RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

INFLUÊNCIA DE ADJUVANTES NA CALDA DE BIOINSETICIDAS BT E NA MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda*

Edimar Peterlini

Engenheiro Agrônomo

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

INFLUÊNCIA DE ADJUVANTES NA CALDA DE BIOINSETICIDAS BT E NA MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda*

Discente: Edimar Peterlini

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Da Costa Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola).

2024

P479i

Peterlini, Edimar
Influência de adjuvantes na calda de bioinseticidas bt e na mortalidade Spodoptera frugiperda / Edimar Peterlini. -- Jaboticabal, 2024
57 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Marcelo Da Costa Ferreira
Coorientador: Ricardo Antônio Polanczyk

1. Bioinseticida. 2. Compatibilidade. 3. Mistura em tanque. 4. Tecnologia de Aplicação. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: INFLUÊNCIA DE ADJUVANTES NA CALDA DE BIOINSETICIDAS BT E NA MORTALIDADE *Spodoptera frugiperda*

AUTOR: EDIMAR PETERLINI
ORIENTADOR: MARCELO DA COSTA FERREIRA
COORIENTADOR: RICARDO ANTONIO POLANCZYK

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. MARCELO DA COSTA FERREIRA (Participaçao Presencial)
Departamento de Ciencias da Producao Agricola / FCAV UNESP Jaboticabal

Pesquisador Dr. HAMILTON HUMBERTO RAMOS (Participaçao Presencial)
Centro de Engenharia e Automação (IAC) / Jundiai/SP

Prof. Dr. GUILHERME DUARTE ROSSI (Participaçao Presencial)
Departamento de Ciencias da Producao Agricola / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Edimar Peterlini - Filho de Carlos Peterlini e Conceição Aparecida Papaet Peterlini, nascido em Araruna, Paraná, Brasil, no dia 23 de julho de 1998. Em abril de 2016 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá, Campus de Umuarama, concluindo-o em julho de 2021, recebendo título de Engenheiro Agrônomo. Em janeiro de 2022 iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV). Submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2024

“Ninguém vai bater mais forte que a vida. Não importa como você bate e sim o quanto aguenta apanhar e continuar lutando; o quanto pode suportar e seguir em frente. É assim que se ganha.”

(S. Stallone)

Aos meus pais Carlos e Conceição, meu irmão Edicarlos, e minha noiva Fabiana.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de inspiração, iluminação e proteção, por estar ao meu lado em todos os momentos e nunca me desamparar.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Entomologia Agrícola da Universidade Estadual Paulista – UNESP.

Ao meu orientador Professor Dr. Marcelo da Costa Ferreira, por todas as conversas, paciência e ensinamentos durante o curso de pós-graduação, e na orientação desta pesquisa.

Ao meu coorientador Professor Dr. Ricardo Antônio Polanczyk pela excelente coorientação prestada durante a realização e condução da pesquisa e fornecer estrutura para realização de parte da pesquisa.

Aos meus pais por toda a educação e sempre me apoiarem e incentivarem em todas as minhas decisões e estarem ao meu lado nos momentos difíceis.

Ao meu irmão por todo os conselhos, apoio, e incentivos a buscar mais.

A minha noiva Fabiana pelo apoio, companheirismo, paciência e momentos felizes que tornam minha vida melhor.

Aos colegas e amigos de laboratório Núcleo de Estudos e Desenvolvimento em Tecnologia de Aplicação (NEDTA), Ana B. D. Spadoni, Maria T. S. Lacerda, Hilario C. de La Cruz, Gabriela Pelegrini, Aline D. P. Reis, pela ajuda durante a condução da minha pesquisa.

Aos colegas e amigos do laboratório LCMAP, Kelly C. Gonçalves, Paulo H. M. Silva, Nicholas Uehara, Gustavo Carneiro, Linda Pacherres e Lana L. B. Carvalho.

A todos que de alguma forma contribuíram para minha educação e crescimento pessoal, que me proporcionaram chegar aqui.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO iii

ABSTRACT v

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS 1

1 INTRODUÇÃO 1

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 2

2.1 Lagarta do cartucho 2

2.2 Bacillus *thuringiensis* 3

2.3 Mistura de tanque 4

2.4 Adjuvantes 5

2.5 Adjuvantes e Bt 6

3 REFERÊNCIAS 7

CAPÍTULO 2 - INFLUÊNCIA DE ADJUVANTES SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DE CALDAS DE BT BIOINSETICIDA PARA O CONTROLE DE *S. frugiperda* 11

1 INTRODUÇÃO 12

2 MATERIAIS E MÉTODOS 12

2.1 Definição dos tratamentos 12

2.2 Caracterização das caldas de Bt bioinseticidas 13

2.2.1 Tensão superficial e ângulo de contato 13

2.2.2 Espectro de gotas 14

2.2.3 Compatibilidade físico-química da calda 15

2.3 Análise dos dados 16

3 RESULTADOS 17

3.1 Características químicas das caldas 17

3.2 pH e Condutividade elétrica 17

3.3 Tensão superficial e ângulo de contato 19

3.4 Espectro de gotas 20

4 DISCUSSÃO 22
5 CONCLUSÃO 24
6 REFERÊNCIAS 25
CAPÍTULO 3 – COMPATIBILIDADE DE ADJUVANTES E BT BIOINSETICIDA PARA CONTROLE DA LAGARTA DO CARTUCHO 28
1 INTRODUÇÃO 29
2 MATERIAIS E MÉTODOS 30
2.1 Criação de *Spodoptera frugiperda* 30
2.2 Tratamentos utilizados nos experimentos 30
2.3 Compatibilidade *in vitro* 31
2.4 Testes de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* para compatibilidade *in vitro*..... 32
2.5 Teste de mortalidade *Spodoptera frugiperda* para caldas de aplicação 32
2.6 Potencial hidrogeniônico (pH) 33
2.7 Análise dos dados 33
3 RESULTADOS 33
3.1 Crescimento vegetativo 33
3.2 Concentração de esporos 34
3.3 Classificação de compatibilidade dos adjuvantes 35
3.4 Mortalidade de *S. frugiperda* para compatibilidade *in Vitro* 36
3.5 Potencial hidrogeniônico (pH) 36
3.6 Mortalidade de *S. frugiperda* para caldas de pulverização de bioinseticida Bt 37
4 DISCUSSÃO 38
5 CONCLUSÃO 41
6 REFERÊNCIAS 42
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS 45

INFLUÊNCIA DE ADJUVANTES NA CALDA DE BIOINSETICIDAS BT E NA MORTALIDADE *Spodoptera frugiperda*

RESUMO – A lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) está entre os principais insetos desfolhadores de culturas como milho, sorgo, arroz e algodão, e vem desenvolvendo resistência ao controle com inseticidas químicos, mais populares. O uso de bioinseticidas sobretudo à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) vem ganhando força como forma de controle. Os bioinseticidas à base de Bt são comumente aplicados em mistura com outros produtos fitossanitários, incluindo os adjuvantes de calda. Os adjuvantes têm o objetivo de modificar parâmetros das caldas de aplicação a fim de proporcionar uma operação mais eficiente e uniforme, buscando garantir melhor aproveitamento dos produtos. Além de parâmetros relacionados à calda adjuvantes também apresentam efeito sobre a ação dos microrganismos. Assim, é de grande importância entender a influência dos adjuvantes sobre as características físico-químicas e biológicas da calda de aplicação do bioinseticida Bt. Dessa forma, objetivou-se avaliar os efeitos de 5 adjuvantes (Li, Fi, We, Pr e Tw) sobre características físico-químicas e biológicas do bioinseticida Bt. Para compatibilidade físico-química, as caldas foram preparadas em provetas de 250 mL com tampa, e avaliadas de 0 a 24 horas após o preparo da calda quanto a estabilidade, pH e condutividade elétrica. A tensão superficial e ângulo de contato foram analisados em tensiômetro de precisão. O espectro de gotas medido por difração de raios laser. A compatibilidade biológica *in vitro* foi avaliada misturando-se os adjuvantes ao meio de cultura e inoculando 5µL de calda de bioinseticida após solidificação, e avaliada após 7 dias quanto a tamanho de colônia e contagem de esporos. Foi preparada uma suspensão com esporos a $3x10^8$ esporos mL^{-1} e aplicada a dieta oferecida a lagartas de segundo ínstar *S. frugiperda,* após sete dias foi avaliada a mortalidade. Em relação a parâmetros físico-químicos, o adjuvante Fi apresentou o maior diâmetro mediano volumétrico, menor tensão superficial e ângulo de contato. O adjuvante Pr apresentou o menor valor de pH, maior condutividade elétrica em todos os horários avaliados e aumentou o Span acarretando espectro de gotas desuniforme. Para compatibilidade biológica *in vitro*, os adjuvantes Li e Tw apresentaram influência positiva sobre o Bt, Tw proporcionou maior tamanho de colônia e Li a maior mortalidade. Já Fi reduziu o tamanho de colônia, porém não interferiu na mortalidade,

sendo igual ao bioinseticida isolado. We e Pr prejudicaram o desenvolvimento do Bt, inibindo completamente o crescimento. Para mortalidade pela calda de Bt e adjuvantes aplicado sobre a dieta, as caldas de Bt e adjuvantes apresentaram mortalidade estatisticamente iguais ao bioinseticida isolado. Os efeitos observados para os testes *in vitro* são mitigados pela formulação do bioinseticida, indicando que apesar de existir influência dos adjuvantes no desenvolvimento do Bt, quando em mistura em calda de aplicação os adjuvantes, não afetaram sua capacidade inseticida.

Palavras-chave: Bioinseticida, compatibilidade, mistura em taque, tecnologia de aplicação

INFLUENCE OF ADJUVANTS TO BT BIOINSETICIDE GROUNDS AND TO *Spodoptera frugiperda* MORTALITY

ABSTRACT - The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) is among the main defoliating insects of crops such as corn, sorghum, rice, and cotton, and has been developing resistance to control with more popular chemical insecticides. The use of bioinsecticides, especially based on the bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt), has been gaining strength as a form of control. Bt-based bioinsecticides are commonly applied in mixtures with other phytosanitary products, including spray adjuvants. Adjuvants aim to modify application grout parameters to provide a more efficient and uniform operation, seeking to ensure better use of the products. In addition to parameters related to the spray, adjuvants also influence the action of microorganisms. Therefore, it is significant to understand the influence of adjuvants on the physicochemical and biological characteristics of the Bt bioinsecticide application mixture. Therefore, the objective was to evaluate the effects of 5 adjuvants (Li, Fi, We, Pr and Tw) on the physicochemical and biological characteristics of the Bt bioinsecticide. For physical-chemical compatibility, the syrups were prepared in 250mL graduated cylinders with lids and evaluated from 0 to 24 hours after preparing the syrup for stability, pH and electrical conductivity. Surface tension and contact angle were analyzed using a precision tensiometer. The droplet spectrum measured by laser beam diffraction. *In vitro* biological compatibility was evaluated by mixing the adjuvants with the culture medium and inoculating 5µL of bioinsecticide syrup after solidification and evaluated after 7 days for colony size and spore count. A suspension with spores was prepared at $3x10^8$ spores mL^{-1} and applied to diet offered to second ínstar *S. frugiperda* caterpillars, after seven days mortality was evaluated. In relation to physicochemical parameters, the Fi adjuvant presented the highest volumetric median diameter, lowest surface tension and contact angle. The adjuvate Pr presented the lowest pH value, highest electrical conductivity at all times evaluated and increased the Span resulting in uneven droplet spectrum. For *in vitro* biological compatibility, the adjuvants Li and Tw showed a positive influence on Bt, Tw provided greater colony size and Li the highest mortality. Fi, on the other hand, reduced colony size, but did not interfere with mortality, being the same as the isolated bioinsecticide. We and Pr impaired the development of Bt, completely inhibiting growth. For mortality

due to the Bt mixture and adjuvants applied to the diet, the Bt mixtures and adjuvants presented mortality statistically equal to the isolated bioinsecticide. The effects observed in *in vitro* tests are mitigated by the bioinsecticide formulation, indicating that despite the influence of adjuvants on the development of Bt, when mixed in application spray the adjuvants did not affect its insecticidal capacity.

Keywords: Bioinsecticide, compatibility, tank-mix, application technology

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) está entre os principais insetos desfolhadores de culturas como milho, sorgo, arroz e algodão. O hábito polífago desse inseto e a capacidade de desenvolver resistência aos métodos de controle mais comuns, juntamente com relatos de populações na África e Ásia fez com que fosse classificada como de “risco à segurança alimentar mundial” pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2017; Baudron *et al.*, 2019).

O seu controle é realizado comumente com a utilização de inseticidas químicos e plantas geneticamente modificadas. Porém, *S. frugiperda* vem desenvolvendo resistência a essas formas de controle. Assim, vem ganhando força a utilização de inseticidas microbiológicos, demonstrando ser uma ferramenta eficiente para o controle desse inseto. Dentre os microrganismos empregados destaca-se a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt), representando mais de 50% dos inseticidas microbianos registrados no mundo. Os bioinseticida a base Bt possuem os esporos e cristais como fontes combinadas de virulências, que contém as toxinas Cry, de atividade inseticida (Crickmore, 2006; Fiuza *et al.*, 2017), o que retarda a evolução da resistência.

Bioinseticidas Bt são aplicados via pulverização sobre os cultivos, em geral misturados a outros produtos químicos (Salvalaggio, *et al.*, 2017). A mistura em tanque tem a finalidade de melhorar aspectos ligados ao controle e ao desempenho operacional, misturando mais de um produto para o mesmo alvo, ou para alvos diferentes com objetivo de melhorar os espectro de controle da operação, bem como utilizar adjuvantes que tem como objetivo melhorar características inerentes a pulverização como espectro de gotas pulverizados, ângulo de contato das gotas com a superfície foliar, pH e condutividade elétrica da calda que influenciam muitas vezes no desempenho do produto e sua correta colocação no alvo (Kissmann, 1997; Chaim, 2003; Santos *et al.*, 2019; Ferreira *et al.*, 2020). Essa combinação de produtos no reservatório do pulverizador também visa reduzir a necessidade de máquinas, ao passo que aproveita as operações para mais de um alvo de controle (Ferreira *et al.*, 1999).

Além desses parâmetros, quando misturados à calda de bioinseticidas os adjuvantes podem influenciar seu desempenho em campo, podendo ser positivos e melhorar a eficiência em campo que pode resultar em maior efeito residual, devido à parâmetros da tecnologia de aplicação, como maior cobertura da superfície tratada e melhor distribuição da calca aplicada no caso de bioinseticidas Bt, mas também podem ser negativos causando a inativação parcial ou por completo, por mortalidade ou inibição do seu desenvolvimento. Os adjuvantes são uma importante ferramenta para qualidade das pulverizações, mas ainda há estudos insuficientes sobre a sua influência sobre produtos biológicos, inclusive para Bt.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi estudar a influência de diferentes adjuvantes sobre a calda de pulverização de um bioinseticida Bt, bem como estudar seus efeitos sobre o desenvolvimento da bactéria e sua capacidade inseticida.

5 CONCLUSÃO

A influência dos adjuvantes sobre o Bt é evidente e importante. Para a avaliação *in vitro* há formulações dos adjuvantes que compatível (Li e Tw), ou incompatível (Fi, Pr e We) de alguma forma afetando o efeito inseticida. Isto indica que o desenvolvimento de formulações de Bt pode ser potencializado com alguns adjuvantes e deve-se evitar outros. A combinação de produtos formulados na calda, que visa aspectos da tecnologia de aplicação, não afetou o controle de *S. frugiperda*, exceto We (2,0 horas após o preparo da calda), indicando que compatibilidade do adjuvante na mistura em tanque requer uma avaliação direta dos produtos formulados.

6 REFERÊNCIAS

Alves SB, Moino, AJ, Almeida, JEM. Produtos fitossanitário e entomopatógenos Eds: **Controle microbiano de insetos** (ed. Alves, S.B) 765-777 (FEALQ 1998).

Bolzan A, Padovez FE, Nascimento AR, Kaiser IS, Lira EC, Amaral FS, Kanno RH, Malaquias JB, Omoto C (2019) Selection and characterization of the inheritance of resistance of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole and cross-resistance to other diamide insecticides. **Pest Management Science** 75:2682-2689.

Brahmi F, Mokhtari O, *et al.* (2021) Chemical and biological characterization of essential oils extracted from *citrus* fruit peels. **Materials Today: Proceedings** 45:7796-7799

Bravo A, Pacheco S, Gómez I, García-Gómez B (2017) Insecticidal Proteins from *Bacillus thuringiensis* and Their Mechanism of Action In: **Bacillus thuringiensis and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of biocontrol** (eds. FIUZA, LM, POLANCZYK, RA, CRICKMORE, N) 53-66 (Springer, Cham).

Chen, X, Palli, SR (2023) Development of multiple transgenic CRISPR/Cas9 methods for genome editing in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda.* **Journal of Pest Science** 96:1637–1650.

de Maagd, RA (2015) *Bacillus thuringiensis*-based products for insect pest control. In: **Principles of Plant-Microbe Interaction: Microbes for Sustainable Agriculture** (ed. Lugtenberg, B.) 185-192 (Springer Cham).

De Maagd, RA, Bravo, A, Berry, C, Crickmore, N, Schnepf, HE (2003) Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. **Annual Review of Genetics** 37:409-433.

Dos Santos CAM, Do Nascimento J, Gonçalves KC, Smaniotto G, Zachin LF, Ferreira MC, Polanczyk RA (2021) Compatibility of Bt biopesticides and adjuvants for Spodoptera frugiperda control. **Scientific Reports** 11:5271.

El-Bendary MA, Elsoud MMA, Hamed SR, Mohamed SS (2017) Optimization of mosquitocidal toxins production by *Bacillus thuringiensis* under solid state fermentation using Taguchi orthogonal array. **Acta Biologica Szegediensis** 61:135-140.

Ennouri K, Khedher SB, Jaoua S, Zouari N (2013) Correlation between delta-endotoxin and proteolytic activities produced by *Bacillus thuringiensis* var*. kurstaki* growing in an economic production medium. **Biocontrol Science and Technology** 23:756-767.

Fancello F, Petretto GL, *et al.* (2016) Chemical characterization, antioxidant capacity and antimicrobial activity against food related microorganisms of *Citrus limon* var. pompia leaf essential oil. *LWT* **- Food Science Technology** 69:579-585.

Ferreira, L, Rosales, E, Danko, AS, Sanromán, MA, Pazos, MM (2016) *Bacillus thuringiensis* a promising bacterium for degrading emerging pollutants. **Process Safety and Environmental Protection** 101:19-26.

Gong Y, Li M, Xu D, Wang H, He J, Wu D, Chen D, Qiu N, Bao Q, Sun M, Yu Z (2012) Comparative proteomic analysis revealed metabolic changes and the translational regulation of Cry protein synthesis in *Bacillus thuringiensis*. **Journal Proteomics** 75:1235-1246.

Greene, GL, Leppla, NC, Dickerson, WA. (1976) Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economy Entomology** 69:487-488.

Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sanchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodriguez-Maciel JC, DiFonzo C (2019) Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal Economy Entomology** 112:792-802.

Inouye, S, Uchida, K, Maruyama, N, Yamaguchi, H, Abe, SA (2006) Novel method to estimate the contribution of the vapor activity of essential oils in agar diffusion assay. **Journal Japanese Social Medical Mycology** 47:91-98.

Kenis, M (2023) Prospects for classical biological control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in invaded areas using parasitoids from the Americas. **Journal Economy Entomology** 116:331-341.

Kerwin, BA (2008) Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: structure and degradation pathways. **Journal of Pharmaceutical Science** 97:2924-2935.

Khedher SB, Jaoua S, Zouari N (2013) Application of statistical experimental design for optimization of bioinsecticides production by sporeless *Bacillus thuringiensis* strain on cheap medium. **Brazilian Journal of Microbiology** 44:927-933.

Lin F, Mao Y, Zhao F, Idris AL, Liu Q, Zou S, Guan X, Huang T (2023) Towards sustainable green adjuvants for microbial pesticides: Recent progress, upcoming challenges, and future perspectives. **Microorganisms** 11(2):364.

Mesnage R, Antoniou MN 2015 Ignoring adjuvant toxicity falsifies the safety profile of commercial pesticides. **Frontiers Public Health** 5:361.

Mokhtarnejhad E, Aramideh S, Rezazad Bari M, Safaralizadeh MH, Rezapanah MR, Forouzan M (2022) Improvement the media culture for spore/crystal production of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and evaluate their virulence against second larval instar of *Ephestia kuehniella* L. **Iranian Journal Plant Protection Science** 52:97-113.

Salvalaggio AC, Costa N V, Moratelli G, Exteckoetter V, Podkowa CI, Cazzo VN (2017) Spreading drops of insecticide syrup with different doses of adjuvants on cassava leaves. **Scientia Agrária Paranaensis** 16:246–252.

Santos CAM, Santos RTS, Della'Vechia JF, Griesang F, Polanczyk RA, Ferreira MC (2019) Effect of addition of adjuvants on physical and chemical characteristics of Bt bioinsecticide mixture. **Scientific Reports** 9:12525.

Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH (1998) *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 62:775-806.

Vachon, V, Laprade, R, Schwartz, JL (2012). Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review. **Journal Invertebrate Pathology** 111:1-12.

Valicente, F, Lana, UGP, Pereira, ACP, Martins, JLA, Tavares, ANG (2018) Riscos à produção de biopesticida à base de *Bacillus thuringiensis*. **Circular Técnica 239**.

Van Frankenhuyzen, K. (2009) Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal Invertebrate. Pathology** 101:1-16.

Verplaetse E, Slamti L, Gohar M, Lereclus D (2015) Cell Differentiation in a *Bacillus thuringiensis* Population during Planktonic Growth, Biofilm Formation, and Host Infection. **Applied and Environmental Microbiology** 6:3.

Wang P, Zhang C, Guo M, Guo S, Zhu Y, Zheng J, Zhu L, Ruan L, Peng D, Sun M (2014) Complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* YBT-1518, a typical strain with high toxicity to nematodes. **Journal of Biotechnology** 171:1-2.

Zghal RZ, Kharrat M, Rebai A, Khedher SB, Jallouli W, Elleuch J, Ginibre C, Chandre F, Tounsi S (2018) Optimization of bio-insecticide production by Tunisian *Bacillus thuringiensis israelensis* and its application in the field. **Biological Control** 124:46-52.

Zhou P, Chen Y, Lu Q, Qin H, Ou H, He B, Ye J (2018) Cellular metabolism network of *Bacillus thuringiensis* related to erythromycin stress and degradation. **Ecotoxicology Environmental Safety** 160:328-341.