

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”

DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA E ACAROLOGIA

0111000 - TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM ENGENHARIA
AGRONÔMICA

**EFEITO DE *Bacillus thuringiensis* (BTCONTROL) NO CONTROLE DE
Helicoverpa armigera EM DIETA ARTIFICIAL**

Stella Andressa Collegari

Trabalho de conclusão de curso apresentada para
obtenção do título de Bacharel em Engenharia
Agrônômica. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba – SP

2018

Stella Andressa Collegari

**EFEITO DE *Bacillus thuringiensis* (BTCONTROL) NO CONTROLE DE
Helicoverpa armigera EM DIETA ARTIFICIAL**

Orientador:

Prof. Dr. Pedro Takao Yamamoto

Trabalho de conclusão de curso apresentada
para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Agrônômica. Área de
concentração: Entomologia

Piracicaba – SP

2018

Agradecimentos

A Deus pelo dom da vida e pelas oportunidades que tem me concedido;

Aos meus pais, Lucio e Alessandra, por todo apoio durante a minha graduação e pelos incentivos aos estudos desde minha infância e ao meu irmão Henrique;

Ao meu namorado Leonardo, por estar ao meu lado nos momentos bons e ruins, pelos conselhos nas horas difíceis e pela compreensão;

Ao meu orientador, Prof. Pedro Takao Yamamoto por estar sempre à disposição para ajudar e orientar, além da confiança depositada em mim durante o período de estágio;

A todos colegas do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas em especial ao Lucas, pela amizade e conselhos que contribuíram para minha formação e crescimento pessoal. Aos colegas do Laboratório de Resistência de Artrópodes, em especial a equipe *Helicoverpa*, por toda ajuda e contribuição deste trabalho;

A minha colega Sandy pela contribuição nos experimentos e a Thais pelo auxílio nas análises estatísticas deste trabalho;

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pelos cinco anos de graduação no melhor curso de engenharia agrônômica do país, e por toda a estrutura oferecida para realização deste trabalho;

Aos amigos Murilo e Tiago, que desde do primeiro semestre conviveram ao meu lado dia após dia,

E a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

**“Cada sonho que você deixa para trás é um pedaço do seu futuro que
deixa de existir” (Steve Jobs)**

Sumário

1. Resumo.....	06
2. Introdução.....	06
3. Revisão bibliográfica.....	08
3.1. <i>Helicoverpa armigera</i>	08
3.2 <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt).....	10
4. Objetivo.....	13
5. Material e Métodos	13
6. Resultados.....	16
7. Discussão.....	21
8. Conclusões.....	24
9. Referências bibliográficas.....	25

RESUMO

O objetivo com o presente trabalho foi avaliar o desempenho de inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (BT) no controle de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Dois inseticidas BT, em duas diferentes dosagens para cada produto, e um inseticida químico, com apenas uma dosagem, foram aplicados isoladamente e superficialmente em dietas artificiais, e, em seguida, as lagartas foram individualizadas e ficaram expostas a essa dieta durante sete dias. As avaliações de mortalidade foram realizadas no 7º dia após a aplicação. No sétimo dia após a aplicação as lagartas foram individualizadas novamente em novas dietas, desta vez, sem a aplicação de nenhum inseticida e as avaliações foram realizadas diariamente até as lagartas atingirem a fase de pupa e posteriormente até a fase adulta. O inseticida químico teve uma taxa de mortalidade de 100% após 2 dias da aplicação. Para os inseticidas biológicos a taxa de mortalidade foi de 85 à 95% ao final do experimento.

PALAVRAS CHAVE: *Helicoverpa*, manejo integrado de pragas, praga invasora, inseticida biológico, mortalidade.

INTRODUÇÃO

Helicoverpa armigera (Hübner), inseto da ordem Lepidoptera pertencente à família Noctuidae, é uma das pragas-chave de grandes culturas brasileiras de alto valor econômico, como o algodão, o milho e a soja. Em 2013, essa espécie foi identificada no Brasil por Specht (2013) e Czepak et al. (2013a) e, até esse momento, se enquadrava como praga quarentenária A1 (Carvalho et al., 2014).

Posteriormente, foi constatada no Paraguai (Paraguay, 2013) e na Argentina (Murúa et al., 2014).

Este inseto-praga apresenta alta capacidade de sobrevivência, mesmo em condições adversas, podendo completar várias gerações ao ano e finalizando o seu ciclo de ovo a adulto no período de quatro a seis semanas (Fitt, 1989). Além disto, possui alta mobilidade podendo se dispersar com grande facilidade, uma vez que os adultos são migrantes naturais podendo chegar a 1.000 km de distância (Pedgley, 1985).

Sua ocorrência já foi registrada em mais de 200 espécies de plantas hospedeiras, cultivadas e silvestres, pertencentes a aproximadamente 67 famílias, incluindo Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae (Reed; Powar, 1982; Pogue, 2004; Sharma et al., 2005; Ali; Choudhury, 2009). No Sul do Brasil, é referenciada como praga de soja, mas também ocorre em espigas de milho e, na entressafra da soja, tem sido observada em espigas de trigo, síliquas de canola e cápsulas de linho (Guedes et al., 2013; Arnemann et al., 2014; Salvadori; Suzana, 2014). Segundo Fitt (1989), o fato da *H. armigera* ser uma espécie polífaga, outros hospedeiros alternativos presentes nos arredores das lavouras assumem papel decisivo na sobrevivência e dinâmica sazonal da praga, uma vez que dão suporte à manutenção de suas populações em determinada região.

O controle atual de insetos-pragas é realizado, principalmente, por inseticidas químicos, cujo uso indiscriminado e abusivo causa danos ambientais e à saúde humana (Angelo et al., 2010). O controle biológico tem se tornado uma alternativa aos inseticidas químicos, e ele pode ser realizado com o uso racional de entomopatógenos, que constituem os componentes ativos dos bioinseticidas

ou inseticidas biológicos (Angelo et al., 2010). Esses inseticidas biológicos se destacam pela alta especificidade, menor risco ambiental e à saúde humana, menor frequência de resistência nos insetos alvo e a possibilidade do entomopatógeno se multiplicar no ambiente e, com isso, aumentar sua permanência. No entanto, a desvantagem principal destaca-se maior suscetibilidade às condições ambientais, o que pode ser anemizado com o uso de boas formulações e estudos para aplicação dos produtos (Alves, 1998).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a eficácia do *Bacillus thuringiensis* para o controle da lagarta *H. armigera*.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Helicoverpa armigera

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é classificada como uma das mais importantes pragas da Agricultura na Ásia, África, Europa e Austrália (Tay et al., 2013) devido ao seu histórico de surtos populacionais, dificuldades de controle, resistência a inseticidas e por causarem elevados prejuízos pelo à agricultura mundial (Alvi et al., 2012; Degrande; Omoto, 2013). É considerada a espécie deste gênero que causa maior prejuízo econômico aos cultivos agrícolas, pois possui hábito extremamente polífago atacando plantas de diversas famílias, incluindo Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae (Cunningham; Zalucki, 2014), ou seja, causa danos em diferentes culturas de importância econômica, como algodão (*Gossypium hirsutum* L.), leguminosas em geral, sorgo (*Sorghum bicolor* L.), milho (*Zea mays* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), dentre outras (Cpezak et al., 2013b; Embrapa, 2013; Cunningham; Zalucki, 2014).

As lagartas podem se alimentar de folhas, caules, brotos, flores e frutos podendo assim causar danos tanto na fase vegetativa como reprodutiva (Czepak et al., 2013a). Mariposas adultas demonstram alta mobilidade e fecundidade muito elevada, o que contribui para a dispersão e aumento das populações da espécie (Embrapa, 2013).

A espécie *H. armigera* é um inseto holometábolo, ou seja, seu desenvolvimento biológico passa pelas fases de ovo, lagarta, pré-pupa, pupa e adulta. Seus ovos são branco-amarelados com aspecto brilhante e tornam-se marrom-escuro quando estão perto do momento de eclosão da larva. A parte apical do ovo é lisa, no entanto, o restante da superfície do ovo possui saliências longitudinais como se fossem nervuras (Ávila et al., 2013). Os ovos possuem tamanho médio de 0,40 a 0,60 mm e ficam incubados por cerca de 3,3 dias (Ali; Choudhury, 2009).

As fêmeas ovopositam geralmente no período noturno, preferencialmente na face adaxial das folhas ou sobre os talos, flores, frutos e brotações terminais com superfícies mais novas, e além disso, colocam seus ovos de forma isolada ou em pequenos agrupamentos (Mensah, 1996).

O período larval de *H. armigera* é completado com o desenvolvimento de seis distintos ínstars. Cada instar possui colorações que podem variar de branco-amarelada, marrom-avermelhada, amarelo-palha a verde. Além da coloração, pode apresentar listras de coloração marrom na lateral do tórax, abdômen e na cabeça. Segundo Ali e Choudhury (2009), o tipo de alimentação utilizado pela lagarta pode influenciar na sua coloração.

Quando as lagartas estão no quarto instar, elas apresentam tubérculos abdominais escuros e fáceis de serem vistos na região dorsal do primeiro

segmento abdominal, os quais estão dispostos na forma de semicírculo, aparentando formato de sela, sendo esta característica determinante para a identificação de lagartas de *H. armigera* (Matthews, 1999).

O período de pré-pupa é definido entre o momento em que a lagarta cessa a sua alimentação até a fase de pupa. A pupa de *H. armigera* é do tipo obrecta, apresenta coloração marrom-mógnio e superfície arredondada nas partes terminais. Este estágio dura entre 10 a 14 dias (Ali; Choudhury, 2009). Na fase adulta, as mariposas fêmeas apresentam as asas anteriores amareladas, enquanto as dos machos são cinza-esverdeadas com uma banda ligeiramente mais escura no terço distal e uma pequena mancha escurecida no centro da asa. As asas posteriores são mais claras, apresentando uma borda marrom na sua extremidade apical. A longevidade média das fêmeas é de 11,7 dias e dos machos de 9,2 dias (Ali; Choudhury, 2009). Cada fêmea, durante o período de oviposição, que dura em cerca de 5,3 dias, pode colocar de 2.200 até 3.000 ovos sobre as plantas hospedeiras (Reed, 1965; Naseri et al., 2011).

Bacillus thuringiensis (Bt)

Atualmente, entre os métodos de controle, as aplicações de inseticidas químicos têm sido amplamente utilizadas e são indispensáveis para o controle da lagarta *H. armigera* em várias culturas (Torres-Vila et al. 2002; Alvi et al. 2012). No entanto, o controle químico, segundo Bués et al. (2005) e Alvi et al. (2012), não é o método mais recomendado sob o ponto de vista do Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois, apresentam alta toxicidade, baixa especificidade e alto efeito residual, desse modo, prejudicam o meio ambiente, além de contribuírem para a existência de considerável número de espécies de

insetos com populações resistentes, inviabilizando a aplicação de tais produtos (Alves, 1998; Arantes et al., 2002).

O controle biológico tem se tornado uma alternativa aos inseticidas químicos, podendo ser feito pelo uso de inimigos naturais, como parasitoides, vírus, bactérias, fungos e nematoides (Valicente; Barreto, 1999). Esses inseticidas biológicos se destacam pela alta especificidade, menor risco ambiental e à saúde humana, menor frequência de resistência nos insetos alvo e a possibilidade do entomopatógeno se multiplicar no ambiente e, com isso, aumentar sua permanência (Alves, 1998).

Bacillus thuringiensis (Bt) está entre as bactérias entomopatogênicas atualmente conhecidas, em que sua utilização é feita em larga escala no controle biológico de insetos-pragas (Polanczyk et al., 2008), como os das ordens Coleoptera, Diptera e Lepidoptera (Silva et al., 2010).

Bacillus thuringiensis é o microrganismo mais utilizado nesse ramo do controle biológico e cerca de 90% do mercado mundial de bioinseticidas correspondem a produtos à base desse microrganismo. (Vilas-Bôas; Peruca; Arantes, 2007; Polanczyk et al., 2008).

De ocorrência natural, *B. thuringiensis* é uma bactéria que pertence à família Bacillaceae, possui forma de bastonete, de 1 a 1,2 de diâmetro por 3 a 5 µm, positiva para coloração de gram, aeróbica ou facultativamente anaeróbica, naturalmente encontrada no solo (Silva, 2008). A sua esporulação caracteriza-se pela produção de inclusões proteicas cristalinas. Estas inclusões se distinguem como cristais de formas definidas por microscopia de contraste de fases (Monnerat; Bravo, 2000). Diferentes raças de *B. thuringiensis* contêm cristais com combinações variadas de proteínas com propriedades inseticidas,

que também são denominadas como δ -endotoxinas ou “Insecticidal Crystal Proteins” (ICPs). Aquelas que infectam larvas de Lepidoptera afetam de forma diferenciada os diferentes hospedeiros ou insetos alvos.

Quando a lagarta ingere essas proteínas, elas são dissolvidas no intestino e conseqüentemente ativam as toxinas que se ligam a receptores específicos (Silva, 2008) causando desrupção e paralisia das células epiteliais do intestino médio (ventrículo) dos insetos, conseqüentemente, há a interrupção da alimentação em poucas horas após a ingestão de alimento contaminado por *B. thuringiensis*. Essas lesões provocam a mistura da hemolinfa e o conteúdo do intestino médio, resultando em septicemia, e conseqüentemente a morte do inseto que a ingeriu. Devido a esse modo de ação a lagarta continua vivendo alguns dias após a aplicação do produto, porém cessa sua capacidade de causar dano à cultura poucas horas após a aplicação do *Bt* (Moscardi, [s.d.]).

As formulações a base do *Bt* são comercializadas há mais de 50 anos no mundo inteiro, sendo que este bacilo detém de 2% do mercado de inseticidas. (Bravo; Gill; Soberón, 2007; Figueiredo, 2013). Eles apresentam baixa persistência no ambiente, o que do ponto de vista ambiental é uma vantagem, pois os tornam uma forma de controle ecologicamente correta (Chandrashekar et al., 2005; Pereira et al., 2009; Sanahuja et al. 2011). Dessa forma, inseticidas *Bt* são, normalmente, aplicados quando as larvas estão em seus ínstares iniciais, pois larvas em estágios avançados são relatadas como mais tolerantes (Bird; Akhurst, 2007; Sanahuja et al., 2011; Li; Bouwer, 2012). A luz UV, o tempo, o ambiente da superfície da folha e a presença de proteases podem contribuir para a degradação das proteínas Cry, segundo Sanahuja et al. (2011), por isso o *Bt* persiste durante apenas alguns dias na superfície da folha.

OBJETIVO

Avaliar a eficácia de *Bacillus thuringiensis* (BtControl) no controle de *Helicoverpa armigera* em dieta artificial.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Entomologia e Acarologia da USP/ESALQ, em Piracicaba, SP. Foi utilizado dieta artificial de *Helicoverpa armigera* desenvolvida por Greene et al. (1976).

Foram testados dois inseticidas biológicos com formulações comerciais, sendo que cada um deles foram testados com duas dosagens e um inseticida químico em uma única dosagem e foi mantido um sem inseticida para controle. Dessa forma, totalizaram seis tratamentos para os bioensaios com *H. armigera* (Tabela 1).

Tabela 1. Ingrediente ativo, nome comercial, grupo químico, modo de ação, composição do I.A. e dosagem utilizada dos inseticidas utilizados nos bioensaios com *H. armigera*.

Ingrediente ativo	Nome comercial	Grupo Químico	Modo de ação	Concentração do i.a.	Dosagem (L de p.c./1.000 L)
<i>Bacillus thuringiensis</i>	BTControl® SC	Inseticida microbiológico	Ingestão	17.600 UIP/mg	0,5
var. kurstaki cepa HD-1					1,0
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Dipel® SC	Inseticida microbiológico	Ingestão	17.600 UIP/mg	0,5
var. kurstaki cepa HD-1					1,0
Beta-ciflutrina	Turbo® EC	Piretroide	Contato e ingestão	50 g/L	0,125

EC (Concentrado Emulsionável); SC (Suspensão Concentrada); p.c. (produto comercial); i.a. (ingrediente ativo).

Os inseticidas foram diluídos em água destilada com a adição de surfactante Triton® na concentração de 0,1%. O tratamento controle foi realizado apenas com água destilada e o surfactante Triton® na concentração de 0,1%.

O experimento foi conduzido em placas de acrílico de 24 células (Costar®, Cambridge, Massachusetts, EUA) com 1,25 mL de dieta artificial por célula. Cada tratamento foi repetido 4 vezes e para cada repetição foi utilizada 12 células da placa de acrílico, totalizando 48 poços para cada tratamento, sobre a qual foi aplicado superficialmente 30 µl de calda, por repetição. Após a secagem do inseticida sobre a dieta, foi inoculada uma lagarta de primeiro ínstar em cada poço.

Os bioensaios foram mantidos em B.O.D. (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 25 °C com fotoperíodo de 14 horas. Após o sétimo dia, as lagartas foram individualizadas em copos de acrílico de 50 mL com dieta artificial sem a aplicação dos produtos testados, foi colocado tampa acrílica nos copos de acrílico e foram mantidas em uma sala a 25 ± 2 °C.

As avaliações foram realizadas diariamente até que as lagartas atingissem a fase de pupa ou que morressem. As lagartas foram consideradas mortas quando imóveis, de cor preta e de aparência ressecada (sintoma típico de lagartas mortas por *B. thuringiensis*) (Valicente; Fonseca 2004).

Os dados foram submetidos ao GLM (Modelos Lineares Generalizados) com a utilização da distribuição do tipo “quasibinomial” (R Development Core Team, 2016). A qualidade de ajuste foi verificada por meio de gráficos de probabilidade semi-normais com um envelope de simulação (pacote hnp) (Demétrio; Hinde; Moral, 2014).

RESULTADOS

Foram observadas diferenças entre a quantidade de indivíduos vivos ao longo do experimento de acordo com os tratamentos (Tabela 2) e também na porcentagem de mortalidade acumulada das lagartas desde o segundo dia após a aplicação até o trigésimo terceiro dia de avaliação de acordo com o tratamento (Tabela 3). Após o trigésimo terceiro dia todas as lagartas avaliadas haviam morrido ou as que sobreviveram passara para a fase de pupa. Nas Tabelas 2 e 3, os dados apresentados são apenas dos dias em que houveram variações da porcentagem de mortalidade acumulada durante as avaliações diárias.

Tabela 2. Médias (\pm erro padrão) de lagartas vivas de primeiro instar de *Helicoverpa armigera*, por tratamento, ao longo dos 33 dias de experimento.

Tratamento (dosagem: L p.c./1.000 L)	Número de indivíduos Vivos						
	Dia						
	0	2	7	9	19	30	33
Dipel® (0,5)	12 \pm 0,00	12 \pm 0,00	1,25* \pm 0,18	1,00* \pm 0,18	1,00 \pm 0,14	0,75* \pm 0,14	0,75 \pm 0,14
Dipel® (1,0)	12 \pm 0,00	12 \pm 0,00	1,50* \pm 0,18	1,50 \pm 0,18	1,50 \pm 0,14	1,50 \pm 0,14	1,50 \pm 0,14
Bt Control® (0,5)	12 \pm 0,00	12 \pm 0,00	0,75* \pm 0,18	0,75 \pm 0,18	0,75 \pm 0,14	0,75 \pm 0,14	0,75 \pm 0,14
Bt Control® (1,0)	12 \pm 0,00	12 \pm 0,00	0,50* \pm 0,18	0,50 \pm 0,18	0,50 \pm 0,14	0,50 \pm 0,14	0,50 \pm 0,14
Turbo® (0,125)	12 \pm 0,00	0* \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
Controle	12 \pm 0,00	12 \pm 0,00	10,50* \pm 0,18	10,50 \pm 0,18	10,00 \pm 0,14	10,00 \pm 0,14	10,00 \pm 0,14

*Houve variação do número de indivíduos atual em relação a avaliação anterior.

Tabela 3. Porcentagem da mortalidade acumulada de lagartas de primeiro instar de *Helicoverpa armigera*, por tratamento, ao longo dos 33 dias de experimento.

Tratamento (dosagem: L pc./1.000 L)	Dia						
	0	2	7	9	19	30	33
Dipel® (0,5)	0,0	0,0	89,6 *	91,7 *	91,7	93,8 *	93,8
Dipel® (1,0)	0,0	0,0	87,5 *	87,5	87,5	87,5	87,5
Bt Control® (0,5)	0,0	0,0	93,8 *	93,8	93,8	93,8	93,8
Bt Control® (1,0)	0,0	0,0	95,8 *	95,8	95,8	95,8	95,8
Turbo® (0,125)	0,0	100,0 *	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Controle	0,0	0,0	12,5 *	12,5	16,7 *	16,7	16,8

*Houve variação da porcentagem da mortalidade acumulada atual em relação a avaliação anterior.

No segundo dia após a aplicação, foi observado a mortalidade de 100% das lagartas no tratamento 5, com o inseticida químico Turbo®. Já nos demais tratamentos foi constatada nenhuma mortalidade (Gráfico 1).

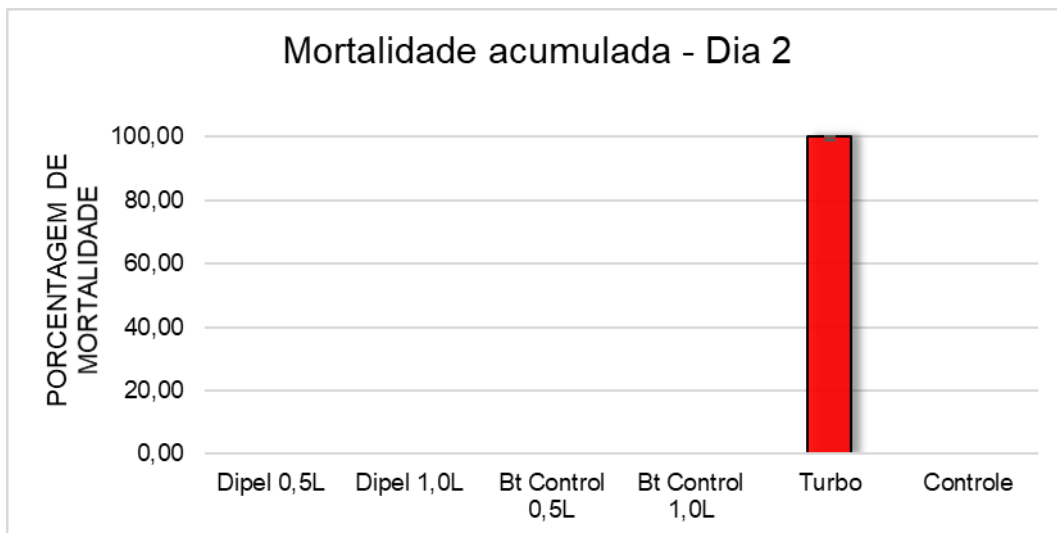


Gráfico 1. Mortalidade acumulada das lagartas de primeiro instar de *Helicoverpa armigera*, segundo ABBOTT (1925), dois dias após a aplicação superficial dos inseticidas.

No sétimo dia após a aplicação, as lagartas de primeiro instar de *H. armigera* foram suscetíveis às toxinas Cry presente nos produtos biológicos BTControl® e Dipel®, dessa forma, as mortalidades acumuladas corrigidas, segundo ABBOTT (1925) para cada tratamento foram: 88,10; 85,71; 92,86; 95,24; 100% para os respectivos tratamentos Dipel® 0,5 L/1000 L, Dipel® 1,0 L/1000 L, BTControl® 0,5 L/1000 L, BTControl® 1,0 L/1000 L e Turbo® (Gráfico 2).

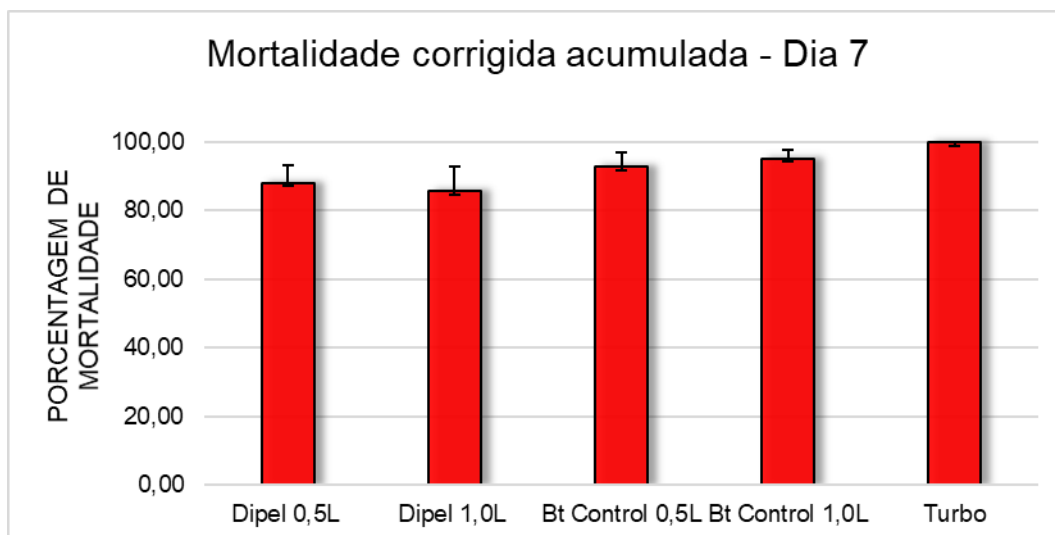


Gráfico 2. Mortalidade acumulada corrigida de lagartas do primeiro instar de *Helicoverpa armigera*, segundo ABBOTT (1925), sete dias após a aplicação superficial dos inseticidas.

Ao longo do experimento, ou seja, durante os trinta e três dias após a aplicação, pode-se observar a seguinte mortalidade acumulada de 93,8; 87,5; 93,8; 95,8 e 100%, respectivamente para Dipel® 0,5 L/1000 L, Dipel® 1,0 L/1000 L, BTControl® 0,5 L/1000 L, BTControl® 1,0 L/1000 L e Turbo. Enquanto que, no controle a mortalidade acumulada foi de 16,7%.

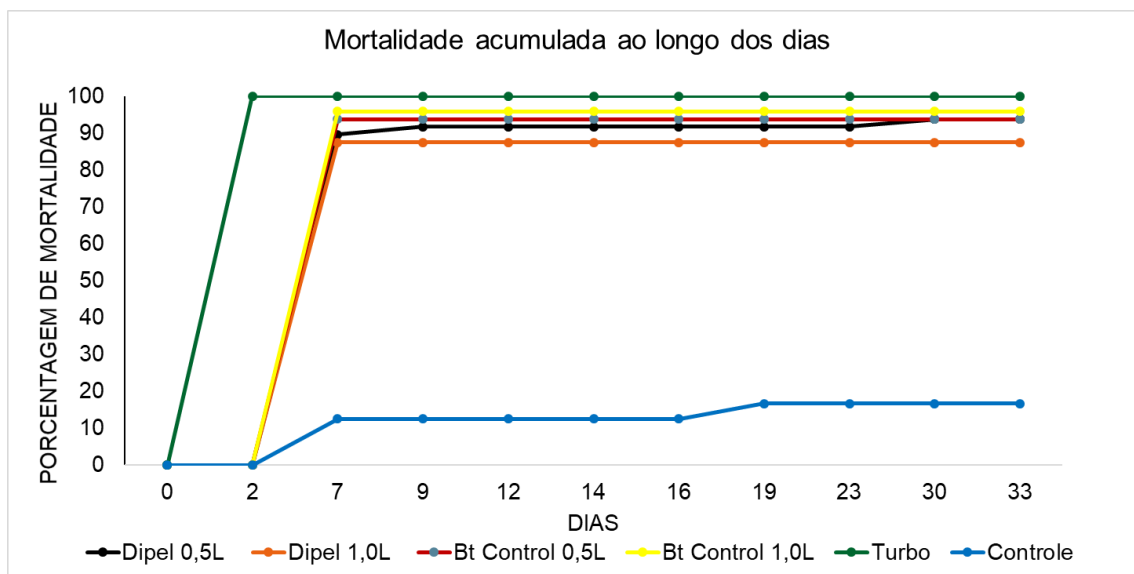


Gráfico 3. Mortalidade acumulada de lagartas do primeiro instar de *Helicoverpa armígera* ao longo do experimento de 33 dias após a aplicação dos inseticidas.

DISCUSSÃO

As proteínas Cry da bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* presentes nas formulações utilizadas, como no produto Dipel® e BTControl®, são descritas como tóxicas às lagartas *H. armígera* (Liao et al., 2002; Bravo et al., 2011; Chelliah et al., 2011; Sebastião et al., 2015).

As lagartas de primeiro instar se mostraram suscetíveis aos três produtos testados, e para os inseticidas à base de *B. thuringiensis*, as duas dosagens foram eficientes. As formulações comerciais de *Bt* geralmente possuem elevadas concentrações de proteínas tóxicas e essa associação das toxinas elevam a eficácia de controle devido ao sinergismo entre elas (Bird; Akhurst, 2007; Avilla et al., 2005). Dessa forma, as proteínas isoladamente possuem menor eficácia do que quando estão em mistura.

É válido ressaltar que os produtos à base de *Bt* tem sua eficácia devido a presença de esporos na formulação além das proteínas e que essa combinação

de esporo-cristal pode acarretar no aumento da toxicidade de *Bt* e conseqüentemente, resultar no aumento da mortalidade na fase larval (Liu et al., 1998; Chandrashekar et al., 2005).

O período de dois dias para o inseticida químico Turbo® e sete dias de sobrevivência das lagartas de primeiro instar para os inseticidas biológicos, Dipel® e BTControl®, pôde confirmar as eficácias dos produtos e comprovar que a diferença do tempo da mortalidade das lagartas se dá pelo modo de ação dos produtos, sendo o Turbo® por contato e ingestão e o Dipel® e BTControl® por ingestão apenas, além das composições serem distintas.

O inseticida Turbo® possui como ingrediente ativo beta-ciflutrina, pertencente ao grupo químico dos piretroides. É um inseticida neurotóxico que atua na transmissão axônica, ou seja, age na transmissão elétrica de impulso na célula nervosa (IRAC, 2018). Quando em repouso, as células nervosas possuem alta concentração de potássio (K^+) e relativamente baixa concentração de sódio (Na^+), o que não acontece no fluido externo, pois a relação de K/Na é, geralmente, invertida. Assim, os gradientes de concentração de K^+ e Na^+ são equilibrados pela membrana nervosa (Bear; Connors; Paradiso, 2002).

Sendo assim, os piretroides, pelo seu mecanismo de ação, interferem na permeabilidade do fluxo de Na^+ durante a transmissão e se ligam nas proteínas receptores de estímulos nervosos, acarretando no fechamento dos canais de Na^+ (Burns et al., 2013; Du et al., 2013), ocasionando a despolarização da membrana e os neurônios não voltam nas condições de repouso. Esses fatores levam o inseto num efeito de choque ou “know down”, que é o nome dado a paralisia completa do inseto pelos piretroides (Narahashi, 1971).

Segundo Abd El-Latif (2014), em seus estudos com lagartas de *H. armigera* de quinto instar, o ingrediente ativo beta-ciflutrina se mostrou um dos piretroides mais eficazes para o controle das mesmas. O que pode ser confirmado neste experimento com as lagartas de primeiro instar, pois, houve mortalidade de 100% das lagartas no segundo dia após a aplicação do inseticida.

Já as toxinas de *Bt* atuam nas células do intestino médio das larvas, causando desintegração celular e acarretando no desequilíbrio iônico e conseqüentemente a morte do inseto (Chandrashekar et al., 2005; Sanahuja et al., 2011). Segundo Abd El-Ghany et al. (2015), nos estudos de como o *Bt* afeta as células do intestino médio das larvas de *H. armigera*, observaram que as células colunares foram degeneradas, houve a destruição das microvilosidades e da membrana peritrófica, além disso, constataram o aparecimento de vacúolos no citoplasma e nas organelas citoplasmáticas, o encolhimento do núcleo e destruição da bainha celular. Com todos esses fatores acontecendo nas células intestinais da larva a sua alimentação é afetada e conseqüentemente, em pouco tempo após a infecção, o inseto cessa sua alimentação e morre por inanição ou septicemia (Sanahuja et al., 2011).

Babu et al. (2002), Avilla et al. (2005) e Li e Bouwer (2012) relataram que houve inibição do crescimento larval em lagartas de *H. armigera* alimentadas com dieta contendo toxinas Cry. No entanto, os resultados apresentados aqui contradizem os obtidos por Babu et al. (2002), que sugerem que o fato da toxina causar a inibição do crescimento em larvas sobreviventes, essas não se tornariam adultos normais, pois, como foi observado neste experimento, após 33

dias de avaliações, as lagartas sobreviventes puparam e conseguiram se desenvolver normalmente e atingir a fase adulta.

Azambuja (2016) observou em seus estudos que larvas de quarto ínstar revelaram ter menor sensibilidade a formulação e concentração de Dipel® do que as larvas de segundo instar, dessa forma, as aplicações de produtos *Bt* formulados quando as lagartas estão nas fases iniciais são mais eficazes no controle, uma vez que elas são mais suscetíveis.

É importante ressaltar que há diversos fatores que podem acarretar na suscetibilidade da praga às toxinas de *Bt*, como: variabilidade entre diferentes populações geográficas (Van Frankenhuyzen, 2009; Li; Bouwer, 2012; Sebastião et al., 2015), as táticas de controle utilizadas na área (Chandrashekar et al., 2005), a metodologia proposta nos protocolos de bioensaios e nas condições experimentais (temperatura e umidade) e também o vigor da população podem influenciar na capacidade de tolerância de um inseto para suportar o estresse imposto pelo *Bt* (Avilla et al., 2005; Bird; Akhurst, 2007).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados do trabalho apresentado, pode-se observar que nas dosagens comerciais os inseticidas biológicos Dipel® e BtControl® são eficientes para o controle da *H. armigera* a partir do sétimo dia após a aplicação, uma vez que tiveram o controle de no mínimo 87,5% das lagartas de primeiro ínstar. Além disso, com os dados apresentados nesse estudo são importantes para o manejo integrado de pragas para um controle mais efetivo e para definir a época de aplicação dos produtos em relação ao ciclo da praga em questão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-266. 1925.

ABD EL-GHANY N.M., SAKER M., SALAME H.S., RAGAIE M. Histopathology of the larval midgut of *Helicoverpa armigera* (Hubner) fed on *Bacillus thuringiensis* crystals and Bt-tomato plants. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13: 221–225. 2015.

ABD EL-LATIF, A., KRANTHI, K., KRANTHI, S., SARWAR, A., AND SUBRAHMANYAM, B. Overexpression of cytochrome P450 CYP6B7 mediated pyrethroid resistance in Indian strains of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Journal of Plant Protection Research*, 54: 287-293. 2014.

ALI, A.; CHOUDHURY, R. A. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. *Tunisian Journal of Plant Protection*, v. 4, n. 1, p. 99-106, 2009.

ALVES, S.B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: Manole. 1163 p. 1998.

ALVI A.H.K., SAYYED A.H., NAEF M., ALI M. Field Evolved Resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1Ac in Pakistan. 2012.

ANGELO, E.A.; VILAS-BÔAS, G.T.; CASTRO-GÓMEZ, R. J.H. *Bacillus thuringiensis*: características gerais e fermentação. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 31, n. 4, p. 945-958, out./dez. 2010. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744098014>>. Acesso em 27 agosto 2018.

ARANTES, O.M.N., VILAS-BÔAS, L.A., VILAS-BÔAS, G.F.L.T. *Bacillus thuringiensis*: estratégias no controle biológico. In: SERA±INE, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. (Org.). Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria. Caxias do Sul: Agropecuária. p. 269-293. 2002.

ARNEMANN, J.A. et al. Até no inverno. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, n. 182, p. 26-28, 2014.

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

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

AZAMBUJA, R. *Bioecologia de Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu controle microbiano e biotecnológico. Dourados, MS: UFGD, 2016.

BABU, B.G., UDAYASURIYAN, V., MARIAM, M.A., SIVAKUMAR, N.C., BHARATHI, M., BALASUBRAMANIAN, G. Comparative toxicity of Cry1Ac and Cry2Aa d-endotoxins of *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (H.). *Crop Protection*, 21: 817–822. 2002.

BEAR, M.F., CONNORS, B.W., PARADISO, M.A. Neurociências: desvendando o Sistema Nervoso. 2ª edição. Porto Alegre, Editora Artmed. 2002.

BIRD L.J., AKHURST R.J. Variation in susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae) in

Australia to two *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Invertebrate Pathology*, 94: 84–94. 2007.

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

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

BUÉS, R., BOUVIER, J.C., BOUDINHON, L. Insecticide resistance and mechanisms of resistance to selected strains of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in the south of France. *Crop Protection*, 24: 814-820. 2005.

BURNS, C.J. et al; Pesticide exposure and neurodevelopmental outcomes: review of the epidemiologic and animal studies; *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 2013.

CARVALHO, S.S.S., MENDES, S.M., SANTOS, A.E., VILELA, M., ARAUJO, O.G. Aspectos biológicos de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentada com buva (*Conyza canadensis*). Salvador-BA. Anais do XXX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2014.

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

CHELLIAH, A., GUPTA, G.P., KARUPPIAH, S., KUMAR, P.A. Chimeric d-endotoxins of *Bacillus thuringiensis* with increased activity against *Helicoverpa armigera*. *International Journal of Tropical Insect Science*. 31: 59-68. 2011.

CUNNINGHAM, J.P., ZALUCKI M.P. Understanding *Heliothine* (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant? J. Econ. Entomol 107: 881–896. 2014.

CZEPAK, C., ALBERNAZ, K.C., VIVAN, L.M., GUIMARÃES, H.O., CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/pat/article/view/23691/13905>>. Acesso em: 19 maio 2018. Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013a.

CZEPAK, C., VIVAN, L.M., ALBERNAZ, K.C. Pragas da vez. Cultivar 167: 20-27. 2013b.

DEGRANDE, P.E., OMOTO C. Pragas: Estancar prejuízos. Cultivar 167:30-34. 2013.

DEMÉTRIO, C.G.B., HINDE, J., MORAL, R.A. Models for overdispersed data in entomology. In: FERREIRA, C.P.; GODOY, W.A.C. (Editors). Ecological Modelling Applied to Entomology, Springer; p. 219–259, 2014.

EMBRAPA. Ações emergenciais propostas pela Embrapa para o manejo integrado de *Helicoverpa* spp. em áreas agrícolas. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Brasil. 2013. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/10180/1602515/A%C3%A7%C3%B5es+e+emergenciais+propostas+pela+Embrapa+-+Documento+oficial/3a569ce1-c132-4bfa-8314-bc993ce8b920>>. Acessado em 15 de outubro de 2018.

FIGUEIREDO, C.S. Isolamento, caracterização molecular e expressão de um novo gene vip3aa50 de *Bacillus thuringiensis* virulento para *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*. Dissertação (mestrado em Genética e Melhoramento de plantas) - UNESP, Jaboticabal; SP, 2013.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 17-52, 1989.

GREENE, G.L., LEPPLA, N.C., DICKERSON, W.A. Velvetbean Caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol, v. 69, p. 487–488, 1976.

GUEDES, J.C.V. et al. Manejar ou perder. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, n. 176, p. 12-16, 2013.

INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE, IRAC. Modo de ação de Inseticidas e Acaricidas. Folheto: Classificação de Modo de Ação de Inseticidas. Disponível em: <<http://www.irac-br.org/modo-de-ao-de-inseticidas-e-acaricidas>>. Acesso em 22 de novembro de 2018.

LI, H., BOUWER G. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. Journal of Invertebrate Pathology 109: 110–6. 2012.

LIAO, C., HECKEL, D.G., AKHURST, R. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins for *Helicoverpa armigera* and *Helicoverpa punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae), major pests of cotton. Journal of Invertebrate Pathology 80: 55–63. 2002.

LIU, Y.B., TABASHNIK, B.E., MOAR, W.J., SMITH R.A. Synergism between *Bacillus thuringiensis* spores and toxins against resistant and susceptible diamondback moths (*Plutella xylostella*). Applied and Environmental Microbiology 64: 1385-1389. 1998.

MATTHEWS, M. Heliothinae moths of Australia: a guide to pest bollworms and related noctuid groups. Melbourne: CSIRO, 320 p. 1999.

MENSAH, R.K. Supression of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) oviposition by use of the natural enemy food supplement Envirofeast. Australian Journal of Entomology, Canberra, v. 35, n. 4, p. 323-329, 1996.

MONNERAT, R.S., BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). Controle Biológico, Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v.3, p.163-200, 2000.

MOSCARDI. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/moscardi_000g4vef73a02x5ok0dkla0sqiybj2k.pdf>. Acesso em 27 agosto de 2018.

MURÚA, M.G. et al. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. Florida Entomologist, Lutz, v. 97, n. 2, p. 854-856, 2014.

NARAHASHI, T. Mode of action of pyrethroids. Bulletin of the World Health Organization, v. 44, n. 1-2-3, p. 337, 1971.

NASERI, B., FATHIPOUR, Y., MOHARRAMIPOUR, S., HOSSEININAVEH, V. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. Journal of Agricultural Science and Technology, Tehran, v. 13, p. 17-26, 2011.

PARAGUAY. Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal (Senave). Paraguay: Asunción. 2013. Disponível em:
<<http://www.abc.com.py/edicionimpresa/economia/senave-en-alertatrasingreso-de-peligrosa-plagaagricola-629240.html>>. Acesso em: 19 maio 2018.

PEDGLEY, D.E. Windborne migration of *Heliopsis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. Entomologist's Gazette, Wallingford, v. 36, n. 1, p. 15-20, 1985.

PEREIRA, J.M., SEII, A.H., OLIVEIRA M.F., BRUSTOLIN, C.; FERNANDES, P.M. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer) pela utilização de *Bacillus thuringiensis* (Berliner). Pesquisa Agropecuária Tropical 39: 140-143. 2009.

POGUE, M.G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliiothinae). Annals of the Entomological Society of America, College Park, v.97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.

POLANCZYK, R.A. et al. Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). Controle Microbiano de Pragas na América Latina: avanços e desafios. Piracicaba: FEALQ, 2008.

R, DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Version 3.2.5. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2016.

REED, W. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in western Tanganyika: II. Ecology and natural and chemical control. Bulletin of Entomological Research, London, v. 56, n. 1, p. 127-140, 1965.

REED, W., POWAR, C.S. *Heliothis*: a global problem. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON HELIOTHIS MANAGEMENT, 1982, Patancheru. Proceedings. Patancheru: Icrisat, 1982.

SALVADORI, J.R., SUZANA, C.S. Saldo da *Helicoverpa*. Cultivar Grandes Culturas, Pelotas, n. 187, p. 26-28, 2014.

SANAHUJA, G., BANAKAR, R., TWYMAN, R.M., CAPELL, T., CHRISTOU, P. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. Plant Biotechnology Journal 9: 283–300. 2011.

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

SHARMA, H.C. et al. Detached leaf assay to screen for host plant resistance to *Helicoverpa armigera*. Journal of Economic Entomology, Lanham, v. 98, n. 2, p.568-576, 2005.

SILVA, L.N. Isolamento de *Bacillus thuringiensis* Berliner em amostras de solo do sul do estado do Espírito Santo e seleção a *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). p.75. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre; ES, 2008.

SILVA, N. et al. Characterization and selection of *Bacillus thuringiensis* isolates effective against *Sitophilus oryzae*. Scientia Agricola, v.67, p.472-478, 2010.

SPECHT, A., GOMEZ, D.R.S., PAULAMORAES, S.V. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 48, n. 6, p. 689-692, 2013. Disponível em: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/15732/12161>>. Acesso em: 19 maio 2018.

TAY, W.T., SORIA, M.F., WALSH, T., THOMAZONI, D., SILVIE, P., GAJANAN, T.B., CRAIG, A. SHARON D. A brave new world for an Old World Pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. 2013.

TORRES-VILA, L.M., RODRIGUEZ-MOLINA, C., PLASENCIA, A.L., BIELZALINO, P. RODRIGUEZ DEL-RINCÓN, A. Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* in Spain: current status and agroecological perspective. Agriculture, Ecosystems and Environment. 2002.

VALICENTE, F.H., BARRETO, M.R. Levantamento dos inimigos naturais da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* na região de Cascavel, PR. An. Soc. Entomol. v.28, p. 333-337, 1999.

VALICENTE, F.H., FONSECA, M.M. Suscetibilidade da lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*, a diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*. Revista Brasileira de Milho e Sorgo 3: 21-29. 2004.

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

VILAS-BÔAS, G.T., PERUCA, A.P.S., ARANTES, O.M.N. Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* and *Bacillus thuringiensis*. Canadian Journal of Microbiology, Ottawa, v. 53, n. 1, p. 673-687, 2007.