 75%) é bem próxima da requerida para registro de produtos sintéticos para o controle de pragas agrícolas (BRASIL, 1995)

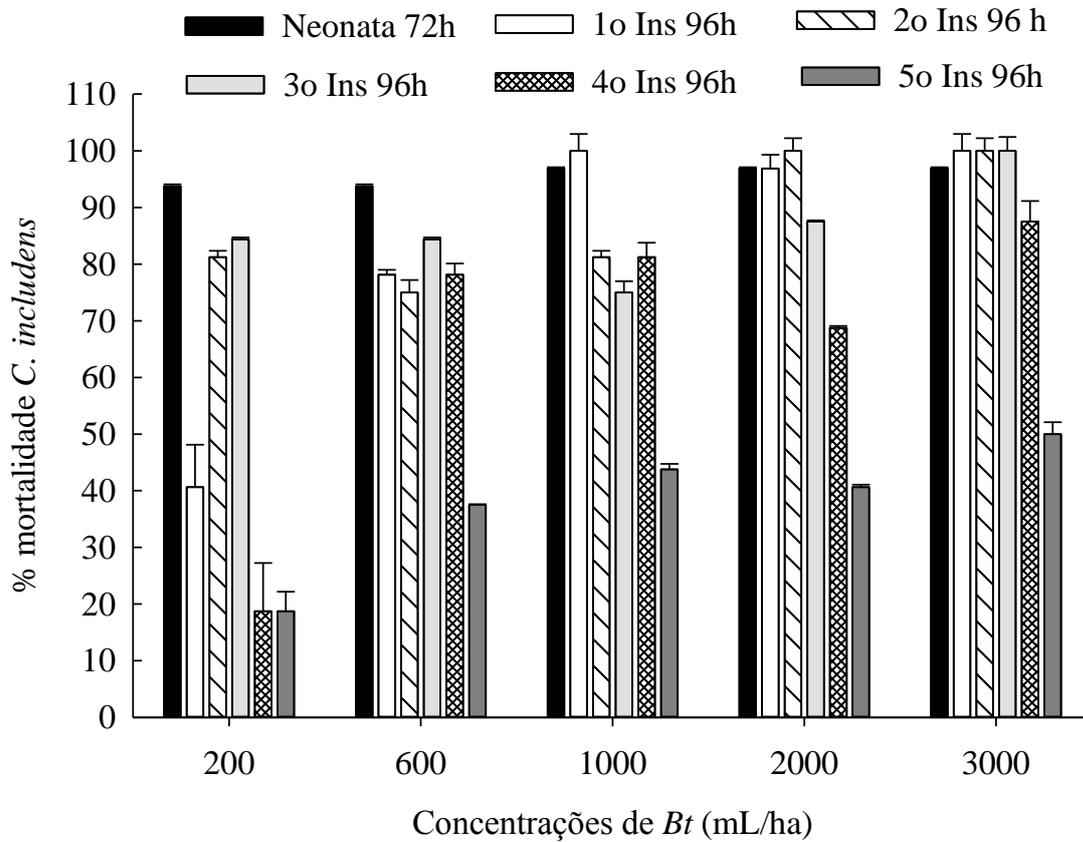


Figura 1. Porcentagem de mortalidade de diferentes ínstares de *Chrysodeixis includens* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) 72 e 96 h após o tratamento e submetidos a diferentes concentrações de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

De modo geral, a medida que se aumentou a concentração à qual os insetos foram expostos, diminui-se o tempo de mortalidade (Tabela 1), sendo a única exceção observada para as lagartas de 1º. ínstar entre as concentrações de 1.000 e 3.000 mL/ha, cujos TL_{50s} foram bem próximos (Tabela 1). A concentração de 600 mL/ha requer \approx 3 a 6 dias para causar a mortalidade em aproximadamente 100% das lagartas de *C. includens* neonatas até o 4º. ínstar (Tabela 1) ao passo que a concentração de 1.000 mL/ha causa a mortalidade de aproximadamente 100% das lagartas neonatas até o 3º. ínstar em cerca de 4 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Tempo de mortalidade de 50% das lagartas (TL₅₀) de diferentes ínstares de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) associada a diferentes concentrações de formulação à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*.

Íntar	Concentração (mL/L)	GL ^a	n ^b	Inclinação ± EPM ^c	TL ₅₀ (95% IC) ^d	χ ²	Valor de P
Primeiro	200	2	128	5,72±1,08	101,09 (91,30 ± 116,21)	0,38	0,83
	600	3	160	4,63±0,64	59,81 (52,20 ± 67,30)	2,26	0,52
	1000	2	128	6,07±0,86	43,81 (38,28 ± 49,12)	0,99	0,61
	3000	2	128	6,34±0,90	43,89 (38,48 ± 49,09)	0,83	0,66
Segundo	200	3	160	3,87±0,54	54,37 (46,42 ± 62,29)	2,71	0,44
	600	3	160	3,31±0,50	55,58 (46,60 ± 64,73)	2,92	0,40
	1000	3	160	3,14±0,49	42,11 (33,49 ± 49,88)	4,17	0,24
	3000	2	128	4,66±0,73	32,78 (27,05 ± 37,93)	0,73	0,69
Terceiro	200	3	160	2,60 ± 0,46	42,73 (31,41 ± 51,88)	3,55	0,31
	600	3	160	2,67 ± 0,47	37,87 (27,92 ± 46,32)	2,54	0,47
	1000	3	160	2,42 ± 0,45	51,33 (39,83 ± 62,60)	1,05	0,79
	2000	3	128	2,53 ± 0,55	33,52 (22,59 ± 42,11)	0,26	0,88

... continuação Tabela 1

Íntar	Concentração (mL/L)	GL ^a	n ^b	Inclinação ± EPM ^c	TL ₅₀ (95% IC) ^d	χ^2	Valor de <i>P</i>
Quarto	600	2	128	6,31±0,97	69,95 (62,71 ± 76,82)	1,70	0,43
	3000	2	128	4,30 ± 0,96	47,42 (33,43 ± 56,23)	0,63	0,73
Quinto	600	3	160	2,62 ± 0,59	133,65 (104,83 ± 222,93)	5,25	0,15
	3000	2	128	2,42 ± 0,56	97,20 (77,66 ± 135,35)	0,24	0,89

^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%).

Semelhantemente ao que foi observado em relação aos TL_{50s} , à medida que se aumentou o tempo de avaliação, compatível com o tempo requerido para a ação do produto, diminuí-se as CL_{50s} estimadas, assim como a amplitude do intervalo de confiança (Tabela 2), atribuindo maior confiabilidade à estimativa. No caso das lagartas de 1°. e 3°. ínstaes, as CL_{50s} estimadas com 96 h e 48 h indicam que seria requerida uma concentração de ≈ 504 e 545 mL/ha para que ocorra a morte de aproximadamente 100% das lagartas (Tabela 2). No caso das lagartas de 4°. ínstar uma concentração de ≈ 540 mL/ha seria requerida para causar a mortalidade de aproximadamente 100% dos indivíduos decorridos 5 dias (120 h após a exposição) (Tabela 2). Observando-se as estimativas das CL_{50s} para as lagartas de 5°. Ínstar, maiores que 4.000 e que 2.000, 48 h e 96 h após a exposição, respectivamente (Tabela 2), verifica-se que seria impraticável controlar a lagarta nessa fase tendo em vista a magnitude da estimativa e a amplitude dos intervalos de confiança, o que as tornam de pequena confiabilidade.

Esses resultados são promissores no sentido de oferecer uma alternativa aos produtos para os quais o inseto tem demonstrado resistência (STACKE et al., 2019; STACKE et al., 2020) e são corroborados por resultados obtidos por outros estudos em que se comparou a ação tóxica de uma formulação à base de *Bt* com inseticidas sintéticos contendo o indoxacarb e o teflubenzuron como ingredientes ativos, sendo constatado que o produto à base de *Bt* foi 6,21 e 2,79x, respectivamente, mais tóxico que esses produtos (RODRIGUES et al., 2018). Desta forma, o uso destas formulações pode assegurar um controle efetivo do inseto sem apresentar os efeitos deletérios já constatados em relação a outros produtos sintéticos usados para o seu manejo (RAMOS et al., 2017).

Tabela 2. Concentração de mortalidade de 50% da população (CL₅₀) de formulação à base de *Bacillus thuringiensis* aplicada em diferentes ínstares de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes tempos de avaliação.

Ínstar	Tempo de avaliação (h)	GL ^a	n ^b	Inclinação ± EPM ^c	CL ₅₀ (95% IC) ^d	χ ²	Valor de P
Primeiro	48	1	96	2,96±0,67	805,76 (642,05 ± 1.121)	0,13	0,72
	72	3	160	1,77±0,29	446,68 (289,66 ± 605,12)	5,12	0,16
	96	3	160	2,57±0,43	251,647 (165,52±332,20)	4,21	0,24
Terceiro	48	2	128	0,86 ± 0,26	272,39 (45,44 ± 529,12)	3,73	0,15
Quarto	48	2	128	1,50 ± 0,33	2720 (1814 ± 5607)	0,40	0,82
	72	2	128	1,48 ± 0,28	949,31 (636,84 ± 1398)	2,77	0,25
	96	1	96	1,58 ± 0,29	760,94 (452,94 ± 1155)	1,12	0,29
	120	1	96	1,41 ± 0,29	267,77 (108,89 ± 454,61)	1,47	0,22
Quinto	48	2	128	1,37 ± 0,48	4620 (2668 ± 54372)	0,54	0,76
	96	2	128	0,73 ± 0,28	2227 (1070 ± 52680)	0,78	0,67

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

6. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A formulação testada à base de *Bacillus thuringiensis var kursataki* apresentou alta efetividade no controle das lagartas neonatas até o quarto ínstar de *C. includens* quando se usou a concentração de 600 mL/ha, causando a morte de aproximadamente 100% das lagartas em até 6 dias. Esse tempo de mortalidade foi reduzido para aproximadamente quatro dias, quando se utiliza a concentração de 1.000 mL/ha. Todavia, há que se considerar que após a ingestão das toxinas de *Bt* as lagartas deixam de se alimentar e, nesse sentido, o tempo de mortalidade pode não ser justificável para que se empregue a maior concentração. Não é recomendável utilizar a formulação para o controle de lagartas de 5º. Ínstar. Os resultados encontrados no presente trabalho são promissores e podem se constituir em alternativa aos produtos para os quais têm sido detectada resistência da praga. Todavia, estudos adicionais em outros ambientes e com populações encontradas a campo devem ser realizados a fim de validar os resultados encontrados no presente trabalho.

7. REFERÊNCIAS

ARONSON, A.I.; BECKMAN, W.; DUNN, P. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. Microbiology Reviews, 50:1-24, 1986.

ATTATHOM, T., CHONGRATTANAMETEEKUL, W., CHANPAISANG, J., & Siriyan, R (1995). Morphological diversity and toxicity of delta-endotoxin produced by various strains of *Bacillus thuringiensis*. Bulletin of Entomological Research, 85: 167-173. doi:10.1017/S0007485300034234.

ÁVILA, C. J.; VIVIAN, L. M.; TOMQUELSKI G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. Dourado: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. 12 p. (Circular técnica, 23. Embrapa Agropecuária Oeste.).

BALDIN, E.L.L., LOURENÇÃO, A.L., SCHLICK-SOUZA, E.C. Outbreaks of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) in common bean and castor bean in São Paulo State, Brazil. *Bragantia*, 73: 458-465, 2014.

BALDIN, E.L.L.; LOURENÇÃO, A.L.; SCHLICK-SOUZA, E.C. Outbreaks of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera :Noctuidae) in common bean and castor bean in São Paulo State, Brazil. *Bragantia*, 73: 458-461, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa). Agrofit: Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Consulta em: 18 de setembro de 2022.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41: 423–431, 2011

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: mechanisms and use. In: GILBERT, L. I.; GILL, S. S. *Insect control: biological and synthetic agents*. London: Elsevier, 2005. p. 247-280.

CÂMARA, G. M. de S. *Introdução ao agronegócio soja*. Piracicaba: Esalq, 2015. 30p.

CAMPELO, G. J. de A; KIIHL, R. A de S; ALMEIDA, L. A de. *Soja: Desenvolvimento e seleção de germoplasma para regiões de baixas latitudes*, Teresina. Embrapa Meio-Norte, 1998.36 p. (Documentos, 37. Embrapa Meio-Norte.).

CANERDAY, D.T., & ARANT, F.S. Biology of *Pseudoplusia includens* and Notes on biology of *Trichoplusia ni*, *Rachiplusia*, and *Autographa biloba*. *Journal of Economic Entomology*, 60: 870-871, 1967.

CARVALHO, K.S.; BARBOSA, T.A.N.; LANA, U.G.P.; VALICENTE, F.H. Selection and molecular characterization of *Bacillus thuringiensis* strains efficient against soybean looper (*Chrysodeixis includens*) and *Spodoptera* species. *Revista Brasileira de Entomologia*, 64: e20200080, 2020.

CARVALHO, L.; FERREIRA, F.; BUENO, N. Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja. Enciclopédia Biosfera, 8: 1021-1034, 2012.

Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Décimo segundo levantamento, Setembro 2022 - Safra 2021/2022: Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2022. 88p.

DALL´AGNOL, A. A Embrapa Soja no contexto do desenvolvimento da soja no Brasil: histórico e contribuições. Brasília: Embrapa, 2016. 73p.

DEGRANDE, P.E., VIVAN, L.M. Pragas da soja. In. CAJU, J. HIROMOTO, D.M.; CAMACHO, S.A. Rondonópolis: Fundação MT, 2010. 418p. (Boletim de Pesquisa de Soja, 14. Fundação MT).

DULMAGE, H.T. Insecticidal activity of HD-1, a new isolate of *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*. Journal of Invertebrate Pathology, 15: 232-239, 1970.

GOATER, B.; RONKAY, L.; FIBIGER, M. Noctuidae Europeae. Soro: Entomological Press, 2003. 452 p.

GONÇALVES L. ; ESPINDOLA C. B.; ALMEIDA F. S. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Bacillaceae): potencial no controle, no desenvolvimento e reprodução de *Oxydia vesulia* (Geometridae), em laboratório. Acta Biologica Paranaense, 37: 147-163, 2008.

GUEDES, J. V. C.; PERINI, C. R.; STACKE, R. F.; CURIOLETTI, L. E.; ARNEMANN, J. A.; ALENDE, V. P. Lagartas da soja: das lições do passado ao manejo do futuro. Revista Plantio Direto, 24: 10-22, 2015.

HABIB, M. E. M.; ANDRADE, C. F. S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (Ed.) Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 383-446.

HARRISON, R. L.; BONNING, B. C. Genetic engineering of biocontrol agentes for insects In: RECHCIGL, J. E.; RECHCIGL, N. A. (Eds.) Biological and biotechnological control of insect pests. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 243-280.

HORIKOSHI, R.J.; BERNARDI, O.; GODOY, D.N.; SEMEÃO, A.A.; WILLSE, A.; CORAZZA, G.O.; RUTHES, E.; FERNANDES, D.S.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; BUENO, A.F.; OMOTO, C.; BERGER, G.U.; CORRÊA, A.S.; MARTINELLI, S.; DOURADO, P.M; HEAD, G. Resistance status of lepidopteran soybean pests following large-scale use of MON 87701 × MON 89788 soybean in Brazil. *Scientific Reports*, 11: 21323, 2021.

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. *Economic Botany*, 24: 408-421, 1970.

LIU, M.; WANG, Y.; WANGYANG, W.; LIU, F.; CUI, Y.; DUAN, Y.; WANG, M., LIU, S.; RUI, C. Design, synthesis, and insecticidal activities of phthalamides containing a hydrazone substructure. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 58: 6858-6863, 2010.

MARTINS, G. L. M.; TOMQUELSKI, G. V. Eficiência de inseticidas no controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja. *Revista de Agricultura Neotropical*, 2: 25-30, 2015.

MARTINS, J. L. A; GARCIA, L. S; MACHADO, D. H. B; BARBOSA, C. H. V; VALICENTE, F. H. Toxicidade de cepas de *Bacillus thuringiensis* sobre *Chrysodeixis includens*, *Revista Brasileira de Ciências da Vida*, 6: 1-4, 2018.

MITCHELL, E. R. Life history of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal Georgia Entomological Society*, 2: 53-57, 1967.

MONNERAT, R. G. S. P; PRAÇA, L. B; SILVA, E. Y. Y; MONTALVÃO, S; MARTINS, E.; SOARES, C. M; QUEIROZ, P. R. Produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* para uso na agricultura. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2018. 34 p.

MONNERAT, R. G.; BATISTA, A. C.; MEDEIROS, P. T.; MARTINS, E.; MELATTI, V.; PRAÇA, L.; DUMAS, V.; DEMO, C.; GOMES, A. C. M.; FALCAO, R.; BROD, C. S.; SILVA-WERNECK, J. O.; BERRY, C. Characterization of brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatilis*. *Biological Control*, 41: 291-295, 2007.

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds). *Controle biológico*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p.163-200, 2000.

MORAES, R. R., LOECK, A. E., BELARMINO, L. C. Inimigos naturais de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) e de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26: 57-64, 1991a.

MORAES, R. R. de; LOECK, A. E.; BELARMINO, L. C. Flutuação populacional de *Plusiinae* e *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em soja no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26: 51-56, 1991b.

MOSCARDI, F.A. Artrópodes que atacam as folhas da soja In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*. Brasília: Embrapa, 2012. 859p.

MOURA, A.P.; ROCHA, L.C.D. Seletivos e eficientes. *Cultivar Hortaliças e Frutas*, 6: 6-8, 2006.

NUNES, N. R.; RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T.; THIESEN, L. V.; CORASSA, J. N.; PITTA, R. M. (2019). Linha básica de suscetibilidade de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) a benzoato de emamectina. *Entomological Communications*, 1: ec01015, 2019.

PALUDZYSZYN, F. E; KIHLL, R. A. S; ALMEIDA, L. A. Desenvolvimento de cultivares de soja na região Norte e Nordeste do Brasil In: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I. de M. de (Eds.). *Cultura da soja nos cerrados*. Piracicaba: Potafos, 1993. p.255-266..

PERINI, C. R. Eficiência de Inseticidas químicos e identificação de mecanismos moleculares de resistência a piretróides em *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). 2018. 113f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2018.

BEHLE, R.W.; MCGUIRE, M.R.; SHASHA, B.S. Effects of sunlight and simulated rain on residual activity of *Bacillus thuringiensis* formulations. *Journal of Economic Entomology*, 90: 1560-1566, 1997.

SANTOS, J.B. Inseticidas em tratamento de sementes visando o controle de corós rizófagos (Coleoptera, Melolonthidae) na cultura da soja no estado de Goiás e Distrito federal. 2013. 45 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós Graduação em Agronomia, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; LÓPEZ LASTRA, C.; HUMBER, R.A. An Overview of arthropod associated fungi from Argentina and Brazil. *Mycopathologia*, 170: 61- 76, 2010.

SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S. V. DE; SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 59: 343-345, 2015.

STACKE, R.F.; GIACOMELLI, T.; BRONZATTO, E.S.; HALBERSTADT, S.A.; GARLET, C.G.; MURARO, D.S.; GUEDES, J.V.C.; BERNARDI, O. Susceptibility of brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 112: 1378-1387, 2019.

STACKE, R.F.; GODOY, D.N.; PRETTO, V.E.; FÜHR, F.M.; GUBIANI, P.S.; HETTWER, B.L.; GARLET, C.G.; SOMAVILLA, J.C.; MURARO, D.S.; BERNARDI, O. Field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides by soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), in Brazil. *Chemosphere*, 259: 127499, 2020.

TABASHINIK, B.E.; CARRIÈRE, Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. *Nature Biotechnology*, 35: 926-935, 2017.

TSUNECHIRO, A. Valor da produção agropecuária do Brasil em 2002. *Informações Econômicas*, 34: 36-51, 2004.

VALICENTE, F. H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. *Embrapa Milho e Sorgo-Artigo. Informe Agropecuário*, 30: 48-55, 2009.

VÁZQUEZ, W. C. Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificiais e efeito de um vírus de poliedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo da área foliar da soja. 1988. 164f. Tese (Mestrado em Ciências Biológicas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

VERNETTI, F. J. Origem da espécie, introdução e disseminação no Brasil. In: Fundação Cargill. *Soja: planta, clima, pragas, moléstias e invasoras*, 1983. p.3-123.

WHITELEY, H. R.; SCHNEPF, H. E. The molecular biology of parasporal crystal body formation in *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Microbiology*, 40: 549-576, 1986.

WILLE, P.E.; PEREIRA, B.A.; WILLE, C.L.; RESTELATTO, S.S.; BOFF, M.I.C.; FRANCO, C.R. Natural resistance of soybean cultivars to the soybean looper larva *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52: 18-25, 2017.