



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
CAMPUS MORRINHOS

GIOVANA CÂNDIDA MARQUES

**ESTIMATIVA DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL₅₀) DE BIOINSETICIDAS
ENCAPSULADOS E NÃO ENCAPSULADOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis*
USADOS NO CONTROLE DE *Chrysodeixis includens***

MORRINHOS

2021

GIOVANA CÂNDIDA MARQUES

**ESTIMATIVA DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL₅₀) DE BIOINSETICIDAS
ENCAPSULADOS E NÃO ENCAPSULADOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis*
USADOS NO CONTROLE DE *Chrysodeixis includens***

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Instituto Federal
Goiano Campus Morrinhos, como
requisito parcial à obtenção do título
de Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Profa. Dra. Lílian
Lúcia Costa

MORRINHOS

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

M357e Marques, Giovana Cândida.

Estimativa da Concentração Letal Média (CL50) de Bioinseticidas encapsulados e não encapsulados à base I *Bacillus thuringiensis* usados no controle de *Bacillus thuringiensis* usados no controle de *Chrysodeixis*. / Giovana Cândida Marques. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2021.
21 f. il. color.

Orientadora: Dra. Lillian Lúcia Costa.

Coorientador: Dr. Ricardo Antonio Polanczyk.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Bacharelado em Agronomia, 2020.

1. Pragas agrícolas - Controle integrado. 2. Controle microbiano. 3. Lagarta falsa medideira. I. Costa, Lillian Lúcia. II. Polanczyk, Ricardo Antonio. III. Instituto Federal Goiano. IV. Título.

CDU 632.937

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES
TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional | - Tipo: |

Nome Completo do Autor: Giovana Cândida Marques

Matrícula: 2017104220210109

Título do Trabalho: **ESTIMATIVA DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL₅₀) DE BIOINSETICIDAS ENCAPSULADOS E NÃO ENCAPSULADOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* USADOS NO CONTROLE DE *Chrysodeixis includens***

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 20/05/2021

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Local

Morrinhos, 20/05/2021.

Data

Giovana Cândida Marques

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Wilson Búcio Costa

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO

Ata nº 11/2021 - CCEPTNM-MO/CEPTNM-MO/DE-MO/CMPMHOS/IFGOIANO

**ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE
CURSO**

A o s **12** dias do mês de **maio** do ano **2021** das 17:00 às 19:10 horas pelo link: meet.google.com/xig-hbts-khw reuniram-se a Banca de Avaliação composta pelos membros **Dra. Lílian Lúcia Costa (orientadora)**, **Dr. Ricardo Antônio Polanczyk** e **Dra. Ivana Lemos Souza** para avaliar o Trabalho de Curso intitulado **ESTIMATIVA DA CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL₅₀) DE BIOINSETICIDAS ENCAPSULADOS E NÃO ENCAPSULADOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* USADOS NO CONTROLE DE *Chrysodeixis includens*** da discente **Giovana Cândida Marques**, Matrícula nº 2017104220210109 do Curso de Agronomia do IF Goiano, Campus Morrinhos. Ao iniciar os trabalhos, a presidente da Banca Avaliadora cedeu a palavra para que o discente fizesse a apresentação do seu trabalho, sendo seguido pela arguição dos Membros da Banca de Avaliação. Concluídas estas etapas, o trabalho foi considerado:

X	Aprovado
	Aprovado com Ressalvas
	Reprovado

Nota	9,7
------	-----

(Assinado Eletronicamente)

Lilian Lúcia Costa Orientadora

(Assinado Eletronicamente)

Ricardo Antônio Polanczyk

Membro

(Assinado Eletronicamente)

Ivana
Lemos
Souza
Membro

Documento assinado eletronicamente por:

- **Ricardo Antonio Polanczyk, Ricardo Antonio Polanczyk - Professor Colaborador - Universidade Estadual Paulista (48031918000124)**, em 17/05/2021 14:29:05.
- **Ivana Lemos Souza, Ivana Lemos Souza - Professor Avaliador de Banca - Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos (10651417000330)**, em 16/05/2021 10:16:46.
- **Lilian Lucia Costa, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 15/05/2021 16:44:55.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 15/05/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 268661
Código de Autenticação: 48f4e9f2d7



INSTITUTO FEDERAL GOIANO

Campus

Morrinhos Rodovia BR-153, Km 633, Zona Rural, Morrinhos / GO, CEP
75650-000

(64) 3413-790

DADOS DA AUTORA

Giovana Cândida Marques, filha de Eliandra Cândida Ferreira Marques e Claudimar Marques Parreira, nasceu na cidade de Morrinhos, Goiás, Brasil, no dia 09 de julho de 1999. Em janeiro de 2017 ingressou no curso de Agronomia do Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos, irá concluir em junho de 2021.

“Eu sei que sempre estás comigo, Senhor Também
sei que nada acontece sem a Tua vontade Mas preciso
aprender a descansar em Ti

Todas as coisas cooperam para o bem
Daqueles que te amam, eu sei, eu sei!

Tu és meu Senhor!

Te amo, te amo, te amo Te
amo, Senhor

Ele está sentado num alto e sublime trono A

Sua glória enche os céus

A Sua glória enche a Terra Nada

sai do controle de Suas mãos

Ele está no controle de todas as coisas

Ele está no controle da sua vida

Mesmo... Mesmo que o Mar Vermelho não se abra

Mesmo que você não consiga andar sobre as águas

Ele ainda está no controle

Ele está no trono

Ele sabe de todas as coisas Ele

tem um plano pra sua vida

Ele tem um nova história pra sua vida, pra sua casa

Mesmo que você não entenda hoje

Mas todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam o Senhor

Daqueles que amam o Senhor, daqueles que amam o Senhor

Tudo entregarei Sim,

Por Ti Jesus bendito

Tudo deixarei

Fernandinho

Aos meus pais Eliandra e Claudimar, por todo amor, carinho e confiança depositada em mim, e ao meu namorado, Leonardo, pelo companheirismo e carinho, porque mesmo longe sempre estão presentes em meu coração.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela presença e proteção em minha vida e permitiu a realização desse sonho.

Ao Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos, especialmente aos envolvidos no meu processo de aprendizagem durante a graduação.

Ao Prof. Emerson Trogello e demais professores da Instituição pela orientação e ensinamentos que me proporcionaram conhecimentos para exercer a profissão.

À Coordenação da UNESP pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Aos orientadores do trabalho de conclusão de curso, Profa. Dra. Lílian Lúcia Costa e Prof. Ricardo Antonio Polanczyk pela oportunidade, confiança em meu trabalho, otimismo e pelos ensinamentos.

Aos alunos de pós graduação e de mestrado da UNESP, por todas as instruções, sugestões e pela paciência em esclarecer as dúvidas. Pela amizade, disponibilidade e paciência em me ajudar nas análises estatísticas e no texto.

A Juliana Queiroz, Joacir do Nascimento, Adrieli Casado, Ramom Vasconcelos, Natália Dansi e Beatriz, companheiros do Laboratório de Controle Biológico Microbiano de Artrópodes Pradas, pelo bom trabalho em equipe e ótimos momentos no dia-a-dia.

Aos meus pais Eliandra e Claudimar por todo amor, carinho, apoio e incentivo para a realização desse sonho. Ao meu irmão Jardel pela amizade, carinho, incentivo e por me alegrar.

Ao meu querido Leonardo por todo amor, ajuda, companheirismo e bons momentos.

Aos amigos do Instituto Federal Goiano e da Igreja Assembleia de Deus, pela amizade, cumplicidade nos estudos, convívio e ajuda desde o início desta etapa, pela boa convivência, momentos de descontração, e por toda disposição em me ajudar.

MUITO OBRIGADA

RESUMO

Chrysodeixis includens é inseto desfolhador e responsável por perdas importantes de produtividade. No meio dos métodos de controle mais usados para suprimir insetos-praga na agricultura se ressaltam os bioinseticidas à base de proteínas formadas por *Bacillus thuringiensis*. Mas, esses possuem atividade residual reduzida pois a luz solar inativa esporos e cristais. Com finalidade de diminuir a perda de atividade, as formulações devem possuir protetores UV. Interessado acerca de fornecer a mortalidade e os subseqüentes efeitos subletais das formulações de Dipel e em combinação com *Bacillus thuringiensis* var. *aizawai* e duas microencapsulações dos respectivos produtos foram comparados em teste de ingestão em lagartas neonatas. Foi estimado a CL50 dos bioinseticidas pelo método Graphpad prisma 8.0. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído por um grupo controle e cinco concentrações de dois bioinseticidas, o Dipel e o Xentari. As avaliações de mortalidade foram realizadas diariamente. Avaliaram os efeitos subletais. As concentrações dos tratamentos foram diluídas em água deionizada (50 mg: 1 L). Os microencapsulados Dipel e Dipel/Xentari induziram a maior atividade contra *Chrysodeixis includens*, com CL50 de 0,019 g/L, enquanto o Dipel/Xentari apresentou a menor atividade com CL50 de 0,031 g/L. O Dipel 100x, 150 x e Dipel + Xentari 100x foram os que mais influenciaram negativamente o peso das lagartas. O controle microbiano realizado por Dipel 100x e 150x e MP_ DipelBTK (Microencapsulado Dipel) 100 foram os tratamentos que mais aumentaram os dias da lagarta até a formação de pupas.

Palavras-chave: Lagarta falsa medideira, controle microbiano, manejo integrado

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Efeito subletal dos tratamentos sobre o peso das lagartas de primeiro instar de *C. includens*. Médias seguidas da mesma letra não se diferenciam pelo teste de Tukey a 5% 21
- Figura 2 - Efeito subletal dos bioinseticidas sobre o tempo para formar pupa de *C. includens*. Médias seguidas da mesma letra não se diferenciam pelo teste de Tukey 5% 22
- Figura 3 – Efeito subletal dos bioinseticidas sobre o peso das pupas de primeiro instar de *C. includens*. Médias seguidas da mesma letra não se diferenciam pelo teste de Tukey a 5% 22
- Figura 4 - Lagartas de *C. includens* após alimentação em dieta artificial, faziam parte do tratamento Dipel 100x 24
- Figura 5 - Adultos defeituosos com deformação das asas anteriores e posteriores (A) e com retenção de carapaça da pupa (B), faziam parte do tratamento Dipel 150x 24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ingredientes utilizados na fabricação da dieta artificial para alimentação de lagartas em laboratório.....	13
Tabela 2 – Concentrações utilizadas para a estimativa da CL ₅₀ para lagartas neonatas de <i>Chrysodeixis includens</i>	14
Tabela 3 – Mortalidade corrigida (%) causada pelos bioinseticidas à base de <i>Bacillus thuriengiensis</i> , encapsulados e não encapsulados, em lagartas neonatas de <i>Chrisodeixis includens</i> . Jaboticabal, 2020.....	18
Tabela 4 – Estimativa da CL ₅₀ (concentração letal) dos bioinseticidas sobre <i>C. includens</i>	19

SUMÁRIO

RESUMO	i
1 INTRODUÇÃO	11
2 MATERIAL E MÉTODOS	13
2.1 Local de estudo	13
2.2 Criação e manutenção da população de insetos	13
2.3 Preparo das formulações de microencapsulados	14
2.4 Bioensaios para estimativa da CL₅₀ dos bioinseticidas	15
2.5 Análises estatísticas	17
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1 Avaliação do efeito subletal dos bioinseticidas e bioinseticidas microencapsulados à base de <i>Bacillus thuringiensis</i> para <i>Chrysodeixis includens</i>	20
4 CONCLUSÕES	25
5 REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Chrysodeixis includens* (Walker 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) é nativa das Américas e nas últimas décadas é considerada praga chave em várias culturas, destacando-se dentre elas, algodão, soja, tomate e feijão (Bernardi 2012, Santos *et al* 2017, Silva *et al* 2020). O nome falsa medideira é dado por causa do deslocamento dessas lagartas que ocorre por meio do arqueamento do corpo que resulta em movimento conhecido como mede palmo (Thiesen 2021). As lagartas são eruciformes, com um par de pernas anais, dois pares abdominais e três pares torácicos (Sosa-Gómez *et al* 2014). Possuem coloração verde clara, com listras longitudinais de cor branca e pontuações pretas (Costa *et al* 2017).

A fase larval de *C. includens* ocasiona injúrias na área foliar da planta e apresenta o hábito característico de não se alimentar das nervuras o que deixa as folhas com o aspecto rendilhado (Bueno *et al* 2007). Além de reduzir a área fotossintética das plantas (Zantedeschi *et al* 2017) e, a depender do nível de infestação, compromete a produtividade agrícola (Silva 2016). O hábito da lagarta é de permanecer no lado abaxial da folha, principalmente, no terço inferior da planta (Warmling 2018).

Para o controle de *C. includens*, são utilizados principalmente inseticidas que agem no sistema nervoso dos insetos. No entanto, aplicações excessivas e impróprias de inseticidas químicos, não seletivos, juntamente com o uso de fungicidas, colaboraram para o decréscimo populacional dos inimigos naturais e propiciaram o aumento destes organismos praga (Sosa-Gómez *et al* 2010). Além disso, ensaios de campo demonstram a baixa eficiência de controle da maioria dos inseticidas químicos para lagartas de *C. includens* (Carvalho *et al* 2012, Perini 2018), provavelmente devido o hábito da lagarta, o que dificulta o depósito e a cobertura de inseticidas no alvo (Warmling 2018).

Bioinseticidas a base de bactérias têm sido pesquisados e promovidos como substitutos de inseticidas químicos (Glare *et al* 2012). Os inseticidas biológicos demonstram eficiência para o controle de *C. includens* (Godoy *et al* 2019), pois proporcionam alto nível de mortalidade, especificidade (Gonçalves 2020) e não causam danos de toxicidade ao meio ambiente (Palma *et al* 2014, Martins *et al* 2018).

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) é esporulante, gram-positiva, que sintetiza várias proteínas inseticidas, especialmente as proteínas Cry, de comprovado potencial no controle de pragas (Palma *et al* 2014). O efeito tóxico de *B. thuringiensis* se deve principalmente à sua capacidade de formar poros na membrana plasmática das células epiteliais do intestino médio de insetos suscetíveis as proteínas inseticidas (Vachon *et al* 2012). De acordo com Bravo *et al.*

(2011), os cristais proteicos que são produzidos no início da esporulação, são solubilizados em meio alcalino do intestino médio, na presença de proteases, os cristais proteicos tóxicos liberam fragmentos denominados d-endotoxinas que atuam no sistema digestivo do inseto e assim o leva a morte. As várias subespécies de *Bacillus thuringiensis* são de ação rápida, fáceis de produzir a custo relativamente baixo, fáceis de formular e têm vida útil longa (Lacey *et al* 2015).

A maioria dos microrganismos utilizados no controle biológico são sensíveis a degradação ambiental devido a fatores abióticos, como a radiação UV, altas temperaturas e baixa umidade (Vemmer & Patel 2013). Fatores esses que reduzem a eficiência do controle biológico em campo (Smaniotto 2019). Ao utilizar a técnica de encapsulamento nos agentes de biocontrole, prolonga a persistência desses microrganismos em campo (Nascimento *et al* 2019).

A técnica de encapsulamento, se fundamenta no revestimento do ingrediente ativo, por meio do uso de polímeros, que permite a liberação de forma sustentada do seu conteúdo (Favaro-Trindade *et al* 2008). Essa tecnologia é utilizada pelas indústrias de fertilizantes e ao ser desenvolvida para bioinsetida apresenta potencial para proteger os entomopatógenos (Bashir *et al* 2016, Naghavi & Marzban 2016). Bashir *et al.* 2016 realizaram ensaios em laboratório e demonstraram que o processo de microencapsulação, não, prejudicou a patogenicidade do *Bt* contra lepidópteros pragas em Brássicas.

De acordo com Thomas e Elkinton (2004), patogenicidade é um fenômeno de tudo ou nada, ou seja, um organismo é ou não é patogênico para um hospedeiro. Enquanto, a virulência é característica variável e descreve a força da patogenicidade. Pesquisadores, utilizam a Concentração Letal Média (CL₅₀) de inseticidas que causam a mortalidade de cinquenta por cento da população exposta durante um período de tempo como medida de virulência (Shapiro-Ilan *et al* 2005, Almeida *et al* 2007). Assim, objetivou-se com este trabalho estimar a CL₅₀ de bioinseticidas encapsulados e não encapsulados, a partir dos testes de toxicidade, efeitos letais e subletais em lagartas de *C. includens*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local de estudo

O experimento foi realizado no Laboratório de Controle Biológico Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) do Departamento de Fitossanidade, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizado no Câmpus de Jaboticabal, São Paulo.

2.2. Criação e manutenção da população de insetos

As lagartas utilizadas no experimento foram compradas na empresa BioPartner e criadas de acordo com metodologia de Botelho et al. (2019) por três gerações até o início dos experimentos. Foram mantidas em dieta artificial de Greene et al. (1976) com modificações nas quantidades dos produtos utilizados (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes utilizados na fabricação da dieta artificial para alimentação de lagartas em laboratório.

Ingredientes sólidos	Gramas
Feijão branco	75,00
Germe de trigo	60,00
Farelo de soja	30,00
Leite em pó	30,00
Levedura de cerveja	37,50
Ácido ascórbico	03,60
Ácido sórbico	01,80
Metilparahidroxibenzoato	03,00
Tetraciclina	00,12
Ágar	23,00
Ingredientes líquidos	Mililitro
Solução vitamínica	9,00
Formaldeído	3,60

As lagartas, permaneceram em copos plásticos, com capacidade de 100 mL e vedadas com tampas plásticas até a formação de pupas. A seguir, as pupas foram transferidas e mantidas em potes plásticos forrados com papel toalha até emergirem os adultos, os quais foram transferidos para gaiolas cilíndricas de PVC revestidas internamente com folha de papel A4 de coloração amarela, fechados na parte superior com tecido tipo “voil”. Para a alimentação dos adultos utilizou recipientes plásticos que continham algodão embebido em soluções de mel, preparado nas seguintes proporções, 100 gramas de mel, 1 grama de nipagin, 1 grama de ácido ascórbico dissolvidos em 1 litro de água e cerveja que foram acondicionados no interior das gaiolas. A cada três dias as posturas foram coletadas, recortadas e transferidas para potes plásticos que continham dieta artificial para servir de alimento após a eclosão dos ovos.

Em todas as etapas de criação e manutenção dos insetos, os mesmos foram mantidos em sala de criação com temperatura regulada para $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

2.3.Preparo das formulações de microencapsulados

Os produtos microencapsulados foram formulados pelo pesquisador Jhones Luiz de Oliveira da Universidade Estadual Paulista de Sorocaba, São Paulo, SP. O método de microencapsulação foi elaborado por meio da técnica do spray-drying, caracterizada pelo baixo custo, rapidez e seu produto final não necessita de lavagens para a eliminação de resíduos ou solventes (Silva *et al* 2014).

Os principais fatores que influenciaram a formação das micropartículas foram as condições de operação como: fluxo de alimentação do ativo, fluxo de ar, temperatura de entrada e saída e pressão de atomização. Neste contexto, na UNESP de Sorocaba foram realizados diversos experimentos a fim de determinar melhores condições para otimização das micropartículas. Os testes foram realizados em mini spray drying LM MSD 1.0 (Labmaq do Brasil Ltda., Ribeirão Preto).

Na microencapsulação dos produtos, como material de parede foram utilizados: goma arábica (10%), maltodextrina (10%) e os produtos comerciais Dipel[®] e Xentari[®] (10%). Para a formulação da mistura Dipel/Xentari a proporção utilizada foi de 6:4 (BTK/BTA). Um produto, denominado Sympatico[®], foi lançado no mercado americano em 2015, tendo como ingredientes ativo as toxinas das duas subespécies de Bt elencadas acima na proporção de 6:4, a mesma avaliada nesse experimento (Epa 2015).

As condições do spray-drying foram ajustadas para uma temperatura de entrada de 90°C , temperatura de saída de 50°C (essas temperaturas foram testadas e foram as melhores que não

prejudicaram a eficácia da bactéria *Bacillus thuringiensis*), fluxo do ar de secagem de 1,8 m³/min, vazão de alimentação de 0,3 L/h, vazão de ar de atomização de 40 L/h e bico pulverizador de 1 mm.

2.4. Bioensaios para estimativa da CL₅₀ dos bioinseticidas

Para o bioensaio da estimativa da Concentração Letal Média (CL₅₀) foram selecionados os bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis*, Dipel[®] Pó molhável (WP) (*B. thuringiensis kurstaki*) (BTK) e Dipel WP[®] + Xentari[®] (*B. thuringiensis kurstaki* + *B.thuringiensis aizawai*) (BTK/BTA) e os mesmos produtos na forma microencapsulada (MP_BTK e MP_BTK+BTA).

As concentrações dos bioinseticidas utilizadas para estimativa da CL₅₀ foram estabelecidas de acordo com testes preliminares de mortalidade de lagartas neonatas (recém eclodida) de *Chrysodeixis includens* com o objetivo de determinar os limites superior e inferior, ou seja, uma concentração que causasse a mortalidade próxima a 100% e outra que causasse mortalidade próxima ao que ocorre na testemunha (5 a 15%) (Bliss 1934).

Com os resultados preliminares, estabeleceu-se as concentrações de 100, 150, 200, 300 e 350 vezes a partir da recomendação indicada pelos fabricantes tanto do Dipel WP[®] quanto do Xentari[®] para o controle de lepidópteros praga que é de 500 g p.c.ha⁻¹, considerando um volume de calda de 100 litros. Na testemunha também avaliou-se a mortalidade das lagartas, mas aplicou-se somente água + Tween (tensoativo hidrofílico).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 15 repetições para cada concentração de bioinseticida e dez lagartas neonatas por repetição. Para obter as respectivas concentrações, os bioinseticidas foram diluídos em 1 litro de água deionizada e homogeneizados com auxílio de um agitador magnético. As quantidades de cada bioinseticida correspondentes às concentrações estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Concentrações utilizadas para a estimativa da CL₅₀ para lagartas neonatas de *Chrysodeixis includens*.

Tabela 2. Concentrações utilizadas para a estimativa da CL₅₀ para lagartas neonatas de *Chrysodeixis includens*.

¹ Concentrações	Dipel WP [®] (mg)	Dipel WP [®] (mg) + Xentari [®] (mg)
100x	50,0	30,0 + 20,0
150x	33,3	20,0 + 13,3
200x	25,0	15,0 + 10,0
300x	16,6	10,0 + 6,60
350x	14,3	8,60 + 5,70

¹As concentrações dos bioinseticidas microencapsulados Dipel WP[®] e Dipel WP[®] + Xentari[®] foram as mesmas dos bioinseticidas sem microencapsulação.

Devido ao mecanismo de ação dos bioinseticidas, foi necessário que os bioinseticidas encapsulado e não encapsulado, nas diferentes concentrações, fossem aplicados sobre a dieta para posterior ingestão pelo inseto.

A dieta artificial foi preparada com o cozimento do feijão branco e o ágar na autoclave por 25 min, em seguida todos os ingredientes da dieta (Tabela 1) foram misturados em liquidificador e, após preparo, foi colocada em potes plásticos transparentes (8 cm Ø). Em seguida, aplicou-se de forma homogênea uma alíquota de 125 µL (quantidade necessária para cobrir toda a superfície da dieta) de cada suspensão no centro de cada pote já com a dieta artificial para as lagartas. No tratamento controle foi aplicado 125 µL da mistura Tween (1 mL) + água (999 mL). Essa alíquota foi espalhada na superfície da dieta e após a absorção dos bioinseticidas colocou-se 10 lagartas por recipiente em cada repetição, totalizando 150 lagartas por concentração.

Os recipientes foram mantidos em condições favoráveis ao desenvolvimento das lagartas (Temperatura de 25 ± 2°C e Umidade Relativa de 70 ± 10%) por nove dias. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas do primeiro ao nono dia após a aplicação dos tratamentos num total de 216 horas, sendo consideradas sobreviventes aquelas que reagiram ao estímulo feito com pincel de cerdas macias (Nunes *et al* 2019).

Ao final das avaliações de mortalidade de *C. includens* manteve-se uma lagarta por recipiente para as avaliações dos efeitos subletais, no total de 15 repetições por concentração. As lagartas foram individualizadas, numeradas e acompanhou-se o seu desenvolvimento: peso larval até o empupamento, duração do período larval em dias e peso da pupa.

2.5. Análises estatísticas

Nos bioensaios, para o cálculo da CL_{50} estimada utilizou-se o *Software* Graphpad prisma 8.0. Os valores de cada concentração foram transformados em logaritmo ($X = \text{Log}(X)$) e a mortalidade foi corrigida de acordo com Abbot (1925) em que:

$$MCorr = \frac{(MT - MC)}{(100 - MC)} * 100$$

Mcorr: Mortalidade corrigida (%); MT: Mortalidade do tratamento (%) e MC: Mortalidade do controle (%).

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a 5% de significância, e as médias comparadas pelo Teste de Scott Knott com o software Winstat.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com variação de mortalidade de *Chrysodeixis includens* de 8,2 a 85%, submetidas aos diferentes bioinseticidas (Tabela 3), sendo que os bioinseticidas Dipel WP® e a combinação do Dipel WP® + Xentari WG®, ambos sem a microencapsulação, causaram maiores mortalidades nas maiores concentrações em relação às concentrações menores desses mesmos bioinseticidas (Tabela 3).

Deve se considerar que a interação entre os bioinseticidas Dipel WP® + Xentari WG® nas concentrações avaliadas proporcionaram maior controle de *C. includens* em relação ao uso somente do bioinseticida Dipel WP® sugerindo que a mistura de suas proteínas inseticidas Cry causaram esse efeito.

Os bioinseticidas na forma microencapsulada apresentaram efeito inverso em relação à concentração e a mortalidade de *C. includens*. Verificou-se que nas menores concentrações tanto do Dipel WP® (14,3 mg L⁻¹) quanto do Dipel WP® + Xentari WG® (8,6 + 5,7 mg L⁻¹) houve maior mortalidade com 59 e 85%, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade corrigida (%) causada pelos bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis*, encapsulados e não encapsulados, em lagartas neonatas de *Chrisodeixis includens*. Jaboticabal, 2020.

CL ₅₀ mg.L ⁻¹	Tratamentos	Concentrações (mg. L ⁻¹)	Mortalidade (%)
22 (18-26)	Dipel WP [®] 100x	50	47,2 ± 19,4
	Dipel WP [®] 150x	33,3	51,1 ± 28,1
	Dipel WP [®] 200x	25	30,9 ± 19,8
	Dipel WP [®] 300x	16,6	25,2 ± 12,7
	Dipel WP [®] 350x	14,3	10,2 ± 8,30
31 (28-33)	Dipel WP [®] + Xentari WG [®] 100x	30/20	68,5 ± 15,2
	Dipel WP [®] + Xentari WG [®] 150x	20/13,3	55,1 ± 14,2
	Dipel WP [®] + Xentari WG [®] 200x	15/10	29,1 ± 12,7
	Dipel WP [®] + Xentari WG [®] 300x	10/6,6	25,5 ± 12,3
	Dipel WP [®] + Xentari WG [®] 350x	8,6/5,7	23,7 ± 14,4
19 (16-22)	MP ³ – BTK ¹ 100x	50	16,5 ± 12,8
	MP – BTK 150x	33,3	19,7 ± 13,5
	MP – BTK 200x	25	23,7 ± 8,70
	MP – BTK 300x	16,6	42,3 ± 20,1
	MP – BTK 350x	14,3	59,0 ± 18,7
19 (17-20)	MP – BTK + BTA ² 100x	30/20	8,20 ± 3,60
	MP – BTK + BTA 150x	20/13,3	13,5 ± 9,90
	MP – BTK + BTA 200x	15/10	26,5 ± 10,2
	MP – BTK + BTA 300x	10/6,6	46,2 ± 18,3
	MP – BTK + BTA 350x	8,6/5,7	85,0 ± 11,3
	Testemunha		20,2 ± 9,70

¹BTK = *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel WP[®]); ²BTA = *B.thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari WG[®]);

³MP = Microencapsulado.

A CL₅₀ estimada dos bioinseticidas encapsulados e não encapsulados estão descritos na Tabela 4. O bioinseticida Dipel WP[®], encapsulado e não encapsulado e, a mistura dos bioinseticidas Dipel WP[®] + Xentari WG[®] na sua forma microencapsulada apresentaram valores de CL₅₀ nos mesmos intervalos (entre 16 e 26 mg L⁻¹), indicando virulência semelhante entre os bioinseticidas (Tabela 4).

Tabela 4. Estimativa da CL₅₀ (concentração letal) dos bioinseticidas sobre *Chrysodeixis includens*.

Tratamento	CL ₅₀ (95% CI) (mg.L ⁻¹)	X ²
Dipel WP [®]	22 (18 - 26)	0,3240
¹ MP_Dipel WP [®]	19 (16 - 22)	0,4604
Dipel WP [®] + Xentari WG [®]	31 (28 - 33)	0,5915
MP_Dipel WP [®] + Xentari WG [®]	19 (17 - 20)	0,7286

¹MP = Microencapsulado; X² = Correlação

Em lagartas de quarto ínstar de *A. gemmatalis*, a CL₅₀ encontrada em trabalho realizado por Castro (2018), foi de 460 mg L⁻¹ do produto *Bt* variedade kurstaki, linhagem HD-1 Dipel[®], após 108 horas de avaliação. Valor este, bem maior ao encontrado no presente estudo para lagartas neonatas de *C. includens*. Em trabalho realizado por Ricietto et al. (2016), os autores constataram maior toxicidade do Dipel DP[®] em relação ao Xentari GD[®] com valores de CL₅₀ de 13 e 33 ng produto comercial/cm², respectivamente, em lagartas neonatas de *Grapholita molesta*.

O maior valor da estimativa da CL₅₀ foi encontrado na mistura de Dipel WP[®] + Xentari WG[®] sem o processo de encapsulação (Tabela 4). Isso significa que a virulência desse produto é menor em relação aos demais bioinseticidas avaliados, necessitando de 31 mg L⁻¹ da mistura dos produtos comerciais para matar 50% das lagartas avaliadas. Resultados diferentes foram encontrados em trabalho com a espécie *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), no qual os autores indicaram que a estirpe mais eficaz para o controle da espécie foi a conjugante *Bt kurstaki* + *Bt aizawai* e a segunda estirpe foi *Bt kurstaki* (Monnerat et al 2019).

No trabalho de Bergamasco et al. (2013), os autores também tiveram menores concentrações de CL₅₀ ao usar as proteínas Vip3Aa e CryIIa10 combinadas, do que quando usadas separadas no controle de *Spodoptera frugiperda*, *S. albula* e *S. cosmioides*, indicando haver atividade sinérgica entre essas proteínas. No nosso trabalho, esse efeito sinérgico não foi observado na combinação dos bioinseticidas Dipel WP[®] + Xentari WG[®] sem encapsulação. Por outro lado, esses mesmos bioinseticidas quando microencapsulados tiveram sua CL₅₀ de 31 para 19 mg L⁻¹ (Tabela 4).

Esse resultado é contrastante já que é o mesmo produto aplicado em formulações diferentes. Na literatura, não foram encontrados estudos sobre a ação de Dipel WP[®] e Dipel

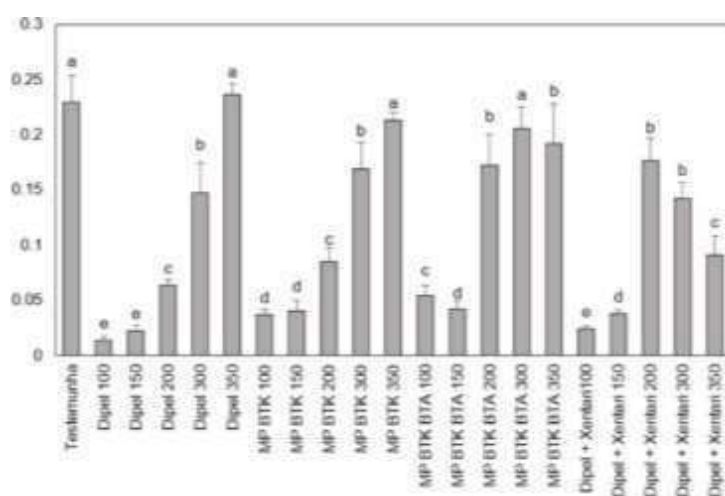
WP[®] + Xentari WG[®] microencapsulados em *C. includens*. Mas sabe-se que bioinseticidas microencapsulados possuem efeito residual, dessa forma encontra disponível no ambiente por mais tempo, boa estabilidade à luz e à hidrólise e melhor desempenho do que os tratamentos que não passaram pelo processo de microencapsulação (Vaniski *et al* 2017).

3.1 Avaliação do efeito subletal dos bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* para *Chrysodeixis includens*

Todos os tratamentos Dipel, com exceção do Dipel 350, diferiram da testemunha, sendo observada a mesma tendência para os tratamentos BTK microencapsulados. Entretanto, para as misturas dos bioinseticidas não encapsulados, todos os tratamentos reduziram o peso das lagartas sobreviventes. O tratamento MP_BTK/BTA não diferiu da testemunha (Fig 1).

Os tratamentos nas maiores concentrações (100 e 150), independente de qual tratamento, causaram a maior redução do peso larval ao décimo dia após a aplicação dos tratamentos. O peso de lagartas foi aumentando com a redução da concentração. Este maior ganho de peso pode ter sido resultado da maior ingestão do alimento pelas lagartas como forma do inseto combater a infecção causada pela bactéria, conforme observado por Gonçalves (2020) em *C. includens*.

Fig 1. Efeito subletal dos tratamentos sobre o peso das lagartas de primeiro ínstar de *Chrysodeixis includens*. Médias seguidas da mesma letra não se diferenciam pelo teste de Scott Knott a 5%.



Polanczyk e Alves (2005), retrataram os efeitos subletais de Bt no peso de lagartas de *S. frugiperda*. As lagartas tratadas com o bioinseticida Dipel apresentaram redução do peso, caracterizando o efeito subletal em *H. armigera* (Junior 2017). Resultados semelhantes aos obtidos com os nossos, apesar de serem espécies de lagartas distintas.

As lagartas podem aumentar o período larval após o tratamento com bioinseticidas, como foi observado por Junior (2017) e Gonçalves (2020). Resultados semelhantes foram observados no nosso trabalho (Fig 2), onde a maioria dos tratamentos alongaram a fase larval das lagartas sobreviventes em comparação com a testemunha. Entretanto, esse tempo mais longo para formar a pupa não implicou em menor peso de pupas, conforme observado na Fig 3.

Fig 2. Efeito subletal dos bioinseticidas sobre o tempo para formar pupa de *Chrysodeixis includens*. Médias seguidas da mesma letra não se diferenciam pelo teste de Scott Knott 5%.

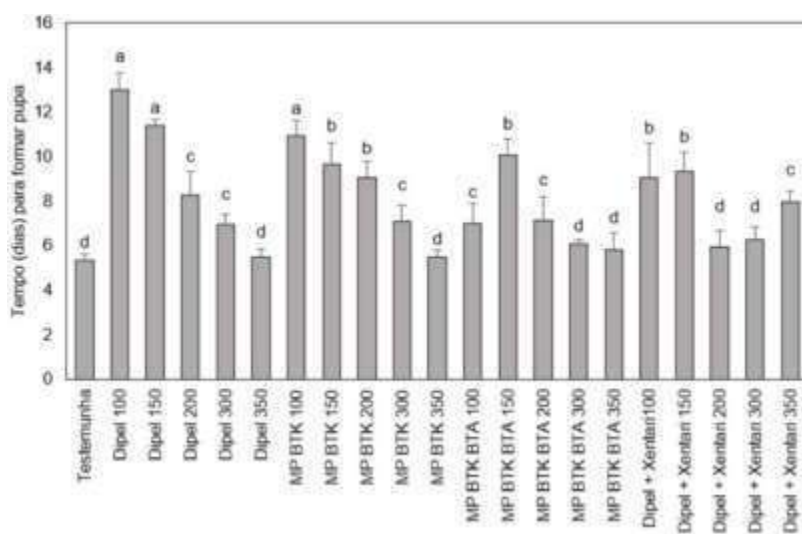
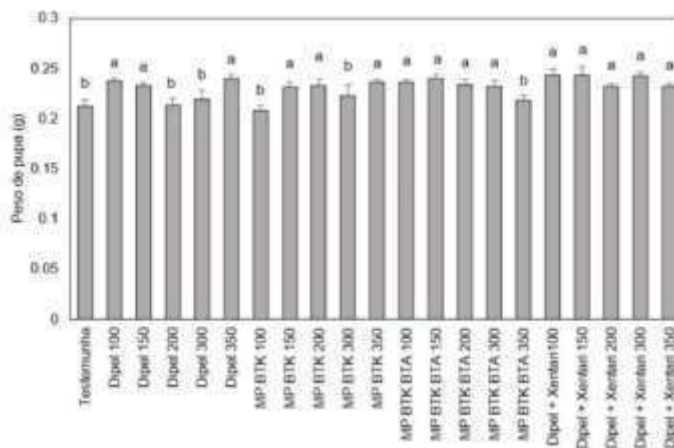


Fig 3. Efeito subletal dos bioinseticidas sobre o peso das pupas de primeiro ínstar de *Chrysodeixis includens*. Médias seguidas da mesma letra não se diferenciam pelo teste de Scott Knott a 5%.



O Dipel 350x e o seu microencapsulado 350x, menos concentrado, a mistura de Dipel e Xentari microencapsulados (MP_BTK/BTA) nas concentrações de 300x e 350x e na mistura Dipel e Xentari nas concentrações de 200x e 300x levaram de 4 a 6 dias até as lagartas puparem e foram semelhantes a testemunha. Diferente dos bioinseticidas mais concentrados, na concentração de 100x a 150x do tratamento Dipel, o microencapsulado do Dipel 100x (MP_BTK) levaram de 11 a 13 dias até a formação de pupas.

Houve variação entre as concentrações dos tratamentos no tempo em dias para formar as pupas. De modo que, a maior concentração, 100x, teve o tempo médio de 11 a 13 dias para as lagartas se transformarem em pupa, e na menor concentração, 350x, o tempo médio foi de 5 dias, o mesmo tempo necessário para a testemunha.

A mistura do microencapsulado Dipel e Xentari (MP_BTK/BTA) na maior concentração, 100x, apresentou o tempo médio de 7 dias para a lagarta se transformar em pupa, tempo esse maior ao tempo da testemunha que foi em média de 5 dias. Na menor concentração, 350x, o tempo médio foi igual ao da testemunha. Na sua forma não microencapsulada (Dipel/Xentari), na maior concentração, 100x, as lagartas levaram em média 9 dias para se transformar em pupa, tempo maior do que o levado pelas lagartas da testemunha, com tempo médio de 5 dias. E na menor concentração, 350x, o tempo médio foi de 8 dias para a lagarta se transformar em pupa.

No entanto, bioinseticida Dipel nas concentrações de 100x e 150x e o seu microencapsulado na concentração de 100x, promoveram o maior efeito subletal de aumentar os dias das lagartas até a transformação em pupas.

Os maiores pesos de pupas foram encontrados nos tratamentos Dipel nas concentrações de 100x, 150x e 350x, no Dipel microencapsulado nas concentrações de 150x, 200x e 350x, na mistura de Dipel e Xentari microencapsulado nas concentrações de 100x, 150x, 200x e 300x e no tratamento formado pela mistura de Dipel e Xentari todas as concentrações proporcionaram o maior peso de pupa. Sendo que é interessante reduzir o peso de pupas, pois assim o adulto será menos competitivo no ambiente, logo causará menores danos, se causar.

Os pesos das pupas foram muito semelhantes em todos os tratamentos avaliados com a variação entre 0,200 a 0,250 gramas. Portanto, os tratamentos não causaram grande variação no peso das pupas de *C. includens*, expostas a avaliação de subletal. Apesar de alguns tratamentos proporcionarem maiores peso de pupas, mas dentro da pequena variação de 0,200 a 0,250 gramas. Então, verificou-se que o peso de pupas foi pouco afetado, mas de forma positiva os tratamentos com os bioinseticidas Dipel 100x, 150x e 350x, MP_BTK 150x, 200x e 350x, MP_BTK/BTA 100x, 150x, 200x e 300x e Dipel/Xentari em todas as concentrações avaliadas.

O prolongamento do período larval pode causar consequências biológicas em campo, incluindo o aumento da probabilidade de predação e parasitismo (Weseloh 1984). Além disso, o prolongamento do período larval reduz a sobrevivência e fecundidade por forçar as lagartas a completarem o seu desenvolvimento em folhagens mais envelhecidas, por conseguinte não contém qualidade dos nutrientes necessários para o desenvolvimento normal (Erb *et al* 2001).

O aumento no período larval expõe a praga a outros agentes de controle como os parasitoides e predadores, dado que as lagartas que sofrem o efeito subletal possui menor mobilidade, ficam desprotegidas do ataque desses agentes de controle (Junior 2017).

Além dos efeitos subletais sobre a fase jovem, este trabalho visualizou o efeito subletal na fase adulta, pois lagartas sobreviventes aos tratamentos, com grande frequência, resultaram em pupa e adultos mal formados (Fig 4 e 5).

Fig 4. Lagartas de *Chrysodeixis includens* após alimentação em dieta artificial, ambas as fotos compunham o tratamento Dipel na concentração máxima avaliada. Exceto a foto (A) que compunha a testemunha.



Fonte: Vasconcelos (2021) e Marques (2021)

Fig 5. Adultos de *Chrysodeixis includens* defeituosos com deformação das asas anteriores e posteriores (A) e com retenção de carapaça da pupa (B), faziam parte do tratamento Dipel 150x. E em (C) a testemunha.



Fonte: Vasconcelos (2021) e Marques (2021)

Os adultos também são afetados, mesmo quando foram as lagartas que ingeriram os bioinseticidas, apresentam por exemplo, deformação das asas analisado em *D. cingulatus* (Pandey & Tiwari 2011) e *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae) (Schneider *et al* 2017). Para os insetos que sobrevivem as aplicações é esperado alterações na sua fisiologia e comportamento, assim como o aumento de efeitos deletérios na sua biologia, como aumento de deformações (Erdmann *et al* 2018).

Os agentes de controle provocam efeitos subletais nas pragas e têm de ser considerados para obter informações que refletem na eficiência contra a espécie-alvo (Gonçalves 2020). O efeito subletal compreende desde a duração do período larval, pupamento, peso da pupa, razão sexual, emergência, longevidade de machos e fêmeas, oviposição e viabilidade dos ovos (Warmling 2018). Desneux *et al.* (2007) define efeito subletal como consequência fisiológica ou comportamental em indivíduos que suportam à exposição de alguma substância deletéria, que compromete a reprodução, reduz a longevidade, proporciona o alongamento ou a diminuição nas fases de desenvolvimento ou a má formação.

Fernandes (2020) testou subdoses do Dipel SC, em *A. gemmatalis* e verificou a interferência nos parâmetros de fecundidade, razão sexual e taxa de reprodução. O bioinseticida Dipel apresentou efeito subletal em *Helicoverpa armigera* o que afetou o peso das pupas (Junior 2017). Sedaratian *et al.* (2012), relatou o efeito subletal do bioinseticida Bt Biolep® WP no peso de pupas em *H. armigera*. Efeitos subletais de Bt causaram a redução do peso de pupas de *H. zea*, também foram relatados por Santos Júnior *et al.* (2009). Tais resultados diferem dos nossos, pois os resultados se assemelham a testemunha, logo os bioinseticidas tanto os microencapsulados não influenciaram o peso das pupas.

A maioria das pesquisas são relacionadas apenas na ação letal, no seu efeito imediato no inseto, contudo nem toda aplicação no campo alcança o objetivo de morte, por esse motivo, é necessário a avaliação de efeitos subletais, dado a dinâmica da praga (Silva 2004). É muito importante avaliar os efeitos subletais para programas de manejo integrado de pragas, pois mesmo com baixa eficiência, o produto pode afetar os parâmetros biológicos, por exemplo, fecundidade, longevidade, taxa de desenvolvimento e razão sexual (Silva 2017).

Possuem várias possibilidades que geram efeito subletal que necessitam ser consideradas para o entendimento da eficácia e do impacto ecológico que geram formulações a base de Bt (Frye *et al* 1973). A bactéria *B. thuringiensis* é extensamente usada no controle de pragas, mas escassos são os trabalhos sobre seus efeitos em concentrações subletais. As concentrações subletais de Bt são aptas de interferir no desenvolvimento de indivíduos, logo contribui para reduzir os danos causados por pragas.

Considerar somente a mortalidade como parâmetro na medição do efeito do bioinseticida subestima os verdadeiros efeitos considerados no inseto alvo, porque é compreensível que o efeito subletal, perturba o desenvolvimento biológico do inseto e isso precisa ser levado em avaliação. Por exemplo, lagartas expostas imaturamente aos bioinseticidas, tem período de crescimento mais longo para equilibrar os custos associados com a recuperação da exposição (Sedaratian 2012).

Estudos sobre bioinseticidas microencapsulados são requeridos em avaliações de toxicidade e efeitos subletais. A toxicidade total causada pelo efeito subletal poderá ser de extrema importância, pois causa impacto na população total da praga em determinada concentração, portanto o entendimento da microencapsulação de bioinseticidas é útil e capaz ao apresentar vantagens em relação ao bioinseticida não microencapsulado.

4. CONCLUSÕES

Os bioinseticidas mais eficientes para o controle de *C. includens* foram o MP_Dipel, MP_Dipel + Xentari e Dipel de acordo com a CL_{50} , em ordem de melhor para o menos melhor. E com as análises dos efeitos subletais, todos os tratamentos afetaram o desenvolvimento da praga, principalmente nos tratamentos mais concentrados.

5 REFERÊNCIAS

BASHIR, O.; CLAVERIE, P.; LEMOYNE, P.; VINCENT, C. **Controlled release of *Bacillus***

***thuringiensis* formulations encapsulated in light-resistant colloidosomal microcapsules for the management of lepidopteran pests of brassica crops.** PeerJ. 4, e2524. 2016.

BERGAMASCO, V. B.; MENDES, D. R. P.; FERNANDES, O. A.; DESIDÉRIO, J. A.; LEMOS, M. V. F. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ia10 and Vip3Aa protein interactions and their toxicity in *Spodoptera* spp. (Lepidoptera). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 122, p. 152-158, 2013.

BERNARDI, O. **Avaliação do risco de resistência de lepidoptera-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON87701 x MON89788 no Brasil.** Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 144f. 2012.

BLISS, C. I. The method of probits. **Science**, Washington, v. 79, p. 38-39, 1934.

BOTELHO, A. B. R. Z.; SILVA, I. F.; ÁVILA, C. J. **Aspectos biológicos da lagarta falsa medideira e sua criação em laboratório com dieta artificial.** Dourados: EMBRAPA, p. 47. 2019.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL SS E SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: uma história de um bioinseticida de sucesso. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, p. 423-431, 2011.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; OLIVEIRA, J. R. G.; CAMILLO, M. F. **Sem barreira.** Revista Cultivar, v. 93, p. 12-15, 2007.

CARVALHO, L. C.; FERREIRA, F. M.; BUENO, N. M. **Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja.** Goiânia: Enciclipédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, v. 8, n. 15, p. 1021-1034, 2012.

CASTRO, B. M. C. **Toxicidade, citopatologia no intestino médio, resposta comportamental e respiratória de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) após exposição a inseticidas.** Tese (Pós Graduação em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, p. 82. 2018.

COSTA, R. A.; SANTOS, L. A. V. M.; RIBEIRO, Z. M. A.; CRAVEIRO, S. R.; GOMES, A. C. M. M.; SOARES, C. M. S.; CASTRO, M. E. B. Identificação morfológica e avaliação da infectividade de isolados virais em lagartas de *Chrysodeixis includens* e em cultivos de células de insetos. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília DF, 2017.

DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J. M. **The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods**. Annual Review of Entomology, v. 52, p. 81-106, 2007.

ERDMANN, L. L.; CARVALHO, I. F.; NEITZKE, C. G.; MACHADO, L. L.; VALMORBIDA, D.; ROSA, A. P. S. A. **Efeito subletal de inseticidas registrados para *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. XXVII Congresso de Iniciação Científica. 4º Semana Integrada UFPEL. 2018.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103-112. 2008.

FERNANDES, F. O. **Condicionamento biológico de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 exposta a concentrações de *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915**. Tese (Doutor em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Câmpus de Jaboticabal. São Paulo, p. 160. 2020.

FRYE, R. D.; SCHOLL, C. G.; SCHOLZ, E. W.; FUNKE, B. R. **Effect of weather on a microbial insecticide**. Journal Invertebrate Pathology. v. 22, p. 50–54, 1973.

FU, Z.; SUN, Y.; XIA, L.; DING, X.; MO, X.; LI, X.; HUANG, K.; ZHANG, Y. **Assessment of protoxin composition of *Bacillus thuringiensis* strains by use of polyacrylamide gel block and mass spectrometry**. Applied Microbiology and Biotechnology 79:875-878. 2008.

GLARE, T.; CARADUS, J.; GELERNTER, W.; JACKSON, T.; KEYHANI, N.; KÖHL, J.; MARRONE, P.; MORIN, L.; STEWART, A. **Have biopesticides come of age**. Trends in Biotechnology, v. 30, n. 5, p. 250-258, Mai. 2012.

GONÇALVES, K. C. **Compatibilidade, efeitos letais e subletais de misturas de bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* e inseticidas em *Chrysodeixis includens***. Tese (Doutora em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal. São Paulo, p. 126. 2020.

GREENE, G. L. **Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium**. Journal of Economic Entomology, v. 69, n.4, p. 487-488, 1976.

JUNIOR, H. C. C. **Efeito subletal do dipel em *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação (Mestre em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista – UNESP Câmpus de Jaboticabal. 2017.

LACEY, L. A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. **Insects pathogens as biological control agents: back to the future**. Journal of Invertebrate Pathology. v. 132, p. 1-41. Nov. 2015.

MARTINS, J. L. A.; MACHADO, D. H. B.; GARCIA, L. S.; BARBOSA, C. H. V.; VALICENTE, F. H. **Toxicidade de cepas de *Bacillus thuringiensis* sobre *Chrysodeixis includens***. Jornal Faculdade Ciências da Vida. p. 4. 2018.

MONNERAT, R.; NETTO, J. C.; SCOZ, L. B.; JURAT-FUENTES, J. L.; BRAVO, A.; BÉLOT, J. L. **O algodão geneticamente modificado para resistência a pragas: eficiência e medidas para o manejo da resistência**. Boletim de PhD, nº 4, 2019.

NAGHAVI, S. S.; MARZBAN, R. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**. 7(3), 2224. 2016.

NASCIMENTO, J.; BORGES, M. H. T. G.; GONÇALVES, K. C.; FARIA, S. C. Q. S.; SANTOS, C. A. M.; POLANCZYK, R. A. **Persistência de duas formulações de bioinseticida Bt e efeito na mortalidade de *Spodoptera frugiperda***. V CONBRAAF. 2019.

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

doi:10.37486/2675-1305.ec01015. 2019.

PALMA, L.; MUÑOZ, D.; BERRY, C.; MURILLO, J.; CABALLERO, P. ***Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity.** *Toxins* 6, 3296–3325. 2014.

PANDEY, J. P; TIWARI, R. K. **Neem based insecticides interaction with development and fecundity of red cotton bug, *Dysdercus cingulatus* Fab.** *International Journal of Agricultural Research* 6: 335-346. 2011.

PERINI, C. R. **Eficiência de inseticidas químicos e identificação de mecanismos moleculares de resistência a piretroides em *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae).** Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul, p. 113. 2018.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. ***Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão.** *Agrociência, Pelotas*, v.7, n.1, p.1-10, 2003.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. **Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*.** *Manejo Integrado del Plagas Agroecologia*, Turrialba, v. 74, n.1, p. 24-33, 2005.

RICIETTO, A. P. S.; GOMIS-CEBOLLA, J.; VILAS-BÔAS, G. T.; FERRÉ, J. **Susceptibility of *Bacillus thuringiensis*, individual toxins and their mixtures.** *Journal of Invertebrate Pathology* 141, p. 5. 2016.

SANTOS JUNIOR, H. J. G.; MARQUES, E. J.; POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; RONDELLI, V. M. **Suscetibilidade de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae).** *Arquivos do Instituto Biológico*. v. 76, p. 625-631, 2009.

SANTOS, S. R.; SPECHT, A.; CARNEIRO, E.; PAULA-MORAES, S. V.; CASAGRANDE, M. M. **Interseasonal variation of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the Brazilian Savanna.** *Revista Brasileira de Entomologia*. v. 61 n. 4, 2017.

SCHNEIDER, L. C. L.; SILVA, C. V.; CONTE, H. **Toxic effect of comercial formulations of neem oil, *Azadirachta indica* A. Juss., in pupae and adults of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae).** Arquivos Instituto Biológico. v. 84, p. 1-8. 2017.

SEDARATIAN, A.; FATHIPOUR, Y.; TALAEI-HASSANLOUI, R.; JURAT-FUENTES, J. L. **Fitness costs of sublethal exposure to *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*: a carryover study on offspring.** Journal of Applied Entomology. v. 137, p. 540–549, 2012.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; FUXA, J. R.; LACEY, L. A.; ONSTAD, D. W.; KAYA, H. K. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. **Journal of Invertebrate Pathology.** v. 88, p. 1-7, 2005.

SILVA, C. S.; CORDEIRO, E. M. G.; PAIVA, J. B.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; HEAD, G.; MARTINELLI, S.; CORREA, A. S. **Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includes*.** Evolutionary Applications, v. 13, p. 2071-2085, 2020.

SILVA, K. B. **Toxicidade residual de inseticidas utilizados para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho e *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em soja, e efeitos sobre predador *Doru luteipes* (Dermaptera: Forficulidae).** Dissertação (Mestre em Ciências) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz De Queiroz”. Piracicaba, p. 96. 2017.

SILVA, P. T. S.; FRIES, L. L. M.; MENEZES, C. R.; HOLKEM, A. T.; SCHWAN, C. L.; WIGMANN, E. F. **Microencapsulation: concepts, mechanism, methods and some applications in food technology.** Ciência Rural, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.

SILVA, R. F. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) exposta a inseticidas durante a fase larval.** Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp. 58 p. 2004.

SMANIOTTO, G. **Compatibilidade com inseticidas químicos e encapsulamento de *Beauveria bassiana* para controle de *Sphenophorus levis*.** Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista – UNESP Câmpus de Jaboticabal. São Paulo, p. 92. 2019.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPOS, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A. F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSoja, 90p. (Documentos, 269). 2010.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPOS, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. 3ª ed. Londrina: Embrapa Soja. p. 100. 2014.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; LASTRA, C. C. L.; HUMBER, R. A. **An overview of arthropod-associated fungi from Argentina and Brazil**. *Mycopathologia*. v. 170, n. 1, p. 61–76, Jul. DOI: 10.1007/s11046-010-9288-3. 2010.

THIESEN, L. V. **Herança da resistência de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) ao inseticida teflubenzuron**. Tese (Mestre em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Câmpus Jaboticabal. São Paulo, p. 48. 2021.

THOMAS, S. R.; ELKINTON, J. S. Pathogenicity and virulence. **J. Invertebr. Pathol.** v. 85, p. 146-151. 2004.

TÚLIO, G. P.; VESCOVE, H. V.; DUARTE, R. T. Eficiência de *Bacillus thuringiensis* sobre lagartas de segundo instar de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **V CONBRAAF**. Congresso Brasileiro de Fitossanidade, Curitiba. 2019.

VACHON, V.; LAPRADE, R.; SCHWARTZ, J. L. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: a critical review. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 111, n. 1, p. 1-12. 2012.

VANISKI, R.; CORTI, D.; DRUNKLER, D. A. Técnicas e materiais empregados na microencapsulação de probióticos. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 8, n.1, p. 156-184. 2017.

VEMMER, M.; PATEL, A. V. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. **Biological Control**, v. 67, p. 380-389, 2013.

WARMLING, J. V. **Efeitos letais e subletais de extratos vegetais alcoólicos sobre *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Tese (Pós Graduação em Agroecossistemas) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Dois Vizinhos. Paraná, p.78. 2018.