

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM OLERICULTURA

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Helicoverpa*
armigera HÜBNER (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) AO DIPEL
EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

Autora: Cristiane Mendes de Campos
Orientador: Anselmo Afonso Golynski
Coorientadora: Lílian Lúcia Costa

MORRINHOS - GO
2017

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
MESTRADO PROFISSIONAL EM OLERICULTURA

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÕES DE *Helicoverpa
armigera* HÜBNER (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) AO DIPEL
EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

Autora: Cristiane Mendes de Campos
Orientador: Anselmo Afonso Golynski
Coorientadora: LÍlian Lúcia Costa

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, no Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos - Área de Concentração: Olericultura.

MORRINHOS - GO
2017

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

C198s Campos, Cristiane Mendes de.

Suscetibilidade de populações de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: noctuidae) ao Dipel em condições de laboratório e campo. / Cristiane Mendes de Campos. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2017.
62 f. : il.

Orientador: Dr. Anselmo Afonso Golynski
Co-orientador: Dra. Lilian Lúcia Costa

Dissertação (mestrado) – Instituto Federal Goiano
Campus Morrinhos, Programa de Pós-Graduação Mestrado
Profissional em Olericultura, 2017.

1. *Helicoverpa armigera*. 2. Controle microbiano. 3.
Tecnologia de Aplicação. I. Golynski, Anselmo Afonso. II.
Instituto Federal Goiano. Mestrado Profissional em
Olericultura. III. Título

CDU 632.7

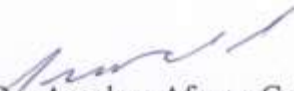
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

SUSCETIBILIDADE DE POPULAÇÃO DE *Helicoverpa armigera* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDADE) AO DIPEL EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO.


Autora: Cristiane Mendes de Campos
Orientador: Anselmo Afonso Golynski

TITULAÇÃO: Mestre em Olericultura-Área de Concentração em Sistema de Produção em Olerícolas.

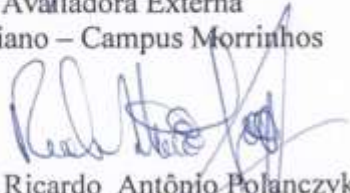
APROVADA em 13 de setembro de 2017.



Prof. Dr. Anselmo Afonso Golynski
Presidente da Banca
IF Goiano – Campus Morrinhos



Prof. Dr. Flávia Dionísio Pereira
Avaliadora Externa
IF Goiano – Campus Morrinhos



Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk
Avaliador Externo
Unesp – Campus Jaboticabal

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar todo caminho percorrido.

Ao IF Goiano campus Morrinhos, pela oportunidade e realização do curso de pós-graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, pelo desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Anselmo Afonso Golynski, pela orientação, na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk, pela oportunidade e ensinamentos.

A Prof.^a Dr.^a Lílian Costa, pela ajuda, apoio e colaboração na coorientação.

À Coordenadora Prof.^a Dr.^a Clarice Megguer, pela disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Cícero José da Silva Quintiliano Nomelini e Flávia Dionízio Pereira, pela colaboração.

A todos os professores que contribuíram para minha formação, minha gratidão pela forma de conduzir o curso em todas as etapas.

À equipe do Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga da UNESP, Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), (Wilson Carlos Pazini, Fabricio Oliveira Fernandes, Alessandra Karina Otuka, Giovani Smaniotto, Kelly Gonçalves, Caroline Placidi de Bortoli), pelo apoio e a ajuda durante a realização dos experimentos.

Aos colegas e amigos de curso, pelo convívio. Em especial as doutorandas Thayssa Monize Rosa de Oliveira e Mylla Chrystian Ribeiro Avila, pela amizade e ajuda inestimável.

A minha família, avós Alvício e Plácides, aos pais Paulo e Jandira, e as irmãs Franciane e Franciele e o sobrinho Giuseppe, pelo amor, carinho e toda a compreensão e ao Douglas pelo afeto.

A todos que, de alguma forma, colaboraram para realização desta pesquisa.

BIOGRAFIA DA AUTORA

CRISTIANE MENDES DE CAMPOS – Filha de Paulo Tarcício Ramires de Campos e Jandira Andrade Mendes, nascida em 05 de maio de 1989, na cidade de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil, é graduada em Agronomia pelo Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos (IF Goiano), com o título obtido no ano de 2014. Estagiou e desenvolveu projetos de iniciação científica com bolsa do CNPq durante três anos na graduação sob orientação do Prof. Dr. Anselmo Afonso Golynski. No segundo semestre de 2015, foi aprovada no Mestrado Profissional em Olericultura no Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, com bolsa da FAPEG. Realizou o projeto de pesquisa na UNESP, Campus Jaboticabal-SP com a colaboração do Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk, voltado para área de Entomologia.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	X
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 <i>Helicoverpa armigera</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA NOCTUIDAE).....	2
2.1.1 Ocorrência e Dispersão	2
2.1.2 Biologia e comportamento de <i>Helicoverpa armigera</i>	3
2.1.3 Prejuízos causados pela <i>Helicoverpa armigera</i>	4
2.1.4 Manejo da <i>Helicoverpa armigera</i>	5
2.2 <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER (BACILLALES: BACILLACEAE)	5
2.2.1 Histórico, nomenclatura e utilização no manejo de pragas.....	5
2.2.2 Aspectos gerais e modo de ação.....	6
2.2.3 Controle de <i>H. armigera</i> com Bt.....	7
2.3 Tecnologia de aplicação	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	10
CAPÍTULO I	18
1. Introdução	20
2. Material e métodos.....	21
2.1. Populações <i>Helicoverpa armigera</i>	21

2.2. Criação dos insetos.....	21
2.3. Bioensaio de suscetibilidade de <i>H. armigera</i> ao Dipel em laboratório.....	22
3. Resultados	23
4. Discussão	25
5. Conclusão.....	27
Referências.....	28
CAPÍTULO II.....	31
1. Introdução	33
2. Material e Métodos	34
2.1. Instalação da cultura de soja e milho-doce em campo.....	34
2.2. Tratamentos e delineamento experimental.....	35
2.3. Coleta das folhas e avaliações de mortalidade e número de esporos.....	35
2.4. Análise de dados	36
3. Resultados	36
4. Discussão	41
5. Conclusão.....	43
Referências.....	44
CONCLUSÃO GERAL.....	48

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Composição da dieta artificial utilizada para criação de <i>Helicoverpa armigera</i>	22
TABELA 2. Mortalidade em porcentagem acumulada de diferentes populações: São Paulo, Minas Gerais e Goiás de <i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera: Noctuidae) com e sem aplicação do bioinseticida Dipel no período de avaliação.	24
TABELA 3. Mortalidade em porcentagem acumulada em diferentes instares <i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera: Noctuidae) da população de São Paulo com e sem aplicação do bioinseticida Dipel no período de avaliação	25
TABELA 4. Número médio de esporos de <i>Bacillus thuringiensis</i> contabilizados na cultura do milho-doce após aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.	37
TABELA 5. Número médio de esporos de <i>Bacillus thuringiensis</i> contabilizados na cultura da soja após aplicação. Jaboticabal, SP, 2017..	38

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Mortalidade de <i>Helicoverpa armigera</i> (%) na cultura do milho-doce após os intervalos de aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.....	37
FIGURA 2. Mortalidade de <i>Helicoverpa armigera</i> (%) na cultura da soja após os intervalos de aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.	39
FIGURA 3. Número médio de esporos contabilizados em cada intervalo após aplicação nas culturas de milho-doce e soja. Jaboticabal, SP, 2017.....	40

RESUMO

CAMPOS, CRISTIANE MENDES DE. Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, setembro de 2017. **Suscetibilidade de populações de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) ao Dipel em condições de laboratório e campo.** Orientador: Anselmo Afonso Golynski. Coorientadora: Lílian Lúcia Costa.

A ocorrência de lagartas do gênero *Helicoverpa*, em níveis populacionais nunca antes registrados foi constatada na região do cerrado brasileiro em fevereiro de 2012, causando prejuízos na ordem de R\$ 2 bilhões em diversas culturas. Posteriormente identificada como *Helicoverpa armigera*, espécie nunca antes relatada no Brasil, essa praga está presente em todas as regiões agrícolas do país. O objetivo desta pesquisa foi estudar a suscetibilidade de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) ao bioinseticida Dipel[®] (*Bacillus thuringiensis kurstaki* HD-1), em condições de laboratório e campo. Em laboratório foi avaliada a susceptibilidade de lagartas de primeiro ínstar de *H. armigera* de diferentes populações (São Paulo, Minas Gerais e Goiás) e lagartas de primeiro ao terceiro ínstar para população de São Paulo. A mortalidade em lagartas da população de Minas Gerais foi superior a 80% desde o primeiro dia de avaliação, sendo a população mais suscetível entre as testadas. As lagartas de terceiro ínstar da população de São Paulo, foram menos suscetíveis que as dos dois primeiros ínstars. Nos testes de campo, foi estudado controle de *H. armigera* com aplicação do Dipel utilizando dois volumes de calda nas culturas de soja e milho-doce. O ensaio foi conduzido em parcela subdivida, sendo dois volumes de calda (100 e 150 L ha⁻¹) e as subparcelas três avaliações (24, 48 e 72 horas). A semeadura direta das duas culturas e as avaliações, após a aplicação do produto, foram feitas no mesmo dia. Discos foliares foram coletados em cada avaliação com objetivo de estudar da persistência do bioinseticida e a mortalidade de *H. armigera*. O uso de maior volume em plantas de soja e milho-doce não influenciou a persistência nem a mortalidade de *H. armigera*. Mas, na cultura do milho-doce proporciona maior cobertura. A persistência do bioinseticida Dipel diminuiu significativamente do primeiro para o terceiro dia após a

aplicação. Estudos de persistência de bioinseticidas em laboratório e campo são essenciais para otimizar o uso desta tecnologia no controle de pragas de importância econômica.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, entomopatógeno, tecnologia de aplicação.

ABSTRACT

CAMPOS, CRISTIANE MENDES DE. Goiano Federal Institute Campus Morrinhos, September of 2017. **Susceptibility of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) populations to Dipel under laboratory and field conditions.** Advisor: Anselmo Afonso Golynski. Co-Advisor: Lilian Lúcia Costa.

The occurrence of larvae of the genus *Helicoverpa*, at population levels never before registered was verified in the region of the Brazilian cerrado in February 2012, causing losses in order of R \$ 2 billion in several crops. Later identified as *Helicoverpa armigera*, a species never before reported in Brazil, this pest is present in all agricultural regions of the country. The objective of this research was to study the susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the Dipel® bioinsecticide (*Bacillus thuringiensis kurstaki* HD-1) under laboratory and field conditions. In the laboratory, the susceptibility of *H. armigera* first instar larvae from different populations (São Paulo, Minas Gerais and Goiás) and first to third instar larvae to the population of São Paulo were evaluated. The larvae mortality of the Minas Gerais population was over 80% from the first day of evaluation, being the population more susceptible among those tested. The third instar larvae of the São Paulo population were less susceptible than those of the first two instars. In the field tests, control of *H. armigera* with Dipel application was studied using two volumes of syrup in the soybean and sweet corn cultures. The assay was conducted in a subdivide plot, with two volumes of syrup (100 and 150 L ha⁻¹) and the sub-plots three evaluations (24, 48 and 72 hours). The direct sowing of the two cultures and the evaluations, after application of the product were done on the same day. Leaf discs were collected at each evaluation with the objective of studying the persistence of the bioinsecticide and the mortality of *H. armigera*. The use of higher volume in soybean and sweet corn plants did not influence the persistence or the mortality of *H. armigera*. But in the sweet corn crop provides greater coverage. The persistence of Dipel bioinsecticide significantly decreases from the first to the third day after application. Studies of persistence of bioinsecticides in the

laboratory and field are essential to optimize the use of this technology in the pests control of economic importance.

KEYWORDS: Microbial control, entomopathogenic, application technology.

INTRODUÇÃO GERAL

Estima-se que a produção agrícola no Brasil para safra de 2017 chegue a 221,4 milhões de toneladas de cereais, leguminosas e oleaginosas superando a safra de 2016 (IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017). Entretanto um dos fatores fundamentais e limitantes para a produção agrícola são os insetos-praga, por apresentarem alto potencial biótico e adaptação a diferentes hospedeiros e condições climáticas.

A espécie *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas mais relevantes da agricultura no mundo, especialmente pela sua grande distribuição geográfica e o hábito polífago (Zalucki et al. 1986; Guo 1997; Behere et al. 2013).

Para o controle de insetos-praga, o método químico ainda é o mais utilizado. Contudo, cerca de 30 a 70 % do produto aplicado pode ser perdido pelo uso de técnicas inadequadas (Pereira et al., 2012). Para o controle de uma determinada praga ser eficiente é necessário considerar a qualidade na aplicação, ou seja, utilizar a tecnologia de aplicação correta (Yanai et al., 2008; Ramos et al., 2010).

Medidas alternativas ao controle químico, tais como a utilização de agentes de controle microbiano de pragas, como o *Bacillus thuringiensis* (Bt) vem sendo utilizado. A suscetibilidade de *H. armigera* a proteínas Cry de Bt é relatada em vários países nos últimos anos (Van Franenhyuzen, 2009). Existem poucos estudos no Brasil, com o produto comercial à base de Bt Dipel® quanto à suscetibilidade de *H. armigera* considerando a variabilidade populacional e tecnologia de aplicação. Assim objetivou-se com este trabalho avaliar a suscetibilidade de diferentes populações de *H. armigera* ao Dipel, em condições de laboratório e campo, com diferentes volumes de calda aplicada nas culturas da soja e milho-doce.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Helicoverpa armigera* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA NOCTUIDAE)

2.1.1 Ocorrência e Dispersão

Há relatos de ocorrência de 18 espécies do gênero *Helicoverpa* em todo mundo, sendo quatro delas apontadas como de maior importância econômica: *Helicoverpa zea*, de ocorrência comum nos Estados Unidos e Brasil; *Helicoverpa punctigera*, endêmica da Austrália; *Helicoverpa assulta*, de ocorrência comum na Índia e *Helicoverpa armigera*, com grande distribuição mundial, ocorrendo em países da Ásia, África, Europa e Oceania. A espécie *Helicoverpa gelotopoeon*, foi encontrada em países como Chile e Argentina, causando sérios prejuízos na safra da Argentina de soja no período de 2009/2010 (Thomazoni et al., 2013).

A *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) foi constatada no Brasil por volta de 2012/2013, com registros de ocorrência em estados de Goiás, Bahia e Mato Grosso (Czepak et al., 2013). Essa praga está disseminada no País, sendo considerada importante em várias culturas, principalmente de soja e algodão (Ávila et al. 2013; Czepak et al. 2013; Specht et al. 2013).

A sua importância com insetos praga esta relacionada à alta capacidade de dispersão e desenvolvimento em diversos hospedeiros, com alto potencial de dano econômico (Liu et al., 2004; Czepak et al., 2013; Specht et al., 2013).

2.1.2 Biologia e comportamento de *Helicoverpa armigera*

A espécie *Helicoverpa armigera* é um inseto holometábolo com os estágios de ovo-larva-pupa-adulto. Os ovos inicialmente possuem coloração branco-amarelada com aspecto brilhante, próximo da eclosão das larvas têm a cor marron (Ali & Choudhury, 2009). As fêmeas geralmente ovipositam no período noturno e os ovos são colocados isoladamente ou em pequenos agrupamentos preferencialmente na parte adaxial das folhas ou mesmo em cima de talos, flores, frutos e brotações terminais (Mensah, 1996).

O período larval de *H. armigera* é composto por seis instares larvais (Twine, 1978; King, 1994; Fowler, 2001). Durante os primeiros instares larvais, possuem a coloração variando de branco-amarelada a marrom-avermelhada e cápsula cefálica variando entre marrom-escuro a preto, nesta fase, com duração de 12 a 36 dias alimentam-se primeiramente das partes mais tenras das plantas e podem produzir uma teia (Kirkpatrick, 1962; Bhatt Patel, 2001; Fowler, 2001).

Conforme as lagartas se desenvolvem podem ter diferentes tipos de pigmentação, variando amarelo-palha ao verde, exibindo listras de coloração marrom lateralmente no tórax, abdômen e na cabeça a coloração pode ser influenciada de acordo com o tipo de alimentação (Ali; Choudhury, 2009). No quarto ínstar, as lagartas têm tubérculos abdominais escuros e bem visíveis na região dorsal, característica que auxilia na identificação de *H. armigera* (Matthews, 1999). Outra particularidade perceptível em lagartas dessa espécie é a textura do seu tegumento, que tem aspecto levemente coriáceo, em relação as demais espécies de Heliiothinae que ocorrem no Brasil (Czepak et al., 2013). Esta característica de *H. armigera* pode estar relacionada à resistência que o inseto possui aos inseticidas químicos, principalmente aqueles de ação de contato (Genari, 2014). Além disso, quando a lagarta de *H. armigera*, é tocada, apresenta o comportamento de encurvar a cápsula cefálica em direção à região ventral do primeiro par de falsas pernas, assim exibindo modelo de defesa (Ávila et al., 2013).

As pupas desta espécie possuem uma coloração marrom-mogno e superfície arredondada nas partes terminais. A fase dura em torno de 10 a 14 dias (Ali & Choudhury, 2009). Geralmente a fase da pupa ocorre no solo e de acordo com as condições climáticas, entra em diapausa (Karim, 2000).

Os adultos de *H. armigera* têm dimorfismo sexual, podem ser diferenciados através da cor e tamanho das asas. A fêmea possui as asas de tom base castanho rosado e uma envergadura aproximada de 40 mm, e nos machos as asas apresentam uma cor

verde acinzentada e cerca de 35 mm de envergadura. Uma outra diferença que pode ser observada é o formato do abdomen, sendo o da fêmea mais arredondado (Jayaraj, 1972). Os adultos são atraídos por flores que produzem néctar, este recurso é de grande importância principalmente para escolha do hospedeiro, que influencia também sua capacidade de oviposição (Cunningham et al., 1999). Uma única fêmea pode colocar entre 2.000 até 3.000 ovos, o que influencia a sua disseminação (Naseri et al., 2011).

2.1.3 Prejuízos causados pela *Helicoverpa armigera*

Seus principais e mais severos danos são registrados em várias culturas de importância econômica, tais como, o algodão, as leguminosas, sorgo, milho, feijão, tomate, frutíferas e também plantas ornamentais (Reed, 1965; Fitt, 1989; Moral Garcia, 2006). Estima-se prejuízos anuais que chegam a U\$\$ 5 bilhões devido ao seu ataque (Lammers & MacLeod, 2007).

A lagarta ataca tanto as estruturas vegetativas como as reprodutivas de seus respectivos hospedeiros, desde cotilédones, folhas, flores e os frutos. Entretanto as lagartas têm preferência pelas vagens em desenvolvimento ou já completamente formadas na cultura da soja (Johnson & Zalucki, 2005).

Em decorrência dos problemas com que lagartas de *H. armigera* ocasionados na Bahia, foi realizado em 22/02/2013, na cidade de Luís Eduardo Magalhães, o primeiro fórum regional sobre *Helicoverpa*. O evento teve como objetivo avaliar a incidência das lagartas desse gênero na região, bem como definir estratégias eficazes no manejo do inseto (Czepak et al., 2013). Os produtores relataram prejuízos da ordem de R\$ 140,00/ha na produção, além da necessidade de três aplicações adicionais de inseticidas nas lavouras. Na mesma safra, foram observadas lagartas de *H. armigera* em cultivos de soja dos estados do Maranhão e Piauí. Em Mato Grosso, essa praga foi também observada atacando lavouras de algodão, soja e milho, enquanto em Goiás os danos foram mais acentuados nas lavouras de tomate e soja (Ávila et al., 2013).

A safrinha de milho de 2013 foi marcada por grandes surtos de lagartas de *H. armigera* nas principais regiões produtoras, uma das maiores já registrada desde o início da comercialização das sementes de milho geneticamente modificado (milho *Bt*) no Brasil. Além da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, as lagartas de *Helicoverpa armigera* foram consideradas as grandes vilãs do milho (Ávila et al., 2013).

2.1.4 Manejo da *Helicoverpa armigera*

O conhecimento da dinâmica populacional de insetos assim como dos principais fatores ambientais e biológicos que podem influenciar no seu desenvolvimento são de fundamentais importância para um manejo correto de insetos-praga. Assim como a correta identificação desta espécie, pois se feita de maneira errada pode levar o uso equivocado de táticas de manejo (Ávila et al., 2013).

A procura por táticas alternativas de manejo, relaciona-se a rápida evolução da resistência em populações de *H. armigera* e pela demanda de alimentos mais saudáveis. Com destaque a essas alternativas, pode-se utilizar agentes de controle microbiano de pragas, como é o caso da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae) (Glare & O'Callaghan, 2000; Karim et al. 2000; Bobrowski et al. 2003; Polanczyk & Alves 2003; Bravo et al., 2011).

A ineficácia de inseticidas convencionais no manejo de *H. armigera* (Ahmad et al., 2003; Patil et. al., 2006; Wu, 2007) contribuiu para o aumento do mercado de agentes de controle biológico Brasil. Na safra de 2013/2014, houve aumento significativo deste mercado (cerca de R\$ 100 milhões), sendo que o bioinseticidas Bt, principalmente Dipel, foi de cerca de R\$ 50 milhões com cerca de 9 milhões de hectares pulverizados com Bt bioinseticidas (Polanczyk et al., 2017).

Na Austrália, China e Índia as proteínas Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa e Cry2Ab de Bt controlam de maneira satisfatória *H. armigera* (Liao et al., 2002; Chandrashekar et al., 2005). No Brasil, o ato Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento n° 15 de 14 de março de 2013, autorizou o uso emergencial de bioinseticidas baseados no vírus VPN-*Helicoverpa zea* e *Bacillus thuringiensis* para o manejo de *H. armigera* na cultura da soja e algodão.

2.2 *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLALES: BACILLACEAE)

2.2.1 Histórico, nomenclatura e utilização no manejo de pragas

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) possui espora gram-positiva aeróbica e pertencente à família Bacillaceae. Foi isolada pela primeira vez em 1901, em *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae), por um pesquisador japonês

Shigetane Ishiwata, que a chamou "Sottokin-Bacillus" (Ishiwata, 1901; Steinhaus, 1961; Heimpel; Angus, 1963). Anos mais tarde, por volta de 1915, a bactéria foi redescoberta pelo biólogo alemão Ernst Berliner, que então a isolou de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) (Berliner, 1915) e a denominou *Bacillus thuringiensis* Berliner.

Esta bactéria apresenta cristais de culturas esporuladas que foram reportadas por Berliner, mas a importância inseticida desse cristal só foi descoberta mais tarde (Sanchis; Bourguet, 2011). O primeiro pesquisador a correlacionar os cristais, nomeado de corpos parasporais com a patogenicidade de Bt foi Hannay (1953), sendo que Angus (1968) comprovou possível relação de uma substância tóxica com a morte de insetos (Habib; Andrade, 1998).

O uso de Bioinseticidas à base de Bt, é bastante utilizado com sucesso no controle de pragas, desde a segunda metade do século XX (Rosas-Garcia, 2009; Sanahuja et al., 2011; Sanchis, 2011). Em insetos de diversas ordens de importância agrícola: Coleoptera, Hymenoptera, Hemiptera, Isoptera, Lepidoptera e Orthoptera, a bactéria entomopatogênica tem efeito letal e/ou subletal na fase jovem e/ou adulta (Porcar et al., 2007; Van Frankenhuyzen, 2009; Aboussaid et al., 2010; Blanco et al., 2010; Oppert et al., 2010; Bergamasco et al., 2013; Panizi, 2013; Van Frankenhuyzen, 2013; Van Frankenhuyzen & Tonon, 2013; Zhang et al., 2013; Schünemann et al., 2014).

2.2.2 Aspectos gerais e modo de ação

O *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria esporulante que possui esporos em forma de bastonete e que na esporulação produz inclusões cristalinas (O'Callaghan, 2000; Crickmore, 2006; Glare; Jurat-Fuentes; Jackson, 2012). Os cristais têm proteínas-toxinas, conhecidas como δ -endotoxinas, que apresentam atividade tóxica para Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera e Orthoptera (De Maagd; Bravo; Crickmore, 2001; van Frankenhuyzen, 2009; Wu et al., 2011; Bravo et al., 2011).

O modo de ação das proteínas Cry envolve diversas etapas, ingestão do complexo espora-cristal pela larva suscetível, solubilização e processamento da toxina, ligação ao receptor, inserção na membrana, formação do poro e citólise. As proteínas Cry se apresentam na forma de pró-toxinas e necessitam serem ativadas por proteases para liberarem fragmentos tóxicos (Schnepf et al., 1998; Monnerat; Bravo, 2000).

Para a solubilização da pró-toxina, a mesma precisa entrar em contato com o pH alcalino dos insetos alvo pelo intestino médio das larvas (Knowles, 1994). Algumas diferenças na solubilização ajudam determinar as alterações quanto as proteínas Cry referente ao grau de toxicidade (Aronson et al., 1991). Após o processo da solubilização é fundamental o processamento das pró-toxinas por proteases especiais presentes no intestino médio do inseto, para que haja liberação de fragmento tóxico (Tojo; Aizawa, 1983). Um fator significativo é a clivagem que ajuda a determinar a especificidade; o principal tipo de protease digestiva em insetos das ordens Lepidoptera e Diptera é uma forma serino-protease e o principal tipo para ordem Coleoptera (cisteíno e aspártico-proteases) (De Maagd; Bravo; Crickmore, 2001).

Quando as proteínas Cry são ativadas e passam através da membrana peritrófica do intestino médio, um revestimento de proteção e chegam ao local-alvo e unem-se com receptores específicos presentes nas microvilosidades das células colunares do intestino médio das larvas de insetos suscetíveis (Zhang et al., 2012). Então toxinas Cry interagem com receptores específicos, determinando o espectro de ação das δ -endotoxinas, este fator importante para a toxicidade e especificidade (Monnerat; Bravo, 2000; De Maagd; Bravo; Crickmore, 2001; Bravo et al., 2007). Esta integração gera poros que causam a lise celular e o extravasamento do conteúdo instestinal para hemolinfa (Copping; Menn, 2000; Praça et al., 2004). Possivelmente a ligação proteína caderina no intestino médio com toxinas Cry, leva ativação por via de sinalização celular, ocasionado a morte da célula (Zhang et al., 2005; Zhang et al., 2006).

2.2.3 Controle de *H. armigera* com Bt

Apesar de muitas espécies de insetos apresentarem suscetibilidade ao patógeno, produtos à base de Bt são efetivos somente para lepidópteros, dípteros e coleópteros (Glare & O'Callaghan, 2000). Os autores relacionaram 572 espécies de lepidópteros suscetíveis ao Bt destes, 83 (14,5%) são noctuídeos, significando alto potencial no manejo de espécies-praga pertencentes a este gênero. O bioinseticida Dipel[®] à base de Bt (*Bt kurstaki* HD-1) é pouco tóxico para ácaros, coleópteros, dípteros e hemípteros, mas é eficiente em 170 lepidópteros-praga (Beegle & Yamamoto, 1992; Glare & O'Callaghan, 2000).

Apenas duas toxinas (Cry1Ac e Cry2Aa) são tóxicas para as três *Helicoverpa* spp. Van Frankenhuyzen (2009) demonstrou que varia muito a atividade biológica de Bt para *Helicoverpa* spp. Babu et al. (2002) apuraram que Cry1Ac é 6,5 vezes mais tóxica que Cry2Aa, porém Cry2Aa tem menor tempo letal. Avisar et al. (2009) e Kranthi et al. (2001) relataram que em relação a outras toxinas, a Cry1Ac possui a maior suscetibilidade de *H. armigera*.

Pelo fato desta espécie apresentar alta capacidade de migração pode ocorrer um isolamento geográfico e, posteriormente, o isolamento reprodutivo, originando populações fisiologicamente diferentes. Leite et al. (2014) estudaram a filogeografia de populações nativas de *H. armigera* e relataram a presença de linhagens de populações chinesa, europeia e indiana nas 14 populações analisadas.

As diferenças fisiológicas existentes entre populações da mesma espécie, podem afetar a suscetibilidade às táticas de controle, implicando na necessidade de elaboração de sistemas de manejo de acordo com esta variação populacional. Conforme observado para populações de *Plutella xylostella* e *Spodoptera frugiperda* da América Latina e Europa (González-Cabrera et al., 2001; Polanczyk et al., 2005; Monnerat et al., 2006).

A variação de suscetibilidade de ínstaes em bioensaios de mortalidade é um aspecto importante. Lagartas neonatas de *H. armigera* foram mais sensíveis à toxina Cry2Ab do que lagartas de terceiro ínstar, enquanto as de terceiro ínstar, foram mais sensíveis que as neonatas para Cry1Ac (Bird et al., 2007).

2.3 Tecnologia de aplicação

Uma das alternativas para minimizar os danos causados pela lagarta *H. armigera* é a aplicação de inseticidas, que evita ou diminui a severidade do ataque. Entretanto, aplicar o produto em maior número possível de folhas com acurácia e uniformidade sobre o inseto não é tarefa fácil por causa de seu hábito alimentar sendo necessário pulverizar inseticidas nos terços médio e inferior das plantas (Bonadiman, 2008).

A tecnologia de aplicação pode ser definida como a ciência que busca a correta colocação do produto no alvo, no “timing” adequado, na quantidade requerida, de forma econômica e, com o mínimo de contaminação humana e ambiental (Matuo, 1990).

Sabe-se que a aplicação de produtos fitossanitários por pulverização é um processo dinâmico e multifacetado com oportunidades para a perda de ingrediente ativo (Al-Sarar et al., 2006). Além de conhecer o produto a ser aplicado, é necessário dominar a forma adequada de aplicação, de modo a garantir que o produto alcance o alvo minimizando as perdas.

Um dos aspectos mais importantes relacionados ao controle de insetos-praga refere-se ao diâmetro das gotas produzido na pulverização que determina o nível de cobertura, a penetração do produto no dossel da planta, a perda por evaporação, assim como a uniformidade de distribuição do líquido sobre o alvo (Farooq et al., 2001; Yu et al., 2009). Outro parâmetro importante que interfere na cobertura e depósito da pulverização a campo é o volume de aplicação. Atualmente, busca-se reduzir o volume de aplicação nas pulverizações, visando aumento da capacidade operacional dos equipamentos aplicadores (Farinha et al., 2009). A redução do volume de aplicação representa expressiva inovação tecnológica. Entretanto, nem sempre se correlacionam com uma eficiência adequada, visto que, normalmente a cobertura do alvo é diretamente proporcional ao volume de aplicação (Courshee, 1967).

Neste contexto, Gimenes et al. (2012) avaliaram os volumes de aplicação de 100 L ha⁻¹ e 200 L ha⁻¹ e verificaram melhor controle do alvo com volume de calda maior devido a maior cobertura de gotas. Costa et al. (2013) ao comparar o depósito de calda obtido em plantas de soja em função do volume de aplicação e angulação de bicos de energia centrífuga em relação ao tratamento convencional, bico de energia hidráulica e volume de 150 L ha⁻¹, os autores observaram que o tratamento convencional proporcionou maior depósito nas plantas de soja.

Por outro lado, em trabalho anterior, Derksen et al. (2008) avaliaram o depósito da calda pulverizada utilizando diferentes modelos de pontas de pulverização, com taxas que variaram de 93 a 187 L ha⁻¹ e não observaram diferenças significativas no depósito na parte inferior da cultura em função da variação do volume de calda.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aboussaid, H., El-aouame, L., El-messoussi, S., Oufdou, K., 2010. Biological Activity of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) strains on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera:Tephritidae). *Journal of Environmental Protection*, v.1, p.337-345.
- Ahmad, M., Iqbal, A.M., Ahmad, Z., 2003. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to new chemistries in Pakistan. *Crop Protection*, v.22, p.539-544.
- Ali, A., Choudhury, R.A., 2009. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. *Tunisian Journal of Plant Protection*, Kef, v. 4, n. 1, p. 99-106.
- Al-Sarar, A., Hall, F. R., Downer, R. A., 2006. Impact of spray application methodology on the development of resistance to cypermethrin and spinosad by fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE SMITH). *Pest Management Science*, v. 62, n. 11, p. 1023-1031.
- Angus, T. A., 1968. The use of *Bacillus thuringiensis* as a microbial insecticide. *World Review of Pest Control*, Cambridge, v. 7, p. 1-26.
- Aronson, A. I., Han, E., Mcgaughey, W., Johnson, D., 1991. The solubility of the inclusion proteins from *Bacillus thuringiensis* is depende upon protoxin composition and is a factoring toxicity to insects. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 57, n. 12, p. 981-086.
- Ávila, J. C., Vivian, L. M., Tomquelski, G. V., 2013. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. Dourados: Embrapa Agropecuária-Circular Técnica, Oeste. 12p.
- Avisar, D., Eilenberg, H., Keller, M., Reznik, N., Segal, M., Sneh, B., Zilberstein, A., 2013. The *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1C as a potential bioinsecticide in plants. *Plant Science*, v.176, p.315–324.
- Babu, B. G., Udayasuriyana, V., Mariama, M. A., Sivakumara, N.C., Balasubramanianb, B.G., 2002. Comparative toxicity of Cry1Ac and Cry2Aa d-endotoxins of *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (H.). *Crop Protection*, v.21, p. 817-822.

- Bobrowski, V. L., Fiúza, L. M., Pasquali, G., Bodanese-Zanettini, M. H., 2003. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Ciencia Rural*, v.34, p. 843-850.
- Beegle, C. B., Yamamoto, T., 1992. Invitation paper (C.P. Alexander Fund): History of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. *The Canadian Entomologist*, v.124, p.587-616.
- Bhatt, N., Patel, R. 2001. Biology of chickpea pod borer, *Helicoverpa armigera*. *Indian Journal of Entomology*, v.63, p.255-259.
- Behere, G. T., Tay, W. T., Russel, D. A., Kranthi, K. R., Batherham, P., 2013. Population genetic structure of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as inferred from EPICPCR DNA Markers. *Plos One*, San Francisco, v. 8, n. 1, p. 53448.
- Bergamasco, V. B., Mendes, D. R. P., Fernandes, O. A., Desidério, J. A., Lemos, M. V. F., 2013. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ia10 and Vip3Aa protein interactions and their toxicity in *Spodoptera* spp. (Lepidoptera). *Journal of Invertebrate Pathology*, v.112, p.152-158.
- Berliner, E., 1915. Eber die schlaffsucht der Mehlmotenraupe. (*Ephesia kuehniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis*, n. sp. *Z. ang. Entomology*, v. 2, p. 29-56.
- Blanco, C. A., Gould, F., Groot, A. T., Abel, C. A., Hernandez, G., Perera, O. P., Teran-Vargas, A.P., 2010. Offspring from sequential matings between *Bacillus thuringiensis*- resistant and *Bacillus thuringiensis*-susceptible *Heliothis virescens* Moths (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*. v.103, p. 861-868.
- Bird, L. J., Akhurst, R. J., 2007. Variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia to two *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.94, p. 84-94.
- Bonadiman, R., 2008. Pontas de pulverização e volumes de calda no controle de *Anticarsia gemmatilis* (Hubner, 1818) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) na cultura da soja Glyn cine max. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, 70 f.
- Brasil, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem Populacional- *IBGE*, 2017. [Http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=15](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=15). (Acessado 17/01/2017).
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S., Soberón, M., 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v.41, p.423-431.
- Chandrashekar, K., Kumari, A., Kalia, V., Gujar, G. T., 2005. Baseline susceptibility of the American bollworm, *Helicoverpa armeira* (Hübner) to *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* and its endotoxins in India. *Current Science*, v.88, p. 167–175.

- Copping, L. G., Menn, J. J., 2000. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, Chichester, v. 56, n. 5, p. 651-676.
- Costa, L. L., Ferreira, M. C., Da Costa, A. C. P. R., Rolim, G. S., Campos, H. B. N., 2013. Spraying deposit in soybean plants as influenced by application volume and the degree of inclination of centrifugal energy nozzles. *Agricultural Science Reserch Journal*, v. 3, p. 343-351.
- Courshee, R. J., 1967. Some aspects of the application of insecticides. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v. 5, p. 327-52, 1967. [Http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.05.010160.001551](http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.05.010160.001551). (Acessado 28/08/2017).
- Crickmore, N., 2006. Beyond the spore - past and future developments of *Bacillus thuringiensis* as a biopesticide. *Journal of Applied Bacteriology*, Chichester, v. 101, p. 616-619.
- Cunningham, J. P., Zalucki, M. P., West, S. A., 1999. Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behaviour and control of a polyphagous pest. *Bulletin of Entomological Research*, v. 89, n. 3, p. 201-207.
- Czepak, C., Albernaz, K.C., Vivian, L. M.; Guimarães, H.O., Carvalhais, T., 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepdoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v.43, n. 1, p. 110-113.
- De Maagd, R. A., Bravo, A.; Crickmore, N., 2001. How *Bacillus thuringiensis* has envolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*, Oxford, v. 17, n. 4, p. 193-199.
- Derksen, R. C., Zhu, H., Ozkan, H.E, Hammond, R.B., Dorrance, A.E., Spongberg, A.L., 2008. Determining the influence of spray quality, nozzle type, spray volume and air-assisted application strategies on deposition of pesticides in soybean canopy. *Trasactions of the ASABE*, v. 51, n. 5, p. 1529-1537.
- Farinha, J. V., Martins, D., Costa, N. V., Domingos, V. D., 2009. Deposição da calda de pulverização em cultivares de soja no estádio R1. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 6, p. 1738-1744. (Acessado 28/08/2017).
- Farooq, M., Balachandar, R., Wulfsohn, D., Wolf, T. M., 2001. Agriculture sprays in cross-flow and drift. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v.78, n.4, p.347-358.
- Fitt, G. P., 1989. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annual Review of Entomology*, v. 34, p. 17-52.
- Fowler, G., Lakin, K., 2001. Risk assessment: the Old Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner), (Lepidoptera: Noctuidae). Raleigh, NC: USDA-APHIS, Center for Plant Health Science and Technology (Internal Report), p.1-19.
- Genari, L. A., 2014. Nível de dano de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. BRS-Estilo. Centro Universitário Moura Lacerda, Ribeirão Preto-SP.

- Gimenes, M. J., Raetano, C. G., Dal Pogetto, M. H. F., Prado, E. P., Christovam, R. S., Rezende, D. T., Costa, S. I. A., 2012. Air-assistance in spray booms which have different spray volumes and nozzle types for chemically controlling *Spodoptera frugiperda* on corn. *Journal of Plant Protection Research*, Poznan, v. 52, n. 2, p. 247-253, 2012a.
- Glare, T. R., O’Callaghan, M., 2000. *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley & Sons, 350p.
- González-Cabrera, J., Herrero, S., Sayyed, A. H., Escriche, B., Liu, Y. B., Meyer, S. K., Wright, D. J., Tabashnik, B. E., Ferre J., 2001. Variation in Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* toxins among unselected strains of *Plutella xylostella*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.67, p.4610-4613.
- Guo, Y. Y., 1997. Progress in the research on migration regularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. *Acta Entomologia Sinica*, Beijing, v. 40, n. 1, p. 1-6.
- Habib, M. E. M., Andrade, C.E.S., 1998. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, p. 383-446.
- Hannay, C. L., 1953. Crystalline inclusions in aerobic spore forming bacteria. *Nature*, v. 172, p. 1004.
- Heimpel, A. M., Angus, T. A., 1963. Diseases caused by certain spore-forming bacteria. In: STEINHAUS, E. A. *Insect pathology: an advanced treatise*. New York: Academic Press, p. 21–73.
- Ishiwata S., 1901. On a kind of severe flacherie (sotto disease) (No. 1), *Dainihon Sanshi Kaiho*, (original em japones) v.114, p. 1–5.
- Jayaraj, S., Reed, W., Kumble, V., 1981. Biological and ecological studies of *Heliothis*. In *Proceedings of the International Workshop on Heliothis Management*. ICRISAT Center, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. Patancheru, India, 15-20 November, p. 17-28.
- Johnson, M. L.; Zalucki, M. P., 2005. Foraging behavior of *Helicoverpa armigera* first instar larvae on crop plants of different developmental stages. *Journal of Applied Entomology*, v.129, p.239–245.
- Jurat-Fuentes, J. L, Jackson, T. A., 2012. Bacterial entomopathogens. In: KAYA, H, VERA, F. E, KAYA, H. K.. (Eds.). *Insect Pathology*. 2nd ed. London: Academic Press, p. 268-349.
- Karim, S., 2000. Management of *Helicoverpa armigera*: a review and prospectus for Pakistan. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v.3, p.1213–1222.
- King, A. B. S., 1994. *Heliothis/Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). In: MATTHEWS, G.A., TUNSTALL, J.P., (Eds.). *Insect pests of cotton*. Wallingford: CAB International, p.39-106.
- Kirkpatrick, T. H., 1962. Notes on the life-histories of species of *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae) from Queensland. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*, v.19, p.567-570.

- Knowles, B. H., 1994. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ -endotoxins. *Advances in Insect Physiology*, San Diego, v. 24, p. 275–308.
- Kranthi, K. R., Kranthi, S., Wanjari, R. R., 2011. Baseline toxicity of Cry1A toxins to *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India. *International Journal of Pest Management*, v.47, p.141-145.
- Lammers, J., Macleod, A., 2007. Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hbn). Plant Protection Service (NL) and Central Science laboratory (UK), v. 18.
- Leite, N. A., Alves-Pereira, A., Corrêa, A. S., Zucchi, M. I., Omoto, C., 2014. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. *PLoS ONE*, v. 9, 113286.
- Liao, C. Y., Heckel, D. G., Akhurst, R., 2002. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins for *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae), major pests of cotton. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.80, p.55–63.
- Liu, Z. D., Gong, P. Y., Wu, K. J., Li, D. M., 2004. Effects of parental exposure to high temperature on offspring performance in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae): adaptive significance of the summer diapause. *Applied Entomology and Zoology*, Osaka, v. 39, n. 3, p. 373-379.
- Matthews, M., 1999. Heliothinae moths of Australia: a guide to pest bollworms and related noctuid groups. Melbourne: CSIRO, 320 p.
- Matuo, T. Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas., 1990. Jaboticabal: Funep. 139 p.
- Mensah, R. K., 1996. Supression of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast. *Australian Journal of Entomology*, v. 35, n. 4, p. 323-329.
- Monnerat, R. G., Bravo, A., 2000. 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.
- Moral Garcia, F. J., 2006. Analysis of the spatiotemporal distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in a tomato field using a stochastic approach. *Biosystems Engineering*, v.93, n.3, p.253-259.
- Naseri, B., Fathipour, Y., Moharrampour, S., Hosseinaveh, V., 2011. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. *Journal of Agricultural Science and Technology*, v. 13, p. 17-26.
- Oppert, B., Morgan, T.D., Kramer, K.J., 2010. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa protoxin and protease inhibitors against coleopteran storage pests. *Pest Management Science*, v. 67: 568–573.
- Panizzi, A. R., 2013. History and contemporary perspectives of the Integrated Pest Management of soybean in Brazil. *Neotropical Entomology*, v.42, p.119–127.

- Patil, N. K., Kundapur, R., Shouche, Y.S., Karegoudar, T. B., 2006. Degradation of a plasticizer, di-nbutylphthalate by *Delftia* sp TBKNP-05. *Curr. Microbiol.*, 52:225-230.
- Pereira, M. F. A., Tokuda, F. S., Justiniano, W., Batistela, M. J., 2012. Eficiência de inseticidas e volumes de calda, no manejo de *Spodoptera eridania*, na cultura da soja. *Pesquisa & Tecnologia*, vol.9, n.1.
- Polanczyk, R. A., Van Frankenuyzen, K. V., Pauli, G., 2017. The American *Bacillus thuringiensis* Based Biopesticides Market. In: Fiuza, L.M.; Polanczyk, R.A.; Crickmore, N. (Org.). *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Characterization and use in the field of biocontrol. 1ed. Berlim: Springer International Publishing. v. 1, p. 173-184.
- Polanczyk, R. A., Alves, S.B., Padulla, L.F., 2005. Screening of *Bacillus thuringiensis* against three Brazilian populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biopesticides International*, v. 1, n. 1/2, p. 114-124.
- Polanczyk, R. A., Alves, S.B., 2003. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. *Agrociencia*, v.7, p.1-10.
- Porcar, M., Grenier, A. M., Federici, B., Rahbe, Y., 2007. Effects of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins on the Pea Aphid (*Acyrtosiphon pisum*). *Applied and Environmental Microbiology*, v.75, p. 4897–4900.
- Praça, L. B., Batista, A. C., Martins, E. S., Siqueira, C. B., Dias, D. G. S., Gomes, A. C. M. M., Falcão, R., Monnerat, R. G., 2004. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, p. 11-16.
- Ramos, H. H., Lima, M. A., Pio, L.C., Aguiar, V. C., 2010. Tecnologia de aplicação de agrotóxicos no Brasil (parte 1): Análises e Perspectivas. *Defesa Vegetal*, p.40-43.
- Reed, W., 1965. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in western Tanganyika: II. Ecology and natural and chemical control. *Bulletin of Entomological Research*, v.56, n.1, p.127-140.
- Rosas-Garcia, N. M., 2009. Biopesticide Production from *Bacillus thuringiensis*: An environmentally friendly alternative. *Recent Patents on Biotechnology*, v.3, p.28-36.
- Sanahuja, G., Banakar, R., Twyman, R. M., CApell, T., Christou, P., 2011. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, v.9, p.283–300.
- Sanchis V., Bourguet, D., 2011. *Bacillus thuringiensis*: applications in agriculture and insect resistance management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, v. 28, p. 11–20.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R., DEAN, D. H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 62, p.775-806.

- Schünemann, R., Knaak, N., Fiuza, L.M., 2014. Mode of action and specificity of *Bacillus thuringiensis* toxins in the control of caterpillars and stink bugs in soybean culture. *ISRN Microbiology*, p.1-12.
- Specht, A., Sosa-Gómes, D. R., Paula-Moraes, S.V., Yano, S.A.C., 2013. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 48, n. 6, p. 689- 692.
- Steinhaus, E. A., 1961. On the correct author of *Bacillus sotto*. *Journal of Insect Pathology*, v. 3, p. 97-100.
- Thomazoni, D., Soria, M. F., Pereira, E. J. G., De Grande, P. E., 2013. *Helicoverpa armigera*: perigo iminente aos cultivos de algodão, soja e milho do estado de Mato Grosso. Instituto Mato-Grossense do Algodão, Circular Técnica, n.5, 12 p.
- Tojo, A., Aizawa, K., 1983. Dissolution and degradation of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin by gut juice protease of the silkworm *Bombyx mori*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 45, p. 576–580.
- Twine, P., 1978. Effect of temperature on the development of larvae and pupae of the corn earworm, *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidiae). *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*, v.35, p.23-28.
- Van Frankenhuyzen, K., 2013. Cross-order and cross-phylum activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.114, n.1, p.76-85.
- Van Frankenhuyzen, K.; Tonon, A., 2013. Activity of *Bacillus thuringiensis* cyt1Ba crystal protein against hymenopteran forest pests. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.113, p.160–162.
- Van Frankenhuyzen K., 2009. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* Crystal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 101, p. 1-16.
- Wu, Y., Lei, C. F., Yi, D., Liu, P. M., Gao, M. Y., 2011. Novel *Bacillus thuringiensis* endotoxin active against *Locusta migratoria manilensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 77, p. 3227–3233.
- Wu, K. M., 2007. Regional management strategy for cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in China. *Control of Insect Pests*, v.7, p.559-565.
- Yanai, K., Almeida, V. F. L., Ramos, H. H., Araújo, D., 2008. Avaliação de eficiência da deposição de um pulverizador versátil para pequenas áreas agrícolas na cultura de morango. In: Simpósio Internacional de tecnologia de aplicação de agrotóxicos. Ribeirão Preto.
- Yu, Y., Zhu, H., Frantz, J. M., Reding, M. E., Chan, K. C., Ozkan, H. E., 2009. Evaporation and coverage area of pesticide droplets on hairy and waxy leaves. *Biosystems Engineering*, v. 104, n. 3, p. 324-334.
- Zhang, Y., Ma, Y., Wan, P. J., Mu, L. L., LI, G. Q., 2013. *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins affect lifespan and reproductive performance of

Helicoverpa armigera and *Spodoptera exigua* adults. Journal of Economic Entomology, v.106, p.614-621.

Zhang, X., Tiewisiri, K., Kain, W., Huang, L., Wang, P., 2012. Resistance of *Trichoplusia ni* to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac is independent of alteration of the cadherin-like receptor for Cry toxins. PLoS One, São Francisco, v. 7, n. 5, p. 1-9.

Zhang, X., Candas, M., Griko, N. B., Taussig, R., Bulla Junior, L. A., 2006. A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, Washington v. 103, p. 9897–9902.

Zhang, X., Candas, M., Griko, N. B., Rose-Young, L., Bulla Junior, L. A., 2005. Cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin depends on specific binding of the toxin to the cadherin receptor BT-R1 expressed in insect cells. Cell Death & Differentiation, London, v. 12, p. 1407–1416.

Zalucki, M. P., Dagnish, g., Firempong, S., Twine, P., 1986. The biology and ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? Australian Journal of Zoology, Melbourne, v. 34, n. 6, p. 779-814.

CAPÍTULO I

Suscetibilidade de diferentes ínstaes e populações de *Helicoverpa armigera* ao Dipel em laboratório

(Normas de acordo com a revista Journal of Invertebrate Pathology)

Cristiane Mendes de Campos^a

^aInstituto Federal Goiano Campus Morrinhos-GO

RESUMO

A *Helicoverpa armigera* possui hábito polífago, ampla distribuição geográfica, e alta capacidade de migração. Objetivou-se com este trabalho avaliar a susceptibilidade de lagartas de *H. armigera* em diferentes populações (São Paulo, Minas Gerais e Goiás) no 1º ínstar e lagartas até o 3º ínstar para população de São Paulo em relação ao produto comercial Dipel®. Os testes foram conduzidos no laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga da UNESP Jaboticabal/SP. Para a realização dos experimentos, a dieta artificial foi vertida em placas de acrílico e utilizada uma concentração de 10⁷ esporos/mL aplicada na superfície e posteriormente foram inoculadas as lagartas. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com 4 repetições com 25 lagartas, arranjados em esquema fatorial (2x3x5) e (2x3x8), primeiro fator com produto comercial Dipel e sem o segundo fator as diferentes populações e diferentes ínstaes, o terceiro épocas de avaliação. A mortalidade foi avaliada diariamente. A população de Minas Gerais teve mortalidade acima de 80% desde o primeiro dia de avaliação tendo

maior suscetibilidade. Na população de São Paulo, lagartas de 1º e 2º são mais suscetíveis do que lagartas de 3º ínstar.

Palavras-chave: Controle microbiano, entomopatógono, noctuidae.

ABSTRACT

Helicoverpa armigera has a polyphagous habit, broad geographical distribution, and high migration capacity. The objective of this work was to evaluate the susceptibility of *H. armigera* larvae in different populations (São Paulo, Minas Gerais and Goiás) in the 1st instar and larvae to the 3rd instar for the São Paulo population using the commercial product Dipel®. The tests were conducted in the Laboratory of Microbial Control of Arthropods Prague of UNESP Jaboticabal/SP. For the experiments, the artificial diet was poured into acrylic plates and a concentration of 10^7 spores/mL was applied to the surface and the larvae were later inoculated. The experimental design was completely randomized with 4 replicates with 25 larvae, arranged in a factorial scheme (2x3x5) and (2x3x8), first factor with commercial product Dipel and without, the second factor the different populations and different instars and the third evaluation periods. Mortality was assessed daily. The Minas Gerais had mortality above 80% from the first day of evaluation, with greater susceptibility. In the São Paulo population, larvae of 1st and 2nd are more susceptible than larvae of 3rd instar.

Keywords: Microbial control, entomopathogenic, noctuidae.

1. Introdução

A *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga encontrada em várias regiões do país, causando severos prejuízos em diversas culturas. Essa praga foi considerada como quarentenária A1, porém foi constatada no Brasil na safra 2012/2013, com registros de ocorrência nos estados de Goiás, Bahia e Mato Grosso (Czepak et al., 2013). Tem grande capacidade de dispersão que atrelada a polifagia, contribui para instalação de uma nova praga no Brasil.

A identificação errada desta espécie quando foram detectados os primeiros surtos, levou à opção pelo uso de inseticidas inadequados. Em falhas de controle de insetos-praga o que se observa é o aumento do número de aplicações e a dose dos inseticidas utilizados, isso contribui para evolução da resistência das populações desta praga aos inseticidas. O intervalo de cinco anos entre a entrada de *H. armigera* no Brasil e a sua correta identificação pode ter influenciado na evolução da resistência desta espécie aos inseticidas (Sosa-Gomez et al., 2015).

As diferenças fisiológicas existentes entre populações da mesma espécie podem afetar a suscetibilidade às táticas de controle o que implica na necessidade de elaboração de sistemas de manejo de acordo com a variabilidade populacional. Essa variação foi observada para populações de *Plutella xylostella* e *Spodoptera frugiperda* da América Latina e Europa em resposta ao manejo com entomopatógenos (González-Cabrera et al., 2001; Monnerat et al., 2006; Polanczyk et al., 2005).

Há estudos que demonstram diminuição significativa na suscetibilidade de *H. armigera* às toxinas Cry conforme seu desenvolvimento larval (Bird; Akhurst, 2007; Li; Bower, 2012). A diferença de suscetibilidade da praga as toxinas Bt ao longo do desenvolvimento coloca a eficiência da toxina dependente do ínstar larval da praga, ou seja, ínstars tardios são menos suscetíveis e mais vorazes.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a suscetibilidade de *H. armigera* ao bioinseticida Dipel, comparando diferentes populações no primeiro ínstar de desenvolvimento e diferentes ínstars larvais de uma mesma população.

2. Material e métodos

As criações de *H. armigera* e bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga da Universidade Estadual Paulista Campus Jaboticabal, SP. Localizada a 21° 14' 05" S de latitude, 48° 17' 09" W de longitude e 615,01 m de altitude.

2.1. Populações *Helicoverpa armigera*

As populações utilizadas nos bioensaios foram oriundas dos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás. As lagartas utilizadas nos experimentos foram obtidas a partir da geração seguinte a que chegaram ao laboratório.

2.2. Criação dos insetos

Os insetos foram criados no laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga da UNESP, em ambiente climatizado com temperatura 25±1°C, UR de 70±10% e fotoperíodo de 12 horas.

As lagartas foram individualizadas em placas de Petri (6 cm de diâmetro x 2 cm altura) contendo dieta artificial proposta por Greene et al., 1976 (Tabela 1) e mantidas sob condições controladas de temperatura, umidade relativa e fotoperíodo até a fase de pupa. As pupas foram sexadas e separadas em 20 casais. Após a emergência, os adultos, foram mantidos em gaiolas cilíndricas de PVC de 20 cm de diâmetro e 20 cm de altura, revestidas internamente com papel corrugado e alimentados com solução de mel 10%. A gaiola foi colocada sobre um prato plástico de 23,5 cm de diâmetro e 3 cm de altura contendo papel toalha, para a remoção de escamas e excrementos na extremidade superior da gaiola fechada com tecido de malha fina (tipo *voile*), preso por elástico.

O substrato de oviposição foi trocado a cada dois dias para retirada dos ovos. O papel corrugado e o tecido de malha fina, com ovos, foram colocados em solução de cobre (sulfato íco pentahidratado/ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) a 1 % para limpeza e sanitização e colocados para secar o excesso de água. As posturas foram acondicionadas em potes plásticos e as lagartas após a eclosão foram individualizadas em placas de Petri (6 cm de diâmetro x 2 cm altura) contendo 10 mL de dieta artificial (Tabela 1).

Tabela 1. Composição da dieta artificial utilizada para criação de *Helicoverpa armigera*

INGREDIENTE	QUANTIDADE
Feijão Branco	103 g
Germe de trigo	82 g
Farelo de soja	41 g
Leite em pó	31 g
Levedura de cerveja	51,5 g
Ácido ascórbico	4,9 g
Ácido sórbico	2,5 g
Nipagin	4,8 g
Solução Vitamínica	8 MI
Tetraciclina	0,1 g
Formaldeído 40%	5 MI
Agar	17,5 g
Água	500 mL

(Greene et al., 1976 modificada).

2.3. Bioensaio de suscetibilidade de *H. armigera* ao Dipel em laboratório

Para o bioensaio foi usado o bioinseticida à base de *Bt kurstaki* (Dipel® PM), na concentração de 10^7 esporos/mL. Para os testes de suscetibilidade em lagartas neonatas das três diferentes populações, a dieta foi vertida nas placas (Cosmetic Jar Vazio Pot Eyeshadow Face) (1,50 cm diâmetro x 2 cm altura) contendo 2 mL de dieta artificial e 150 µL *Bt kurstaki* (Dipel® WG) foi aplicado sobre a dieta com auxílio de “epperndorf”. Após a evaporação do excesso de umidade foi transferida uma lagarta com idade entre 24 horas, em cada placa. Para avaliação da mortalidade de lagartas neonatas das três populações após a inoculação, foi utilizado esquema fatorial (2x3x5), primeiro fator com produto comercial Dipel e sem testemunha, e outro, as diferentes populações oriundas dos estados São Paulo, Minas Gerais e Goiás e o último as épocas de avaliação em cinco dias.

Os testes realizados no 1º, 2º e 3º ínstar da população de São Paulo, a dieta foi vertida em bandejas, (3,50 cm diametro x 3 cm altura) contendo 4 mL de dieta artificial e 150 µL *Bt kurstaki* (Dipel® PM) aplicado sobre a dieta por um “epperndorf”. Após a evaporação do excesso de umidade foi transferida uma lagarta com idade entre 24, 48 e 72 horas para cada célula da bandeja. A avaliação da população de São Paulo, foi utilizado o esquema fatorial (2x3x8), primeiro fator com e sem bioinseticida Dipel, os três diferentes ínstaes e o período de avaliação em oito dias.

Para condução do bioensaio foi utilizado delineamento inteiramente ao acaso e usadas 4 repetições, cada tratamento contendo 25 lagartas, totalizando 100 lagartas de cada população para os tratamentos com e sem Dipel.

Após o período de 24 horas, iniciou-se o registro dos números de lagartas mortas por repetição. Considerou-se lagartas mortas aquelas que não se moviam quando tocadas com um pincel de cerdas finas. Assim, realizaram-se avaliações em intervalos de 24 horas, até o oitavo dia de avaliação.

Os dados de mortalidade foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk, Levene e Durbin-Watson para constatação de normalidade e homogeneidade da variância, para verificar se atendiam aos requisitos da análise de variância ANOVA. Em seguida a ANOVA, foi utilizada para verificar o efeito do produto na mortalidade de lagartas. Como os dados não atenderam aos requisitos exigidos, foram conduzidas análises não paramétricas utilizando os testes de Kruskal-Wallis a 5% de probabilidade. Para condução das análises, foi usado o software estatístico R versão 3.3, 2017.

3. Resultados

Não verificou diferença significativa quanto à mortalidade das lagartas entre as populações de São Paulo e Goiás, mas entre as populações de Minas Gerais e Goiás houve diferença significativa nos três primeiros dias de avaliação, embora a mortalidade tenha sido de 100% no final do período de avaliação para todas as populações (Tabela 2).

O Dipel matou mais rápido as lagartas da população de Minas Gerais, com mortalidade acima de 80% no primeiro dia de avaliação, enquanto 60% das lagartas da população de Goiás estavam mortas no terceiro dia de avaliação. As lagartas da população de São Paulo demoraram mais tempo para morrer com 90% de mortalidade apenas no quinto dia (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade em porcentagem acumulada de diferentes populações: São Paulo, Minas Gerais e Goiás de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) com e sem aplicação do bioinseticida Dipel no período de avaliação.

		Dias após aplicação dos tratamentos				
	População	1	2	3	4	5
c/ Dipel	1(SP)	68bcC	82bcBC	88bcBC	96aAB	100aA
	2(MG)	82abC	92abABC	100abAB	100aA	100aA
	3(GO)	38cB	56cB	60cB	100aA	100aA
s/ Dipel	1(SP)	4aA	2bcA	2cA	6aA	6aA
	2(MG)	8aA	10abA	10abA	10aA	10aA
	3(GO)	2aA	6cA	6bcA	6aA	6aA
CV=2,65%; W = 0,95; L= 2,76; DW = 2,71						

Medianas seguidas por letras distintas minúsculas na coluna e maiúscula na linha diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 0,05 de significância; CV: coeficiente de variação; W, L e DW: estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk para normalidade dos resíduos, Levene para homogeneidade de variâncias e Durbin-Watson para independência dos resíduos, respectivamente; Valores em negrito indicam resíduos normalmente distribuídos e independentes e variâncias homogêneas ao nível de 0,05 de significância.

A suscetibilidade de lagartas de 1º e 2º ínstar de *H. armigera* ao Dipel foi significativamente maior quando comparadas com lagartas de 3º ínstar. Entretanto, no primeiro dia de avaliação, 68% das lagartas de 1º ínstar estavam mortas (Tabela 3). No quinto dia após aplicação constatou-se mortalidade de 100% das lagartas de 1º e 2º ínstar da *H. armigera* (Tabela 3).

O terceiro ínstar foi menos suscetível ao Dipel diferindo significativamente dos demais ínstars. No primeiro e segundo dia de avaliação, não houve mortalidade e, somente a partir do terceiro dia, observou-se o início da mortalidade das lagartas com índice de 20%. Constatou-se também que as lagartas de 3º ínstar atingiram 100% de mortalidade somente no oitavo dia de avaliação (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade em porcentagem acumulada em diferentes ínstar *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) da população de São Paulo com e sem aplicação do bioinseticida Dipel no período de avaliação.

Ínstar	Dias após aplicação dos tratamentos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
c/ Dipel	1	68aC	82aBC	88aBC	96aAB	100aA	100aA	100aA	100aA
	2	18bD	56aCD	78abC	92aBC	100aAB	100aA	100aA	100aA
	3	0cE	0bE	18bD	28bCD	38bCD	88bBC	96aAB	100aA
s/ Dipel	1	4aA	4abA	4abA	6Aa	6aA	6aA	6aA	6aA
	2	0bB	0bAB	0bAB	2bAB	4aA	4aA	4aA	4aA
	3	0bB	6aA	6aA	6abA	6aA	8aA	8aA	8aA

CV=57,25%; W = 0,94; L= 5,32; DW = 2,51

Medianas seguidas por letras distintas minúsculas na coluna e maiúscula na linha se diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 0,05 de significância; W, L e DW: estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk para normalidade dos resíduos, Levene para homogeneidade de variâncias e Durbin-Watson para independência dos resíduos, respectivamente; Valores em negrito indicam resíduos normalmente distribuídos e independentes e variâncias homogêneas ao nível de 0,05 de significância.

4. Discussão

O bioinseticida Dipel foi eficiente causando a mortalidade total das diferentes populações de lagartas neonatas de *Helicoverpa armigera* em cinco dias. Os bioinseticidas à base de Bt, apresentam as proteínas Cry em suas formulações, que por sua vez são tóxicas para *H. armigera* (Liao et al. 2002; Bravo et al. 2011; Chelliah et al. 2011; Sebastião et al. 2015).

Os produtos à base de Bt, são preparados com esporos-cristais através de várias estirpes selvagens do *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) HD1 pelas expressões de proteínas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac e Cry2Aa ou HD73 produzindo Cry1Ac e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Bta) HD137 que produz toxinas diferentes Cry, tais como Cry1Aa, Cry1B, Cry1Ca e Cry1Da (Bravo et al., 2011). Mas, o arranjo do esporo-cristal que está nas formulações pode resultar em um efeito sinérgico (Avilla et al. 2005) consequentemente, há aumento da toxicidade do Bt, e algumas vezes ocorre maior mortalidade larval (Chandrashekar et al. 2005). Esse relato pode ser corroborado com os resultados obtidos neste estudo.

Há relatos de que há diferença significativa entre populações de *H. armigera* quanto ao manejo que desenvolvem em regiões distintas (Kranthi et al., 2001; Chen et al., 2013; Tay et al., 2013). Portanto isso justificaria a mortalidade das populações das três diferentes regiões do País ter sido mais rápida ou lenta entre os dias de avaliação.

Segundo Monnerat et al. (2006), relatam grande diferença de suscetibilidade entre populações de *S. frugiperda* latino americanas as toxinas Cry. O mesmo foi relatado em diferentes populações de *Plutella xilostella* (González-Cabrera et al., 2001).

Deve-se considerar nos bioensaios a variação da suscetibilidade entre ínstares de *H. armigera* com Bt. Bird et al. (2007) verificaram que lagartas neonatas de *H. armigera* foram mais sensíveis a toxina Cry2Ab do que lagartas de terceiro ínstar, enquanto as de terceiro ínstar foram mais sensíveis que as neonatas para Cry1Ac.

Lagartas de ínstares mais adiantados são menos suscetíveis às toxinas presentes nos formulados comerciais e a toxicidade dos produtos utilizados diminui com o aumento da idade larval. A redução de toxicidade do Bt para estádios mais adiantados tem sido observada em várias espécies de insetos (Rausell et al., 2000; Ali et al., 1996; Li et al., 2012). Resultados similares foram obtidos neste estudo.

Para Rausell et al. (2000) em *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae), há diminuição da afinidade de Cry1Ab em um dos receptores conforme observado em lagartas de ínstares mais avançados. Resultados semelhantes foram obtidos por Chou et al. (1995), em que os autores observaram que as bases bioquímicas da susceptibilidade foram reduzidas em lagartas de ínstares tardios de *S. frugiperda*. Os autores ressaltam variação nos receptores da toxina durante o desenvolvimento das lagartas, explicando a menor capacidade da toxina Cry1C e Cry1D afetar a permeabilidade da membrana do inseto nos últimos ínstares.

Os dados deste estudo enfatizam que Dipel é eficiente na mortalidade de *H. armigera*, e pode ser usado no manejo dessa praga e também como ferramenta do Manejo Integrado de Pragas MIP. Mas, ainda é necessário estudo complementar relacionado à dinâmica populacional desta praga, avaliação dos diferentes ínstares larvais, fatores bióticos e a influência de regiões geográficas.

5. Conclusão

As lagartas da população de Minas Gerais têm menor tempo letal em comparação com a população de São Paulo e Goiás, embora não tenha sido observada diferença na mortalidade total entre as populações.

Na população de São Paulo, as lagartas de 1º e 2º são mais suscetíveis do que lagartas de 3º ínstar.

Referências

- Akhurst, R. J., James, W., Bird, L. J., Beard, C., 2007. Resistance to the Cry1Ac δ -Endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 96, p. 1290-1299.
- Ali, A., Young, S. Y., 1996. Activity of *Bacillus thuringiensis* Berliner against different ages and different stages of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton. *J. Entomol. Sci.*, 31, 1–8.
- Avilla, C., Vargas-Osuna, E., Gonzalez-Cabrera, J., Ferre, J., Gonzalez-Zamora, J.E., 2005. Toxicity of several δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Spain. *Journal of Invertebrate Pathology*, Maryland Heights, v. 90, n. 1, p. 51-54.
- Bird, L. J., Akhurst, R. J., 2007. Variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia to two *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 94, p. 84-94.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S., Soberón, M., 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, v.41, p.423-431.
- Chandrashekar, K., Kumari, A., Kalia, V., Gujar, G. T., 2005. Baseline susceptibility of the American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) to *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* and its endotoxins in India. *Current Science* 88: 167–175.
- Chen, Y.-S., Chen, C., Liu, X-P., Xue, F-S., 2013. Photoperiod and temperature influence significantly diapause intensity of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomologica Sinica*, v. 56, n. 2, p. 145–152.
- Chelliah, A., Gupta, G. P., Karuppiyah, S., Kumar, P. A., 2011. Chimeric δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis* with increased activity against *Helicoverpa armigera*. *International Journal of Tropical Insect Science* 31: 59-68.
- Chou, H.Y., Huang, C. Y., Wang, C. H., Chiang, H. C., Lo, C. F., 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis Aquat Org* 23:165–173.
- Czepak, C., Albernaz, K. C., Vivan, L. M., Guimarães, H. O., Carvalhais, T., 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 3, n. 1, p. 110-113.
- González-Cabrera, J., Herrero, S., Sayyed, A. H., Escriche, B., Liu, Y. B., Meyer, S. K., Wright, D. J.; Tabashnik, B.E.; Ferre J. Variation in Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* toxins among unselected strains of *Plutella xylostella*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.67, p.4610-4613.

- Greene, G. L., Leppa, N. C., Dickerson, W. A., 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, v.69 n.4, p.487-488.
- Kranthi, K. R., Jadhav, D., Wanjari, R., Kranthi, S., 2001. And Russell, D. Pyrethroid resistance and mechanisms of resistance in field strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, v.94, n.1, p.253-263.
- Liao, C. Y., Heckel, D. G., Akhurst, R., 2002. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins for *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae), major pests of cotton. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.80, p.55–63.
- Li, H., Bouwer, G., 2012. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 109, p. 110-116.
- Monnerat, R.G., Praça, L. B., 2006. *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus*. In: Oliveira-filho, E.C., Monnerat, R.G., (Ed.). Fundamentos para a regulação de semioquímicos, inimigos naturais e agentes microbiológicos de controle de pragas. Planaltina: Embrapa Cerrado. p. 121-155.
- Monnerat, R. G., Martins, E., Queiroz, P., Orduz, S., Jaramillo, G., Benintende, G., Cozzi, J., Dolores Real, M., Martinez-Ramirez, A., Rausell, C., Cero'n, J., Ibarra, J.E, Del Rincon-castro, M. C., Espinoza, A. M., Meza-Basso, L., Cabrera, L., Sa'nchez, J., Soberon, M. Bravo, A., 2006. Genetic Variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) Populations from Latin America Is Associated with Variations in Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry Toxins. *Environmental microbiology*, Vol 72, p. 7029–7035.
- Polanczyk, R. A., Alves, S. B., Padulla, L. F., 2005. Screening of *Bacillus thuringiensis* against three brazilian populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biopesticides International*, v. 1, n. 1/2, p. 114-124.
- Praça, L. B., Martins, É. S., Melatti, V. M., Monnerat, R. G., 2007. *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae): aspectos gerais, modo de ação e utilização. Documentos 239, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 40 p.
- R. 2017, versão 3.3. Assitência estastística; Software versão.
- Rausell, C., Martínez-Ramírez, A. C.; García-Robles, I., Real, M.D., 2000. A binding site for *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin is lost during larval development in two forest pests. *Appl. Environ. Microbiol* 66, 1553–1558.
- Sebastião, I., Lemes, A. R. N., Figueiredo, C. S., Polanczyk, R. A., Desidério, J. A., Lemos, M. V. F., 2015. Toxicidade e capacidade de ligação de proteínas Cry1 a receptores intestinais de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 50: 999-1005.
- Sosa-Gómez, D. R., Specht, A., Paula-Moraes, S. V., Lopes- Lima, A., Yano, S. A. C., Micheli, A., Morais, E. G. F., Gallo, P., Pereira, P. R. V. S., Salvadori, J. R., Botton, M., Zenker, M. M., Azevedo-Filho, W. S., 2015. Timeline and

geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliiothinae) in Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 60, p. 101-104.

Tay, W. T., Soria, M. F., Walsh, T., Thomazoni, D., Silvie, P., Behere, F. T., Anderson, C., Downes, S., 2013. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *PloS ONE*. 8: e80134.

CAPÍTULO II

Suscetibilidade de *Helicoverpa armigera* ao Dipel utilizando diferentes volume de calda em soja e milho-doce

(Normas de acordo com a revista Journal of Invertebrate Pathology)

Cristiane Mendes de Campos^a

^aInstituto Federal Goiano Campus Morrinhos-GO

RESUMO

A adequação da tecnologia de aplicação é uma etapa crucial no manejo de insetos-praga de difícil controle como é o caso de *Helicoverpa armigera*. Diante disso, objetivou-se avaliar o controle de lagartas de *H. armigera* pelo bioinseticida Dipel, aplicado com diferentes volumes de aplicação nas culturas da soja e milho-doce e a persistência do produto no campo após as aplicações. O ensaio foi conduzido na fazenda experimental da FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP. O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo (2x3) e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por dois volumes de aplicação (100 e 150 L ha⁻¹) e três intervalos de coleta após a aplicação (24, 48 e 72 horas) para as avaliações do número médio de esporos do bioinseticida (persistência) e mortalidade da lagarta *H. armigera*. Independente da cultura, a persistência do bioinseticida Dipel no ambiente representado pelo número médio de esporos e mortalidade de *H. armigera* diminuiu com os intervalos de avaliação. Os resultados obtidos para mortalidade de *H. armigera* proporcionada pelo Dipel nas culturas não foram considerados satisfatórios. Ao comparar o número médio de esporos obtidos nas culturas da soja e milho doce,

verificou-se que no milho os valores foram superiores nos três intervalos de avaliação. O uso de maior volume de aplicação no estágio inicial de desenvolvimento da planta de soja e milho não aumenta a persistência nem a mortalidade de *H. armigera*.

Palavras-chave: Controle, persistência, tecnologia de aplicação.

ABSTRACT

The suitability of the application technology is a crucial step in the management of difficult-to-control insect pests such as *Helicoverpa armigera*. The objective of this study was to evaluate the control of *H. armigera* caterpillars by Dipel® bioinsecticide applied with different application volumes in the soybean and sweet corn cultures and the persistence of the product in the field after the applications. The experiment was conducted at the experimental farm of FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP. The experimental design was a randomized complete block design in split plot (2x3) and four replications. The treatments consisted of two application volumes (100 and 150 L ha⁻¹) and three collection intervals after application (24, 48 and 72 hours) for the mean number of bioinsecticide spore (persistence) and mortality of *H. armigera* larvae. Regardless of the culture, the persistence of the Dipel bioinsecticide in the environment represented by the mean number of spores and mortality of *H. armigera* decreased with the evaluation intervals. The results obtained for *H. armigera* mortality provided by Dipel in the cultures were not considered satisfactory. When comparing the mean number of spores obtained in soybean and sweetcorn cultures, it was verified that in sweet corn the values were higher in the three evaluation intervals. The use of higher volume of application at the initial stage of development of the soybean and sweet corn plants does not increase the persistence or the mortality of *H. armigera*.

Keywords: Control, persistence, application technology.

1. Introdução

A espécie *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada uma das mais importantes no Brasil pela sua alta capacidade de dispersão, desenvolvimento em diversos hospedeiros e alto potencial de dano econômico (Behere et al. 2013; Specht et al., 2013). Esta espécie foi detectada de norte a sul do Brasil, na safra de 2012/2013, quando os danos substanciais foram relatados pelos pesquisadores supracitados (Czepak et al., 2013).

Os danos mais severos foram registrados em culturas de importância econômica, tais como em algodão, leguminosas, sorgo, milho, feijão, tomate, frutíferas e também plantas ornamentais (Cunningham & Zalucki, 2014; Leite et al., 2014; Moral Garcia, 2006). A lagarta ataca tanto estruturas vegetativas como as reprodutivas de seus respectivos hospedeiros, mas tem preferência pelas vagens em desenvolvimento ou já completamente formadas (Suzana et al., 2015; Johnson & Zalucki, 2005).

Para o controle deste inseto-praga, o Ministério da Agricultura concedeu permissão de uso de inseticidas de vários grupos químicos e mecanismos de ação para o controle de *H. armigera*. Entretanto, Wyckhuys et al. (2013) destacaram 640 casos de resistência de populações da referida praga a inseticidas de diferentes grupos químicos.

Medidas alternativas ao controle químico é utilizada no manejo desta espécie, tais como agentes de controle microbiano de pragas, como é o caso de bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Lacey, 2017; Bravo et al., 2011; Polanczyk & Alves 2003). Nas condições climáticas do Brasil, a persistência desses bioinseticidas é variável por se tratar de um agente biológico (Polanczyk, 2016). Essa baixa persistência reduz o tempo de eficiência do produto em campo, sendo necessário desenvolver tecnologias que possam aumentar essa persistência.

Além disso, há casos de controle insatisfatório deste inseto-praga (Kuss et al., 2016), com necessidade de reaplicações de inseticidas biológicos ou não, e muitas vezes, não está associado à ineficiência do produto, mas à tecnologia de aplicação empregada (Costa et al., 2015).

O local preferido como refúgio para muitas pragas é a parte mediana e inferior das plantas hospedeiras (Bonadiman, 2008). Baseado nesta informação é fundamental que na pulverização, as gotas com o ingrediente ativo do inseticida se depositem em maior número de folhas da planta e, assim o bioinseticida desempenhe o máximo potencial de controle.

Independente da finalidade das operações de pulverização, a escolha do volume de aplicação e do diâmetro da gota, pode contribuir para o aumento da penetração e depósito dos produtos fitossanitários nas porções mediana e inferior das plantas (Bueno et al., 2014; Cunha et al., 2011).

A busca por maior eficiência dos equipamentos, com consequente diminuição dos custos de aplicação, há tendência de redução dos volumes da calda aplicada (Costa et al., 2015; Souza et al., 2012; Farinha et al., 2009). A redução do volume de aplicação representa expressiva inovação tecnológica, porém, nem sempre se correlacionam com eficiência adequada (Bayer et al., 2011; Coursee, 1967). Assim, a adequação da tecnologia de aplicação é uma etapa crucial no manejo de pragas de difícil controle como é o caso de *H. armigera*.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o controle de lagartas de *H. armigera* pelo bioinseticida Dipel aplicado com diferentes volumes de aplicação nas culturas da soja e milho-doce e, a persistência do produto no campo após as aplicações.

2. Material e Métodos

O ensaio de campo foi conduzido na fazenda experimental da FCAV-UNESP campus de Jaboticabal, localizada a 21° 14' 05" S de latitude, 48° 17' 09" W de longitude e 615,01 m de altitude, em Latossolo Vermelho eutrófico, típica textura argilosa.

2.1. Instalação da cultura de soja e milho-doce em campo

A semeadura das culturas (soja e milho-doce) foi realizada no dia 31 de janeiro de 2017 de forma mecanizada utilizando a cultivar TMG-7262 RRB CAT S2 com espaçamento de 0,45 m para soja. A cultivar GSS 41243 utilizando o espaçamento 0,90 m para milho-doce. A emergência das plantas deu-se aos cinco dias após o plantio.

Para controle da infestação inicial de *Spodoptera* sp. na cultura do milho-doce foram realizadas duas aplicações (Dipel 500g/ha e Xentari 500g/ha) nos dias 20 e 24 de fevereiro de 2017 com auxílio de um pulverizador costal, marca Jacto, equipado com bico cônico.

Na cultura da soja, houve a necessidade de aplicar Decis 300 ml/ha no controle de percevejos no dia 03 de março de 2017, para manter a integridade das folhas que foram utilizadas no ensaio de campo.

A unidade experimental do milho-doce foi constituída por 89 m² x 15,30 m², já para soja a área foi maior composta por 69 m² x 20 m², com a parcela de 5 m² de comprimento, constituída por 4 linhas, apenas, considerou-se as 2 linhas centrais como área útil.

2.2. Tratamentos e delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso em esquema de parcela subdividida no tempo (2x3) e quatro repetições. Os tratamentos foram constituídos por dois volumes de aplicação (100 L ha⁻¹ e 150 L ha⁻¹) e três intervalos de coleta após a aplicação (24, 48 e 72 horas) para as avaliações do número médio de esporos do bioinseticida (persistência) e mortalidade da lagarta *Helicoverpa armigera*.

Utilizou-se um pulverizador pressurizado a CO₂, com barra de pulverização com quatro bicos, modelo ADI 11005 espaçados de 0,50 m e 0,50 m de altura em relação ao alvo e velocidade de deslocamento de 5 km h⁻¹. A pressão foi ajustada em 30 e 45 lbf pol⁻² para obtenção dos volumes de 100 e 150 L ha⁻¹, respectivamente. De acordo com o fabricante do modelo da ponta (Albus-Jacto), o espectro de gotas é classificado em gotas médias nas duas pressões utilizadas.

Nas aplicações do bioinseticida de ingrediente ativo *Bacillus thuringiensis* (DIPEL SC[®]) foi utilizada a dose de 0,5 L para o volume de 100 L ha⁻¹ e 0,90 L para o volume de 150 L ha⁻¹ para manter a mesma concentração das caldas utilizadas. A aplicação foi realizada no dia 10 de março de 2017, estágio V4 de desenvolvimento das culturas. As condições climáticas registradas no dia e horário da aplicação foram temperatura 34,5 °C, umidade relativa 53% e ventos de até 3 km h⁻¹.

2.3. Coleta das folhas e avaliações de mortalidade e número de esporos

Foram coletadas duas folhas em quatro plantas por parcela em cada intervalo de 24, 48 e 72 horas após a aplicação. As folhas foram levadas ao laboratório e cortadas em forma de disco.

Em cada intervalo, dois discos de cada planta da cultura da soja e da cultura do milho-doce foram colocados em potes plásticos e oferecidos para lagartas de primeiro ínstar de *H. armigera*. A avaliação de mortalidade procedeu-se por apenas três dias. Considerava-se a lagarta morta quando tocadas com pincel de cerdas finas e não se observava movimento.

Para a contagem dos esporos, dois discos da mesma planta em que se avaliou a mortalidade, foram colocados em tubos de ensaio contendo 10 mL de água destilada, e agitados em vortex. A contagem foi realizada em câmara de Neubauer de acordo com Alves & Moraes (1998). Com base no número de esporos, utilizou-se a comparação da bula do Dipel, tendo mínimo 27,5 bilhões de esporos viáveis por grama.

2.4. Análise de dados

Os dados obtidos do número médio de esporos e mortalidade de lagartas, após confirmação dos pressupostos de normalidade do resíduo (Shapiro-wilk), homogeneidade de variâncias (Levene), e independência dos resíduos (Durbin-Watson) foram submetidos ao teste F da análise de variância ANOVA, e quando significativo as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para condução das análises, utilizou-se o software estatístico R versão 3.3, 2017.

3. Resultados

Na cultura do milho-doce, não houve interação significativa entre os volumes testados e o intervalo de avaliação após a aplicação do bioinseticida Dipel para o número médio de esporos e para a mortalidade das lagartas *Helicoverpa armigera* (Tabela 4 e Figura 1).

Constatou-se que o número médio de esporos com 24 horas da aplicação foi maior comparado aos valores obtidos com 72 horas (Tabela 4). Este resultado indica que a persistência do bioinseticida é curta.

A mortalidade de *H. armigera* também foi avaliada com 24, 48 e 72 horas após aplicação (HAA). Com 24 HAA constatou-se maior número médio de esporos, mas não houve correlação positiva com a mortalidade (Figura 1).

Em relação aos volumes utilizados, não houve diferença entre eles para o número médio de esporos e mortalidade do inseto (Tabela 4 e Figura 1).

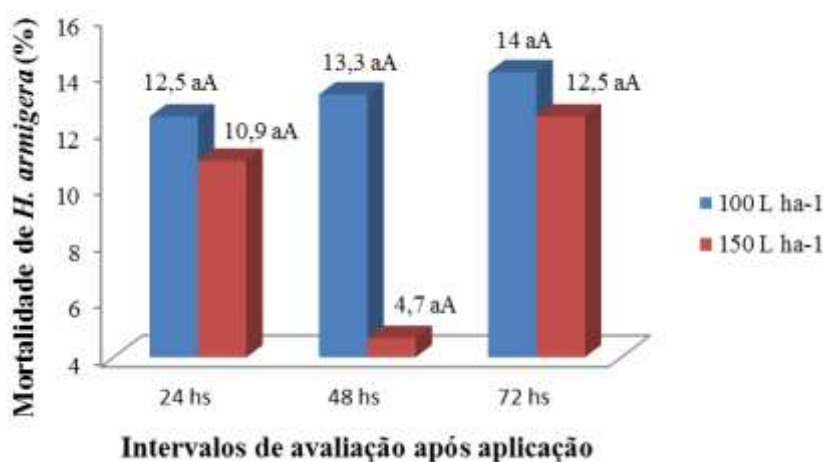
Tabela 4. Número médio de esporos de *Bacillus thuringiensis* contabilizados na cultura do milho-doce após a aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.

Número médio de esporos				
Volumes	Intervalos de avaliação após aplicação			Médias
	24 hs	48 hs	72 hs	
100	4.318.750,00	4.756.250,00	2.406.250,00	3.827.083,00 a
150	4.721.875,00	3.637.500,00	3.068.750,00	3.809.375,00 a
Médias	4.520.313,00 a	4.196.875,00 a	2.737.500,00 b	

$W = 0,96; L = 1,33; F = 0,46; DW = 3,06$

$CV_{trat} = 49,98\%; CV_{aval} = 50,14\%$

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância; W, L, F e DW : estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk para normalidade dos resíduos, Levene para homogeneidade de variâncias, Tukey para aditividade do bloco e Durbin-Watson para independência dos resíduos, respectivamente. Valores em negrito indicam resíduos normalmente distribuídos e independentes e variâncias homogêneas ao nível de 0,05 de significância.



Médias seguidas de mesma letra minúscula entre volumes e maiúsculas entre intervalos de avaliação após aplicação dentro de cada volume não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 1. Mortalidade de *Helicoverpa armigera* (%) na cultura do milho-doce após os intervalos de aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.

Na cultura da soja, de forma similar ao que ocorreu na cultura do milho, o número médio de esporos na avaliação de 24 HAA foi maior do que nas avaliações seguintes (Tabela 5). Entretanto, na soja houve correspondência do número médio de esporos e mortalidade da lagarta, que também foi maior com 24 HAA em relação a 72 HAA (Tabela 5 e Figura 2).

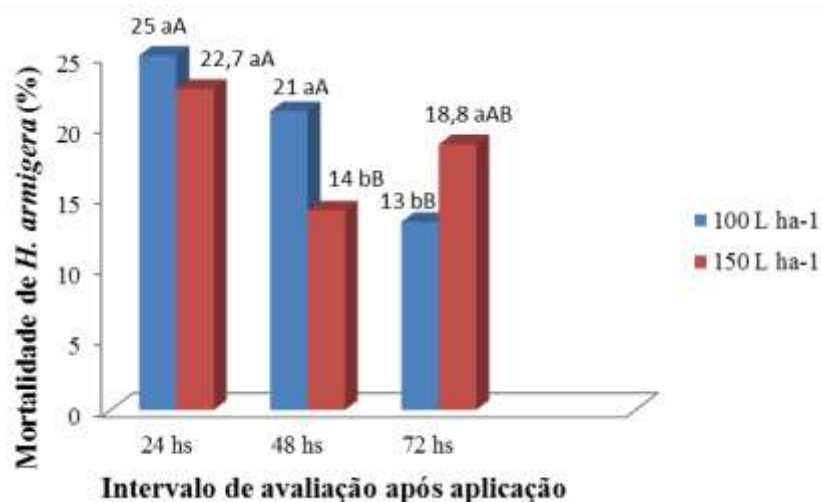
Tabela 5. Número médio de esporos de *Bacillus thuringiensis* contabilizados na cultura da soja após a aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.

Número médio de esporos				
Volumes	Intervalos de avaliação após aplicação			Médias
	24 hs	48 hs	72 hs	
100	2.709.375,00	1.534.375,00	1.240.625,00	1.828.125,00 a
150	2.953.125,00	1.462.125,00	1.196.875,00	1.870.708,00 a
Médias	2.831.250,00 a	1.498.250,00 b	1.218.750,00 b	

$W = 0,96; L = 2,20; F = 0,15; DW = 2,53$

$CV_{trat} = 25,23%; CV_{aval} = 26,25%$

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 0,05 de significância. W, L, F e DW : estatísticas dos testes de Shapiro-Wilk para normalidade dos resíduos, Levene para homogeneidade de variâncias, Tukey para aditividade do bloco e Durbin-Watson para independência dos resíduos, respectivamente. Valores em negrito indicam resíduos normalmente distribuídos e independentes e variâncias homogêneas ao nível de 0,05 de significância.

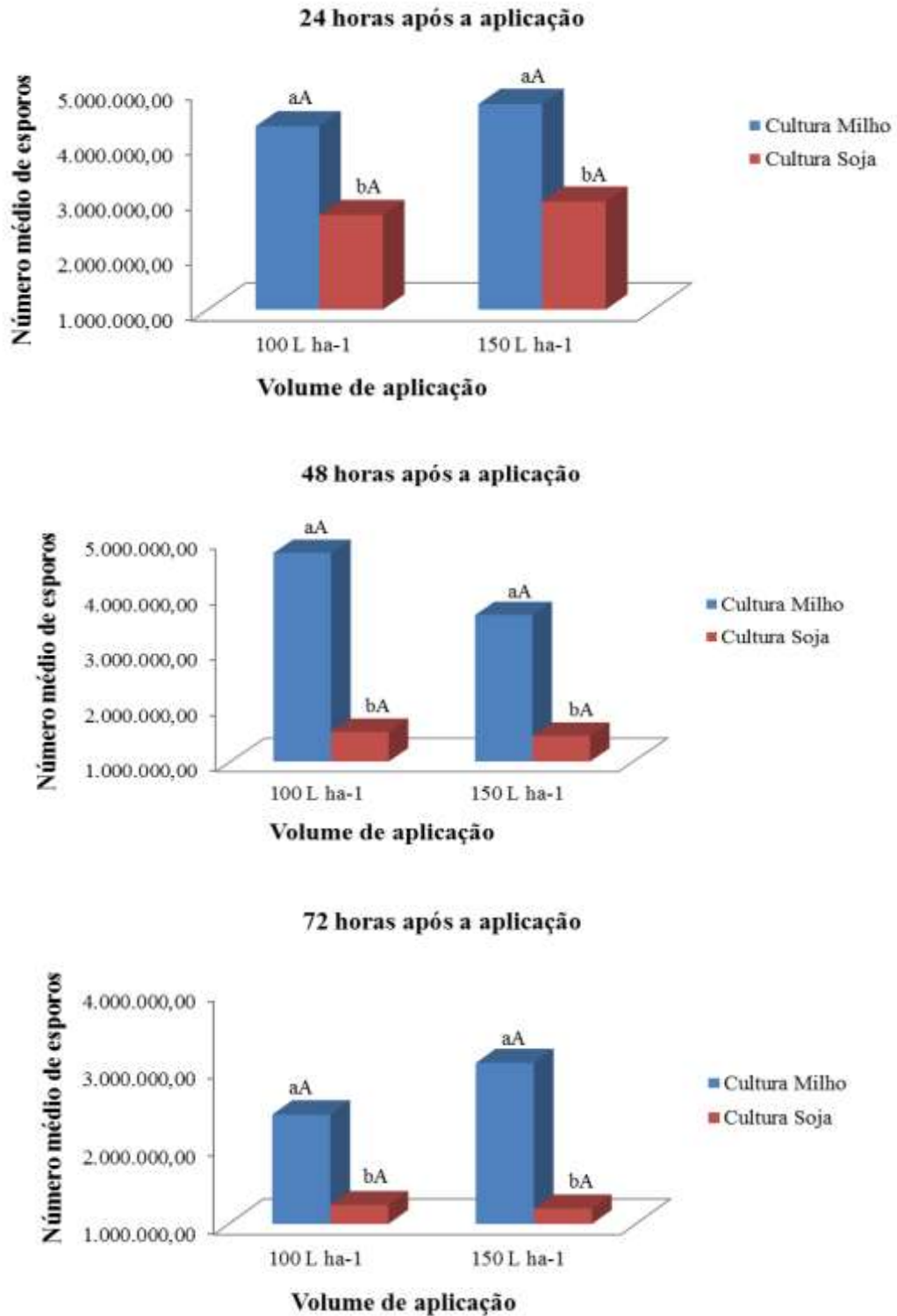


Médias seguidas de mesma letra minúscula entre volumes e maiúsculas entre intervalos de avaliação após aplicação dentro de cada volume não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 2. Mortalidade de *Helicoverpa armigera* (%) na cultura da soja, após os intervalos de aplicação. Jaboticabal, SP, 2017.

Não houve diferença significativa entre os volumes testados para o número médio de esporos em cada intervalo de coleta após as aplicações (Tabela 5). Da mesma forma, no 1º dia após a aplicação (24 hs), não houve diferença na mortalidade em relação aos volumes testados. No segundo dia, 48 HAA, o volume de 150 L ha⁻¹ proporcionou menor mortalidade da lagarta e, no terceiro dia (72 HAA) maior mortalidade em relação ao volume de 100 L ha⁻¹ (Figura 2). Este fato pode ser explicado pelo tempo necessário para o Bt matar o inseto, que é em torno de 2 a 3 dias e que pode variar em função da quantidade de produto ingerido.

Ao comparar o número médio de esporos obtidos nas culturas da soja e milho-doce, verificou-se que no milho os valores foram superiores nos três intervalos de avaliação (Figura 3). Em cada uma das culturas, também não se verificou diferença entre os volumes de aplicação para o número médio de esporos (Figura 3).



Médias seguidas de mesma letra minúscula entre as culturas (milho e soja) e maiúsculas entre volumes de aplicação não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 3. Número médio de esporos contabilizados em cada intervalo após a aplicação nas culturas de milho-doce e soja. Jaboticabal, SP, 2017.

Ao comparar o número médio de esporos obtidos nas culturas da soja e milho-doce, verificou-se que no milho os valores foram superiores nos três intervalos de avaliação (Tabela 6). Em cada uma das culturas, também não se verificou diferença entre os volumes de aplicação para o número médio de esporos (Tabela 6).

4. Discussão

Valores médios de esporos de *Bacillus thuringiensis* e mortalidade de *Helicoverpa armigera* foram semelhantes entre os volumes testados. Esperava-se obter maiores valores para o volume de 150 L ha⁻¹ porque, de acordo com Corshee (1967), um dos fatores que interfere na cobertura da pulverização e, conseqüentemente no controle do alvo, é o volume de aplicação, sendo variáveis com correlação positiva.

Outros autores, entretanto, ressaltam que nem sempre o uso de volumes maiores tem influência direta no resultado biológico, pois a quantidade de veículo de aplicação por unidade de área tem a finalidade única de diluir, transportar e facilitar a distribuição do ingrediente ativo no alvo (Oliveira et al., 2010; Román et al., 2009; Derksen et al., 2008; Cunha et al., 2006; Costa et al., 2005).

O volume adequado está relacionado, dentre outros fatores, com o índice de área foliar da cultura no momento da aplicação e nunca com uma condição pré-estabelecida (Ramos et al., 2004). Isto significa que nos estádios iniciais de desenvolvimento das culturas, quanto menor área foliar menor também será o volume de calda exigido para cobertura do alvo. O uso de gotas grandes e altos volumes podem proporcionar escorrimento da calda pela menor capacidade de retenção da calda pelas folhas, produzindo menor cobertura (Debortoli, 2011).

Como as aplicações foram realizadas no estágio V4 de desenvolvimento da soja e V4 do milho-doce, isso justifica os valores médios de esporos e mortalidade semelhantes entre os volumes.

Outro aspecto que deve ser considerado é em relação ao número médio de esporos maior no milho-doce do que na soja. Um dos fatores pode ter sido a menor área de interceptação pelas folhas da planta de soja, proporcionando maior escorrimento em relação às plantas de milho. O estágio de desenvolvimento, a textura e a pilosidade das folhas e a arquitetura, sendo uma barreira física das plantas são os principais limitadores da tecnologia (Barboza, 2015). A diferença das plantas de soja e milho no momento da aplicação também podem ter contribuído para este resultado.

Independente da cultura, a persistência do bioinseticida Dipel no ambiente representado pelo número médio de esporos e mortalidade de *H. armigera* diminuiu com o intervalo de avaliação (24, 48 e 72 horas após a aplicação). Ou seja, do primeiro para o terceiro dia após a aplicação do bioinseticida, o número médio de esporos e mortalidade diminuíram.

Resultados semelhantes ao desta pesquisa foram encontrados por Kuss et al. (2016). Os autores observaram que a partir de 72 horas da pulverização, nenhum dos inseticidas testados (flubendiamida, clorantraniliprole, espinosade, clorfenapir, indoxacarbe, metoxifenoazida, baculovírus (HzSNPV) e Bt (var. *kurstaki* HD-1) apresentam controle satisfatório de *H. armigera*. Sanahuja et al. (2011) também relataram que o Bt persiste durante apenas alguns dias na superfície da folha, pois a luz UV, o ambiente da superfície da folha e a presença de proteases podem contribuir para a degradação das proteínas Cry.

O sucesso no controle de insetos-praga não está relacionado apenas com desempenho do inseticida, mas da associação de vários fatores, inclusive a tecnologia de aplicação que será utilizada. Sugere-se que outras pesquisas sejam realizadas com outras variações nas técnicas de aplicação para se oferecer informações seguras a campo no tocante à eficiência no controle desta importante espécie de inseto-praga.

Para a melhor recuperação do Bt bioinseticida aplicada sobre as plantas talvez seja necessário aperfeiçoar o método, embora o método utilizado neste trabalho seja o de isolamento da Organização Mundial da Saúde (Who, 1985). Por exemplo, Collier et al. (2005) utilizaram tubos com suspensão salina (0,85%) com 0,5 gramas de areia autoclavada e agitadas em vortex por 30 segundos.

Estudos com objetivo de relacionar persistência e mortalidade são importantes para melhorar as formulações de Bt bioinseticidas, pois ainda não se conhece o comportamento do Dipel, por exemplo, em nossas diversas condições climáticas, apesar deste produto estar disponível no mercado há quase 50 anos. Somente com informações sólidas sobre a persistência x mortalidade dos Bt bioinseticida será possível otimizar o uso de modernas técnicas de formulação, como o encapsulamento (Vemmer & Patel, 2013).

Deve-se ressaltar também que o alto custo de novas moléculas inseticidas, em torno de US\$ 250 milhões de dólares (Glare et al., 2012), as dúvidas sobre a eficiência das plantas transgênicas em nossas condições agroecológicas (Bernardi et al., 2017; Blanco et al., 2016) e o aumento dos relatos de resistência de populações de insetos e

ácaros aos produtos disponíveis na agricultura (Tabashnik et al., 2014) colocam o controle biológico como alternativa bastante promissora para o controle de pragas nas próximas décadas.

5. Conclusão

O uso de maior volume de aplicação no estágio inicial de desenvolvimento da planta de soja e milho não aumenta a persistência nem a mortalidade da *H. armigera*.

A arquitetura da planta do milho-doce proporciona maior cobertura da aplicação (maior número de esporos) do que na planta de soja.

A persistência do bioinseticida Dipel diminui significativamente do primeiro para o terceiro dia após a aplicação.

Referências

- Barboza, J. C. L., 2015. Controle de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepdoptera: Noctuidade) na cultura da soja com diferentes inseticidas, volumes e pontas de pulverização. (Dissertação de Mestrado) -Unversidade Federal de Santa Maria.
- Bayer, T., Costa, I. F. D., Lenz, G.m Zemolin, C., Marques, L. N., Stefanelo, M. S., 2011. Equipamentos de pulverização aérea e taxas de aplicação de fungicida na cultura do arroz irrigado. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, PB, v. 15, n. 2, p. 192-198.
- Blanco, C. A., Chiaravalle, W., Dalla-rizza, M., Farias, J. R., García-degano, M. F., Gastaminza, G., Mota-sánchez, D., Murúa, M. G., Omoto, C., Pieralisi, B. K., Rodríguez, J, Rodríguez-Maciel, J. C., Terán-santofimio, H., Terán-Vargas, A. P., Valencia, S. J., Willink, E., 2016. Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. Current Opinion in Insect Science, v. 15, p. 131-138.
- Behere, G. T., Tay, W. T., Russel, D. A., Kranthi, K. R., Batherham, P., 2013. Population genetic structure of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as inferred from EPICPCR DNA Markers. Plos One, San Francisco, v. 8, n. 1, p. 53448.
- Bernardi, D., Bernardi, O., Horikoshi, R. J., Salmeron, E., Okuma, D. M., Farias, J. R.; Do Nascimento, A. R. B., Omoto, C., 2017. Selection and characterization of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to MON 89034 × TC1507 × NK603 maize technology. Crop Protection, v. 94, p. 64-68.
- Bonadiman, R., 2008. Pontas de pulverização e volumes de calda no controle de *Anticarsia gemmatilis* (Hubner, 1818) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) na cultura da soja *Glyn cine max*. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, 70 f.
- Bueno, R. C. O. F., Yamamoto, P. T., Carvalho, M. M., Bueno, N. M., 2014. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) on citrus in the state of Sao Paulo, Brazil. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 36, n. 2, p. 520-523.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S., Soberón, M., 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. Insect Biochemistry and Molecular Biology, v.41, p.423-431.
- Collier, F. A., Elliot, S. L., Ellis, R. J., 2005. Spatial variation in *Bacillus thuringiensis/cereus* populations within the phyllosphere of broad-leaved dock (*Rumex obtusifolius*) and surrounding habitats. FEMS Microbiology Ecology, v.54, p. 417-425.
- Costa, L. L., Ferreira, M. C., Campos, H. B. N., Carvalho, G. G. F., Barbosa, J. C., 2015. The mixture sprayed by hydraulic and centrifugal energy nozzles for the control of Asian soybean rust. Acta Scientiarum: agronomy, v. 37, n. 4, p. 425-433.
- Costa, A. Z. M., Pereira, J. L., César, J. O.; Lima, L. C.; 2005. Tecnologia de aplicação de agroquímicos. EBDA. Ceplac.

- Courshee, R. J., 1967. Some aspects of the application of insecticides. *Annual Review of Entomology*, Palo Alto, v. 5, p. 327-52, 1967. [Http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.05.010160.001551](http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.05.010160.001551). (Acessado 28/08/2017).
- Cunha, J. P. A. R., Farnese, A. C.; Olivet, J. J., Villalba, J., 2011. Deposição de calda pulverizada na cultura da soja promovida pela aplicação aérea e terrestre. *Engenharia Agrícola*, v. 31, n.2, p. 343-351.
- Cunha, J. P. A. R., Ruas, R. A. A., 2006. Uniformidade de distribuição volumétrica de pontas de pulverização de jato plano duplo com indução de ar. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. 61-66.
- Cunningham, J.P., Zalucki, M.P., 2014. Understanding heliothine (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant? *Journal of Economic Entomology*, v.107, n. 3, p.881-896.
- Czepak, C., Albernaz, K.C., Vivan, L.M., Guimarães, H.O., Carvalhais, T., 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 3, n. 1, p. 110-113.
- Debortoli, M. P., 2011. Efeito dos espectros de gota associados a diferentes arquiteturas de cultivares de soja no controle da ferrugem. 93 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)- Universidade Federal de Santa Maria.
- Derksen, R. C., Zhu, H., Ozkan, H. E, Hammond, R. B., Dorrance, A. E., Spongberg, A.L., 2008. Determining the influence of spray quality, nozzle type, spray volume and air-assisted application strategies on deposition of pesticides in soybean canopy. *Trasactions of the ASABE*, v. 51, n. 5, p. 1529-1537.
- Farinha, J. V., Dagoberto, M., Costa, N. V., Domingos, V. D., 2009. Deposição da calda de pulverização em cultivares de soja no estádio R1. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.6, p.1.738-1.744.
- Glare, T., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N.; Kohl, J., Marrone, P., L. M. A., 2012. Have biopesticides come of age? *Trends in Biotechnology*, v.30, p. 250- 59.
- Johnson, M. -L.; Zalucki, M. P., 2005 Foraging behavior of *Helicoverpa armigera* first instar larvae on crop plants of different developmental stages. *Journal of Applied Entomology*, v.129, p.239-245.
- Kuss, C. C., Roggia, R. C. R. K., Basso, C.J., Neves, M. C., Pias, O. H. C., Roggia, S., 2016. Controle de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) em soja com inseticidas químicos e biológicos. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.51, n.5, p.527-536.
- Lacey, L. A., 2017. Entomopathogens Used as Microbial Control Agents. In: *Microbial Control of Pests* (Lacey LA). London: Elsevier. p.2-12.
- Leite, N. A., Alves-Pereira, A., Corrêa, A. S., Zucchi, M. I., Omoto, C., 2014. Demographics and genetic variability of the New World Bollworm (*Helicoverpa zea*) and the Old World Bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. *Plos One*, v. 9, n. 11.

- Moral Garcia, F. J., 2006. Analysis of the spatiotemporal distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in a tomato field using a stochastic approach. *Biosystems Engineering*, v.93, n.3, p.253-259.
- Oliveira, J. R. G., Ferreira, M.C., Roman, R. A. A., 2010. diferentes diâmetros de gotas e equipamentos para aplicação de inseticida no controle de *Pseudoplusia includens*. *Eng. Agríc., Jaboticabal*, v.30, n.1, p.92-99.
- Polanczyk, R. A., 2016. Workshop “Desafios da Pesquisa em Controle Biológico na Agricultura no Estado de São Paulo”. São Paulo” FAPESP.
- Polanczyk, R. A., Alves, S.B., 2003. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. *Agrociencia*, v.7, p.1-10.
- Ramos, H. H., Santos, J. M. F., Araújo, R. M., Bonachela, T. M., 2004. Manual de Tecnologia de aplicação. ANDEF. Campinas SP.
- R. 2017, versão 3.3. Assitência estastística; Software versão.
- Román, R. A. A., Cortez, J. W., Ferreira, M. C., Oliveira, J. R. G., 2009. Cobertura da cultura da soja pela calda fungicida em função de pontas de pulverização e volumes de calda. *Scientia Agraria, Curitiba*, v.10, n.3, p.223-232.
- Sanahuja, G.; Banakar, R.; Twyman, R. M.; Capell, T.; Christou, P., 2011. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, v.9, p.283–300.
- Souza, L. A., Cunha, J. P. R. A., Pavanin, L. A., 2012. Deposição do herbicida 2,4-D Amina com diferentes volumes e pontas de pulverização em plantas infestantes. *Revista Ciência Agronômica, Fortaleza*, v. 43, n. 1; p. 78-85.
- Specht, A., Sosa-Gómez, D. R., Paula-Moraes, S. V., Yano, S. A. C., 2013. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, DF*, v. 48, n. 6, p. 689- 692.
- Suzana, C. S., Damiani, R.; Fortuna, L. S., Salvadori, J. R., 2015. Desempenho de larvas de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes fontes alimentares. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 45, n. 4, p. 480-485.
- Tabashnik, B. E., Mota-Sanchez, D., Whalon, M. E., Hollingworth, R. M., Carrière, Y., 2014. Defining terms for proactive management of resistance to Bt crops and pesticides. *Journal of Economic Entomology*, v. 107, p. 496-507.
- Vemmer, M., Patel, A.V., 2013. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biological Control*, v. 67, p.380-389.
- World Health Organization. Informal consultation on the development of *Bacillus sphaericus* as a microbial larvicide., 1985. Geneva UNDP: World Bank Who. 24 p. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR).
- Wu, K. M., 2007. Regional management strategy for cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in China. *Control of Insect Pests*, v.7, p.559-565.

Wyckhuys, K. A. G., Lu, Y., Morales, H., Vazquez, L. L., Jesusa, C. L., Legaspi, J. C., Eliopoulos, P. A., Hernandez, L. M., 2013. Current status and potential of conservation biological control for agriculture in the developing world. *Biological Control*, v. 65, p.152-167.

CONCLUSÃO GERAL

O bioinseticida Dipel foi eficiente no controle de *Helicoverpa armigera* em laboratório, lagartas de *H. armigera* foram suscetíveis ao Bt (var. *kurstaki* HD-1).

A população de Minas Gerais tem menor tempo letal em relação à população de São Paulo e Goiás.

Lagartas de 1º e 2º ínstar foram mais suscetíveis do que lagartas no 3º ínstar, para população de São Paulo.

O uso de maior volume de aplicação no estágio inicial nas culturas de soja e milho-doce, não aumenta a persistência do produto nem a mortalidade de *H. armigera*.

A arquitetura da planta de milho-doce proporciona maior cobertura da aplicação (maior número de esporos) do que na planta de soja.

A persistência do bioinseticida Dipel diminui significativamente do primeiro ao terceiro dia após aplicação.