

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/02/2027.

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

**POTENCIAL INSETICIDA DE *Bacillus thuringiensis*
(BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE OVOS DE
Spodoptera frugiperda (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

Fabiana Santana Machado

Engenheira agrônoma

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

**POTENCIAL INSETICIDA DE *Bacillus thuringiensis*
(BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE OVOS DE
Spodoptera frugiperda (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

Fabiana Santana Machado

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk

Coorientador: Prof. Dr. Helio Conte

**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).**

M149p	<p>Machado, Fabiana Santana</p> <p>Potencial inseticida de <i>Bacillus thuringiensis</i> (BACILLALES: BACILLACEAE) sobre ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) / Fabiana Santana Machado. -- Jaboticabal, 2024</p> <p>52 f.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Ricardo Antônio Polanczyk</p> <p>Coorientador: Helio Conte</p> <p>1. Controle biológico. 2. Embriões. 3. <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt). 4. Bioinseticida. I.</p> <p>Título.</p>
-------	--

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).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

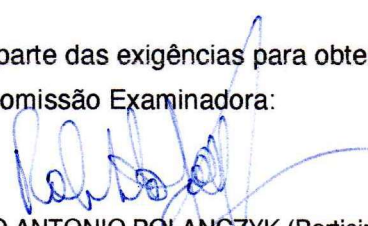
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: POTENCIAL INSETICIDA DE *Bacillus thuringiensis* (BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE OVOS DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

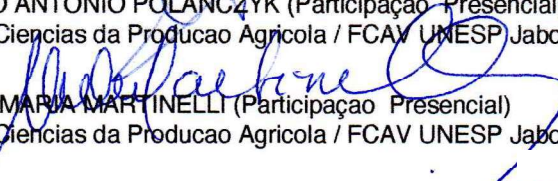
AUTORA: FABIANA SANTANA MACHADO


ORIENTADOR: RICARDO ANTONIO POLANCZYK

COORDENADOR: HÉLIO CONTE

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


Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal


Profa. Dra. NILZA MARIA MARTINELLI (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal


Prof. Dr. ELTON LUIZ SCUDELER (Participação Virtual)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / IB UNESP Rio Claro

Documento assinado digitalmente



ELTON LUIZ SCUDELER
Data: 28/02/2024 12:59:21-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Fabiana Santana Machado - Filha de Olegario Santana Machado e Vanete de Paulo Landes Machado, nascida em Araruna, Paraná, Brasil, no dia 25 de março 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 Engenheira Agrônoma. 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 (UNESP/FCAV). Submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2024.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutá.

Aos meus pais,

Vanete e Olegario.

Ao meu noivo,

Edimar Peterlini.

Aos meus irmãos,

Fabiano e Francieli.

E a minha avó,

Maria Aparecida.

Dedico

AGRADECIMENTO

Expresso meus agradecimentos a todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

A Deus por ter me concedido esta oportunidade e por me dar forças para seguir em frente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk pela orientação, ensinamentos, pelo seu incentivo e paciência com que me possibilitou realizar e concluir este trabalho.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Helio Conte por toda atenção e por disponibilizar a infraestrutura de seu laboratório para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Bruno Vinicius Daquila pela inestimável ajuda, agração por estar presente em todos as etapas de desenvolvimento deste trabalho, que foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Complexo de Centrais de Apoio a Pesquisa - COMCAP - UEM pela disponibilidade de utilização dos equipamentos que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Olegario e Vanete, em especial a minha mãe que foi minha base e sempre acreditou em mim, no meu potencial e nunca mediu esforços para me ajudar em todos os momentos da minha vida, agradeço por cada dia batalhado para realizar este sonho.

Ao meu noivo Edimar Peterlini por toda paciência, amor, companheirismo, incentivo, por acreditar no meu esforço e por dividir mais essa etapa da vida comigo.

A minha irmã Francieli por todo carinho e por se fazer presente em minha vida todos os dias, apesar da distância.

Ao meu irmão Fabiano e minha cunhada Valéria por todo carinho e por cada bom momento compartilhado.

A minha avó Maria Aparecida, por todo carinho e cuidado que sempre teve por mim.

Ao meu sogro Carlos e minha sogra Conceição, por todo carinho e incentivo.

A minha querida amiga Nadyne, pela amizade de anos, por todo carinho e por ter me acolhido sempre que precisei.

A Dra. Kelly Cristina Gonçalves pela amizade, pelas longas horas de convívio harmonioso no laboratório, por toda ajuda e conselhos.

Ao Dr. Marcelo Muller de Freitas e Dr. Daniel Dalvan do Nascimento, pela ajuda nas análises estatísticas realizadas nessa pesquisa.

Aos integrantes do Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) pela boa convivência e ajuda, em especial ao meu amigo Paulo.

Aos integrantes do Laboratório de Controle Biológico e Prospecção de Insetos (LACONBIO), que me acolheram, auxiliaram e por todos os ensinamentos e bons momentos que me foram proporcionados.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pelos ensinamentos transmitidos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith, 1797).....	3
2.2 Danos ocasionados por <i>Spodoptera frugiperda</i> e suas implicações econômicas	7
2.3 Utilização de <i>Bacillus thuringiensis</i> no manejo de pragas	9
2.4 Importância do controle de ovos de insetos-pragas	10
3 REFERÊNCIAS	12
CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE <i>Bacillus thuringiensis</i> (BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	18
1 INTRODUÇÃO	20
2 MATERIAL E MÉTODOS	22
2.1 Locais de desenvolvimento do estudo.....	22
2.2 Obtenção dos ovos de <i>S. frugiperda</i>	22
2.3 Produto comercial Xentari® (<i>Bt aizawai</i>).....	23
2.4 <i>Bt aizawai</i> HD-68.....	23
2.5 Inviabilidade dos ovos	24
2.6 Viabilidade larval.....	25
2.7 Análises histoquímicas	25
2.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	25
2.9 Análises estatísticas	26
3 RESULTADOS	26
3.1 Inviabilidade dos ovos de <i>S. frugiperda</i>	27
3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
3.3 Análises histoquímicas	30
3.4 Mortalidade das lagartas neonatas provenientes dos ovos de <i>S. frugiperda</i> expostos ao <i>Bt</i>	32
4 DISCUSSÃO	34
5 CONCLUSÃO	37
6 REFERÊNCIAS	38

**POTENCIAL INSETICIDA DE *Bacillus thuringiensis*
(BACILLALES: BACILLACEAE) SOBRE OVOS DE *Spodoptera frugiperda*
(SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

RESUMO – *Spodoptera frugiperda* é uma importante praga de diversas culturas agrícolas de interesse econômico como soja, milho e algodão. Apresenta notável capacidade de dispersão e polifagia. As táticas atuais de controle para o manejo da *S. frugiperda* são desafiadoras devido à sua alta capacidade de reprodução e mobilidade, ao rápido desenvolvimento de resistência em populações expostas aos inseticidas e plantas Bt e a sua grande adaptabilidade fisiológica e comportamental. Pesquisas visando contornar essa situação trazem ao mercado, produtos à base de microrganismos, dentre os microrganismos utilizados, a bactéria *Bacillus thuringiensis* vem apresentando excelentes resultados no controle de insetos alvo em suas fases larvais. No entanto não há informações sobre o efeito dessa bactéria em ovos de insetos, sendo uma fase importante para tomadas de ações de controle. Diante disso, este estudo objetivou analisar o potencial bioinseticida de Bt *aizawai* HD-68 e do produto comercial Xentari® em ovos de *S. frugiperda*, com avaliação dos seus efeitos sobre os embriões e lagartas neonatas provenientes de ovos tratados. Nos bioensaios foram utilizadas três concentrações do produto comercial Xentari®: 3,00, 4,25 e 5,00 g.L⁻¹ e uma padronizado única, na concentração de 3.10⁸ esporos.mL⁻¹, da suspensão de Bt *aizawai* HD-68. Massas de ovos de *S. frugiperda* foram mergulhadas por 30 segundos nas respectivas soluções. Após a imersão, as massas de ovos tratadas foram armazenadas em placas de Petri, forradas com papel filtro e reservadas em incubadora B.O.D., com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados. Como controle negativo (C⁻) foi utilizada a solução 0,05% Tween® 80, e como controle positivo (C⁺), água deionizada autoclavada. Cada tratamento consistiu em 10 repetições, com 20 ovos cada (n= 200 por tratamento). Observações foram realizadas a cada 24 horas após a instalação dos bioensaios e a inviabilidade dos ovos foi avaliada ao final de 72 horas. Para avaliação da viabilidade larval, lagartas neonatas de *S. frugiperda* que eclodiram dos ovos tratados foram coletadas e individualizadas em recipientes de 25 mm de diâmetro com fundo preenchido por dieta artificial. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, e consistiu em 5 repetições com 20 lagartas neonatas cada (n= 100 por tratamento). Os recipientes foram mantidos em incubadora B.O.D., com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas pelo período de 7 dias após eclosão das lagartas, sendo consideradas mortas aquelas que não apresentaram movimento. Para análise estrutural dos ovos foi realizada microscopia eletrônica de varredura e para observação dos efeitos do Bt nos embriões e lagartas neonatas foram realizadas análises histoquímicas, que demonstraram que ao final de 72 horas após os bioensaios todas as amostras tratadas com Bt possuem comprometimento do epitélio intestinal, sendo evidenciado por células epiteliais com vacuolizações citoplasmáticas e células degeneradas. Através da análise estatística foi constatada uma inviabilidade de

26,50 a 40,50% em ovos tratados com Bt, e a mortalidade larval foi superior a 70%, nas primeiras 24 horas após eclosão, sendo superior a 90% após 7 dias. Demonstrando que todas as concentrações de Bt utilizadas, inviabilizaram uma porcentagem dos ovos de *S. frugiperda*, podendo ser observados danos nos embriões, além de causar um elevado índice de mortalidade de lagartas neonatas que emergiram dos ovos tratados.

Palavras-chave: Bt, embriões, controle biológico, bioinseticida.

**INSECTICIDE POTENTIAL OF *Bacillus thuringiensis*
(BACILLALES: BACILLACEAE) ON EGGS OF *Spodoptera frugiperda*
(SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ABSTRACT - *Spodoptera frugiperda* is an important pest of several agricultural crops of economic interest such as soybeans, corn and cotton. It presents remarkable dispersion and polyphagy capacity. Current control tactics for managing *S. frugiperda* are challenging due to its high reproduction and mobility capacity, the rapid development of resistance in populations exposed to insecticides and Bt plants and its great physical and behavioral adaptability. Ongoing research to overcome this situation is bringing microorganism-based products to the market. Among the microorganisms used, the bacterium *Bacillus thuringiensis* has been showing excellent results in controlling target insects in their larval stages. However, there is no information about the effect of this bacteria on insect eggs, which is an important phase for taking control actions. Therefore, this study aimed to analyze the bioinsecticide potential of Bt *aizawai* HD-68 and the commercial product Xentari® on *S. frugiperda* eggs, evaluating their effects on embryos and neonatal caterpillars from treated eggs. In the bioassays, three concentrations of the commercial product Xentari® were used: 3.00, 4.25 and 5.00 g.L⁻¹ and a single standardized one, at a concentration of 3,10⁸ spores.mL⁻¹, of the Bt *aizawai* HD-68 suspension. Egg masses of *S. frugiperda* were immersed for 30 seconds in the respective solutions. After introduction, the treated egg masses were stored in Petri dishes, lined with paper and reserved in a B.O.D. incubator, with controlled temperature, humidity and photoperiod. As a negative control (C⁻) 0.05% Tween® 80 solution was used, and as a positive control (C⁺), autoclaved deionized water. Each treatment consists of 10 replications, with 20 eggs each (n= 200 per treatment). Observations were carried out every 24 hours after installing the bioassays and the non-viability of the eggs was assessed after 72 hours. To evaluate larval prediction, neonatal *S. frugiperda* caterpillars that hatched from treated eggs were collected and individualized in 25 mm diameter containers with a bottom filled with artificial diet. The experimental design used was randomized, and consisted of 5 replications with 20 neonatal caterpillars each (n= 100 per treatment). The containers were closed in the B.O.D. incubator, with temperature, humidity and photoperiod controlled. Mortality was assessed every 24 hours for a period of 7 days after the caterpillars closed, with deaths being considered those that did not occur during movement. For structural analysis of the eggs, scanning electron microscopy was performed and to observe the effects of Bt on embryos and neonatal caterpillars, histochemical analyzes were carried out, which demonstrated that at the end of 72 hours after the bioassays, all samples treated with Bt had compromised intestinal epithelium, being evidenced by epithelial cells with cytoplasmic vacuolation and degenerated cells. Through statistical analysis, an unviability of 26.50 to 40.50% was found in eggs treated with Bt, and larval mortality was greater than 70% in the first 24 hours after hatching, being greater than 90% after 7 days. Demonstrating that all concentrations of Bt used rendered a percentage of *S. frugiperda* eggs unviable, causing damage to the embryos, in addition to

causing a high mortality rate of neonatal caterpillars that emerged from the treated eggs.

Key words: Bt, embryos, biological control, bioinsecticide.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) desempenha um papel importante no controle dos principais insetos-praga, sendo definido como o uso de diversas táticas de controle, a fim de preservar e aumentar os fatores de mortalidade natural, mantendo a população da praga em níveis abaixo daqueles capazes de causar dano econômico. Táticas distintas são utilizadas em programas de MIP, como o uso de produtos químicos, tratamentos culturais e controle biológico por meio de parasitoides, predadores, nematoides e microrganismos, como as bactérias, vírus e fungos (Kogan, 1998).

Pesquisas que buscam desenvolver diferentes métodos de controle biológico aumentaram, e trazem ao mercado, produtos à base de microrganismos (CropLife Brasil, 2023). Dentre os microrganismos utilizados, a bactéria *Bacillus thuringiensis* mostra excelentes resultados no controle de insetos alvo em suas fases larvais, como por exemplo, coleópteros, dípteros, himenópteros e lepidópteros (Chattopadhyay *et al.*, 2017). Essa bactéria gram-positiva tem como característica a formação de esporos, e a produção de proteínas inseticidas Cry e Vip (Bravo *et al.*, 2007; Estruch *et al.*, 1996). Essas proteínas apresentam a característica de serem altamente específicas para seu inseto alvo, não oferecendo perigo para humanos, vertebrados e plantas, além de serem biodegradáveis (Bravo *et al.*, 2005).

Em lepidópteros as proteínas Cry agem após a ingestão de cristais por larvas suscetíveis, estes são solubilizados por proteases no pH alcalino do intestino médio do inseto, onde as proteínas Cry passam de pró-toxinas (inclusão cristalina) para proteínas resistentes a proteases (Bravo *et al.*, 2007). Essas proteínas se inserem nas membranas das células, provocando o vazamento de íons e a lise celular, que é a ruptura da membrana e liberação do conteúdo da célula. Esse conteúdo celular atinge o intestino médio do inseto, levando-o a interromper sua alimentação e, eventualmente, morrer por inanição. Com a lise celular, os esporos que estão presentes podem germinar e se multiplicar, resultando na morte do inseto por septicemia, uma infecção generalizada (Valicente *et al.*, 2018).

Desde o início da sua utilização, *B. thuringiensis* é uma importante ferramenta no controle de lepidópteros-praga, como a *Spodoptera frugiperda*

(Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida popularmente como “lagarta-do-cartucho” (Chakrabarty *et al.*, 2020; Plata-Rueda *et al.*, 2020). Esta espécie apresenta notável capacidade de dispersão, alta capacidade reprodutiva e polifagia, tornando-a uma importante praga de várias culturas, como soja (*Glycyne max*), milho (*Zea mays*) e algodão (*Gossypium hirsutum*) (Li *et al.*, 2023; Justus *et al.*, 2022). É capaz de ocasionar perdas de produtividade em torno de 17% a 38% na cultura do milho, comprometendo deste o rendimento até a comercialização dos grãos, o que a torna uma importante praga agrícola (Crespo *et al.*, 2021), com relatos de populações resistentes a moléculas de inseticidas químicos (Richardson *et al.*, 2020).

Dessa forma, a redução populacional de *S. frugiperda* visando minimizar danos mais severos à cultura, é essencial. Segundo Soares *et al.*, 2021, o uso de inseticidas químicos em ovos de *S. frugiperda* pode aumentar a eficiência do controle, pois inseticidas como azadiractina, lufenuron e deltametrina tem a capacidade de penetração nos ovos, e dessa forma interrompem o desenvolvimento embrionário e impedem a emergência de larvas (Correia *et al.*, 2013). Contudo, sabe-se que a utilização de moléculas químicas tende a apresentar riscos ao meio ambiente e ao ser humano, sendo necessário o desenvolvimento ou aperfeiçoamento de métodos de controle, estabelecendo um modelo agrícola menos dependente do uso de moléculas químicas e, conseqüentemente, mais sustentável (Lignani e Brandão, 2022).

A utilização de *B. thuringiensis* para o controle de *S. frugiperda* é uma estratégia muito difundida no meio agrícola (Sagar *et al.*, 2020). Contudo não há relatos da utilização desta bactéria para o controle de *S. frugiperda* em sua fase embrionária. Daquila *et al.*, 2021, relatou danos embrionários causados por *B. thuringiensis* em ovos de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae), através da penetração da bactéria por meio das micrópilas e aerópilas, orifícios presentes no cório dos ovos.

Portanto, diante da importância desta espécie e a busca por uma agricultura com maior qualidade socioambiental, este estudo foi desenvolvido com o intuito de gerar informações sobre o desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda* após tratamentos com *B. thuringiensis* e seus efeitos em lagartas neonatas provenientes de ovos tratados .

5 CONCLUSÃO

Dessa forma conclui-se que:

- Todas as concentrações de *B. thuringiensis* utilizadas resultaram na inviabilidade dos ovos de *S. frugiperda*, sendo a maior dose do produto comercial Xentari® a que obteve melhores resultados, chegando a 40,50% de inviabilidade.
- Todos os tratamentos com *B. thuringiensis* ocasionaram um alto índice de mortalidade de lagartas neonatas que emergiram dos ovos tratados. Este

resultado pode contribuir de forma positiva para reduzir as infestações iniciais de *S. frugiperda* no campo.

6 REFERÊNCIAS

Abbas A, Ullah F, Hafeez M, Han X, Dara MZN, Gul H, Zhao CR (2022) Biological Control of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Agronomy** 12:2704.

Adhikari K, Bhandari S, Dhakal L, Shrestha J (2020) Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A threat in crop production in Africa and Asia. **Peruvian Journal of Agronomy** 4:121–133.

Al-Dosary MM, Al-Bekairi AM, Moursy EB (2010) Morphology of the egg shell and the developing embryo of the Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver). **Saudi J Biol Sci** 17:177-83.

Alves SB, Moraes AS (1998) **Quantificação de inóculo de patógeno de insetos. Controle microbiano de insetos** 2:765-77.

Amaral FSdAe, Kanno RH, Nascimento ARBd, Guidolin AS, Omoto C (2023) Trends towards Lower Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to Teflubenzuron in Brazil: An Evidence for Field-Evolved Resistance. **Insects** 14:129.

Beament JW (1949) The penetration of insect egg shells; the properties and permeability of subchorial membranes during development of *Rhodnius prolixus*. **Stål. Bull Entomol Res** 39:467-88.

Berry C, Crickmore N (2017) Structural classification of insecticidal proteins - Towards an in silico characterisation of novel toxins. **J Invertebr Pathol** 142:16-22.

Botelho PSM (1985) Tabela de vida ecológica e simulação da fase larval da *Diatraea saccharalis* (Fabr.,1794)(Lepidoptera:Pyralidae).Piracicaba, (Tese de Doutorado) -ESALQ/USP 110.

Bravo A, Gill SS, Soberón M (2005) *Bacillus thuringiensis* Mechanisms and use. **Comprehensive Molecular Insect Science** 6:75-206.

Bravo A, Gill SS, Soberón M (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon** 49:423-435.

Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill SS, Soberón M (2011) *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochem Mol Biol** 41:423-431.

Campbell BE, Pereira RM, Koehler PG (2016) **Complications with Controlling Insect Eggs**. Insecticides Resistance Edited by Stanislav Trdan. 450.

Castro BMdCe, Martinez LC, Barbosa SG, et al. (2019) Toxicity and cytopathology mediated by *Bacillus thuringiensis* in the midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Sci Rep** 9:6667.

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

Crickmore N, Berry C, Panneerselvam S, Mishra R, Connor TR, Bonning BC (2021) A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. **Jornal of Invertebrate Pathology** 186:107-438.

Cônsoli FL, Kitajima EW, Parra JRP (1999). Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, 28(3), 211-231.

Da Silva KF, Spencer TA, Crespo AL, Siegfried, BD (2016) Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) field populations to the Cry1F *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein. **Florida Entomologist** 99:629-633.

Da-Peng J, et al (2020) Initial detections and spread of invasive *Spodoptera frugiperda* in China and comparisons with other noctuid larvae in cornfields using molecular techniques. **Insect Science** 27:780-790.

Daquila BV, Dossi FC, Moi DA, Moreira DR, Caleffe R, Pamphile JA, Conte H (2021) Bioactivity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs. **Pest Manag Sci** 77:2019-2028.

Dar SA, Khan ZH, Khan AA, Ahmad SB (2019) Biopesticides - Its Prospects and Limitations: An Overview. **Perspective in Animal Ecology and Reproduction** 296-314.

Day R, et al (2017). Fall Armyworm: Impacts and Implications for Africa. **Outlooks on pest management** 28:196–201.

de Freitas Bueno RCO, de Freitas Bueno A, Moscardi F, Postali Parra JR, Hoffmann-Campo CB (2011). Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, 67(2), 170-174.

Dequech STB, Camera C, Sturza VS, Ribeiro LP, Querio RB, Poncio S (2013) Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum. Agronomy** 35:295-300.

Donoughe S (2022) Insect egg morphology: evolution, development, and ecology. **Curr Opin Insect Sci** 50:100868.

Eschen R, et al (2021) Towards estimating the economic cost of invasive alien species to African crop and livestock production. **CABI Agriculture and Bioscience** 2:18.

Everest HH (1981) **Biology of Insect Eggs**. Oxford: Pergamon Press.

Fiteni E, et al (2022) Host-plant adaptation as a driver of incipient speciation in the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **BMC Ecology and Evolution** 22:133.

Fontolan, MV, Ferrareze RB, Signor A, de Souza Lima R (2022) ODS 2: Fome Zero e agricultura sustentável no contexto rural. **Segurança Alimentar e Nutricional** 29.

Francesca N, Alfonzo A, Lo Verde G, *et al.* (2015) Biological activity of *Bacillus* spp. evaluated on eggs and larvae of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. **Ann Microbiol** 65:477-485.

Glare TR, O'callaghan M (2000) ***Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety***. Chichester: John Wiley, p. 350.

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

Guedes CA, Teixeira VW, Dutra KA, Navarro DM, Cruz GS, Lapa Neto CJ, Teixeira AA (2020). Evaluation of *Piper marginatum* (Piperales: Piperaceae) oil and geraniol on the embryonic development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in comparison to formulated products. **Journal of economic entomology**, 113(1), 239-248.

Guzmán ED, Calleros *et al.* (2020) Nematicidal and ovicidal activity of *Bacillus thuringiensis* against the zoonotic nematode *Ancylostoma caninum*. **Experimental Parasitology** 218:107982.

Hilker M, Salem H, Fatouros NE (2023) Adaptive Plasticity of Insect Eggs in Response to Environmental Challenges. **Annu Rev Entomol** 23:451-469.

Horta AB, Pannuti LER, Baldin ELL, Furtado EL (2017) Toxinas inseticidas de *Bacillus thuringiensis*. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria** 4:737-774.

Junqueira LCU, Junqueira LMMS (1983). **Técnicas básicas de citologia e histologia**.

Kenis M (2023) Prospects for classical biological control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in invaded areas using parasitoids from the Americas. **Journal of Economic Entomology** 116:31-341.

Kenko DBN, Ngameni NT, Awo ME, Njikam NA, Dzemo WD (2023) Does pesticide use in agriculture present a risk to the terrestrial biota? **Sci Total Environ** 25:861.

Legwaila MM, Munthali DC, Kwerepe BC, Obopile M (2015) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (var. *kurstaki*) Against Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) Eggs and Larvae on Cabbage Under Semi-Controlled Greenhouse Conditions. **Int J Insect Sci** 16:39-45.

Matos MM (2007) Seletividade de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 de agroquímicos utilizados na citricultura paulista para o controle do bicho-furão-dos-citrus *Gymnandrosoma aurantianum* Lima, 1927. **Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**.

Monnerat AT, Machado MP, Vale BS, Soares MJ, Lima JB, Lenzi HL, Valle D (2002) Anopheles albitarsis embryogenesis: morphological identification of major events. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 97:589-596.

Nagoshi RN (2009). Can the amount of corn acreage predict fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation levels in nearby cotton? **Journal of Economic Entomology**, 102(1), 210-218.

Panfili KA (2008) Extraembryonic development in insects and the acrobatics of blastokinesis. **Developmental Biology** 313:471-491.

Paredes-Sánchez FA, Rivera G, Bocanegra-García V, Martínez-Padrón HY, Berrones-Morales M, Niño-García N, Herrera-Mayorga V (2021) Advances in Control Strategies against *Spodoptera frugiperda*. **A Review. Molecules** 26:5587.

Pires LM, Marques EJ, Wanderley-Teixeira V, Teixeira Á A, Alves LC, Alves ESB (2009). Ultrastructure of *Tuta absoluta* parasitized eggs and the reproductive potential of females after parasitism by *Metarhizium anisopliae*. **Micron**, 40(2), 255-261.

Qi GJ, *et al.* (2021) Source Regions of the First Immigration of Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Invading Australia. **Insects** 12:1104.

Rolim AASG, *et al.* (2013) Morphological and Molecular Characterization of the Eggs of Some Noctuid Species Associated with Soybean in Brazil. **Annals of the Entomological Society of America** 106:643-651.

Sagar GC, Aastha B, Laxman K (2020) An introduction of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) with management strategies: a review paper. **Nippon Journal of Environmental Science** 4:1010.

Sanchez-Bayo F, Wyckhuys KAG (2019) Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. **Biological Conservation** 232:8-27.

Siviter H, Bailes EJ, Martin CD, *et al.* (2021) Agrochemicals interact synergistically to increase bee mortality. **Nature** 596:389–392.

Tabashnik BE, Jeffrey FA, Yves C (2023) Global Patterns of Insect Resistance to Transgenic Bt Crops: The First 25 Years. **Journal of Economic Entomology** 116:297-309.

Tay WT, Meagher Jr RL, Czapak C, Groot AT (2023) *Spodoptera frugiperda*: Ecology, Evolution, and Management Options of an Invasive Species. **Annu Rev Entomol** 68:299-317.

Telfer WH (2009) Egg formation in Lepidoptera. **Journal of Insect Science** 9:50.

Tepa-Yotto GT, Chinwada P, Rwomushana I, Goergen G, Subramanian S (2022) Integrated management of *Spodoptera frugiperda* 6 years post detection in Africa: a review. **Curr Opin Insect Sci** 52:100928.

Vachon V, Laprade R, Schwartz JL (2012) Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: a critical review. **J Invertebr Pathol** 111:1-12.

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