

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPATIBILIDADE ENTRE PRODUTOS QUÍMICOS E  
BIOLÓGICOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER  
NO CONTROLE DE *Tuta absoluta* (MEYRICK)  
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE)**

**Ana Carolina Pires Veiga  
Bióloga**

**2014**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**COMPATIBILIDADE ENTRE PRODUTOS QUÍMICOS E  
BIOLÓGICOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER  
NO CONTROLE DE *Tuta absoluta* (MEYRICK)  
(LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE)**

**Ana Carolina Pires Veiga**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli**

**Co-Orientador(a): Prof. Dra. Nilza Maria Martinelli**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de  
Jaboticabal, como parte das exigências para a  
obtenção do título de Doutor em Agronomia  
(Entomologia Agrícola)**

**2014**

## **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**Ana Carolina Pires Veiga** – Nascida em 04 de janeiro de 1982, na cidade de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Formada em Ciências Biológicas pela Universidade São Judas Tadeu da cidade de São Paulo, em janeiro de 2008. As atividades de pesquisa em controle biológico iniciaram-se com o estágio no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/Unesp, em abril de 2008. Neste período realizou cursos na área de atuação, apresentou resumos em congressos e participou da disciplina Controle Biológico de Artrópodos Pragas, como aluna especial, no curso de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na FCAV/Unesp. Ingressou no curso de Mestrado em 2009, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/Unesp, Jaboticabal, na área de Entomologia Agrícola, sendo bolsista da Capes e orientada pelo Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli. Durante o mestrado participou de eventos científicos com apresentação de trabalhos, proferiu palestra (III Curso de Inverno em Entomologia Agrícola) e participou na Organização do Ciclo de Palestras em Comemoração aos 20 anos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da FCAV/Unesp. Iniciou o doutorado em março de 2011 no curso de Pós-graduação em Entomologia Agrícola pela FCAV/Unesp, Jaboticabal. Nesse período foi bolsista da Capes, participou de eventos científicos nacionais e internacionais e ministrou aulas na graduação na área de Agronomia e Zootecnia.

*“Primeiro passo da liderança, tudo que acontece na sua vida a culpa é sua”*

Vida de inseto

À minha mãe Vera Lucia Maia pelo amor incondicional, por acreditar em mim, por nunca deixar desistir dos meus sonhos, por me ajudar a sonhar e por mostrar que o caminho da felicidade nem sempre é um mar de rosas.

À minha segunda mãe Sueli Pires Veiga Amadeu pelo amor incondicional, pela ajuda sempre que precisei, pelas palavras de motivação e pelas orações.

Ao meu pai Milton Pires Veiga pelo o amor e pelo incentivo.

Ao meu avô Antônio Joaquim Maia (*in memoriam*) por sempre dizer que o caminho de Deus é feito por espinhos.

Ao meu irmão Milton Cesar Pires Veiga pelo amor, incentivo e por estar realizando um pedaço do sonho dele.

Aos meus sobrinhos João Pedro, Edson Antônio e Augusto Cesar pelas gargalhadas sem fim e por adoçarem a minha vida.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pelo dom da vida.

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal e ao Departamento de Fitossanidade, pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, pela orientação, ensinamentos e ajuda na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela orientação, pelos ensinamentos e por sempre ter uma palavra de motivação.

À Profa. Dra. Nilza Maria Martinelli pela orientação, ensinamento e pelo carinho.

Ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior pela ajuda em um momento crucial.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pelos ensinamentos.

À Dr. Alessandra Marieli Vacari, pós-doutoranda do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) e amiga, pela paciência, apoio e auxílio em todas as etapas deste trabalho.

À doutoranda e irmã Valéria Lucas de Laurentis pelo companheirismo, pela ajuda não só profissional, mas pessoal, por estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida, pelas risadas e por me apoiar sempre.

Ao meu irmão Haroldo Xavier Linhares Volpe, por não medir esforços para me ajudar, sempre! Pela paciência de ensinar e pelo companheirismo.

À graduanda e mascote do LBCI Vanessa Fabíola Pereira de Carvalho (Bíola) pelas risadas, ajuda e companheirismo.

À mestranda Mirella Dibello Marconato pela amizade, risadas e companheirismo.

À doutoranda Dagmara Gomes Ramalho, pela doçura e por mostrar que ainda existem pessoas com um coração imenso e sem maldade.

À doutoranda Caroline Placidi De Bortoli pela amizade, ajuda e carinho.

À mestre Maíra Trevisan, pela amizade e convivência, tão agradável e divertida!

À toda família LBCI (equipe do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos), Nathália Alves dos Santos, Rafael Ferreira dos Santos, Rogério Teixeira Duarte, Natália Fernanda Vieira, Cláudio Antonio Salas Figueroa, Gustavo Oliveira de Magalhães, Lucas Trevisoli Agostini, Thiago Trevisoli Agostini, Kelly Cristina Gonçalves e ao técnico agrícola e mestre Wanderley Dibelli pela amizade e ajuda.

À funcionária do Departamento de Fitossanidade, Lígia D. T. Fiorezzi, pela ajuda em todas as vezes que necessário.

À minha cunhada Camila Anália de Castro Veiga pela amizade, carinho e incentivo.

As minhas amigas Aracéle Elisane Alves, Camila Simolin Gonçalves Pinto, Fernanda Simolin Gonçalves Pinto, Milene Casaletti Pereira Malago, Mirela Cristina Campos, Roberta Bellodi Predro, Sara Sanches Cortezzi Franceschi, Thaís Silveira Righi, Thalita Silveira Righi e Viviane Lunck Kawakami pela amizade, risadas, conselhos e muito amor!!! Obrigada girls!!!!

## SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT .....	v
CAPÍTULO 1- Considerações Gerais.....	1
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Aspectos da cultura do tomate .....	3
2.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE <i>Tuta absoluta</i> .....	5
2.2.1. Ocorrência e distribuição .....	5
2.2.2. Morfologia e comportamento .....	6
2.2.3. Hospedeiros e danos.....	8
2.2.4. Controle.....	10
2.2.4.1. Controle legislativo .....	10
2.2.4.2. Controle cultural .....	11
2.2.4.3. Controle químico .....	12
2.2.4.4. Controle biológico.....	13
2.3. <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	15
2.3.1. Histórico .....	15
2.3.2. Aspectos gerais.....	16
2.3.3. Toxinas e a atividade inseticida.....	17
2.3.4. Modo de ação.....	18
2.3.5. Produtos comerciais: utilização e mercado .....	19
2.4. Compatibilidade.....	20
2.4.1. Interação entre entomopatógeno e produtos fitossanitários.....	20
3. REFERÊNCIAS.....	23



CAPÍTULO 2 - COMPATIBILIDADE DE INSETICIDAS E BIOINSETICIDAS À BASE DE <i>Bacillus thuringiensis</i> PARA O CONTROLE DE <i>Tuta absoluta</i> .....	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT .....	38
1. INTRODUÇÃO .....	39
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	40
2.1. Produtos químicos e biológicos.....	40
2.3. Análise dos dados .....	43
3. RESULTADOS .....	44
4. DISCUSSÃO .....	51
5. CONCLUSÕES .....	53
6. REFERÊNCIAS.....	54
CAPÍTULO 3 – SUSCETIBILIDADE DE <i>Tuta absoluta</i> A PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS A BASE DE <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	57
RESUMO.....	57
ABSTRACT - .....	58
1. INTRODUÇÃO .....	59
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	60
2.1. Criação de <i>Tuta absoluta</i> em laboratório .....	61
2.2 Produtos químicos e biológicos.....	62
2.3. Preparação das caldas dos produtos químicos e das suspensões dos produtos biológicos. ....	63
2.4. Testes de suscetibilidade de lagartas de primeiro ínstar de <i>Tuta absoluta</i> . .....	64
2.5. Análise dos dados .....	64
3. RESULTADOS .....	65
4. DISCUSSÃO .....	68
5. CONCLUSÕES .....	72

6. REFERÊNCIAS.....73

## COMPATIBILIDADE ENTRE PRODUTOS QUÍMICOS E PRODUTOS BIOLÓGICOS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER NO CONTROLE DE *Tuta absoluta* (MEYRICK) (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE)

**RESUMO** - O objetivo dessa pesquisa foi analisar a compatibilidade entre produtos químicos e biológicos, a patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* que cresceu em meio contendo inseticidas químicos e o efeito dos diferentes ingredientes ativos azadiractina, flubendiamida, bifentrina, espinosade e beta-ciflutrina e de três produtos biológicos comerciais à base de *B. thuringiensis* sobre lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Os produtos químicos utilizados foram: azadiractina (Azamax<sup>®</sup>), flubendiamida (Belt<sup>®</sup>), bifentrina (Talstar<sup>®</sup> 100EC), espinosade (Tracer<sup>®</sup>) e beta-ciflutrina (Turbo<sup>®</sup>) e os bioinseticidas *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *B. thuringiensis aizawai* (Xentari<sup>®</sup>) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91 (Agree<sup>®</sup>). Para avaliar a compatibilidade foram mensuradas a área de crescimento das colônias (cm<sup>2</sup>) e efetuada a contagem dos esporos. Já para os testes de mortalidade das lagartas foram utilizados 5 folíolos de plantas de tomate de aproximadamente 8 cm imersos nas suspensões por 10 segundos. Sobre cada folíolo foram colocadas 20 lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Para a testemunha foi utilizada água destilada autoclavada e 0,05% de Tween 20<sup>®</sup>. Nenhum produto químico impediu o crescimento de *B. thuringiensis* (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>), independente da dose utilizada (mínima, média recomendada ou máxima). Tracer<sup>®</sup> e Azamax<sup>®</sup> proporcionaram maior tamanho de colônias em relação à testemunha. As três suspensões dos produtos biológicos (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) que cresceram em Nutriente Agar + inseticidas químicos foram patogênicas à lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. No sétimo dia de avaliação da mortalidade foi observado que o produto biológico Xentari<sup>®</sup> X Belt<sup>®</sup>, dose mínima, apresentou 100% de mortalidade. Na avaliação de mortalidade dos produtos no sétimo dia de avaliação o produto Turbo<sup>®</sup> apresentou menor porcentagem de mortalidade em relação aos demais produtos. Os produtos químicos testados foram compatíveis com os biológicos à base de *B. thuringiensis* em condições de laboratório, abrindo possibilidades para adoção conjunta no manejo de *T. absoluta*. Para isso a validação dos resultados obtidos deve ser conduzida em estudos futuros, por meio de experimentação em semicampo e campo.

**Palavras-chave:** bioinseticida, controle químico, interação de métodos de controle, traça-do-tomateiro, entomopatógenos.

**COMPATIBILITY OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL *Bacillus thuringiensis*  
BASED INSECTICIDES TO CONTROL *Tuta absoluta* (MEYRICK) (LEPIDOPTERA:  
GELECHIIDAE)**

**ABSTRACT** The aim of this study was to evaluate the compatibility between chemicals and biological insecticides, pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* grown in medium containing chemical insecticides and the effect of the active ingredients Azadirachtin, Flubendiamide, Bifenthrin, Spinosad and Beta-cyfluthrin and those of three commercial Bt-based insecticides to control first instar caterpillars of *T. absoluta*. The chemicals used were: Azadirachtin (Azamax<sup>®</sup>), Flubendiamide (Belt<sup>®</sup>), Bifenthrin (Talstar<sup>®</sup> 100 EC), Beta-cyfluthrin (Turbo<sup>®</sup>) and Spinosad (Tracer<sup>®</sup>) and bioinsecticides Dipel<sup>®</sup> (*Bacillus thuringiensis* kurstaki) Xentari<sup>®</sup> (*Bacillus thuringiensis* aizawai) and Agree<sup>®</sup> (*Bacillus thuringiensis* kurstaki + aizawai). To assess the compatibility we measured the colony growth area (cm<sup>2</sup>) and spores were counted. To evaluate the larval mortality, 5 leaflets with 8 cm were immersed in suspensions for 10 seconds were used. On each leaflet we placed 20 first instar larvae of *T. absoluta*. For the control, autoclaved distilled water and 0.05% Tween<sup>®</sup> 20 were used to immerse the leaflets. None of chemical insecticides prevented the growth of *B. thuringiensis* (Dipel<sup>®</sup>, Agree<sup>®</sup> and Xentari<sup>®</sup>), independent of dosage [minimum, half (recommended) or maximum]. Tracer<sup>®</sup> and Azamax<sup>®</sup> provided greater colony size compared to control. The three suspensions of Bt-based insecticides (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> and Xentari<sup>®</sup>) grown on Nutrient Agar + chemical insecticides were pathogenic to first instar larvae of *T. absoluta*. At the seventh day assessment of mortality, we observed that the biological insecticide Xentari<sup>®</sup> X Belt<sup>®</sup> at the lowest dose showed 100% of mortality. For the chemical insecticides at the seventh day, Turbo<sup>®</sup> showed the lowest mortality rate compared to the other products. The chemicals tested were compatible with Bt-based insecticides under laboratory conditions, showing possibilities to be adopted jointly to control *T. absoluta* after the validation of the results obtained in the laboratory through experiments under semi-field and field conditions.

**Keywords:** biopesticide, chemical control, interaction of control methods, tomato leafminer, entomopathogens.

## CAPÍTULO 1- Considerações Gerais

### 1. INTRODUÇÃO

O tomateiro, *Solanum lycopersicum* Linnaeus, considerado uma das principais solanáceas cultivadas no Brasil, é cultivado em todas as regiões brasileiras, apresenta elevado volume produzido e, além disso, possui grande interesse de consumo por parte da população (MEDEIROS et al., 2009). O Brasil é o sexto maior produtor mundial de tomate e na região centro-oeste concentra-se a maior produção brasileira, com produtividade média de 1,2 toneladas por hectare, sendo que o volume do fruto produzido no país no ano passado foi de 3,8 milhões de toneladas em 58,7 mil hectares. As exportações brasileiras e a produção anual crescente são indicativos da prosperidade desta hortaliça para a balança comercial, sendo também reconhecida no âmbito das questões sociais e rentabilidade, estimulando a fixação do homem no campo e o desenvolvimento regional (IBGE, 2014).

O tomate é um cultivo de alto risco, devido aos sérios problemas fitossanitários, acarretando um grande número de aplicações de agrotóxicos para garantir a produtividade da lavoura (PRATISSOLI et al., 2005). O manejo fitossanitário é uma rotina nos cultivos agrícolas e um dos desafios é a adoção de técnicas de manejo para minimizar as perdas de produção, garantir a lucratividade em função da sazonalidade de preços, e para reduzir o impacto no ambiente e na saúde humana (SILVA; CARVALHO, 2004).

A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), é um dos principais entraves da produtividade da cultura do tomate (PICANÇO et al., 1998; FILHO; GUIMARÃES; MOURA, 2013), estando presente em todo o ciclo da cultura (SILVA; CARVALHO, 2004). Esta praga possui hábito minador, penetrando nas folhas 20 a 45 minutos após a eclosão, alimentando-se do mesófilo foliar (COELHO; FRANÇA, 1987), o que causa danos nas folhas. A fase jovem ataca também as brotações apicais e frutos, depreciando-os para comercialização, podendo em alguns casos causar a morte do tomateiro (MICHEREFF FILHO; VILELA, 2001). Este inseto pode ocasionar perdas de produção que podem chegar a

níveis preocupantes, pois elevadas populações podem destruir até 100% da área foliar da planta (MALUF; BARBOSA; SANTA-CECÍLIA, 1997).

Quantidades excessivas de agrotóxicos são utilizadas pelos produtores para o controle de pragas e doenças como forma de garantir melhor produtividade (TEIXEIRA et al., 2005; LATORRACA et al., 2008). Os plantios de tomateiro estaqueado chegam a ser pulverizados até três vezes por semana, totalizando 36 aplicações de inseticida durante o cultivo e, muitas vezes, envolvendo até cinco princípios ativos diferentes (FRANÇA, 1993; PICANÇO et al., 1995). Essa prática promove a contaminação ambiental, traz danos à saúde do trabalhador e consumidores do produto agrícola, proporciona a seleção de populações resistentes (SIQUEIRA, GUEDES; PICANÇO, 2000a; PIRES et al., 2010), além de prejudicar a ação de inimigos naturais (CARVALHO et al., 2003).

Na intenção de diminuir o número de pulverizações de inseticidas químicos, a integração entre os diferentes métodos de controle de *T. absoluta* têm representado um importante avanço para o manejo populacional desta praga (DE OLIVEIRA et al., 2008). Dentre estes métodos, o controle biológico com micro-organismos entomopatogênicos, em especial à bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner), tem fornecido resultados significativos no controle de lepidópteros (POLANCZYK; SILVA; FIUZA, 2000; GRECCO; POLANCZYK; PRATISSOLI, 2010; BRAVO et al., 2011; VAN FRANKENHUYZEN, 2013).

Para não comprometer o manejo integrado de pragas é necessária uma estratégia prática e econômica para a conservação desses entomopatógenos na área, podendo ser feita através da aplicação de agrotóxicos seletivos (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998). Assim, torna-se importante conhecer a ação dos produtos fitossanitários, determinando a sua seletividade e compatibilidade sobre os entomopatógenos, com o objetivo de minimizar os impactos tanto no ambiente quanto na microbiota residente (BATISTA-FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001).

Grande parte das reações dos inseticidas químicos utilizados é desconhecida, devido à carência de informações a respeito da compatibilidade desses produtos com entomopatógenos. Essa interação entre agrotóxicos e entomopatógenos, ou seja, seletividade e controle associado devem receber uma atenção especial em culturas onde o uso do controle químico seja indispensável, e onde os problemas

causados pelo ataque de pragas são considerados ponto chave na condução das culturas (MORRIS, 1977).

O Efeito desses agrotóxicos sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do patógeno, da natureza química dos produtos e das doses utilizadas. Esses produtos podem atuar inibindo o crescimento vegetativo, a esporulação dos microrganismos, e até causar mutações genéticas, as quais podem levar a diminuição da virulência à determinada praga. A presença de emulsificantes e outros aditivos concentrados, utilizados nas formulações, podem gerar problemas de compatibilidade com entomopatógenos (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001). Desta forma, o objetivo dessa pesquisa foi analisar a compatibilidade entre produtos químicos e produtos biológicos, a patogenicidade dos micro-organismos que cresceram em meios de cultura contendo inseticidas químicos e o efeito de diferentes ingredientes ativos e de três produtos biológicos comerciais à base de *B. thuringiensis* em lagartas de primeiro instar de *T. absoluta*.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Aspectos da cultura do tomate**

O tomate tem como origem a região andina, desde o Equador, passando pela Colômbia, Peru, Bolívia, até o Norte do Chile. Sua difusão pelo mundo ocorreu através dos colonizadores europeus. Apesar de consumido pelos astecas no centro de origem, os europeus foram os primeiros a utilizarem o tomate como planta ornamental, e somente em 1554, passaram a utilizá-lo na alimentação. No Brasil, a introdução do tomate deve-se a imigrantes europeus no final do século XIX e o seu consumo foi difundido após a 1ª Guerra Mundial (ALVARENGA, 2004).

O tomate é a segunda hortaliça mais cultivada no mundo, superada em volume de produção apenas pela batata (ALVARENGA, 2004). O Brasil, ocupa o sexto lugar como produtor mundial de tomate, e na região centro-oeste concentra-se

a maior produção brasileira, com produtividade média de 1,2 toneladas. O volume do fruto produzido no Brasil no ano passado foi de 3,8 milhões de toneladas em 58,7 mil hectares. As exportações brasileiras e a produção anual crescente são indicativos da prosperidade desta hortaliça para a balança comercial, sendo também reconhecida no âmbito das questões sociais e rentabilidade, estimulando a fixação do homem no campo e o desenvolvimento regional (IBGE, 2014).

O cultivo do tomate é uma atividade agrícola muito importante para o Brasil, pois é responsável pela geração de grande número de empregos diretos e indiretos, exigindo também alto investimento, mão de obra qualificada e elevado nível tecnológico (HAJI et al., 2004). Sua produção é voltada para processamento industrial e para consumo *in natura*, sendo que para o processamento industrial sua produção ocorre em campo aberto, utilizando cultivares de crescimento determinado (rasteiro), enquanto o tomate de mesa é produzido com cultivares de crescimento indeterminado e pode ser produzido em campo aberto ou em ambiente protegido (casa de vegetação) (MEDEIROS, 2007).

A expansão da área de cultivo do tomateiro favoreceu o surgimento de várias pragas que afetam consideravelmente sua produção (GONÇALVES-GERVÁSIO, 1998), entre as quais a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*, microácaro *Aculops lycopersici* (Massei, 1937) (Acari: Eriophyidae), broca pequena *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae), tripes *Frankliniella schultzei* (Trybom, 1910) (Thysanoptera: Thripidae), mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), lagarta-rosca *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) (Lepidoptera: Noctuidae), mosca-minadora *Liriomyza sativae* Blanchard, 1938 (Diptera: Agromyzidae), lagarta-das-folhas *Manduca difissa* (Butler, 1871) (Lepidoptera: Sphingidae), vaquinha *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), broca-grande-dos- frutos *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera eridania* Stoll, 1781 (Lepidoptera: Noctuidae), *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e ácaro vermelho *Tetranychus evansi* Baker & Pritchard, 1960 (Acari: Tetranychidae) (HAJI et al., 2004). Destacando-se como praga-chave da cultura, *T. absoluta* (FILGUEIRA, 2005).



## 2.2. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE *Tuta absoluta*

### 2.2.1. Ocorrência e distribuição

O primeiro relato sobre *T. absoluta* ocorreu em Huancayo, Peru, em 1917 (VARGAS, 1970), mas somente a partir dos anos de 1960, essa espécie passou a ser limitante para o cultivo do tomate no Peru, Chile, Colômbia, Argentina, Bolívia, Uruguai e Paraguai (FLORES; GILARDÓN; MOURA, 2003).

Na Europa o primeiro relato foi verificado na província de Castellón de La Plana, Espanha, em 2006, muito provavelmente por meio da importação de tomates de algum país da América do Sul (URBANEJA et al., 2007). Posteriormente, a praga se espalhou para outros países da Europa e para o Norte da África banhados pelo mar Mediterrâneo, e recentemente alcançou o continente asiático. Assim essa praga se estabeleceu nas regiões da Europa, América e África (DESNEAUX et al., 2010, OEPP/EPPO, 2010; OSTRAUSKAS; IVINSKIS, 2010; CIFUENTES; CHYNOWETH; BIELZA, 2011; VACAS et al., 2011; TOMATE, 2012 ).

No Brasil foi observada a primeira ocorrência de *T. absoluta* entre 1979 e 1980, no litoral do Paraná, na cidade de Morretes (MUSZINSKI; LAVENDOWSKI; MASCHIO, 1982; SIQUEIRA; GUEDES; PICANÇO, 2000a). Em outubro de 1980, foi encontrada em Jaboticabal, São Paulo, danificando tomate rasteiro (MOREIRA; LARA; CHURATA MASCA, 1981). No final de 1981, *T. absoluta* foi encontrada no Vale do Salitre, em Juazeiro, Bahia (MORAES; NORMANHA FILHO, 1982), disseminando-se rapidamente e com grande intensidade de infestação para outras áreas de tomate rasteiro no Vale do Submédio do São Francisco (HAJI, 1992).

Em 1981, a praga foi constatada no Estado do Rio de Janeiro, em São João da Barra e, em 1982 e 1983, nos municípios de Itagauí e Vassouras, atacando tomate estaqueado (GONÇALVES; OLIVEIRA; LIMA, 1983). Em Minas Gerais, também em 1982, foi verificado o primeiro ataque da traça, nos municípios de Florestal e Carmópolis de Minas (SOUZA et al., 1983). No estado do Espírito Santo a presença da praga foi observada em 1983 causando dano ao tomateiro e também

nesse mesmo ano na Zona da Mata de Pernambuco (LYRA NETTO; WANDERLEY; MELO, 1991). Em 1984, a infestação da traça-do-tomateiro já havia alcançado o Estado do Ceará, no Planalto de Ibiapaba, CE (BEZERRIL; CARBEIRO; TORRES FILHO, 1992). No final da década de 1980, a *T. absoluta* já estava instalada em todas as regiões produtoras de tomate do país (FRANÇA, 1993). Na década de 1990, *T. absoluta* passou a infestar também os cultivos de tomateiro protegidos em casa-de-vegetação, exigindo maior atenção para o seu controle (VILLAS BOAS; FRANÇA, 1996; FERNANDES, 1999).

Mesmo depois de mais de 30 anos dos primeiros relatos de sua ocorrência no Brasil, a traça-do-tomateiro continua sendo uma das principais pragas dessa hortaliça, ocorrendo em todo o ciclo da cultura em várias regiões produtoras, particularmente em cultivos de tomateiro estaqueado (SILVA; CARVALHO, 2004; FILHO; GUIMARÃES; MOURA, 2013). Surtos da *T. absoluta* de menor severidade vêm sendo registrados em cultivos de tomate para processamento industrial nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Góias e no Distrito Federal (FILHO; GUMARÃES; MOURA, 2013).

### 2.2.2. Morfologia e comportamento

Conhecida como traça-do-tomateiro, *T. absoluta* pertence à família Gelechiidae, que é uma das maiores famílias de microlepidópteros, com 4.600 espécies descritas, representando 500 gêneros (HODGES, 1999). Os adultos são mariposas pequenas (10-11 mm de comprimento), coloração cinza-prateada, com asas franjadas, antenas filiformes e aparelho bucal sugador maxilar com os palpos labiais recurvados (COELHO; FRANÇA, 1987) (Figura 1 A).

Os ovos são elípticos, amarelos e medem 0,36 x 0,22 mm (Figura 1 B), e quando estão próximos a eclosão das lagartas tornam-se avermelhados ou marrons. Esses são depositados isoladamente ao longo das nervuras dos folíolos, tanto na superfície superior como inferior, nos brotos apicais, nas hastes, no cálice das flores e nos frutos do tomateiro (SOUZA; REIS, 2000; OEPP/EPPO, 2005). Após 4-5 dias,

as lagartas da traça eclodem, no 1º ínstar são verdes-claras, e nos ínstares posteriores apresentam coloração verde, intensificada à medida que as lagartas crescem. Quando chegam ao quarto e último ínstar apresentam uma faixa longitudinal dorsal rósea e avermelhada (COELHO; FRANÇA, 1987; SOUZA; REIS, 2000) (Figura 1 C).

Em todos os ínstares larvais as lagartas possuem uma placa quitinosa escura na parte dorsal no primeiro segmento torácico. O período larval apresenta duração 13-15 dias. Logo após a eclosão as lagartas penetram nos tecidos vegetais mais tenros e minam os folíolos, broqueiam o caule, perfuram as brotações apicais, atacam os frutos, depreciando-os para a comercialização e em casos extremos podem matar a planta (COELHO; FRANÇA, 1987; SOUZA; REIS, 2000; OEPP/EPPO, 2005).

As pupas são do tipo obtectas e possuem coloração marrom-amarelada e são envoltas por um casulo de seda esbranquiçado (SILVA; CARVALHO, 2004) (Figura 1 D). São encontradas frequentemente nos folíolos e no caule do tomateiro, podendo ocorrer também no interior dos frutos ou ainda no solo, como pupa nua, e esse período de desenvolvimento possui duração de sete a dez dias. O ciclo da praga em condições de laboratório varia de 26 a 38 dias, enquanto no campo as gerações são superpostas, podendo ocorrer na lavoura infestada todos os estágios de desenvolvimento ao mesmo tempo (HAJI et al., 1988a; SOUZA; REIS, 2000).

*Tuta absoluta* pode ocorrer durante todo o ciclo da cultura, o ano todo e em todos os estados produtores do país, sendo o período crítico a fase de formação dos frutos. Períodos quentes e secos favorecem sua ocorrência, verificando menor população em períodos chuvosos, e sua disseminação é feita pelo vento e pelo transporte de frutos atacados contendo lagartas (SOUZA; REIS, 1992).

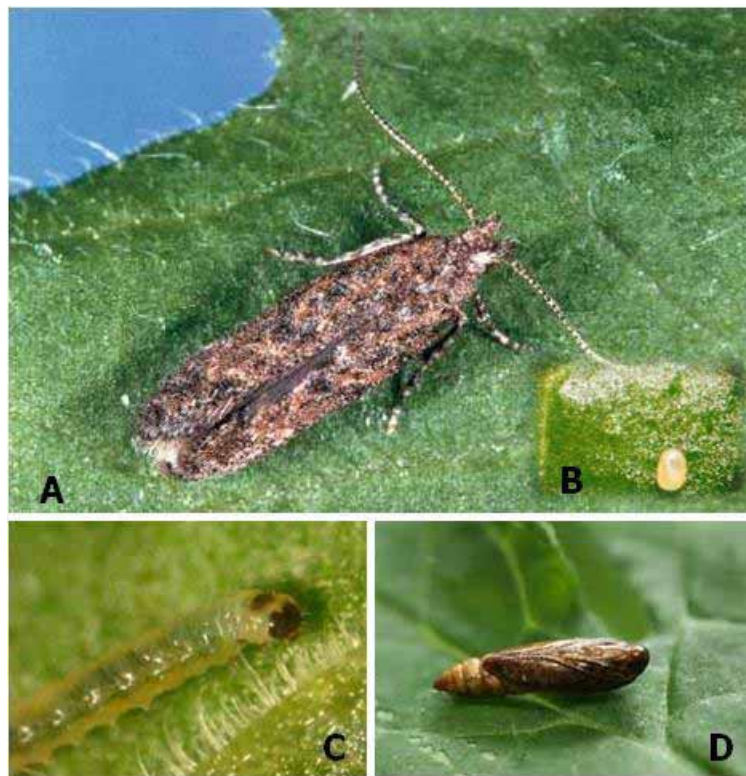


Figura 1. Estágios de desenvolvimento da traça-do-tomateiro: A – adulto, B – ovo, C – lagarta, D – pupa. Fotos: A - Esteban Sani, B - Yamina Guenaoui e Amine Ghelamallah, C e D site [www. tutaabsoluta.com](http://www.tutaabsoluta.com).

### 2.2.3. Hospedeiros e danos

A traça-do-tomateiro tem preferência por plantas hospedeiras da família das solanáceas, sendo o tomateiro preferencial, onde sua importância como praga é maior. Entre as demais solanáceas que podem ser hospedeiras de *T. absoluta* tem-se: a batata (*Solanum nigrum* L.), joá-bravo (*Solanum aculeatissimum* Jacq.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e Maria-pretinha (*Solanum nigrum* L.) (VARGAS, 1970; DESNEUX et al., 2010). Com sua entrada na Europa, outras plantas têm sido registradas como hospedeiras, havendo relatos de ocorrência até em leguminosas como o feijão (DESNEUX et al., 2010). No Brasil, sua maior ocorrência é em tomateiro, mas pode ser encontrada ocasionalmente em batata e solanáceas silvestres como Maria-pretinha e Joá-bravo, as quais servem de hospedeiros alternativos durante as entressafras (SOUZA; REIS, 1992).

*Tuta absoluta* pode causar prejuízos à lavoura (SOUZA; REIS 2003). Os danos são causados pelas lagartas que se alimentam do parênquima foliar, formando galerias transparentes ou minas. Em alta infestação podem destruir completamente as folhas do tomateiro HAJI et al. (1998b), podendo causar perdas de até 100% das lavouras (LOURENÇÃO et al., 1984; HAJI et al., 2002). Os danos provocados nos brotos terminais dos tomateiros interrompem o crescimento em altura, provocando o superbrotamento lateral, o que prejudica a produção de frutos. Atacam em qualquer estágio de crescimento, resultando na queda dos botões florais e dos frutos. Os frutos que conseguem atingir amadurecimento apresentam perfurações e galerias, junto à região do cálice, que diminuem seu valor comercial, e com as galerias abertas pelo inseto ocorre a penetração de patógenos (fungos e bactérias), tornando os frutos impróprios para o consumo e processamento (SOUZA; REIS, 2003) (Figura 2).



Figura 2. Danos provocados por *Tuta absoluta*. A – lavoura de tomate 100% destruída pela praga, B – perfurações no fruto causada pelas lagartas, C – galerias dentro do fruto junto a região do cálice, D – fruto em fase de maturação atacado pela lagarta. Fotos: Ana Carolina Pires Veiga.

## 2.2.4. Controle

### 2.2.4.1. Controle legislativo

A primeira medida para reduzir a população da traça-do-tomateiro em lavouras de tomate industrial é limitar a oferta de alimento para o inseto. Isso pode ser alcançado adotando um calendário de plantio anual, onde é mantido um período livre de plantio de tomate de três meses (novembro a janeiro). Em Goiás, o transplante de tomate resteiro, seja para fins industriais ou mesa, só poder ocorrer de 1º de fevereiro a 30 de junho de cada ano (Instrução Normativa nº 05, de 13/11/2007-GO) (VILLAS BÔAS; BRANCO; MEDEIROS, 2009).

#### 2.2.4.2. Controle cultural

Entende-se por controle cultural os procedimentos adotados no manejo da lavoura a fim de contribuir para reduzir a população da traça-do-tomateiro nas áreas de cultivo, visando interromper seu ciclo biológico. É importante que se evite os plantios sucessivos da cultura, na mesma área/região. É fundamental a destruição dos restos culturais após a colheita. De acordo com as observações de campo, alguns produtores não destroem imediatamente os restos culturais após a colheita, desrespeitando o que está determinado na Instrução Normativa nº 05. A manutenção desses restos culturais no campo permite que as pupas, que se alojam no solo ou nas folhas das plantas, se desenvolvam e originem novos adultos. Estes adultos podem se dispersar para outras áreas vizinhas cultivadas com tomate industrial e, com isso, aumentar o potencial de dano nas áreas que recebem os insetos migrantes (VILLAS BÔAS; BRANCO; MEDEIROS, 2009).

Recomenda-se ainda eliminar plantas hospedeiras alternativas do inseto, como as solanáceas silvestres joá-bravo e maria-pretinha (FRANÇA; CASTELO BRANCO, 1992). A irrigação por pivô central ou por aspersão convencional é outra prática que contribui para reduzir a população da traça-do-tomateiro. Em geral, as plantas dessas áreas são menos danificadas do que aquelas irrigadas por sulco e por gotejo. Isso ocorre porque a irrigação por aspersão remove da planta até 30% dos ovos da traça-do-tomateiro e contribui para a mortalidade das pupas que se encontram no solo, interferindo na capacidade de multiplicação das populações do inseto (CASTELO BRANCO, 1992; COSTA et al., 1998; SILVA et al., 1994). É de suma importância que os produtores utilizem mudas saudáveis e vigorosas provenientes de viveiros idôneos. Deve ainda ser realizada adubação adequada, sendo fundamental que se faça análise de solo antes do plantio, a fim de se identificar corretamente as necessidades de adubação.

### 2.2.4.3. Controle químico

O controle químico é hoje a técnica mais empregada para o controle da traça-do-tomateiro. O alto potencial reprodutivo e os danos ocasionados por esse inseto tornam o método químico o controle comumente utilizado na cultura, já que o hábito minador e a existência de populações resistentes tornam o controle do inseto difícil e dispendioso. Muitas vezes, por essas causas, até mesmo o controle químico é ineficiente, garantindo a permanência de infestações (BOGORNI; CARVALHO, 2006) e tornando os custos de produção onerosos e as perdas bastante significativas (PICANÇO et al., 2004).

O manejo de *T. absoluta* iniciou com uso de organofosforados na década de 1970, sendo substituídos gradualmente por piretroides. A maioria dos inseticidas utilizados são piretroides, contudo, o aumento na incidência de populações resistentes e a crescente demanda por produtos mais sustentáveis têm levado à busca por estratégias integradas para o manejo de insetos-praga (FERREIRA, 2011).

As aplicações são feitas sem que seja realizado um monitoramento para definir o momento exato em que elas devem ser realizadas nas lavouras. Armadilhas de feromônio, dispostas ao redor da cultura para identificar o momento exato da chegada dos primeiros adultos na lavoura, podem indicar o momento a partir do qual o controle químico deve ser efetivamente iniciado. Além de reduzir os impactos ambientais negativos causados pelos agrotóxicos, essa prática também contribui para reduzir os custos dos produtores. Caso o produtor não empregue essas armadilhas de feromônio, as amostragens semanais da parte superior das plantas, para verificar a presença de ovos, podem também indicar o momento de se iniciar as aplicações nas lavouras (CASTELO BRANCO, FRANÇA; FONTES, 1996).

Entre as limitações da adoção do controle químico como único método de controle da traça destacam-se: poucos produtos com eficiência desejada, altas frequências de aplicação, o alto custo dos inseticidas, o lento desenvolvimento de novos produtos químicos, o risco de contaminação ambiental e o surgimento de populações resistentes do inseto (FRANÇA, 1993). Aspectos novos para o manejo de *T. absoluta* foram apresentados por Villas Bôas, Branco e Medeiros (2005), os



quais incluem a rotação de inseticidas de grupos químicos diferentes e o uso de inimigos naturais para a liberação semanais nas lavouras. Segundo Medeiros; Sujii e Morais (2011), as características do cultivo protegido associadas à boas medidas de controle físico, práticas culturais, monitoramento populacional, controle biológico e controle químico emergencial podem favorecer o sucesso de programas de MIP para esse sistema de cultivo.

#### **2.2.4.4. Controle biológico**

Desde a introdução da traça-do-tomateiro no Brasil, muito esforço tem sido feito no sentido de estabelecer o seu controle biológico, sendo que entre seus inimigos naturais destacam-se predadores, parasitoides e entomopatógenos (SILVA et al., 2004). Ao todo, 49 espécies de parasitoides e 44 de predadores estão associadas aos diferentes estágios de desenvolvimento da *T. absoluta* no continente Sul-americano (DESNEAUX et al., 2010). Os predadores atacam todos os estágios de desenvolvimento da traça e estão presentes e ativos desde a fase inicial da cultura (MEDEIROS; SUJI; MORAIS, 2011).

Os percevejos predadores *Orius* sp., *Lasiochilus* sp. e *Xylocoris* sp. (Heteroptera: Anthocoridae), *Annona bimaculata* (Distant, 1884) (Heteroptera: Miridae) e *Hyaliodocoris insignis* (Stal, 1860) (Heteroptera: Miridae) se alimentam ovos e lagartas de primeiro instar de *T. absoluta*, enquanto os vespídeos *Protonectarina sylveirae* (Saussure, 1854) (Hymenoptera: Vespidae) e *Brachygastra lecheguana* (Latreille, 1824) (Hymenoptera: Vespidae) predam principalmente as lagartas de segundo e terceiro ínstares (BACCI et al., 2008). As vespas constituem o grupo mais importante de predadores de lagartas da traça-do-tomateiro, devido a sua habilidade de abrir as minas da traça nas folhas do tomateiro à procura das lagartas (MEDEIROS; SUJI; MORAIS, 2011). A ação combinada dos predadores pode ser responsável por até 99,5% de mortalidade larval da praga (MEDEIROS et al., 2009a).

Entre os parasitoides, a espécie *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é o parasitoide de ovo mais comumente encontrado (MEDEIROS; SUJI; MORAIS, 2011). Os parasitoides larvais atacam, preferencialmente, as lagartas de terceiro e quarto ínstares, destacando-se espécies *Bracon*, *Earinus* e *Conura* (Hymenoptera: Braconidae) (MARCHIORI; SILVA; LOBO, 2004). Com relação às pupas de *T. absoluta*, sabe-se que são atacadas por, pelo menos, cinco espécies de parasitoides e por 12 espécies de predadores (BACCI et al., 2008; DESNEAUX et al., 2010). Em estudos realizados em área de tomateiro cultivado no sistema orgânico, o parasitismo de larvas/pupas de *T. absoluta* foi de apenas 0,5%. No entanto, deve-se ressaltar que este valor foi subestimado, pois considerou apenas as lagartas que foram parasitadas e das quais emergiram parasitoides (MEDEIROS; SUJI; MORAIS, 2011).

Estudos indicam que a entomofauna do tomateiro é rica, entretando são necessários mais estudos para identificar as espécies de insetos benéficos que poderão ser usadas efetivamente como agentes de controle biológico de *T. absoluta* (MEDEIROS; SUJI; MORAIS, 2011). O controle microbiano tem se mostrado eficiente e sua utilização em estratégias integradas ao controle químico tem possibilitado o aumento de eficiência de controle, destacando-se dentre os entomopatógenos, os fungos e bactérias. Os fungos causam mortalidade principalmente nas lagartas de primeiro, segundo e terceiro ínstares, enquanto as bactérias são mais efetivas sobre as de terceiro e quarto ínstares (BACCI et al., 2008).

De acordo com Medeiros; Suji e Moraes (2011), taxas de mortalidade de 7% a 20% de lagartas de *T. absoluta* foram causadas pela bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* em tomateiro cultivado no sistema orgânico, demonstrando o potencial deste agente no manejo da traça, principalmente quando utilizado em conjunto com o parasitoide de ovos *T. pretiosum*. Em experimentos realizados por González-Cabrera, Mollá e Urbaneja (2011) foi demonstrado a alta eficiência de *B. thuringiensis* sobre os primeiros ínstares da praga, ao ponto que não foi necessário o uso de nenhuma aplicação de inseticida. Estes autores ainda recomendaram a integração de inseticidas biológicos a base de *B. thuringiensis* com agentes de

controle biológico específicos para a fase de ovo, como os percevejos predadores (*Nabis* sp.) (Hemiptera: Nabidae) e parasitoides do gênero *Trichogramma*.

### **2.3. *Bacillus thuringiensis***

#### **2.3.1. Histórico**

O primeiro relato de doença em insetos causada por esta bactéria ocorreu em 1901, por um pesquisador japonês, Ishiwata, que descreveu uma bactéria esporulante que estava atacando larvas de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) e deu o nome de 'sotto disease bacillus" (STEINHAUS, 1961; HEIMPEL; ANGUS, 1963; GLARE; O'CALLAGHAN, 2000). Em 1911, Berliner descreveu novamente a mesma bactéria que estava causando morte de lagartas de *Ephestia Kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) e, em 1915, o mesmo cientista descreveu o denominou a bactéria *B. thuringiensis*, em homenagem a província de Thuringia, na Alemanha, onde foi encontrado o primeiro inseto infectado (BERLINER, 1915).

A presença de cristais em culturas esporuladas de *B. thuringiensis* foi mencionada por Berliner (1915), mas a atividade inseticida deste cristal só foi descoberta tempos depois por Hannay (1953), que foi o primeiro pesquisador a relacionar os cristais, chamados pelo mesmo de corpos parasporais, com a patogenicidade de *B. thuringiensis*, devido à possível formação de uma substância tóxica que causava a morte dos insetos, o que foi comprovado por Angus (1968).

As possibilidades de utilização do *B. thuringiensis* foram logo reconhecidas para programas de controle biológico, e em 1983 uma formulação comercial a base da bactéria *B. thuringiensis*, Sporeine, foi desenvolvida e comercializada na França em 1938, para o controle de lagartas da traça-da-farinha *Ephestia Kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) (LAMBERT; PEFEROEN, 1992; RAMOS, 2008). A partir dos anos 1950, diversos países como Rússia, Checoslováquia, França,

Alemanha e Estados Unidos começaram a produzir inseticidas biológicos à base de *B. thuringiensis* (WEISER, 1986).

A utilização do entomopatógeno aumentou no início de 1950, nos Estados Unidos, principalmente para o controle de lepidópteros (BEEGLE; YAMAMOTO, 1992). No início dos anos de 1970, já havia vários produtos para o controle de lagartas de Lepidoptera, além de ser descoberto o *B. thuringiensis* var. *israelensis*, ativo contra dípteros e utilizado no controle de insetos vetores de doenças, principalmente dos gêneros *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* e *Simulium*. Em 1983, foi descoberto o *B. thuringiensis* var. *tenebrionis*, utilizado para controlar larvas de Coleoptera (GLARE; O'CALLAGHAM, 2000). Dentre as diferentes proteínas Cry de *B. thuringiensis* identificadas e estudadas para o controle de insetos, 59 toxinas foram testadas contra 71 espécies de lepidópteros (VAN FRANKENHUYZEN, 2009).

### 2.3.2. Aspectos gerais

*Bacillus thuringiensis* é uma bactéria da família *Bacillaceae*, gram e catalase positiva, aeróbia, podendo também crescer em anaerobiose entre 10 e 45°C (HABIB; ANDRADE, 1998; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000; MONNERAT; BRAVO, 2000); é quimio heterotrófica, cuja temperatura ideal de crescimento é em torno de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  (MORAES; CAPALBO, 1998). Suas células vegetativas possuem forma de bastonete, medindo cerca de 1,0 a 2,0  $\mu\text{m}$  de largura por 3,0 a 5,0  $\mu\text{m}$  de comprimento, com esporos entre elípticos e cilíndricos, em posição central, com um esporângio não nitidamente estendido (HABIB; ANDRADE, 1998; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000). Esta bactéria pode ser isolada a partir de diversos substratos como solo, água, insetos mortos e superfície de algumas plantas (HÖFTE; WHITELEY, 1989; BRAVO et al., 1998; VALICENTE; BARRETO, 2003; BIZZARRI; BISHOP, 2007; HERNÁNDEZ et al., 2005).

O ciclo de vida deste entomopatógeno pode ser dividido em duas fases principais, sendo uma de crescimento vegetativo, na qual a bactéria se multiplica por bipartição, e outra de esporulação, que consiste na diferenciação da bactéria em

esporos. Quando o esporo se encontra em um ambiente favorável ao seu crescimento, com nutrientes e temperatura adequados, pode germinar e iniciar o crescimento vegetativo (MONNERAT; PRAÇA, 2006). Esta bactéria se diferencia das demais por produzir, durante o processo de esporulação, uma inclusão protéica chamada de cristal composta por subunidades com poder tóxico, as proteínas Cry, o que confere atividade entomopatogênica contra mais de 300 espécies de insetos (WEISER, 1986; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000; MONNERAT; BRAVO, 2000).

### 2.3.3. Toxinas e a atividade inseticida

A atividade entomopatogênica de *B. thuringiensis* está relacionada, principalmente à produção de inclusões cristalinas denominadas  $\delta$ -endotoxinas ou proteínas Cry na fase estacionária e que são acumuladas na célula mãe durante a esporulação (AGAISSE; LERECLUS, 1995, YAMAMOTO; DEAN, 2000). Estas inclusões cristalinas podem conter uma ou mais proteínas Cry e cada toxina é codificada por um gene *cry* específico (LI; CARROLL; ELLAR, 1991).

Além das proteínas Cry, *B. thuringiensis* produz toxinas com atividade inseticida, que podem aumentar a toxicidade das  $\delta$ -endotoxinas, como a  $\alpha$ -exotoxina, a  $\beta$ -exotoxina, as hemolisinas, as exoenzimas e as proteínas inseticidas vegetativas (VIPs) (HÖFTE; WHITELEY, 1989; HABIB; ANDRADE, 1998). Os esporos também podem contribuir com a patogenicidade da bactéria através da ação sinérgica desempenhada junto com as proteínas Cry (JOHNSON; MCGAUGHEY, 1996).

#### 2.3.4. Modo de ação

O modo de ação das proteínas Cry envolve diversas etapas, como: ingestão do complexo esporo-cristal pela larva suscetível, solubilização e processamento da toxina, ligação ao receptor, inserção na membrana, formação do poro e citólise. As proteínas Cry apresentam-se na forma de pró-toxinas e precisam ser ativadas por proteases para liberarem fragmentos tóxicos (SCHNEPF et al., 1998; MONNERAT; BRAVO, 2000).

Para a solubilização da pró-toxina ela deve entrar em contato com o pH alcalino do intestino médio das larvas dos insetos suscetíveis (KNOWLES, 1994). Diferenças na solubilização podem contribuir para determinar as alterações no grau de toxicidade entre as proteínas Cry (ARONSON et al., 1991).

Após a solubilização, é necessário o processamento das pró-toxinas por proteases presentes no intestino médio do inseto, para que ocorra a liberação do fragmento tóxico (TOJO; AIZAWA, 1983). A clivagem proteolítica é um fator importante que pode contribuir para determinar a especificidade; a principal protease digestiva de Lepidoptera e Diptera é serino-protease, enquanto que para Coleoptera são principalmente cisteíno e aspártico-proteases (DE MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001). Alguns autores sugerem que o mecanismo de resistência desenvolvido no inseto pode estar relacionado com a redução de solubilidade e proteases envolvidas (ARONSON et al., 1991; CHANG et al., 2012; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2012).

Após serem ativadas, as proteínas Cry se unem a receptores específicos presentes nas microvilosidades das células colunares do intestino médio das larvas de insetos suscetíveis, sendo um fator importante para a toxicidade e especificidade, determinando o espectro de ação das  $\delta$ -endotoxinas (MONNERAT; BRAVO, 2000; DE MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001; BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2007). Ocorre então a formação de poros que propiciam o extravasamento do conteúdo intestinal para a hemocele (COPPING; MENN, 2000; PRAÇA et al., 2004).

Os sintomas de intoxicação nos insetos são: cessam a alimentação, paralisia do intestino, vômito, diarreia, paralisia total e posterior septicemia, levando o inseto à

morte (GUPTA et al., 1985; BRAVO; JANSENS; SOBERÓN, 1992; MONNERAT; BRAVO, 2000).

### **2.3.5. Produtos comerciais: utilização e mercado**

A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa viável, e produtos biológicos à base de *B. thuringiensis* vêm apresentando resultados satisfatórios no controle de pragas (KNAAK; FIUSA, 2006). As possibilidades de uso de *B. thuringiensis* no controle biológico foram reconhecidas em 1938, na França, a partir da formulação da “Sporeína” (WEISER, 1986) e desde os anos 50, diversos países como a Rússia, França, Alemanha e os Estados Unidos começaram a produzir inseticidas biológicos à base de *B. thuringiensis* (WEISER, 1986). Nos anos 1960 foi isolada uma cepa de *B. thuringiensis kurstaki* HD-1, a qual apresentou uma toxicidade de 2 a 200 vezes superior àquelas normalmente utilizadas nos produtos comerciais na época (DULMAGE, 1970). A partir desse período, a procura por outras cepas foi estimulada e diversos laboratórios continuam trabalhando nas coleções de novos isolados bacteriano (KNAAK; FIUZA, 2006).

Suas vantagens são: ação específica sobre o inseto-alvo, efeito não poluente ao meio ambiente, inocuidade a mamíferos e vertebrados e ausência de toxicidade às plantas (MONNERAT; BRAVO, 2000; RAMOS, 2008). No mercado de bioinseticidas, os produtos a base dessa bactéria são os mais utilizados (GLARE; O’CALLAGHAN, 2000) e representam 53% de todos os bioinseticidas vendidos mundialmente (CPL BUSINESS CONSULTANTS, 2010). Apesar disso, esses produtos nunca se destacaram nas vendas de inseticidas, principalmente por problemas relacionados à perda de estabilidade, ao espectro limitado de ação e à degradação rápida pela ação da luz ultravioleta (NAVON, 2000).

O mercado de bioinseticidas em geral, incluindo botânicos, semioquímicos e macro-organismos, representa 2,5% do mercado mundial de inseticidas. Estimou-se que, as vendas de produtos a base de bactérias, vírus, fungos, protozoários e nematoides alcançaram US\$ 396 milhões em 2007/8, sendo que, desse total,

aqueles a base de *B. thuringiensis* corresponderam a US\$ 210,79 milhões (CPL BUSINESS CONSULTANTS, 2010).

## **2.4. Compatibilidade**

### **2.4.1. Interação entre entomopatígeno e produtos fitossanitários**

Cada vez mais as culturas agrícolas vêm sendo submetidas ao tratamento intensivo com grande quantidade de substâncias químicas, que englobam os fertilizantes, reguladores de crescimento ou hormônios sintéticos, inseticidas, acaricidas, fungicidas e herbicidas sendo que a interação desses produtos sintéticos (ingrediente ativos e inertes) tem promovido variações nas respostas dos agentes de controle biológico, sejam parasitoides, predadores ou patógenos (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

Os efeitos que podem ser observados sobre os agentes de controle biológico dependendo dos produtos químicos utilizados seriam: efeitos deletérios, nulos ou mesmo sinérgicos. Os efeitos deletérios são: inibição do crescimento vegetativo, reprodução, germinação, diminuição da virulência e mutação do patógeno. A intensidade destes efeitos deletérios pode variar em função da espécie e da linhagem dos patógenos, da natureza química, concentração e tipos de inertes da formulação dos produtos químicos. Os efeitos sinérgicos ocorrem quando a suscetibilidade de um artrópode-praga está comprometida por algum nível de estresse tanto abiótico como biótico e a atuação combinada de agrotóxico e biológico promovem um aumento da suscetibilidade desse hospedeiro (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

Teste de compatibilidade de produtos químicos com micro-organismos *in vitro* expõe os agentes de controle a todos os possíveis efeitos negativos ou positivos que possam sofrer quando aplicados em associação, especialmente em casos em que é realizada a mistura. Nesses testes não são considerados alguns aspectos que minimizam ou anulam efeitos negativos, como por exemplo, a deriva, diminuição



gradativa da concentração do produto em função de fatores abióticos, ou mesmo a deposição irregular do produto no campo (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

As pesquisas visando detectar os efeitos de agrotóxicos sobre entomopatógenos iniciaram depois da Segunda Guerra Mundial, quando as indústrias começaram a produzir em larga escala organofosforados, hidrocarbonetos clorinados, metilcarbamatos e piretroides (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998).

Chen et al. (1974) estudaram o efeito de inseticidas organofosforados e carbamatos sobre *B. thuringiensis* em duas preparações comerciais. Os autores observaram que a suscetibilidade de larvas de *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) ao Bt em combinação com o carbaryl, foi maior do que quando os produtos foram utilizados de forma isolada, demonstrando efeito sinérgico. O mesmo efeito foi encontrado por McGaughey (1975), que estudou a compatibilidade entre *B. thuringiensis* e os fumigantes fosfina e brometo de metila, concluindo que somente o brometo de metila mostrou efeito adverso sobre a bactéria.

Morris (1975) verificou o efeito de alguns inseticidas químicos sobre a germinação e multiplicação de *B. thuringiensis* comercial (Thuricide 16B), onde os produtos químicos Fenitrothion, SBP 1382 e Gardona<sup>®</sup> inibiram a replicação bacteriana. A germinação foi prejudicada quando utilizou concentrações elevadas devido à presença de emulsificantes tóxicos como Atlox e Triton X-100 que fazem parte da composição química de Fenitrothion e SBP 1382. Segundo Batista Filho et al. (2001), a presença de emulsificantes e outros aditivos concentrados, utilizados nas preparações, podem gerar problemas de compatibilidade com entomopatógenos.

Estudos mais recentes verificaram que ensaios realizados *in vitro* expõem ao máximo os micro-organismos à ação dos produtos fitossanitários, podendo diferir das condições de campo, onde outros fatores interferem, diminuindo a intensidade das reações (KNAAC et al., 2009). Alves, Moino Júnior e Almeida (1998) salientaram que a seletividade de um produto testado *in vitro* pode ser confirmada em campo, mas o antagonismo apresentado em laboratório nem sempre pode ser verificado no campo.

Os dados referentes às interações entre entomopatógenos e agrotóxicos em condições de campo são ainda muito reduzidos (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998). Azambuja (2006), em laboratório, concluiu que os produtos químicos fipronil, azoxistrobina, quincloraque, glifosato, propanil e pirazosulfuron-etil não interferiram no crescimento de *B. thuringiensis* nem de *Bacillus sphaericus* (Bacillales: Bacillaceae). Ressaltando esse padrão, Batista Filho et al. (2001) estudaram a compatibilidade do tiametoxam e *B. thuringiensis* (Dipel®), aplicados em lavouras de feijão, revelando que o inseticida não interferiu no potencial de inóculo do entomopatógeno, assim como *in vitro*, recomendando a utilização do produto em conjunto com a bactéria. Conforme foi verificado, no ambiente natural os diversos fatores bióticos e abióticos atuam minimizando os possíveis impactos sobre *Bacillus* spp. da ação direta dos produtos fitossanitários (ALVES; MOINO JR; ALMEIDA, 1998).

### 3. REFERÊNCIAS

AGAISSE, H.; LERECLUS, D. How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? **Journal of Bacteriology**, Washington, DC, v. 177, n. 21, p. 6027–6032, 1995.

ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidropônica**. Lavras: UFLA, 2004. 400p.

ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.

ANGUS, T. A. The use of *Bacillus thuringiensis* as a microbial insecticide. **World Review of Pest Control**, Cambridge, v. 7, p. 1-26, 1968.

ARONSON, A. I.; HAN, E.; MCGAUGHEY, W.; JOHNSON, D. The solubility of the inclusion proteins from *Bacillus thuringiensis* is dependent upon protoxin composition and is a factor of toxicity to insects. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 57, n. 12, p. 981–986, 1991.

AZAMBUJA, A. O. **Ecologia de *Bacillus* spp. em solos orizícolas e o impacto dos tratamentos fitossanitários**. 2006. 66 f. Dissertação: Mestrado. Universidade do Vale do Rio dos Sinos - São Leopoldo, 2006.

BACCI, L.; PICANÇO, M. C.; SOUSA, F. F.; SILVA, E. M.; CAMPOS, M. R.; TOMÉ, H. V. T. Inimigos naturais da traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 2, p. S2808-S2812, 2008.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001.

BEEGLE, C. C.; YAMAMOTO, T. Invitation paper (C.P. Alexander Fund): history of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 124, n. 4, p. 587-616, 1992.

BERLINER, E. Eber die schlafsucht der Mehlmottenraupe. (*Ephesia kuehniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis*, n. sp. Z. ang. **Entomology**, Tokyo, v. 2, p. 29-56, 1915.

BEZERRIL, E. F.; CARBEIRO, J. S.; TORRES FILHO, J. Controle químico da traça do tomateiro *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) no Planalto da Ibiapaba, Ceará. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 21, p. 217-224, 1992.

BIZZARRI, M. F.; BISHOP, A. H. Recovery of *Bacillus thuringiensis* in vegetative form from phylloplane of clover (*Trifolium hybridum*) during a growing season. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 94, n. 1, p. 38-47, 2007.

BOGORNI, P. C.; CARVLAHO, G. S. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bioikos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 49-61, 2006.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, Elmsford, v. 49, n. 4, p. 423-435, 2007.

BRAVO, A.; JANSENS, S.; PEFEROEN, M. Immunocytochemical localization of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins in intoxicated insects. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 60, n. 3, p. 237-246, 1992. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011\(92\)90004-N](http://dx.doi.org/10.1016/0022-2011(92)90004-N)>. Acesso em: 07 ago. 2014.

BRAVO, A.; LIKITVIVATONANONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Kidlington, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.

BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLA-LOBOS, F. J.; GUADALUPE, P.; NUNEZ-VALDEZ, M.

E.; SOBERÓN, M.; QUINTERO, R. Characterization of Cry genes in Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 64, n. 12, p. 4965-4972, 1998.

CARVALHO, G. A.; FUINI, L. C.; ROCHA, L. C. D.; REIS, P. R.; MORAES, J. C.; ECOLE, C. C. Avaliação da seletividade de inseticidas utilizados na tomaticultura a *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 28, n. 2, p. 23-30, 2003.

CASTELO BRANCO, M. Flutuação populacional da traça do tomateiro no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 10, p. 33-34, 1992.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F.; FONTES, R. R. Eficiência relativa de inseticidas em mistura com óleo mineral sobre o nível de dano econômico da traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 14, n. 1, p. 36-38, 1996.

CHANG, X.; WU, Q.; WANG, S.; WANG, R.; YANG, Z.; CHEN, D.; JIAO, X.; MAO, Z.; ZHANG, Y. Determining the involvement of two aminopeptidase Ns in the resistance of *Plutella xylostella* to the Bt toxin Cry1Ac: cloning and study of in vitro function. **Journal of Biochemistry and Molecular Toxicology**, Hoboken, v. 26, n. 2, p. 60-70, 2012.

CHEN, K. S.; FUNKE, B. R.; SCHULZ, J. T.; CARLSON, R. B.; PROSHOLD, F. I. Effect of certain organophosphate and carbamate insecticides on *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham v. 67, n. 4, p. 471-473, 1974.

CIFUENTES, D.; CHYNOWETH, R.; BIELZA, P. Genetic study of Mediterranean and South American populations of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Povolny, 1994) (Lepidoptera: Gelechiidae) using ribosomal and mitochondrial markers. **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 9, p. 1155-1162, 2011.

COELHO, M. C. F.; FRANÇA, F. H. Biologia, quetotaxia de larvas de descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, n. 22, v. 2, p. 129-135. 1987.

COPPING, L. G.; MENN, J. J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, Sussex, v. 56, n. 8, p. 651-676, 2000. Disponível em: <10.1002/1526-4998(200008)56:8<651>. Acesso em: 07 ago. 2014.

COSTA, J. S.; JUNQUEIRA, A. M. R.; SILVA, W. L. C.; FRANÇA, F. H. Impacto da irrigação via pivô-central no controle da traça-do-tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 16, n. 1, p. 19-23, 1998.

CPL BUSINESS CONSULTANTS. **The 2010 worldwide biopesticides market summary**. Walingford: CAB International Centre, 2010. v. 1, p. 1-39.

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v. 17, n. 40, p. 193-199, 2001.

DE OLIVEIRA, A. C. R.; VELOSO, V. R. S.; BARROS, R. G.; FERNANDES, P. M.; DE SOUZA, E. R. B. Captura de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) com armadilha luminosa na cultura do tomateiro tutorado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 38, n. 3, p. 153-157, 2008.

DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; WYCKHUYS, K. A. G.; BURGIO, G.; ARPAIA, S.; NARVÁEZ-VASQUEZ, C. A.; GONZALEZ-CABRERA, J.; RUESCAS, D. C.; TABONE, E.; FRANDON, J.; PIZZOL, J.; PONCET, C.; CABELLO, T.; URBANEJA, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, n. 3, p. 197- 215, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/1721004a0>>. Acesso em: 07 ago. 2014.

DULMAGE, H. D. Insecticidal activity of HD-1, a new isolate of *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*. **Journal Invertebrated Pathology**, Maryland Heights, v. 15, n. 2, p. 232-239, 1970.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (OEPP/EPPO). Data sheets on quarantine pests. *Tuta absoluta*. **EPPO Bulletin**, Chichester, v. 35, n. 3, p. 434–435, 2005.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (OEPP/EPPO). **EPPO Reporting Service**, n. 6, 2010. Disponível em: <<http://archives.eppo.int/EPPOreporting/2010/Rse-1006.pdf>>. Acesso em: 20 dez. 2012.

FERNANDES, O. A. Manejo integrado de pragas em cultivo protegido, In: ENCONTRO [SOBRE] MANEJO INTEGRADO DE DOENÇAS E PRAGAS, 1., 1999. **Livro de palestras**. Viçosa: UFV, 1999, p. 121- 129.

FERREIRA, F. T. R. **Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2001. 173 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 412 p.

FILHO, M. M.; GUIMARÃES, J. A.; MOURA, A. P. **A traça-do-tomateiro no mundo**. Brasília, DF: Embrapa hortaliça, 2013. 29 p. (Documentos, 140).

FLORES, L. V.; GILARDÓN, E.; GARDENAL, C. N. Genetic structure of populations of *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Basic and Applied Genetic**, Buenos Aires, v. 15, n. 2, p. 29-32, 2003.

FRANÇA, F. H.; CASTELO BRANCO, M. Ocorrência da traça do tomateiro (*Scrobipalpus absoluta*) em solanáceas silvestres no Brasil Central. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 10, p. 6-10, 1992.

FRANÇA, F. H. Por quanto tempo conseguiremos conviver com a traça-do-tomateiro? **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 11, n. 2, p. 176-178, 1993.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. ***Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley & Sons, 2000. 350 p.

GONÇALVES, C. R.; OLIVEIRA, A.; LIMA, A. F. *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), uma nova broca do tomateiro no estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 8., 1983, Brasília, DF. **Resumos...** [Brasília, DF: SEB], 1983. p. 73.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R. **Aspectos biológicos e parasitismo de ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-Tridecanona nos folíolos.** 1998. 71 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

GONZÁLEZ-CABRERA, J.; MOLLÁ, H. M.; URBANEJA, A. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **BioControl**, Dordrecht, v. 56 n. 1., p. 71-80, 2011.

GRECCO, E. D.; POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D. Seleção e caracterização molecular de *Bacillus thuringiensis* Berliner com atividade tóxica para *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 685-692, 2010.

GUPTA, B. L.; DOW, J. A. T.; HALL, T. A.; HARVEY, W. R. Electron probe X-ray microanalysis of the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* crystal protein insecticide on ions in an electrogenic K<sup>+</sup>-transporting epithelium of the larval midgut in the lepidopteran, *Manduca sexta*, *in vitro*. **Journal of Cell Science**, London, v. 74, p. 137-152, 1985.

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

HAJI, F. N. P.; PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J. S.; ALENCAR, J. A. *Trichogramma Pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo, Manole, 2002. p. 477-494.

HAJI, F. N. P.; CARNEIRO, J. S.; BLEICHER, E.; MOREIRA, A. N.; FERREIRA, R. C. F. Manejo da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B na cultura do tomate. In:



HAJI, F. N. P.; BLEICHER, E. (Ed.). **Avanços no manejo da mosca branca *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae)**. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 2004. p. 87-110.

HAJI, F. N. P.; PARRA, J. R. P.; SILVA, J. P.; BATISTA, J. S. Biologia da traça do tomateiro sob condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, p. 107-110, 1988a.

HAJI, F. N. P. Histórico e situação atual da traça do tomateiro nos perímetros irrigados do Submédio São Francisco. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., 1992, Águas de Lindóia. **Anais...** Campinas: EMOPI, 1992. p. 57-58.

HAJI, F. N. P.; OLIVEIRA, C. A. V.; AMORIM NETO, M. S.; BATISTA, J. G. S. Flutuação populacional da traça do tomateiro no Submédio São Francisco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 23, n. 1, p. 7-14, 1998b.

HANNAY, C. L. Crystalline inclusions in aerobic spore forming bacteria. **Nature**, London, v. 172, p. 1004, 1953.

HEIMPEL, A. M.; ANGUS, T. A. Diseases caused by certain spore-forming bacteria. In: STEINHAUS, E. A. **Insect pathology**: an advanced treatise. New York: Academic Press, 1963. p. 21–73.

HERNÁNDEZ, C. S.; ANDREW, R.; BEL, Y.; FERRÉ, J. Isolation and toxicity of *Bacillus thuringiensis* from potato-growing areas in Bolivia. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 88, n. 1, p. 8-16, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2004.10.006>>. Acesso em: 07 ago. 2014.

HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; KRISHNAN, V.; CRICKMORE, N.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Lack of Cry1Fa binding to the midgut brush border membrane in a resistant colony of *Plutella xylostella* moths with a mutation in the ABCC2 locus. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 18, p. 6759-6761, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01689-12>>. Acesso em: 07 ago. 2014.

HODGES, R.W. Gelechioidea, Gelechiidae (Part–*Chionodes*). In: DOMINICK, R.B., DAVIS, D.R., DOMINICK, T., FERGUSON, D.C., MONROE, E.G., POWELL, J.A.

(eds.), **Moths of America North of Mexico**. Fascicle 7.6. E.W. Classey and the Wedge Entomological Research Foundation. London. 1999, 339 pp.,5 pl.

HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, Washington, DC, v. 53, n. 2, p. 242-255, 1989.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Título. Rio de Janeiro, Ano da publicação. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/>>. Acesso em: 28 jan 2014.

JOHNSON, D. E.; MCGAUGHEY W. H. Natural mortality among Indianmeal moth larvae with resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 68, n. 2, p. 170–172, 1996.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Genes Cry1Ab e Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis*. **Biociência, Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 9, n. 36, p. 26-31, 2006.

KNAAC, N.; AZAMBUJA, A. O.; LUCHO, A. P. R.; BERLITZ, D. L.; FIUZA, L. M. Interações de *Bacillus thuringiensis* e o controle de fitopatógenos. **Biociência Ciências e Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 11, n, 38, p. 1-6, 2009.

KNOWLES, B. H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal  $\delta$ -endotoxins. **Advances in Insect Physiology**, San Diego, v. 24, p. 275–308, 1994.

LAMBERT, B.; PEFEROEN, M. Insecticidal promise of *Bacillus thuringiensis*. **BioScience**, Washington, v. 42, n. 2, p. 112-122, 1992.

LATORRACA, A.; MARQUES, G. J. G.; SOUSA, K. V.; FORNÉS, N. S. Agrotóxicos utilizados na produção do tomate em Goiânia e Goianópolis e efeitos na saúde humana. **Comunicação em Ciências da Saúde**, Brasília, DF, v. 19, n. 4, p. 365-374, 2008.

LI, J.; CARROLL, J.; ELLAR, D. J. Crystal structure of insecticidal delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* at 2.5 Å resolution. **Nature**, London, v. 353, n. 6347, p. 815–821, 1991.

LOURENÇÃO, E. S. Fontes de resistência a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v. 43, n. 2, p. 569-577, 1984.

LYRA NETTO, A. M. C.; WANDERLEY, L. J. G.; MELO, P. C. T. Controle químico de *Neuleucinodes elegantalis* (Guenée, 1854) e *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) no tomateiro em Pernambuco. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 20, p. 353-358, 1991.

MALUF, W. R.; BARBOSA, L. V.; SANTA-CECÍLIA L. V. C. 2-Tridecanona-mediated mechanism of resistance to the South American tomato pinworm *Srobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera- Gelechiidae) in *Lycopersicon* spp. **Euphytica**, Netherlands, v. 93, n. 2, p. 189-194, 1997.

MARCHIORI, C. H.; SILVA, C. G.; LOBO, A. P. Parasitoids of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) collected on tomato plants in Lavras, state of Minas Gerais, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 64, n. 3, p. 551-552, 2004.

McGAUGHERY, W. M. H. Compatibility of *Bacillus thuringiensis* and granulosis vírus treatments of stored grain with four grain fumigants. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 26, n. 2, p. 247-250, 1975.

MEDEIROS, M. A. de. **Papel da biodiversidade no manejo da traça-dotomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2007. 162 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2007.

MEDEIROS, M. A.; SUJII, E. R.; MORAIS, H. C. Fatores de mortalidade na fase de ovo de *Tuta absoluta* em sistemas de produção orgânica e convencional de tomate. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 72-80, 2011.

MEDEIROS, M. A.; SUJII, E. R.; RASI, G. C.; LIZ, R. S.; MORAIS, H. C. Padrão de oviposição e tabela de vida da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 3, p. 452-456, 2009a.

MICHEREFF FILHO, M.; VILELA, E. F. Traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Ed.) **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p. 81-84.

MONNERAT, R. G.; 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, 2000. p. 163-200.

MONNERAT, R. G.; PRAÇA, L. B. *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, 2006. p. 121-155.

MORAES, G. J. de; NORMANHA FILHO, J. A. Surto de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) em tomateiro no trópico semi-árido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 17, n. 3, p. 503-504, 1982.

MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. Produção de bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 127-170.

MOREIRA, J. O. T.; LARA, F. M.; CHURATA MASCA, M. C. G. Ocorrência de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) danificando tomate rasteiro em Jaboticabal. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 7., 1981, Fortaleza. [**Resumos**]... Fortaleza: SEB, 1981. p. 58.

MORRIS, O. N. Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **The Canadian Entomologist**, Quebec, v. 109, n. 6, p. 855-864. 1977.

MUSZINSKI, T.; LAVENDOWSKI, I. M.; MASCHIO, L. M. A. de. Constatação de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) (= *Gnorimoschema absoluta*) (Lepidoptera: Gelechiidae), como praga do tomateiro (*Lycopersicon sculentum* Mill.), no litoral do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 11, p. 291-292, 1982.

NAVON, A. *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection – reality and prospects. **Crop Protection**, Washington, DC, v. 19, n. 8-10, p. 669–676, 2000.

OSTRAUSKAS, H.; IVINSKIS, P. Records of tomato pinworm (*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)) - Lepidoptera: Gelechiidae - in Lithuania. **Acta Zoologica Lituanica**, Vilnius, v. 20, n. 2, p. 151-155, 2010.

PICANÇO, M. C.; PAULA, S. V. de; MORAES JUNIOR, A. R.; OLIVEIRA, I. R. de; SEMEÃO, A. A.; ROSADO, J. F. Impactos financeiros da adoção de manejo integrado de pragas na cultura do tomateiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 245-252, 2004.

PICANÇO, M.; GUEDES, R. N. C.; LEITE, G. L. D.; FONTES, P. C. R.; SILVA, E. A. Incidência de *Scrobipalpus absoluta* em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e controle químico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 13, p. 180-183, 1995.

PICANÇO, M.; LEITE, G. L. D.; GUEDES, R. N. C.; SILVA, E. A. Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing. **Crop Protection**, Guildford, v. 17, n. 5, p. 447-452, 1998.

PIRES, L. M.; MARQUES, E. J.; DE OLIVEIRA, J. V.; ALVES, S. B. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e sua compatibilidade com alguns inseticidas usados na cultura do tomateiro. **Neotropical Entomology**, Dordrecht, v. 39, n. 6, p. 977-984, 2010.

POLANCZYK, R. A.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 165-167, 2000.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, É. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 1, p. 11-16, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100204X2004000100002>>. Acesso em: 20 dez. 2012.

PRATISSOLI, D.; RHULER, R. T.; ANDRADE, G. S.; ZANOTTI, L. C. M.; SILVA, A. F. Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 40, n. 7, p. 715-718, 2005.

RAMOS, F. R. **Avaliação a campo de uma estirpe de *Bacillus thuringiensis* tóxica à lepidoptera e seu possível efeito adverso sobre espécies não-alvo.** 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M. R. Interação de micro-organismo com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios.** Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 279–302.

SCHNEPF, H. E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D. H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 62, n. 3, p. 775–806, 1998.

SILVA, A. C.; CARVALHO, G. A. Manejo Integrado de Pragas. In: ALVARENGA, M. A. R. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia.** Lavras: Editora UFLA, 2004. p. 309-366.

SILVA, J. B. C. da; GIORDANO, L. B.; BOITEUX, L. S.; LOPES, C. A.; FRANÇA, F. H.; SANTOS, J. R. M. dos; FURUMOTO, O.; FONTES, R. R.; MAROUELLI, W. A.; NASCIMENTO, W. M.; SILVA, W. L. C.; PEREIRA, W. **Cultivo do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) para industrialização.** Brasília, DF: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 33 p. (Instruções Técnicas, 12).

SIQUEIRA, H. A. A.; GUEDES, R. N. C.; PIKANÇO, M. C. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 2, n. 2, p. 147-153, 2000a.

SOUZA, J. C. de; NACIF, A. P.; GOMES, J. M.; SALGADO, L. O. **Traça-do-tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle.** Belo Horizonte: EPAMIG. 1983. 14 p. (Boletim Técnico, 102).

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. Principais pragas do tomate para mesa: bioecologia, dano e controle. **Informativo Agropecuário**, Cidade, v. 24, p. 79-92, 2003.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. **Traça-do-tomateiro**: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 20 p. (Boletim Técnico, 38).

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. **Traça do tomateiro**: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 2000. 32 p. (Boletim Técnico, 57)

STEINHAUS, E. A. On the *correct author of Bacillus sotto*. **Journal of Insect Pathology**, New York, v. 3, p. 97-100, 1961.

TEIXEIRA, C. A.; LACERDA FILHO, A. F.; PEREIRA, S.; SOUZA, L. H.; RUSSO, J. R. Balanço energético de uma cultura de tomate. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 9, n. 3, p. 429-432, 2005.

TOJO, A.; AIZAWA, K. Dissolution and degradation of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin by gut juice protease of the silkworm *Bombyx mori*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 45, n. 2, p. 576-580, 1983

TOMATE leaf miner, Tuta absoluta, Tomate pest, Tutaabsoluta phromone trap, potato Aubergine, pest, Green house toma. [S.l.]: Tuta *absoluta*: information network, [2014?]. Disponível em: <<http://www.tutaabsoluta.com>>. Acesso em: 20 dez. 2012.

URBANEJA, A.; VERCHER, R.; NAVARRO, V.; GARCÍA MARÍ, F.; PORCUNA, J. L. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. **Phytoma España**, Valencia, v. 194, p. 16-23, 2007.

VACAS, S.; ALFARO, C.; PRIMO, J.; NAVARRO-LLOPIS, V. Studies on the development of a mating disruption system to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 67, n. 11, p. 1473-1480, 2011.

VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R. *Bacillus thuringiensis* survey in Brazil: geographical distribution and insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 639-644, 2003.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Cross-order and cross phylum activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 114, n. 1, p. 76-85, 2013.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 101, n. 1, p. 1–16, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.02.009>>. Acesso em: 20 dez. 2012.

VARGAS, H. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Idesia**, Arica, v. 1, p. 75-110, 1970.

VILLAS BOAS, G. L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. **Manejo integrado da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*) em sistema de produção integrada de tomate indústria (PITI)**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009. 16 p. (Circular Técnica, 73).

VILLAS BOAS, G. L.; FRANÇA, F. H. Utilização do parasitóide *Trichogramma pretiosum* no controle da traça-do-tomateiro em cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 14, p. 223- 225, 1996.

WEISER, J. Impact of *Bacillus thuringiensis* on applied entomology in eastern Europe and in Soviet Union. In: KRIEG, A.; HUGER, A. M. (Ed.). **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem Heft**. Berlin: Paul Parey, 1986. p. 37-50.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D. H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agricultural pests. In: CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-Le ROUX, C. (Ed.). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, 2000. p. 81-100.



## **CAPÍTULO 2 - COMPATIBILIDADE DE INSETICIDAS E BIOINSETICIDAS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE DE *Tuta absoluta*.**

### **COMPATIBILIDADE DE INSETICIDAS E BIOINSETICIDAS À BASE DE *Bacillus thuringiensis* PARA O CONTROLE DE *Tuta absoluta*.**

**RESUMO** - A ação dos produtos químicos sobre os micro-organismos varia em função da espécie e linhagem do micro-organismo, da dosagem e formulação química dos produtos. O objetivo deste estudo foi verificar a compatibilidade entre os diferentes ingredientes ativos dos produtos químicos com formulados comerciais biológicos à base de *B. thuringiensis* visando o controle de *Tuta absoluta* na cultura do tomate. Os produtos químicos utilizados foram: Azamax<sup>®</sup> (azadiractina), (Belt<sup>®</sup>) (flubendiamida), Talstar<sup>®</sup> (bifentrina), Tracer<sup>®</sup> (espinosade) e Turbo<sup>®</sup> (beta-ciflutrina) e os bioinseticidas *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Dipel<sup>®</sup>), *B. thuringiensis aizawai* (Xentari<sup>®</sup>) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91 (Agree<sup>®</sup>). Uma alíquota de 5,0 µL de cada suspensão do bioinseticida foi distribuída na região central da placa de Petri<sup>®</sup> com meio de cultura ágar nutriente (NA) + produto químico, sendo utilizadas dez repetições por tratamento. Os parâmetros para avaliar a compatibilidade foram a área de crescimento da colônia (cm<sup>2</sup>) e o número de esporos. Nenhum produto químico impediu o crescimento de *B. thuringiensis* (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>), independente da dose utilizada (mínima, média ou máxima). Tracer<sup>®</sup> e Azamax<sup>®</sup> proporcionaram maior tamanho da colônia em relação à testemunha. Os produtos químicos testados foram compatíveis com os produtos biológicos à base de *B. thuringiensis* em laboratório.

**Palavras-chave:** entomopatógenos, controle biológico, controle microbiano, seletividade.

## COMPATIBILITY OF INSECTICIDES AND *Bacillus thuringiensis*-BASED BIOINSECTICIDES FOR THE CONTROL OF *Tuta absoluta*.

**ABSTRACT** - The action of chemicals on microorganisms varies depending on the species and strain of microorganism, and on the dosage and formulation of chemical products. The objective of this study was to verify the compatibility between the different active ingredients of chemicals and the biological commercial *Bacillus thuringiensis*-based product to control *Tuta absoluta* in tomato crop. The chemical formulations used included Azamax<sup>®</sup> (Azadirachtin), Belt<sup>®</sup> (Flubendiamide), Talstar<sup>®</sup> (Bifenthrin), Tracer<sup>®</sup> (Spinosad), and Turbo<sup>®</sup> (Beta-cyfluthrin) and the bioinsecticides Dipel<sup>®</sup> (*B. thuringiensis kurstaki*), Xentari<sup>®</sup> (*B. thuringiensis aizawai*), and Agree<sup>®</sup> (*B. thuringiensis kurstaki* + var. *Aizawai*). A 5.0- $\mu$ L aliquot of each suspension of the bioinsecticide was inoculated into the central region of a Petri<sup>®</sup> dish with nutrient agar culture medium (NA) + chemicals, with ten replicates per treatment. The parameters for evaluating compatibility include the area of colony growth (cm<sup>2</sup>) and the count of spores. No chemical formulation prevented the growth of *B. thuringiensis* (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>), regardless of the dosage used (minimum, average (recommended), or maximum). The formulations Tracer<sup>®</sup> and Azamax<sup>®</sup> enhanced the size of the colonies compared to that in the control. The chemicals tested in the laboratory reacted with the *B. thuringiensis*-based biological products.

**Keywords:** biological control, microbial control, entomopathogens, selectivity.

## 1. INTRODUÇÃO

O tomateiro, uma das principais hortaliças cultivadas no Brasil, tem significativa importância socioeconômica, envolvendo grandes áreas e a utilização de considerável mão-de-obra. Dentre os problemas fitossanitários da cultura, a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1797) (Lepidoptera: Gelechiidae), é uma das pragas mais severas não só pelos danos ao produto *in natura*, mas também pela dificuldade em efetuar seu controle (SILVA; CARVALHO, 2004).

O controle químico é considerado principal tática de manejo de lepidópteros-praga do tomateiro nas diversas regiões produtoras (MIRANDA et al., 2005). Na intenção de diminuir a dependência do uso de produtos químicos, a integração entre os diferentes métodos de controle de *T. absoluta* é um importante avanço para o manejo populacional desta praga (DE OLIVEIRA et al., 2008). Dentre os métodos, o controle biológico com micro-organismos entomopatogênicos, a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner), tem mostrado resultados significativos no controle de lepidópteros (POLANCZYK; SILVA; FIUZA, 2000; BRAVO et al., 2011; VAN FRANKENHUYZEN, 2013). *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* causa mortalidade em todos os estádios larvais de *T. absoluta*, com maior eficiência no primeiro ínstar (GONZÁLEZ-CABRERA; MOLLÁ; URBANEJA, 2011).

Grande parte das reações que ocorrem devido a mistura de produtos utilizados no controle de pragas é desconhecida devido à carência de informações a respeito da compatibilidade entre entomopatógenos e produtos químicos (MORRIS, 1977; KNAAK, 2009). Essa interação entre produtos químicos e entomopatógenos, ou seja, seletividade associada ao controle de pragas, deve receber atenção especial em culturas como o tomate onde produtos químicos e biológicos são utilizados em grande escala (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001).

A interação micro-organismos e produtos químicos pode resultar em efeito deletério ou sinérgico (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998). Os efeitos deletérios são: inibição do crescimento vegetativo, da reprodução, da germinação, diminuição da virulência e mutação do patógeno. A intensidade destes fatores pode variar em função da espécie e da linhagem dos patógenos e da natureza química, concentração e tipos de inertes da formulação dos produtos químicos. Os efeitos

sinérgicos ocorrem quando a suscetibilidade de um artrópode-praga está comprometida por algum nível de estresse tanto abiótico ou biótico e a atuação combinada de agrotóxico e biológico promovem um aumento da suscetibilidade desse hospedeiro (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

Na busca de produtos seletivos para o uso a traça-do-tomateiro, o objetivo foi analisar a compatibilidade entre os princípios ativos dos inseticidas químicos Azadiractina, Flubendiamida, Bifentrina, Espinosade e Beta-ciflutrina com formulados comerciais biológicos a base de *B. thuringiensis*, visando a posterior utilização em campo.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Praga (LCMAP) do Departamento de Fitossanidade, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Campus de Jaboticabal – SP.

### **2.1. Produtos químicos e biológicos**

Os inseticidas utilizados nos experimentos constam nas Tabelas 1 e 2. Cada inseticida químico foi utilizado na concentração mínima, média e máxima recomendadas e os bioinseticidas foram utilizados na concentração média recomendada, de acordo com descrição obtida na bula do produto. Todos os produtos utilizados são registrados para *T. absoluta* na cultura do tomate. Cada ingrediente ativo dos inseticidas químicos foi considerado um tratamento e foi avaliada a compatibilidade de cada um deles com os bioinseticidas a base de *B. thuringiensis*.

## 2.2. Testes de compatibilidade

O meio de cultura ágar nutriente (NA) foi preparado através da dissolução de 23,0 gramas do produto formulado Nutrient Agar<sup>®</sup> (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia) em 1 litro de água destilada, sendo posteriormente autoclavado a 1 atm. por 40 minutos. Após atingir temperatura de 45°C, ponto em que o meio ainda não se encontra solidificado, cada inseticida químico com concentração conhecida foi adicionado e homogeneizado ao meio de cultura com o auxílio de um agitador magnético, aferindo o pH da solução com fitas, e então vertido em placas de Petri com 9,0 cm de diâmetro, totalizando 10 repetições para cada análise de compatibilidade. Cada produto químico foi considerado um tratamento. Para a testemunha foi utilizado somente Nutrient Agar<sup>®</sup> sem a adição de produto químico no meio de cultura para o crescimento do produto biológico.

Tabela 1 - Inseticidas biológicos utilizados no controle de *Tuta absoluta* na cultura do tomateiro.

Nome Comercial	Formulação	Princípio ativo	Grupo químico	Concentração Média Recomendada
Dipel <sup>®</sup>	SC	<i>B. thuringiensis kusrtaki</i>	Biológico	125mL/100L
Xentari <sup>®</sup>	WG	<i>B. thuringiensis aizawai</i>	Biológico	75g/100L
Agree <sup>®</sup>	WP	<i>B. thuringiensis kurstaki</i> + <i>B. thuringiensis aizawai</i>	Biológico	0,275Kg/100L

SC = Suspensão Concentrada; WG = Granulado Dispersível; WP = Pó Molhável.

Tabela 2 – Inseticidas químicos utilizados no controle de Tuta absoluta na cultura do tomate.

Nome Comercial	Princípio ativo	Grupo Químico	Concentrações		
			Mínima	Media	Máxima
Azamax <sup>®</sup>	azadiractina	Tetranortri-pernoide	200 mL/100L	225mL/100L	250mL/100L
Belt <sup>®</sup>	flubendiamida	Diamida de ácido flático	100mL/200L	112,5mL/250L	125 ml/300L
Talstar <sup>®</sup> 100EC	bifentrina	Piretroide	-	-	50ml/100L
Tracer <sup>®</sup>	espinosade	Espinosinas	25mL/100L	135ml/700L	170mL/1000L
Turbo <sup>®</sup>	beta-ciflutrina	Piretroide	-	-	25mL/100L

Azamax<sup>®</sup> EC = Concentrado Emulsionável, Belt<sup>®</sup> SC = Suspensão Concentrada; Talstar<sup>®</sup> EC = Concentrado Emulsionável; Tracer<sup>®</sup> SC = Suspensão Concentrada e Turbo<sup>®</sup> EC = Concentrado Emulsionável.

Após solidificação do meio, foram inoculadas suspensões de células do pré-cultivo na concentração recomendada de cada formulado biológico para o respectivo substrato (meio de cultura + inseticida químico), perfazendo uma alíquota de 5,0 µL de cada suspensão de *B. thuringiensis* (produto biológico) na região central da placa de Petri.

As placas inoculadas foram acondicionadas em câmaras de germinação (B.O.D.) por um período de sete dias, ajustada a temperatura favorável ao desenvolvimento de *B. thuringiensis* (30 ± 2°C), umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 h de luz/12 h de escuro. A cada 24 horas, foram mensuradas em folha sulfite a área de crescimento da colônia (cm<sup>2</sup>) para cada tratamento. O sulfite foi recortado do tamanho da colônia, ilustrando uma figura e esta figura foi mensurada com auxílio de um aparelho medidor de área foliar (CID Bio-Science, Camas, Washington, United State of America, modelo CI-202). A mesma colônia foi avaliada a cada 24 h até o sétimo dia sendo considerada uma repetição.

Após estas avaliações, foi realizada a contagem de esporos para cada tratamento, realizada com auxílio de uma câmara de Neubauer em microscópio ótico, raspando a colônia do meio de cultura com o auxílio da alça de platina e acondicionando-as em tubos Falcon com 10 mL de água estéril mais espalhante

adesivo (Tween 0,01%), sendo esta suspensão homogeneizada com auxílio de um agitador (Phoenix<sup>®</sup> ModeloAP56) por um período de 1 minuto.

### 2.3. Análise dos dados

A influência dos inseticidas químicos (Tabela 2) e do controle (Bt-bioinseticida, Tabela 1) sobre o tamanho da colônia de *B. thuringiensis* (variável tamanho da colônia) sobre as avaliações de cada colônia (repetições) foram analisados utilizando o procedimento de medidas repetidas para a análise de variância (PROC MIXED). Esta análise foi realizada considerando as avaliações ao longo do tempo como o fator bloco, desde que as avaliações foram realizadas na mesma unidade amostral (colônia), enquanto os produtos a base de Bt e o controle foram considerados como tratamentos. Os resultados de cada bioinseticida foram analisados separadamente (variáveis fixas independentes: tratamentos e tempo; variável aleatória: repetições dentro de tratamentos). Como houve interação significativa entre os principais efeitos, tratamentos e tempo de avaliação (dias), uma análise de variância adicional foi realizada para cada tratamento. Os dados foram transformados usando raiz quadrada ( $x + 0,5$ ) para atender as suposições de normalidade e homogeneidade da variância. Quando foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software SAS 9.1 (SAS INSTITUTE, 2002).

Além disso, os dados foram padronizados pela classificação de compatibilidade desenvolvida por Alves, Moino Júnior e Almeida (1998) (Tabela 3), que se baseia nos valores médios da porcentagem de esporulação e crescimento das colônias de *B. thuringiensis*, com auxílio da seguinte fórmula ( $T = 20 * [CV] + 80 * [ESP] / 100$ ), em que T = valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para classificação do produto; CV = porcentagem de crescimento vegetativo com relação à testemunha; ESP = porcentagem de esporulação com relação à testemunha. Metodologia adaptada de Alves, Moino Júnior e Almeida (1998).

Tabela 3 - Valores de T para a classificação do efeito de produtos químicos sobre fungos.

Valor de T	Classificação do produto
0 a 30	Muito tóxico
31 a 45	Tóxico
46 a 60	Moderadamente tóxico
> 60	Compatível

### 3. RESULTADOS

O crescimento da colônia foi observado em todos os meios de cultura contendo os produtos químicos, ou seja, nenhum dos produtos químicos adicionados ao meio de cultura prejudicou o crescimento das colônias de *B. thuringiensis* (Dipel<sup>®</sup>, Agree<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>), independente da dose utilizada (mínima, média ou máxima). De acordo com a classificação dos produtos químicos quanto à toxicidade (Tabela 4), todos os produtos químicos foram compatíveis para a utilização conjunta com o produto biológico Dipel<sup>®</sup>. No entanto, Talstar<sup>®</sup> (dose única), Tracer<sup>®</sup> (dose mínima, média e máxima) e Turbo<sup>®</sup> (dose única) foram moderadamente tóxicos ao Agree<sup>®</sup>, enquanto Azamax<sup>®</sup> (dose mínima, média e máxima) e Belt<sup>®</sup> (dose mínima, média e máxima) foram compatíveis ao Agree<sup>®</sup>. Para o produto biológico Xentari<sup>®</sup>, somente os produtos químicos Talstar<sup>®</sup> (dose única) e Turbo<sup>®</sup> (dose única) mostraram ser moderadamente tóxicos, sendo os demais compatíveis (Tabela 4).



Tabela 4 - Valores de T para a classificação do efeito dos produtos químicos quanto à toxicidade.

Biológico x Químicos	Valores de T	Classificação do produto
<b>Dipel</b>		
Azamax (dose mínima)	87,72	Compatível
Azamax (dose média)	137,26	Compatível
Azamax (dose máxima)	67,98	Compatível
Belt (dose mínima)	67,90	Compatível
Belt (dose média)	85,72	Compatível
Belt (dose máxima)	66,95	Compatível
Talstar (dose única)	203,92	Compatível
Tracer (dose mínima)	98,87	Compatível
Tracer (dose média)	68,14	Compatível
Tracer (dose máxima)	170,86	Compatível
Turbo (dose única)	78,00	Compatível
<b>Agree</b>		
Azamax (dose mínima)	73,46	Compatível
Azamax (dose média)	172,90	Compatível
Azamax (dose máxima)	198,00	Compatível
Belt (dose mínima)	112,05	Compatível
Belt (dose média)	79,09	Compatível
Belt (dose máxima)	95,16	Compatível
Talstar (dose única)	51,07	Moderadamente tóxico
Tracer (dose mínima)	47,00	Moderadamente tóxico
Tracer (dose média)	49,50	Moderadamente tóxico
Tracer (dose máxima)	52,31	Moderadamente tóxico
Turbo (dose única)	55,47	Moderadamente tóxico
<b>Xentari</b>		
Azamax (dose mínima)	61,48	Compatível
Azamax (dose média)	117,87	Compatível
Azamax (dose máxima)	93,63	Compatível
Belt (dose mínima)	91,40	Compatível
Belt (dose média)	203,66	Compatível
Belt (dose máxima)	140,31	Compatível
Talstar (dose única)	45,79	Moderadamente tóxico
Tracer (dose mínima)	126,78	Compatível
Tracer (dose média)	90,63	Compatível
Tracer (dose máxima)	76,61	Compatível
Turbo (dose única)	49,52	Moderadamente tóxico

Nos testes de compatibilidade dos químicos com o bioinseticida Agree<sup>®</sup>, o produto Belt<sup>®</sup> na dose mínima proporcionou colônias maiores de *B. thuringiensis* ( $F_{3, 36} = 5,46$ ;  $P = 0,0034$ ). Em relação ao crescimento das colônias ao longo do tempo, Tracer<sup>®</sup> proporcionou crescimento mais rápido das colônias, apresentando no quarto dia crescimento semelhante ao último dia de avaliação ( $F_{6, 63} = 2,75$ ;  $P = 0,0195$ ) (Figura 1).

Na dose média dos produtos químicos, tamanhos das colônias de *B. thuringiensis* foram maiores quando foram utilizados os produtos Tracer<sup>®</sup>, Azamax<sup>®</sup> e Belt<sup>®</sup> ( $F_{3, 36} = 5,35$ ;  $P = 0,0038$ ) (Figura 1). O produto que mais favoreceu o crescimento das colônias ao longo do tempo foi Azamax<sup>®</sup>, que já no segundo dia proporcionou tamanho de colônias semelhante ao último dia de avaliação ( $F_{6, 63} = 11,23$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 1).

Na dose máxima dos produtos químicos, as maiores colônias foram observadas com Azamax<sup>®</sup> e Talstar<sup>®</sup>, e as menores com o inseticida Turbo<sup>®</sup> ( $F_{5, 54} = 13,34$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 1).

Com relação a compatibilidade dos produtos químicos com o bioinseticida Dipel<sup>®</sup>, após sete dias de crescimento da colônia, foi observado que na dose mínima, o produto Belt<sup>®</sup> prejudicou o crescimento das colônias de *B. thuringiensis* ( $F_{3, 36} = 32,42$ ;  $P < 0,0001$ ). No entanto, Azamax<sup>®</sup>, na dose mínima, favoreceu o crescimento das colônias, sendo que no quarto dia de avaliação as colônias atingiram tamanho máximo ( $F_{6, 63} = 409,78$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 2).

Na dose média, Tracer<sup>®</sup> e Azamax<sup>®</sup> proporcionaram maior crescimento das colônias do que o inseticida Belt<sup>®</sup> ( $F_{3, 36} = 8,19$ ;  $P = 0,0003$ ) (Figura 2). Em relação ao crescimento das colônias ao longo do tempo, Tracer<sup>®</sup> no quarto dia proporcionou resultados semelhantes ao sétimo, favorecendo o crescimento mais rápido das colônias ( $F_{6, 63} = 14,27$ ;  $P < 0,0001$ ).

Na dose máxima, Tracer<sup>®</sup>, Azamax<sup>®</sup> e Talstar<sup>®</sup> proporcionaram tamanho de colônias de *B. thuringiensis* maiores do que Turbo<sup>®</sup> e Belt<sup>®</sup> ( $F_{5, 54} = 7,22$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 2). Quanto ao tamanho das colônias ao longo do tempo, Azamax<sup>®</sup> no segundo dia apresentou resultado semelhante ao sétimo dia de avaliação, favorecendo o crescimento mais rápido das colônias ( $F_{6, 63} = 9,86$ ;  $P < 0,0001$ ).

Nos bioensaios de compatibilidade com o produto biológico Xentari<sup>®</sup>, o produto químico Tracer<sup>®</sup> na dose mínima favoreceu o crescimento das colônias de *B. thuringiensis* ( $F_{3, 36} = 35,75$ ;  $P < 0,0001$ ). Este mesmo inseticida no segundo dia proporcionou crescimento das colônias semelhante ao sétimo dia, sendo inclusive maiores que a testemunha ( $F_{6, 63} = 54,69$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 3).

Nas doses médias dos produtos químicos, Tracer<sup>®</sup> e Azamax<sup>®</sup> foram os que proporcionaram maiores colônias ( $F_{3, 63} = 14,09$ ;  $P < 0,0001$ ). Além disso, o

crescimento das colônias com o produto Tracer<sup>®</sup> foi rápido e já no segundo dia proporcionou colônias de tamanho semelhantes ao sétimo ( $F_{6, 63} = 7,49$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 3).

Na dose máxima, Turbo<sup>®</sup> prejudicou o crescimento da colônia. Entretanto, os produtos Tracer<sup>®</sup>, Azamax<sup>®</sup> e Talstar<sup>®</sup> foram os que proporcionaram maiores colônias ( $F_{5, 54} = 30,77$ ;  $P < 0,0001$ ). Mesmo utilizando dose máxima, o produto Tracer<sup>®</sup>, proporcionou rápido crescimento das colônias, que apresentaram no quarto dia tamanho semelhante ao sétimo dia de avaliação ( $F_{6, 63} = 13,68$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 3).

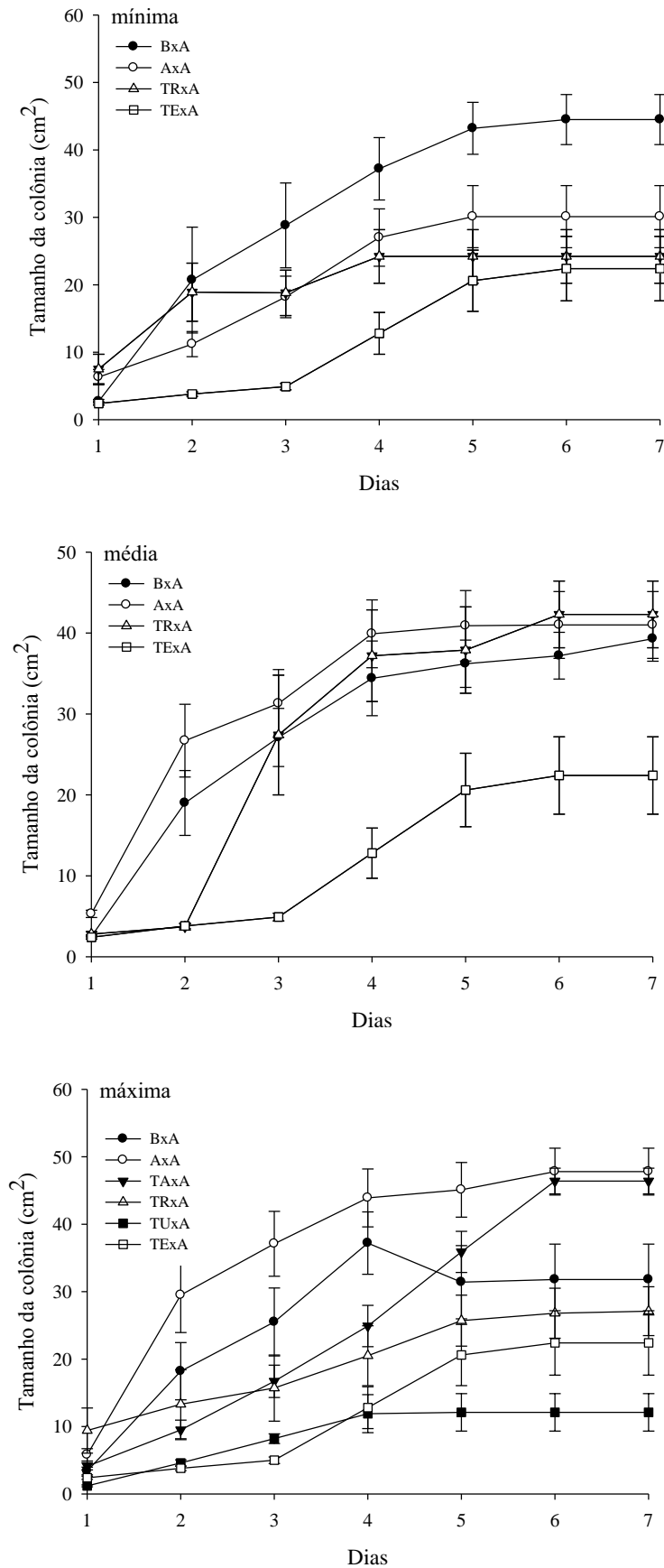


Figura 1. Efeito de inseticidas químicos em diferentes doses no crescimento da colônia de *Bacillus thuringiensis* (Agree®). B x A : Belt® x Agree®; A x A: Azamax® x Agree®; Tr x A: Tracer® x Agree®; TA x A: Talstar® x Agree®; Tu x A: Turbo® x Agree® e TE x A: Testemunha x Agree®.

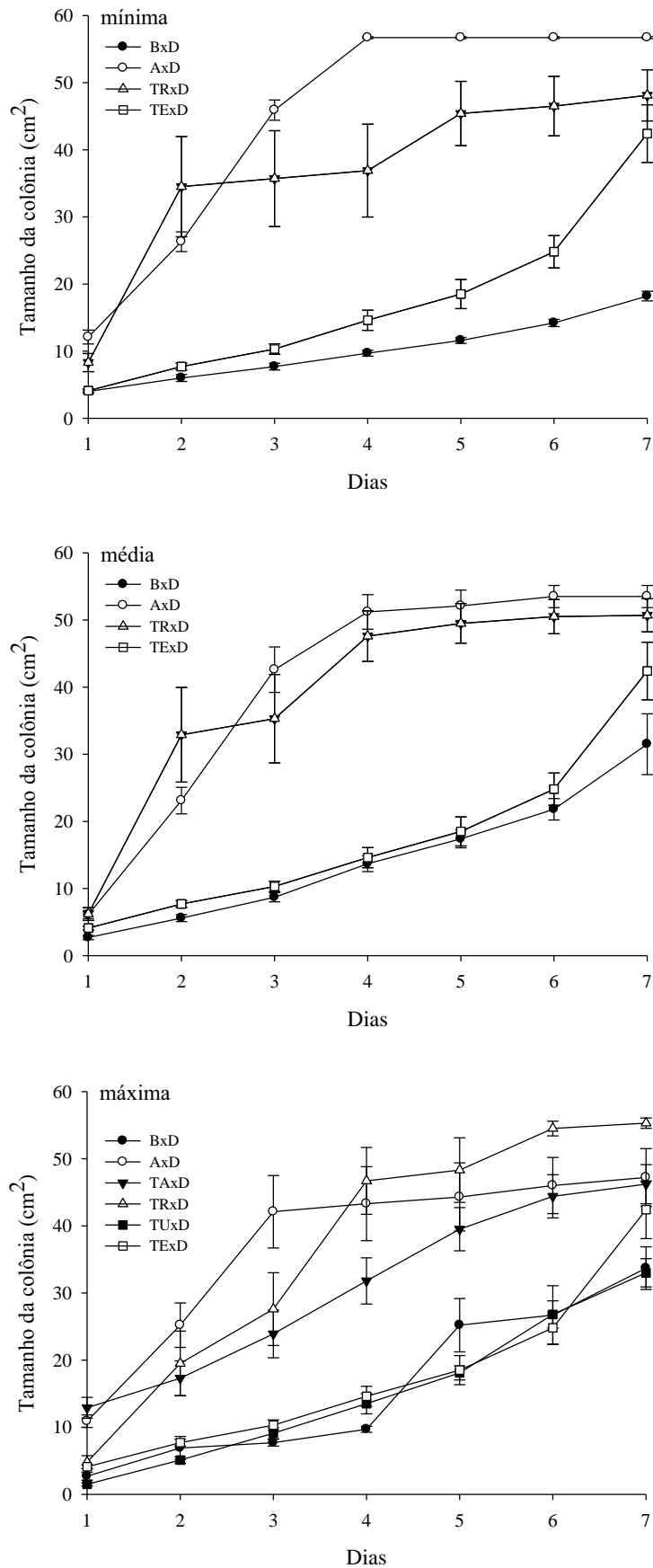


Figura 2. Efeito de inseticidas químicos em diferentes doses no crescimento da colônia de *Bacillus thuringiensis* (Dipel®). B x D : Belt® x Dipel®; A x D: Azamax® x Dipel®; Tr x D: Tracer® x Dipel®; TA x D: Talstar® x Dipel®; Tu x D: Turbo® x Dipel® e TE x D: Testemunha x Dipel®.

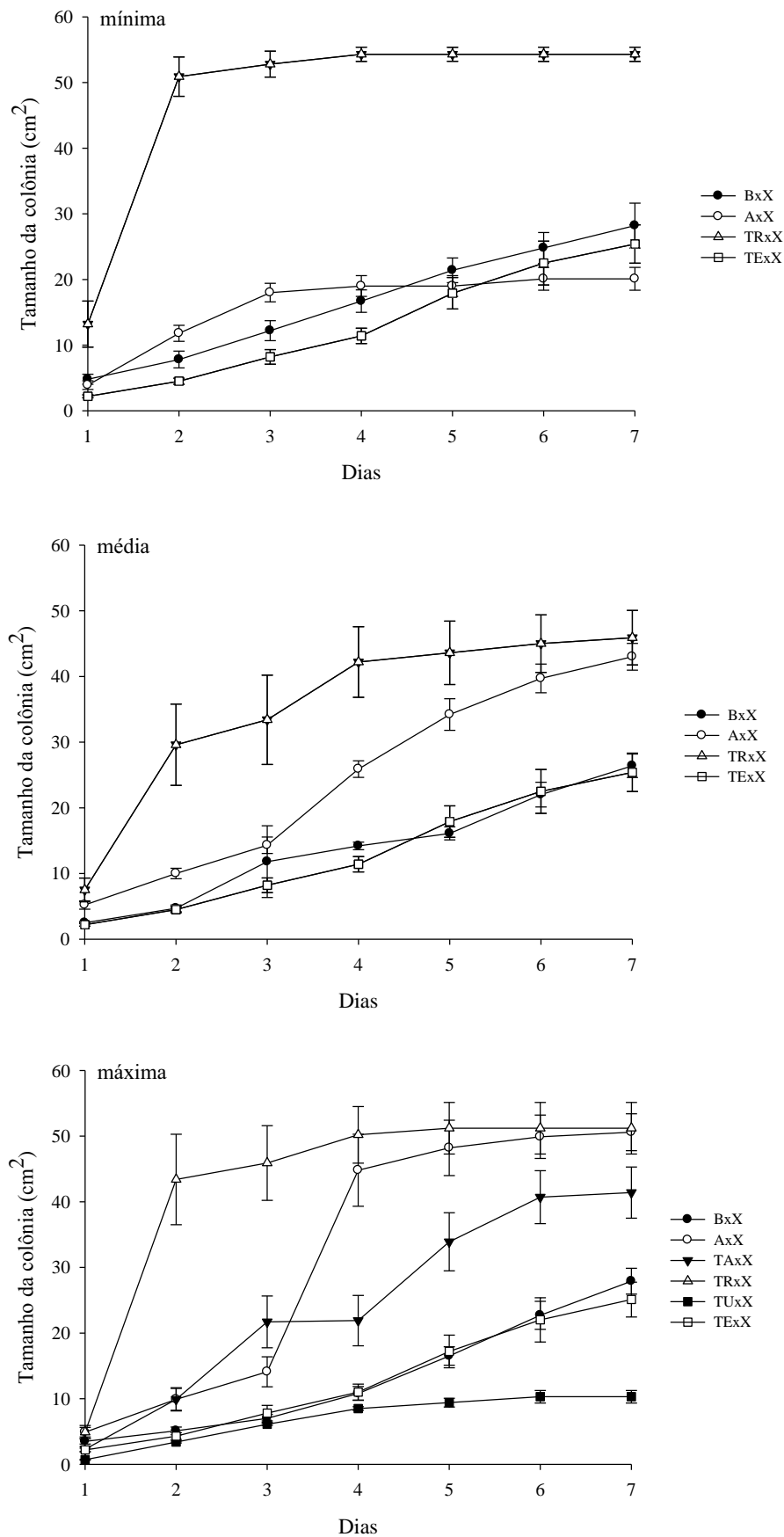


Figura 3. Efeito de inseticidas químicos em diferentes doses no crescimento da colônia de *Bacillus thuringiensis* (Xentari<sup>®</sup>). B x X : Belt<sup>®</sup> x Xentari<sup>®</sup>; A x X: Azamax<sup>®</sup> x Xentari<sup>®</sup>; Tr x X: Tracer<sup>®</sup> x Xentari<sup>®</sup>; TA x X: Talstar<sup>®</sup> x Xentari<sup>®</sup>; Tu x X: Turbo<sup>®</sup> x Xentari<sup>®</sup> e TE x X: Testemunha x Xentari<sup>®</sup>.

#### 4. DISCUSSÃO

A interação entre os inseticidas químicos Azamax<sup>®</sup> (Azadiractina), Tracer<sup>®</sup> (Espinósade) e Belt<sup>®</sup> (Flubendiamida) nos bioensaios de compatibilidade com os produtos biológicos Dipel<sup>®</sup>, Agree<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> pode ter proporcionado o desenvolvimento da colônia. Isso sugere que os componentes utilizados na formulação dos produtos químicos, como por exemplo os adjuvantes, podem ter enriquecido o meio de cultura resultando no maior crescimento da colônia em relação à testemunha, onde foi utilizado somente Nutriente Agar.

Alguns produtos químicos mostraram comportamentos diferentes em relação às doses utilizadas, indicando que as doses maiores de produtos químicos, como por exemplo dose média (recomendada) e dose máxima, favoreceram o crescimento da colônia de *B. thuringiensis*. Segundo Ramaraje, Govindu e Shastry (1967) diferentes doses dos inseticidas podem influenciar no crescimento e esporulação do entomopatógeno nos testes de compatibilidade.

Pinto et al. (2012) realizou teste de compatibilidade com quatro agrotóxicos (Thiametoxan, lambda-cialotrina, malation e fipronil) e observou que quando esses produtos foram testados utilizando a dose recomendada não causaram qualquer inibição no crescimento das colônias de *B. thuringiensis*. Por outro lado, quando utilizaram doses dez vezes maiores que a recomendada, alguns inseticidas como Thiametoxan, malation e fipronil apresentaram efeito inibitório no desenvolvimento da bactéria e o inseticida lambda-cialotrina foi o único que não apresentou tal efeito sobre *B. thuringiensis*.

Os inseticidas tiametoxan, carbosulfan, diafentiuron, imidacloprid, acetato e fipronil na concentração máxima, foram compatíveis com *B. thuringiensis* (Dipel<sup>®</sup>) (BATISTA FILHO, ALMEIDA; LAMAS, 2001). Assim como o Actara<sup>®</sup>, que foi compatível com a bactéria *B. thuringiensis* nas doses médias e máximas testadas (BATISTA-FILHO et al., 2003), e thiametoxan e cyproconazol + thiametoxan na dose mínima que não afetaram *B. thuringiensis* (ALMEIDA et al., 2003). Por outro lado, esses pesquisadores revelaram que endosulfan, monocrotofos, destametrina, cyproconazole + tiametoxan, curyome e thiodan inibiram a formação de colônias na dose máxima.

Agostini et al (2014) avaliando a compatibilidade de produtos biológicos à base de *B. thuringiensis* (Dipel®) com inseticidas e acaricidas observaram que o produto químico Spiromesifen na dose média recomendada pelo fabricante, favoreceu o crescimento da colônia de *B. thuringiensis* em relação a dose mínima e ao grupo controle, indicando alta compatibilidade com *B. thuringiensis*.

A dose recomendada dos produtos fitossanitários testados pode ser um fator importante de compatibilidade entre os produtos químicos e biológicos (AGOSTINI et al., 2014). Esta variável pode ser utilizada para promover a compatibilidade (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001; MANACHINI, 2002).

O sinergismo expresso nos resultados pode estar relacionado com a capacidade de algumas espécies de *Bacillus* utilizarem o inseticida degradando os seus ingredientes e utilizando-os para o seu desenvolvimento (DAS et al., 2003). Deste modo, em alguns casos, uma combinação de um produto químico com um produto biológico pode controlar as pragas de modo mais eficiente quando comparado com um método único (HARDMAN; GAUL, 1990). Esta afirmação baseia-se no princípio de que um produto químico convencional pode agir como um agente estressor para um inseto, e, por sua vez, torna-se vulnerável e mais susceptível a doenças infecciosas, tais como a provocada por *B. thuringiensis* (POLANCZYK ; ALVES, 2005).

Os resultados de compatibilidade *in vitro* obtidos neste trabalho indicaram que todos os produtos químicos testados foram compatíveis com os produtos biológicos à base de *B. thuringiensis* em laboratório, sugerindo a necessidade para que testes em semi campo e campo sejam realizados para que esta interação possa ser testada e validada nestas condições, onde existem muitos fatores bióticos e abióticos que podem influenciar na compatibilidade entre produtos biológicos e inseticidas. Assim, estudos futuros devem ser direcionados para determinar a compatibilidade em campo e qual dose do inseticida é a mais recomendada para ser utilizada conjuntamente com os produtos biológicos à base de *B. thuringiensis* para o controle de *T. absoluta* na cultura do tomate.



## 5. CONCLUSÕES

Não houve inibição do crescimento da colônia dos produtos biológicos em nenhum meio de cultura contendo produto químico.

Tracer<sup>®</sup> e Azamax<sup>®</sup> proporcionam maior tamanho da colônia em relação à testemunha.

## 6. REFERÊNCIAS

AGOSTINI, L. T.; DUARTE, R. T.; VOLPE, H. X. L.; AGOSTINI, T. T.; CARVALHO, G. A.; ABRAHÃO, Y. P.; POLANCZYK, R. A. Compatibility among insecticides, acaricides and *Bacillus thuringiensis* used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton fields. **African Journal of Agricultural**, Pretoria, v. 9, n. 11, p. 941-949, 2014.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA-FILHO, A.; LAMAS, C.; LEITE, L. G.; TRAMA, M.; SANO, A. H. Assessing the compatibility of pesticides in the conservation of pathogenic bacteria in pest management of coffee. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, p. 79-84, 2003.

ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.

BATISTA-FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 437-447, 2001.

BATISTA FILHO, A.; RAMIRO, Z. A.; ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; CINTRA, E. R. R.; LAMAS, C. Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 61-67, 2003.

BRAVO, A.; LIKITVIVATONANONG, S.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Kidlington, v. 41, n. 7, p. 423-431, 2011.

DAS, A. C.; CHAKRAVARTY, A.; SUKUL, P.; MUKHERJEE, D. Influence and persistence of phorate and carbofuran insecticides on microorganisms in rice field. **Chemosphere**, Kidlington, v. 53, n. 8, p. 1033-1037, 2003.

DE OLIVEIRA, A. C. R.; VELOSO, V. R. S.; BARROS, R. G.; FERNANDES, P. M.; DE SOUZA, E. R. B. Captura de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) com armadilha luminosa na cultura do tomateiro tutorado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiania, v. 38, n. 3, p. 153-157, 2008.

GONZÁLEZ-CABRERA, J.; MOLLÁ, H. M.; URBANEJA, A. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **BioControl**, Dordrecht, v. 56, n. 1, p. 71-80, 2011.

HARDMAN, J. M.; GAUL, S. O. Mixtures of *Bacillus thuringiensis* and pyrethroids control winter moth (Lepidoptera: Geometridae) in orchards without causing outbreaks of mites. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, n. 3, p. 920-936, 1990.

KNAAC, N.; AZAMBUJA, A. O.; LUCHO, A. P. R.; BERLITZ, D. L.; FIUZA, L. M. Interações de *Bacillus thuringiensis* e o controle de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 11, n. 38, p. 1-6, 2009.

MANACHINI, B. Compatibility of chemical and biological pesticides. In: PIMENTEL, D. (Ed.). **Encyclopedia of pest management**. Boca Raton: CRC Press, 2002. p. 134-137. Disponível em: <<http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/NOE0824706326.ch54> >. Acesso em: 02 fev. 2014.

MIRANDA, M. M. M.; PICANÇO, M. C.; ZANUNCIO, J. C.; BACCI, L.; SILVA, E. M. da. Impact of integrated pest management on the population of leafminers, fruit borers, and natural enemies in tomato. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 1, p. 204-208, 2005.

MORRIS, O. N. Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **The Canadian Entomologist**, Quebec, v. 109, n. 6, p. 855-864, 1977.

PINTO, L. M. N.; DÖRR, N. C.; RIBEIRO, A. P. A.; SALLES, S. M.; OLIVEIRA, J. V. DE; MENEZES, V. G.; FIUZA, L. M. *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. **Brazilian Journal of Microbiology**, Ilha do Fundão, v. 43, n. 2, p. 618-626, 2012.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Pragas**, Turrialba, n. 74, p. 24-33, 2005. Disponível em: <<http://www.sidalc.net/repdoc/A2150P/A2150P.PDF>>. Acesso em: 02 fev. 2014.

POLANCZYK, R. A.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, Ilha do Fundão, v. 31, n. 3, p. 165-167, 2000.

RAMARAJE, N. V. U.; GOVINDU, H. C.; SHASTRY, K. S. S. The effect of certain insecticides on the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Journal of the Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 9, p. 398-403, 1967.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M. R. Interação de micro-organismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 279–302.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user`s guide. Version 9.00 TS level 2MO. Cary, 2002.

SILVA, A. C.; CARVALHO, G. A. Manejo Integrado de Pragas. In: ALVARENGA, M. A. R. (Ed.). **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Editora UFLA, 2004. p. 309-366.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Cross-order and cross phylum activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 114, n. 1, p. 76-85, 2013.

### **CAPÍTULO 3 – SUSCETIBILIDADE DE *Tuta absoluta* A PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS A BASE DE *Bacillus thuringiensis*.**

#### **SUSCETIBILIDADE DE *Tuta absoluta* A PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS A BASE DE *Bacillus thuringiensis***

**RESUMO** – O objetivo foi avaliar a suscetibilidade de lagartas de primeiro ínstar de *Tuta absoluta* aos produtos biológicos Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>, que cresceram em meio contendo os produtos químicos Azamax<sup>®</sup>, Belt<sup>®</sup>, Talstar<sup>®</sup>, Tracer<sup>®</sup> e Turbo<sup>®</sup> bem como avaliar cada um dos produtos aplicados de forma isolada. A eficiência de cada variedade de *B. thuringiensis* foi avaliada separadamente, em lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Para cada tratamento foram utilizados 5 folíolos de aproximadamente 8 cm de comprimento mergulhados nas suspensões onde ficaram imersos por 10 segundos. Foram colocadas sobre cada folíolo 20 lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Para a testemunha foi utilizado água destilada autoclavada e 0,05% de Tween 20<sup>®</sup>. A mortalidade das lagartas foi registrada após cinco e sete dias. No quinto dia de avaliação, os produtos Dipel<sup>®</sup> x Azamax<sup>®</sup> (dose média) apresentaram 85% de mortalidade em lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*, Dipel<sup>®</sup> x Azamax<sup>®</sup> (dose máxima) 100% de mortalidade, Dipel<sup>®</sup> x Belt<sup>®</sup> (dose mínima) 88% e Agree<sup>®</sup> x Talstar<sup>®</sup> 100% de mortalidade. Na avaliação de mortalidade dos produtos no sétimo dia de avaliação o produto Turbo<sup>®</sup> proporcionou menor porcentagem de mortalidade em relação aos demais produtos. Assim, as variedades de *B. thuringiensis* que cresceram sob a influência do produto químico no meio de cultura, nos testes de compatibilidade, causaram alta mortalidade em lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Além disso, os produtos biológicos (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) e os produtos químicos Azamax<sup>®</sup>, Belt<sup>®</sup>, Talstar<sup>®</sup> 100 EC e Tracer também provocaram alta mortalidade em lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*.

**Palavras-chave:** controle microbiano, controle químico, cultura do tomate, traça-do-tomateiro.

## SUSCEPTIBILITY OF *Tuta absoluta* A CHEMICAL AND BIOLOGICAL MIXTURE AND APPLIED ISOLATED.

**ABSTRACT** - The aim of this research was to evaluate the susceptibility of first instar caterpillars of *Tuta absoluta* to Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> grown in medium containing chemical insecticides Azamax<sup>®</sup>, Belt<sup>®</sup>, Talstar<sup>®</sup>, Tracer<sup>®</sup> and Turbo<sup>®</sup>, as well to evaluate each product isolated. The efficiency of each biological insecticide was evaluated separately using first instar caterpillars of *T. absoluta*. For each treatment, we used 5 leaflets about 8 cm immersed for 10 seconds in the suspensions used for each treatment. On each leaflet, we placed 20 first instar larvae of *T. absoluta*. For the control, autoclaved distilled water and 0.05% Tween<sup>®</sup> 20 were used to immerse the leaflets. The mortality of caterpillars were assessed after five and seven days. At the fifth day, Dipel<sup>®</sup> x Azamax<sup>®</sup> (half dose) showed 85% of mortality on first instar caterpillars, Dipel<sup>®</sup> x Azamax (maximum dose), 100% of mortality, Dipel<sup>®</sup> x Belt<sup>®</sup> (minimum dose) 88% and and Agree<sup>®</sup> x Talstar<sup>®</sup> 100 EC 100% of mortality. For chemical insecticides, at the seventh day Turbo<sup>®</sup> showed a lower mortality rate compared to other tested insecticides. Thus, the microorganisms grown under the influence of the chemical during the tests of compatibility caused high mortality to first instar larvae of *T. absoluta*. The biological insecticides (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) and chemical insecticides Azamax<sup>®</sup>, Belt<sup>®</sup>, Talstar<sup>®</sup> 100 EC and Tracer high mortality to first instar larvae of *T. absoluta*.

**Keywords:** microbial control, chemical control, tomato crop, tomato leafminer.

## 1. INTRODUÇÃO

*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), conhecida como traça-do-tomateiro, é problema grave no Brasil na cultura do tomate desde a sua introdução em 1979 (GUEDES et al., 1994; MICHEREFF FILHO; GUIMARÃES; MOURA, 2013). É considerada praga-chave da cultura e suas larvas possuem hábito minador e, dependendo da infestação, podem destruir as folhas da planta. No entanto é no fruto que a lagarta provoca maior impacto econômico. Seus surtos mais severos e de maior ocorrência são encontrados particularmente em cultivos de tomate estaqueado (MICHEREFF FILHO; GUIMARÃES; MOURA, 2013).

O manejo desta praga é realizado quase que exclusivamente com agrotóxicos e em algumas regiões chegam a ser feitas duas a três pulverizações por semana. Os inseticidas mais comumente empregados são os pertencentes ao grupo químico dos Tiocarbamatos, Reguladores de crescimento, Benzoiluréia, Avermectina, Espinosinas, Diacilhidrazina, Piretróides e Organofosforados. Frequentemente, as aplicações desses inseticidas são feitas sem que seja realizado um monitoramento para definir o momento exato em que as pulverizações devem ser realizadas nas lavouras (DEBONI; CASTELO BRANCO, 2007; VILLAS BÔAS; CASTELO BRANCO; MEDEIROS, 2009).

Devido à pressão por parte da sociedade para reduzir a contaminação do meio ambiente e os resíduos de agrotóxicos nos alimentos, a utilização de agentes de controle biológico tornou-se uma opção em programas de controle de insetos, como a utilização de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Berliner, 1915) (KNAAK; FIUZA, 2006). Esses produtos biológicos demonstraram resultados satisfatórios no controle de lepidópteros por apresentarem alta especificidade e rápida degradação no meio (POLANCZYK, 2003).

O mercado de bioinseticidas a base de Bt tomou grande impulso quando se verificou que novas linhagens apresentavam um amplo e variado espectro de ação, controlando insetos das ordens Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, além de ácaros e nematoides (MELO; AZEVEDO, 1998). Existem mais de 100 formulações no mercado mundial, tornando-se o bioinseticida com maior sucesso comercial no mundo. Esses produtos contêm esporos na sua composição que em contato com pH

alcalino do intestino dos insetos liberam substâncias tóxicas que vão atuar nas células epiteliais causando a ruptura osmótica e morte por septicemia. No Brasil a utilização desses bioinseticidas gerou volume comercializado de cerca de 275 toneladas, movimentado cerca de US\$ 12.750.000 por ano (CPL BUSINESS CONSULTANTS, 2010).

Estudos de compatibilidade de bactérias entomopatogênicas a inseticidas químicos têm sido realizados em condições de laboratório para avaliar a seletividade destes produtos (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998). Segundo Alves; Moino Júnior; Almeida (1998), os testes de patogenicidade com micro-organismos que cresceram em meio contendo inseticidas químicos é muito importante para a avaliação da compatibilidade, sendo que desta forma podem ser detectados efeitos negativos ou positivos dos inseticidas químicos sobre os agentes entomopatogênicos. Neste sentido, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a suscetibilidade de lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta* aos produtos biológicos (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) que cresceram em meio contendo os produtos químicos (Azamax<sup>®</sup>, Belt<sup>®</sup>, Talstar<sup>®</sup>, Tracer<sup>®</sup> e Turbo<sup>®</sup>), bem como avaliar cada um dos produtos aplicados de forma isolada.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Fitossanidade, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), Campus de Jaboticabal – SP.



## 2.1. Criação de *Tuta absoluta* em laboratório

A criação foi iniciada com lagartas de 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> ínstaes, oriundas de lavoura de tomate infestada por *T. absoluta*, localizada no município de Indianópolis-MG. As lagartas foram coletadas e levadas ao laboratório para o início de uma criação do inseto. No laboratório as lagartas foram transferidas em plantas de tomate var. Santa Clara que serviram como substrato de alimentação (Figura 1 A). As plantas utilizadas tinham aproximadamente 15 cm de altura e estavam em copos plásticos. Em seguida, estas foram acondicionadas em gaiolas de vidro de 50 cm de comprimento x 50 de largura x 80 cm de altura onde as lagartas foram mantidas até a fase adulta. Em uma das extremidades menores da gaiola foi colado tecido voil que serviu para fechar a gaiola, evitar a fuga dos insetos e permitir a substituição das plantas. Em cada gaiola foram acondicionadas seis plantas. Sempre que necessário foram oferecidas plantas novas para alimentação das lagartas (Figura 1 B). Após a formação das pupas e emergência dos adultos, estes foram transferido e acondicionado em outra gaiola de vidro com as mesmas dimensões com o auxílio de um sugador manual, que continha uma nova planta de tomate. Na gaiola ocorreu a cópula e os adultos realizavam as posturas nas folhas. A cada dois dias as plantas contendo ovos foram trocadas (Figura 1 C e D). As plantas com posturas foram inseridas em outra gaiola e assim iniciava-se novamente o ciclo da praga. Para a alimentação dos adultos, solução de mel a 10% foi embebida em algodão e colocada em uma tampa de garrafa plástica de 1,5 cm de diâmetro inserida na gaiola (Figura 1 D). Esta metodologia de criação foi adaptada de Bogorni e Carvalho (2006).

Na primeira geração de *T. absoluta* em laboratório foi realizada a identificação da espécie utilizando as genitálias de machos e fêmeas seguindo a metodologia proposta por Angulo e Olivares (2011).



**Figura 1.** Metodologia de criação de *Tuta absoluta*: A – plantas de *Solanum lycopersicum* var. Santa Clara; B – Gaiola de vidro de 50 x 50 x 80 cm com plantas de tomate infestadas com lagartas de *T. absoluta*, C – sugador manual; D – Gaiola de adulto para oviposição. Fotos: Ana Carolina Pires Veiga.

## 2.2 Produtos químicos e biológicos

Para a preparação das caldas dos inseticidas químicos e dos produtos biológicos foram utilizadas as doses recomendadas pelos fabricantes disponíveis nas bulas de cada produto. As doses utilizadas dos inseticidas químicos foram: azadiractina (Azamax<sup>®</sup> - DVA Agro do Brasil; dose mínima: 200ml/100L, dose média: 225ml/100L e dose máxima: 250ml/100L), flubendiamida (Belt<sup>®</sup> - BAYER S.A.; dose mínima: 100ml/200L, dose média: 112,5ml/250L e dose máxima: 125ml/300L), bifentrina (Talstar<sup>®</sup> 100 EC - FMC QUÍMICA DO BRASIL LTDA.; dose única (máxima): 50ml/100L), espinosade (Tracer<sup>®</sup> - DOW AGROSCIENCES

INDUSTRIAL LTDA.; dose mínima: 2ml/100L, dose média: 135ml/700L e dose máxima: 170ml/1000L) e beta-ciflutrina (Turbo<sup>®</sup> - BAYER S.A.; dose única (máxima): 25ml/100L) e para as caldas dos produtos biológicos foram utilizadas a dose média de *B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91 (Agree<sup>®</sup> - Bio Controle - Métodos De Controle de Pragas Ltda) (0,275Kg/100L), *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup> - Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda;) (125ml/100L ) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari<sup>®</sup> - Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda;) (75g/100L).

### **2.3. Preparação das caldas dos produtos químicos e das suspensões dos produtos biológicos.**

As suspensões dos produtos biológicos foram obtidas através das raspagens das colônias de Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> que se multiplicaram em nutriente ágar + inseticidas químico do primeiro experimento localizado no capítulo 2. Cada inseticida químico acrescentado no meio de cultura foi considerado um tratamento. Após a raspagem com o auxílio de uma alça de platina, o conteúdo bacteriano foi transferido para tubo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada e 0,05% de Tween 20<sup>®</sup> (espalhante adesivo). A suspensão foi homogeneizada e a mistura com esporos, cristais e células vegetativas foi submetida a três centrifugações consecutivas (3.600 rpm por 20 minutos). Posteriormente o sobrenadante foi descartado visando eliminar os restos de células. Após a última centrifugação foi obtida uma nova suspensão e, a partir dela, foram feitas duas diluições seriadas para a contagem de esporos em câmara de NeuBauer (ALVES; MORAES, 1998) e padronização da suspensão utilizada na concentração de  $3 \times 10^8$  esporos/mL.

Para comprovar a eficiência dos produtos biológicos que cresceram em meio sob a influência dos produtos químicos, os produtos Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> foram testados separadamente, bem como cada produto químico foi avaliado separadamente para verificar a sua toxicidade.

#### **2.4. Testes de suscetibilidade de lagartas de primeiro ínstar de *Tuta absoluta*.**

Para condução dos bioensaios, plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. Santa Clara) foram cultivadas em copos plásticos de 500 mL em casa de vegetação na área experimental da FCAV-UNESP, Câmpus Jaboticabal. Em cada tratamento foram utilizados 5 folíolos de aproximadamente 8 cm, mergulhados nas suspensões onde ficaram imersos por 10 segundos. Após a secagem em condição ambiente, os folíolos foram colocados individualmente em placas de Petri<sup>®</sup> (9,5 cm de diâmetro x 2,0 cm de altura) sobre papel filtro umedecido com água deionizada. Sobre cada folíolo foram colocadas 20 lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Nessa pesquisa foram utilizadas duas testemunhas: testemunha 1 (água destilada autoclavada e 0,05% de Tween 20<sup>®</sup>), e testemunha 2 (produtos biológicos Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>).

As placas foram vedadas com filme plástico de poli cloreto de vinila (PVC) e mantidas em sala climatizada com temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. As avaliações de mortalidade foram realizadas após 5 e 7 dias .

#### **2.5. Análise dos dados**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Todos os dados foram submetidos aos testes de normalidade (teste de Kolmogorov) e de homogeneidade da variância (teste de Bartlett) e, sempre que necessário, transformados, para atender os requisitos da análise de variância (ANOVA). Posteriormente, para analisar o efeito dos produtos (produtos biológicos que cresceram em meio contendo inseticidas químicos) na mortalidade de lagartas de *T. absoluta* no quinto e sétimo dia de avaliação, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar as diferenças entre os efeitos principais (produtos biológicos e produtos químicos) e a interação dos fatores (produtos

biológicos x produtos químicos) em esquema fatorial 3 x 13 (BARBIN, 2013). Quando ocorreu diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Além disso, os dados de patogenicidade dos produtos biológicos e toxicidade dos produtos químicos na mortalidade de lagartas de *T. absoluta* no quinto e sétimo dia de avaliação foram submetidos à ANOVA e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS

As três suspensões dos produtos biológicos a base de *B. thuringiensis* (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) que cresceram em Nutriente Agar + inseticidas químicos foram patogênicas a lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. No quinto dia de avaliação a porcentagem de mortalidade de lagartas entre os tratamentos controle (somente os produtos biológicos) não apresentou diferença significativa para os produtos biológicos testados ( $F_{2,12} = 1,50$ ;  $P = 0,2627$ ) (Tabela 1). Quando o produto Agree<sup>®</sup> cresceu em meio de cultura contendo inseticidas químicos ocorreu diferença significativa na mortalidade de lagartas de *T. absoluta* apenas para a testemunha 1 (água + Tween 20%<sup>®</sup>) ( $F_{12,52} = 9,16$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 1.)

Para o produto Dipel<sup>®</sup> a porcentagem de mortalidade foi influenciada pelos produtos químicos Azamax<sup>®</sup> (dose mínima), Belt<sup>®</sup> (dose média) e Talstar<sup>®</sup> 100 EC (dose única), que apesar de apresentarem mortalidade semelhante à testemunha 2 (produto biológico + meio de cultura sem adição de químico), foi menor comparado com a maioria dos produtos químicos testados, onde apresentaram maior porcentagem de mortalidade ( $F_{12,52} = 25,95$ ;  $P < 0,0001$ ). O mesmo ocorreu para Xentari<sup>®</sup> tendo sua eficiência também influenciada por Azamax<sup>®</sup> (dose média), Belt<sup>®</sup> (dose mínima) e Belt<sup>®</sup> (dose média) apresentando menor mortalidade em relação aos demais produtos químicos ( $F_{12,52} = 16,44$ ;  $P < 0,0001$ ) (Tabela 1).

No quinto dia de avaliação as porcentagens de mortalidade de lagartas entre os tratamentos foram maiores para os produtos Dipel<sup>®</sup> x Azamax<sup>®</sup> dose média ( $F_{2,12} = 4,38$ ;  $P = 0,0373$ ), Dipel<sup>®</sup> x Azamax (dose máxima) ( $F_{2,12} = 4,12$ ;  $P = 0,0435$ ), Dipel<sup>®</sup> x

Belt<sup>®</sup> (dose mínima) ( $F_{2,12}= 4,12$ ;  $P= 0,435$ ) e Agree<sup>®</sup> x Talstar<sup>®</sup> 100 EC (dose única) ( $F_{2,12}= 9,84$ ;  $P=0,0030$ ). No entanto, as menores porcentagens de mortalidade foram observadas nos tratamentos Xentari<sup>®</sup> x Azamax<sup>®</sup> (dose média) ( $F_{2,12} = 4,38$ ;  $P= 0,0373$ ), Xentari<sup>®</sup> x Azamax<sup>®</sup> (dose máxima) ( $F_{2,12}=4,12$ ;  $P=0,0435$ ), Xentari X Belt dose mínima ( $F_{2,12}= 4,12$ ;  $P= 0,435$ ) e Dipel<sup>®</sup> x Talstar<sup>®</sup> 100 EC (dose única) ( $F_{2,12}= 9,84$ ;  $P=0,0030$ ) (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito dos produtos biológicos que cresceram em meio contendo inseticidas químicos na porcentagem de mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* no quinto dia de avaliação.

Tratamentos	Agree	Dipel	Xentari
Testemunha 1*	7,0 ± 6,71 b	7,0 ± 6,71 d	7,0 ± 6,71 e
Testemunha 2 *	89,0 ± 24,59 Aa	70,0 ± 11,18 Abc	80,0 ± 13,23 Aabcd
Azamax min	89,0 ± 16,35 Aa	71,0 ± 20,74 Abc	71,0 ± 21,33 Aabcd
Azamax med	81,0 ± 18,84 ABa	85,0 ± 11,73 Aabc	60,0 ± 11,18 Bcd
Azamax max	80,0 ± 21,50 ABa	100,0 ± 0,00 Aa	72,0 ± 17,17 Babcd
Belt min	65,0 ± 22,64 ABa	88,0 ± 12,55 Aabc	53,0 ± 21,96 Bd
Belt med	77,0 ± 16,81 Aa	68,0 ± 14,04 Ac	65,0 ± 19,03 Abcd
Belt max	69,0 ± 13,75 Aa	92,0 ± 10,37 Aabc	85,0 ± 7,90 Aabc
Talstar	100,0 ± 0,00 Aa	70,0 ± 16,58 Bbc	87,0 ± 8,36 ABabc
Tracer min	84,0 ± 16,73 Aa	98,0 ± 4,47 Aa	98,0 ± 4,47 Aa
Tracer méd	91,0 ± 10,25 Aa	99,0 ± 2,24 Aa	90,0 ± 12,24 Aab
Tracer máx	100,0 ± 0,00 Aa	98,0 ± 2,74 Aa	97,0 ± 2,73 Aa
Turbo	90,0 ± 15,41 Aa	94,0 ± 8,21 Aab	84,0 ± 7,42 Aabc

Médias seguidas pela mesma letra não diferem (maiúscula=linha; minúscula=coluna), ao nível de 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Testemunha 1 = água + Tween 20<sup>®</sup>, Testemunha 2 = crescimento da bactéria *B. thuringiensis* (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) em meio de cultura sem adição de produto químico.

No sétimo dia de avaliação de mortalidade, os produto Agree<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> apresentaram diferenças significativas na porcentagem de mortalidade de lagartas somente em relação a testemunha (água) ( $F_{2,12} = 1,04$ ;  $P= 0,3832$ ). Para Dipel<sup>®</sup>, a menor porcentagem de mortalidade foi observada quando o Dipel<sup>®</sup> cresceu em meio de cultura contendo Belt<sup>®</sup> na dose média ( $F_{12,52} = 216,50$ ;  $P < 0,0001$ ), apresentando diferença significativa em relação as duas testemunhas, testemunha 1 (água + Tween 20%) e testemunha 2 (produto biológico + meio de cultura sem adição de

químico). Entre os tratamentos no sétimo dia de avaliação da mortalidade foi observado que Xentari® X Belt® (dose mínima) apresentou maior porcentagem de mortalidade ( $F_{2,12} = 552$ ;  $P = 0,0199$ ), enquanto o produto Agree® quando cresceu em meio contendo o inseticida químico Belt® (dose mínima) apresentou a menor porcentagem de mortalidade (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito dos produtos biológicos que cresceram em meio contendo inseticidas químicos na porcentagem de mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* no sétimo dia de avaliação.

Tratamentos	Agree	Dipel	Xentari
Testemunha 1	10,0 ± 2,74 b	10,0 ± 2,74 c	10,0 ± 2,74 b
Testemunha 2	97,0 ± 6,71 Aa	100,0 ± 0,00 Aa	100,0 ± 0,00 Aa
Azamax min	94,0 ± 8,21 Aa	99,0 ± 2,24 Aab	96,0 ± 4,18 Aa
Azamax med	93,0 ± 8,37 Aa	95,0 ± 7,07 Aab	96,0 ± 8,94 Aa
Azamax max	90,0 ± 10,61 Aa	100,0 ± 0,00 Aa	95,0 ± 7,07 Aa
Belt min	81,0 ± 15,16 Ba	96,0 ± 6,52 ABab	100,0 ± 0,00 Aa
Belt med	89,0 ± 10,84 Aa	92,0 ± 5,70 Ab	100,0 ± 0,00 Aa
Belt max	88,0 ± 10,40 Aa	95,0 ± 5,00 Aab	98,0 ± 4,47 Aa
Talstar	100,0 ± 0,00 Aa	100,0 ± 0,00 Aa	100,0 ± 0,00 Aa
Tracer min	100,0 ± 0,00 Aa	100,0 ± 0,00 Aa	100,0 ± 0,00 Aa
Tracer méd	95,0 ± 6,12 Aa	99,0 ± 2,24 Aab	96,0 ± 8,94 Aa
Tracer máx	92,0 ± 10,95 Aa	100,0 ± 0,00 Aa	99,0 ± 2,24 Aa
Turbo	99,0 ± 2,24 Aa	99,0 ± 2,23 Aab	100,0 ± 0,00 Aa

Médias seguidas pela mesma letra não diferem (maiúscula=linha; minúscula=coluna), ao nível de 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Testemunha 1 = água + Tween 20®, Testemunha 2 = crescimento da bactéria *B. thuringiensis* (Agree®, Dipel® e Xentari®) em meio de cultura sem adição de produto químico.

Na avaliação da mortalidade das lagartas foi observado que no quinto dia os produtos Azamax® (dose mínima), Talstar® 100 EC (dose única) e Turbo® (dose única) apresentaram menor porcentagem na mortalidade ( $F_{14,60} = 32,18$ ;  $P = < 0,001$ ) em relação a testemunha 1 (água+ tween 20%). Já no sétimo e último dia de avaliação de mortalidade o produto Turbo® (dose única) e a testemunha 1 (água+ tween 20%) apresentaram menor porcentagem de mortalidade em relação aos demais produtos ( $F_{14,60} = 45,42$ ;  $P < 0,001$ ) (Tabela 3). O grupo controle dos dois experimentos onde os folíolos de tomate foram mergulhados em água + 0,05% de

Tween 20<sup>®</sup> apresentaram 7% de mortalidade no quinto dia e 10% de mortalidade no sétimo dia de avaliação validando este tipo de metodologia de bioensaio proposta por Ramírez et al. (2010).

Tabela 3. Patogenicidade dos produtos biológicos e toxicidade dos produtos químicos na mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* no quinto e sétimo dia de avaliação.

Tratamentos	5º dia	7º dia
Testemunha	7,0 ± 6,71 c	10,0 ± 2,74 c
Agree	96,0 ± 4,18 a	100,0 ± 0,00 a
Dipel	94,0 ± 10,84 a	100,0 ± 0,00 a
Xentari	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Azamax min	61,0 ± 21,91 b	89,0 ± 9,62 a
Azamax med	79,0 ± 20,43 ab	96,0 ± 4,18 a
Azamax max	94,0 ± 4,18 a	96,0 ± 6,52 a
Belt min	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Belt med	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Belt max	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Talstar	59,0 ± 17,46 b	85,0 ± 14,14 ab
Tracer min	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Tracer med	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Tracer max	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Turbo	64,0 ± 14,32 b	77,0 ± 22,25 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem (maiúscula=linha; minúscula=coluna), ao nível de 5% de significância de acordo com o teste de Tukey. Testemunha 1 = água + Tween 20<sup>®</sup>, Testemunha 2 = crescimento da bactéria *B. thuringiensis* s (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) em meio de cultura sem adição de produto químico.

#### 4. DISCUSSÃO

Os produtos biológicos Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> que cresceram em meio contendo inseticidas químicos causaram mortalidade a lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*. Esta interação, resultado dos testes de compatibilidade dos produtos químicos e biológicos, não afetaram os esporos e os cristais contidos na composição destes produtos à base de *B. thuringiensis*, indicando e comprovando o efeito de *B. thuringiensis* em lagartas de *T. absoluta* e também confirmando a eficiência deste



patógeno em lagartas minadoras como foi observado em experimentos de laboratório e de campo (SOUZA; REIS, 1992; MARQUES; ALVES, 1996; PICANÇO, 1999).

A porcentagem de mortalidade foi semelhante para os tratamentos controle (produtos biológicos), tanto após cinco dias de avaliação quanto após sete dias de avaliação, indicando que os produtos biológicos possuem eficiência de controle semelhante para lagartas de *T. absoluta*. Tais resultados indicam que as diferenças encontradas na mortalidade da praga foram devido à ação dos produtos químicos sobre o biológico.

Inseticidas químicos promovem grandes variações nas respostas nos agentes de controle biológico e, dependendo do inseticida químico utilizado, pode ser observado efeito sinérgico, que pode potencializar o efeito do patógeno ou aumentar a suscetibilidade do hospedeiro (ROSSI-ZALAF et al., 2008). Leite et al. (1995) afirmaram que o uso de abamectin (18 pulverizações durante o ciclo da planta) e a combinação de inseticidas seletivos + *B. thuringiensis* + deltamethrin ½ dose a partir do florescimento (6 pulverizações até o fim do ciclo da planta), apresentam excelentes níveis de controle da traça-do-tomateiro.

Altos índices de mortalidade foram observados quando cada produto foi avaliado separadamente, comprovando a eficiência dos produtos (biológicos e químicos) no quinto e no sétimo dia de avaliação. A realização desses testes para comprovar a atividade tóxica dos micro-organismos que cresceram em meio de cultura contendo produtos químicos é de suma importância, pois permite a detecção de alterações fisiológicas que levam a perdas de patogenicidade e virulência do patógeno (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998).

Resultados apresentados por Ramírez et al. (2010) corroboram os elevados índices de mortalidade obtidos neste estudo pois, os autores constataram 100% de mortalidade em lagartas de segundo instar de *T. absoluta* utilizando Dipel® e Xentari® em bioensaios utilizando folíolos de tomate mergulhados nas suspensões. Niedmann e Meza-Basso (2006) descreveram atividade tóxica em larvas de *T. absoluta* usando um isolado chileno de *B. thuringiensis* que expressa a proteína Cry1Ac, a mesma utilizada no produto Agree®. É essencial estudar em condições controladas a atividade desses formulados comerciais e seu fator de mortalidade em

um inseto alvo. Assim, a sua eficácia é comprovada sem que haja interferências do meio sobre o micro-organismo (RAMÍREZ et al., 2010), e também se a mortalidade do grupo controle atinge um nível acima de 10% os resultados não podem ser considerados, invalidando a metodologia aplicada (BEEGLE, 1990).

A partir de altas mortalidades em lagartas é possível propor a hipótese de que *T. absoluta* possui receptores na membrana do intestino médio capazes de reconhecer uma ou mais proteínas Cry (GILL; NOWLES; PIETRANTONIO, 1992; DE MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001). A atividade de *B. thuringiensis* em *T. absoluta* já havia sido comprovada em vários outros estudos (THEODULUZ et al., 1997; GIUSTOLIN et al., 2001; THEODULUZ et al., 2003; NIEDMANN; MEZA-BASSO, 2006).

As altas mortalidades dos produtos químicos também foram constatadas por Thomé et al. (2013), que testaram a azadiractina, em duas populações de *T. absoluta*. Os autores constataram elevada mortalidade em larvas de segundo ínstar. A utilização de azadiractina vem se destacando em culturas orgânicas, por ser um inseticida natural, biodegradável, que não deixa resíduos tóxicos e não contamina o ambiente (MARTINEZ, 2008). Em resumo a azadiractina apresenta ação inseticida contra a traça-do-tomateiro comprometendo o seu desenvolvimento e causando alta mortalidade em larvas (THOMÉ et al., 2013).

Roditakis, Skarmoutsou e Staurakaki (2012) realizaram um estudo sobre a toxicidade de sete produtos químicos em nove populações de *T. absoluta* na Grécia, relatando que o inseticida Belt<sup>®</sup>, cujo princípio ativo é flubendiamida, causou mortalidade de 98,5 – 100% em lagartas de segundo ínstar. O produto que apresentava o princípio ativo espinosade, o mesmo do produto Tracer<sup>®</sup>, causou mortalidade de 100%, sendo que o produto que causou baixa mortalidade, menor que 80%, foi o pertencente ao grupo químico piretróide, confirmando os resultados desta pesquisa.

O interesse em utilizar produtos químicos conjuntamente com produtos biológicos é devido às vantagens que essa interação proporciona, como por exemplo; a diminuição do impacto dos químicos no ambiente e na microbiota residente, tendo como objetivo a conservação dos micro-organismos de ocorrência natural; a conservação dos inimigos naturais (KNAAC et al., 2009) e a possibilidade

de utilizar dois produtos com modo de ação diferentes para diminuir a pressão de seleção, não favorecendo os insetos resistentes (ALVES et al., 1998).

Os resultados indicam que os micro-organismos que cresceram sob a influência dos produtos químicos em meio de cultura causaram mortalidade em lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*, abrindo possibilidade para a realização de estudos em semi-campo e campo. Além disso, a metodologia utilizada neste estudo permite a padronização de testes de compatibilidade utilizando o entomopatógeno *B. thuringiensis*.

Foi confirmada em laboratório a ação dos produtos biológicos (Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup>) e dos produtos químicos (Azamax<sup>®</sup>, Belt<sup>®</sup>, Talstar<sup>®</sup> 100 EC, Tracer<sup>®</sup> e Turbo<sup>®</sup>) na mortalidade de lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*, indicando a qualidade desses produtos que são utilizados para o controle desta praga.

## 5. CONCLUSÕES

Os micro-organismos que cresceram sob a influência dos produtos químicos no meio de cultura, não tiveram a virulência afetada para lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*;

Os produtos biológicos Agree<sup>®</sup>, Dipel<sup>®</sup> e Xentari<sup>®</sup> e os produtos químicos, Belt<sup>®</sup> e Tracer<sup>®</sup> apresentaram mortalidades maiores que 90% em lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta*.

## 6. REFERÊNCIAS

ALVES, S. B.; MOINO JÚNIOR, A.; ALMEIDA, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.

ALVES, S. B.; MORAES, S. A. Quantificação de inoculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 765-777.

ANGULO, O. A.; OLIVARES, T. **Protocolo de identificación de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)**: Lepidoptera: Gelechiidae. Concepción: Universidad de Concepción, 2011. p. 5.

BARBIN, D. **Planejamento e análise estatística de experimentos agronômicos**. Londrina: Mencionas, 2013. 214 p.

BEEGLE, C. Bioassays methods for quantification of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin. In: HICKLE, L. A.; FITCH, W. L. (Ed.). **Analytical chemistry of *Bacillus thuringiensis***. Washington, DC: American Chemical Society, 1990.

BOGORNÍ, P. C.; CARVALHO, G. S. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bioikos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 49-61, 2006.

CPL BUSINESS CONSULTANTS. **The 2010 worldwide biopesticides market summary**. Walingford: CAB International Centre, 2010. v. 1, p. 1-39.

DEBONI, T. C.; CASTELO BRANCO, M. **Susceptibilidade a inseticidas e parasitismo natural por *Trichogramma* sp em traça-do-tomateiro**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. 2007. 19 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 28).

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v. 17, n. 40, p. 193-199, 2001.

GILL, S.; NOWLES, E.; PIETRANTONIO, P. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 615-636, 1992.

GIUSTOLIN, T.; VENDRAMIN, J.; ALVES, S.; VIERA, A.; PEREIRA, R. Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstarki*. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 125, n. 9-10, p. 551-556, 2001.

GUEDES, R. N. C.; PICANÇO, M. C.; MATIOLI, A. L.; ROCHA, D. M. Efeito de inseticidas e sistemas de condução no controle de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick), (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, p. 321-325, 1994.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Genes Cry1Ab e Cry1Ac de *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, n. 36, p. 26-31, 2006.

KNAAC, N.; AZAMBUJA, A. O.; LUCHO, A. P. R.; BERLITZ, D. L.; FIUZA, L. M. Interações de *Bacillus thuringiensis* e o controle de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 11, n. 38, p. 1-6, 2009.

LEITE, G. L. D.; PICANÇO, M.; DA SILVA, D. J. H.; DA MATA, A. C.; JHAM, G. N. Distribuição de oviposição de *Scrobipalpuloides absoluta* no dossel de *Lycopersicon esculentum*, *L. hirsutum* e *L. peruvianum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 13, n. 1, p. 47-51, 1995.

MARQUES, I. M. R.; ALVES, S. B. Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* sobre *Scrobipalpuloides absoluta* Meyer. (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, p. 39-45, 1996.

MARTINEZ, S. S. **O nim – *Azadiractina indica* – um inseticida natural**. Londrina: IAPAR, fev. 2008. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=410>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. 264 p.

MICHEREFF FILHO, M.; GUIMARÃES, J. A.; MOURA, A. P. **A traça-do-tomateiro no mundo**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliça, 2013. 29 p. (Documentos, 140).

NIEDMANN, L.; MEZA-BASSO, L. Evaluación de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* como una alternativa de manejo integrado de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick; Lepidoptera: Gelechiidae) en Chile. **Agricultura Técnica**, Chillán, v. 66, n. 3, p. 235-246, 2006.

PICANÇO, M.; PALLINI FILHO, A.; LEITE, G. L. D.; MATIOLI, A. L. Avaliação de produtos não convencionais para o controle de *Tuta absoluta* em tomate. **Manejo Integrado Plagas**, Turrialba, v. 54, p. 27-30, 1999.

POLANCZYK, R. A.; MARTINEZ, S.; OMOTO, C.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis* no manejo integrado de pragas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Uberlândia, n. 31, p. 18-27, 2003.

RAMÍREZ, L.; RAMÍREZ, N.; FUENTES, L. S.; JIMÉNEZ, HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ. Estandarización de um bioensayo y evaluación preliminar de tres formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Revista Colombiana de Biotecnología**, Bogotá, v. 12, n. 1, p. 12-21, 2010.

RODITAKIS, E.; SKARMOUTSOU, C.; STAURAKAKI, M. Toxicity of insecticides to populations of tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) from Greece. **Pest Management Science**, Chichester, v. 69, n. 7, p. 834-840, 2012.

ROSSI-ZALAF, L. S.; ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M. R. Interação de micro-organismo com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 279–302.

SOUZA, J. C.; REIS, P. R. **traça-do-tomateiro**: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 20 p. (Boletim Técnico, 38).

THEODULUZ, C.; ROMAN, P.; BRAVO, J.; PADILLA, C.; VASQUEZ, C.; MEZA-CEPEDA, L.; MEZA-BASSO, L. Relative toxicity of native Chilean *Bacillus thuringiensis* strain against *Scrobipalpus absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Applied Microbiology**, Chichester, v. 82, n. 4, p. 462-468, 1997.

THEODULUZ, C.; VEGA, A.; SALAZAR, M.; GONZALEZ, E.; MEZA-BASSO, L. Expression of a *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin cry1Ab gene in *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* strains that naturally colonize the phylloplane of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*, Mills). **Journal of Applied Microbiology**, Chichester, v. 94, n. 3, p. 375-381, 2003.

TOMÉ, H. V. V.; MARTINS, J. C.; CORRÊA, A. S.; GALDINO, T. V. S.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, R. N. C. Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 46, p. 63-69, 2013.

VILLAS BOAS, G. L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. **Manejo integrado da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*) em sistema de produção integrada de tomate indústria (PITI)**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2009. 16 p. (Circular Técnica, 73).