

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**INFLUÊNCIA DA CHUVA NA EFICÁCIA DE *Bacillus thuringiensis* ASSOCIADO A
ADJUVANTES NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM ALGODÃO**

Cicero Antônio Mariano Dos Santos
Engenheiro Agrônomo

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**INFLUÊNCIA DA CHUVA NA EFICÁCIA DE *Bacillus thuringiensis* ASSOCIADO A
ADJUVANTES NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM ALGODÃO.**

Cicero Antônio Mariano Dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Da Costa Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Antônio Polanczyk

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

2019

S237i

Santos, Cicero Antonio Mariano dos

Influência da chuva na Eficácia de *Bacillus thuringiensis* Associado a Adjuvantes no Controle de *Spodoptera frugiperda* em Algodão / Cicero Antonio Mariano dos Santos. -- Jaboticabal, 2019

98 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Marcelo da Costa Ferreira

Coorientador: Ricardo Antonio Polanczyk

1. Bt bioinseticidas. 2. Controle microbiano. 3. MIP. 4. Mistura em tanque. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: INFLUÊNCIA DA CHUVA NA EFICÁCIA DE *Bacillus thuringiensis* ASSOCIADO A ADJUVANTES NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM ALGODÃO


AUTOR: CÍCERO ANTONIO MARIANO DOS SANTOS


ORIENTADOR: MARCELO DA COSTA FERREIRA

COORDENADOR: RICARDO ANTONIO POLANCZYK

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. MARCELO DA COSTA FERREIRA
Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. GUILHERME DUARTE ROSSI
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Dra. POLIANA CAROLINA ALEIXO
Departamento de Pesquisa/Oxiquímica Agrociência Ltda / Jaboticabal/SP


Prof. Dr. OTAVIO JORGE GRIGOLI ABI SAAB
Agronomia / Universidade Estadual de Londrina

Jaboticabal, 06 de dezembro de 2019

DADOS DO AUTOR

CICERO ANTONIO MARIANO DOS SANTOS - filho de Maria de Fátima Mariano da Cruz e Ednaldo Pereira dos Santos, nasceu no distrito do Carmo em São José do Belmonte, Pernambuco, Brasil, no dia 20 de maio de 1989. Em fevereiro de 2009 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal do Ceará, câmpus Cariri, concluindo-o em julho de 2013. Foi bolsista de iniciação acadêmica de janeiro a outubro de 2010 pela Universidade Federal do Ceará. Foi Bolsista de iniciação científica no laboratório de Entomologia Agrícola da UFC-Cariri de novembro de 2010 a julho de 2013 da Universidade Federal do Ceará. Em agosto de 2013 iniciou os estudos na pós-graduação no Programa de Pós-graduação em Entomologia pela Universidade Federal de Viçosa em Viçosa, Minas Gerais, Brasil, obtendo o título de mestre em julho de 2015. Em março de 2016 iniciou o doutorado em entomologia agrícola pelo programa de pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. Submetendo-se a defesa de tese em dezembro de 2019.

“Talvez eu não consegui fazer o melhor, mas lutei pelo melhor a ser feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

*À minha mãe Maria de Fátima Mariano da Cruz,
por todo amor, carinho e confiança depositada
em mim e minha irmã Rita de Cássia, pelo
companheirismo e carinho, porque estando
longe de vocês, vocês sempre estiveram
presentes em meu coração.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, presente em todos os momentos e por ter me concedido força, humildade e sabedoria nos momentos difíceis.

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

Ao meu orientador Professor Dr. Marcelo da Costa Ferreira, pelos ensinamentos durante o curso de pós-graduação, e eficiência na orientação desta pesquisa.

Ao meu coorientador Professor Dr. Ricardo Antonio Polanczyk pela excelente coorientação prestada durante a realização e condução da pesquisa e escrita dos artigos científicos.

À minha Mãe e Irmã pelos conselhos e por sempre me apoiarem em todas as minhas decisões e estarem ao meu lado nos momentos difíceis.

Aos Profs. Drs. Sergio Antonio De Bortoli e Raphael de Campos Castilho por concederem estrutura de pesquisa para realização de alguns experimentos da Tese.

Ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Junior pela concessão de material necessário para manutenção de criação massal de insetos utilizados nos meus experimentos.

Ao Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros do departamento de Ciências Exatas da Unesp FCAV pela valiosa ajuda nas análises estatísticas realizadas nessa pesquisa.

Dr. Giuliano Pauli da empresa SUPERBAC Biotechnology Solutions pelo fornecimento das amostras dos produtos utilizados nessa pesquisa.

Aos colegas e amigos de laboratório Núcleo de Estudos e Desenvolvimento em Tecnologia de Aplicação (NEDTA) Dieimisson P. Almeida, Jeruska M. A. Brenha, Fabiano Griesang, Renata T. S. Santos, Jaqueline F. D. Vechia, Bruno O. Liberto, Leonardo F. Zechin, Gabriela Pelegrini e Ana B. D. Spadoni pela ajuda dos experimentos durante a condução da minha pesquisa.

Aos colegas e amigos do Laboratório LCMAP Kelly, Joacir, Stéfane e Giovani.

Aos irmãos da República Xicreti Fabricio, Thalís, Felipe Bardela, Vitor, Vitor Bardela, João Pedro, João, Rafael, Danilo, Yousmel, Luiz e Marcos Felix pelos bons momentos vividos nessa irmandade.

Aos companheiros da pós-graduação em Entomologia Agrícola.

Aos técnicos de laboratório da Fitossanidade por algum momento auxiliarem na condução dos experimentos da Tese.

Aos amigos que fiz durante essa temporada em Jaboticabal, Rodrigo, Beatriz, Adriana, Adriane, Juliana, Maiara, Renan, Mateus, Livia e Leticia.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1.INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A cultura do algodão	3
2.2 <i>Spodoptera frugiperda</i>	5
2.3 <i>Bacillus thuringiensis</i>	7
2.4 Efeito da chuva na persistência de Bt	9
2.5 Adjuvantes	10
2.6 Compatibilidade de Bt e Adjuvantes.....	13
3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 2 – Efeito da adição de adjuvantes nas características físico-químicas de calda Bt bioinseticida.....	26
Resumo	26
Introdução.....	27
Resultados	28
Espectro do tamanho de gotas de pulverização.....	28
Tensão superficial e ângulo de contato	28
Potencial hidrogeniônico (pH) e Condutividade elétrica (C.E.)	29
Discussão	29
Conclusões	31
Métodos.....	31
Espectro do tamanho das gotas de pulverização.....	31
Tensão superficial e ângulo das gotas em superfície de folhas de algodão.....	32
Estabilidade de calda, pH e condutividade elétrica.....	32
Análise estatística	32
References	32
Agradecimentos	35

CAPÍTULO 3 – Compatibilidade de bioinseticidas a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> e adjuvantes visando ao controle de <i>Spodoptera frugiperda</i> em laboratório.....	41
Resumo	41
1. Introdução.....	42
2. Material e Métodos	44
2.1 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>.....	44
2.2 Produtos utilizados no experimento.....	45
2.3 Testes de compatibilidade do Dipel® WP e Dipel® SC com os adjuvantes.....	46
2.4 Classificação de compatibilidade entre bioinseticidas e adjuvantes	47
2.5 Eficiência do Bt em diferentes concentrações para o controle de <i>Spodoptera frugiperda</i>	47
2.6 Estatística utilizada nos experimentos	48
3. Resultados	49
3.1 Efeito dos tratamentos no crescimento vegetativo.....	49
3.2 Efeitos dos tratamentos na esporulação.....	49
3.3 Classificação de compatibilidade dos adjuvantes à Bt bioinseticidas	50
3.4 Eficiência dos Bt tratamentos para <i>Spodoptera frugiperda</i>	51
4. Discussão	54
5. Conclusões	58
6. Agradecimentos	59
7. Referências Bibliográficas	59
CAPÍTULO 4 - Influência da chuva na eficácia de <i>Bacillus thuringiensis</i> associado a adjuvantes no controle de <i>Spodoptera frugiperda</i> na cultura do algodão.....	66
Resumo	66
Abstract.....	67
1. Introdução.....	68
2. Metodologia	69
2.1 Plantio do algodoeiro	69
2.2 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>.....	69
2.3 Produtos utilizados no experimento.....	70
2.4 Pulverização dos Bt bioinseticidas.....	70

2.5 Aplicação de chuva artificial.....	71
2.6 Viabilidade e persistência de esporos.....	71
2.7 Atividade larvicida de <i>Bacillus thurigiensis</i>	71
2. 8 Análises estatísticas	72
3. Resultados	72
5. Conclusões	79
6. Agradecimentos.....	79
7. Referências	80
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	84

INFLUÊNCIA DA CHUVA NA EFICÁCIA DE *Bacillus thuringiensis* ASSOCIADO A ADJUVANTES NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM ALGODOEIRO.

RESUMO - O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) tem grande relevância para a economia mundial. Dentre os principais fatores limitantes da produção estão os problemas fitossanitários, que ocorrem em todas as fases da cultura. O inseto *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é importante devido a sua capacidade de causar danos nas folhas e maçãs do algodoeiro, muitas vezes requerendo a aplicação frequente de inseticidas para o seu controle. Em geral são utilizados inseticidas químicos. Entretanto, o uso de bioinseticidas têm aumentado consistentemente, principalmente aqueles à base de *Bacillus thuringiensis*, chamados de Bt bioinseticidas. Fatores abióticos como a chuva também interferem na eficiência de aplicações de Bt bioinseticidas e conseqüentemente no controle do organismo alvo. Uma alternativa que pode dar proteção ao Bt mediante chuva é a adição de adjuvantes a calda. Porém, pouco se sabe o quanto a associação do Bt com adjuvantes afeta no crescimento vegetativo, esporulação e persistência da bactéria e o controle. Portanto é de extrema importância à compreensão das interações físico-químicas e biológicas da mistura de Bt bioinseticidas e adjuvantes. Neste contexto, objetivou-se avaliar o efeito da adição de adjuvantes nas características físico-química e biológicas dos Bt bioinseticidas nas formulações Dipel® WP e Dipel® SC submetidas à chuva artificial para o controle de *S. frugiperda* em plantas de algodão. Para simular a chuva, foram utilizadas as lâminas de chuva artificial de 20mm aplicada uma hora após a aplicação dos tratamentos e os tratamentos controle sem chuva. Para a avaliação de contagem de esporos com e sem efeito de chuva, foram utilizados como amostradores, uma disco foliar da parte mediana da planta. Para efeito de controle dos tratamentos, discos foliares de 10,25 cm² foram oferecidos a lagartas até segundo instar de *S. frugiperda*. A mortalidade larval foi registrada até 96 horas do início do experimento para cada período avaliado. Para avaliação dos parâmetros biológicos de Bt bioinseticidas e adjuvantes foram realizados testes de compatibilidade biológica, aferindo o crescimento vegetativo das colônias, esporulação e testes de eficiência de controle de *S. frugiperda* com suspensões de Bt nas concentrações de 10⁶ e 3x10⁸ obtidas das raspagens das colônias. Por fim, foram determinadas características de espectro de tamanho de gotas das caldas, tensão superficial, ângulo de contato e estabilidade de calda, pH e condutividade elétrica. Em relação aos parâmetros físico-químicos da mistura das formulações Dipel® WP e Dipel® SC e adjuvantes, os maiores tamanho de gotas e menor susceptibilidade à deriva foram observadas nas caldas da formulação WP, apresentando também os menores ângulos de contato e tensão superficial de gotas. A adição do adjuvante LI acarretou menores valores de pH e maiores de condutividade elétrica em todos os períodos de descanso avaliados. Nos testes de compatibilidade biológica, foi observado o maior crescimento vegetativo de colônias, números de esporos e mortalidade de *S. frugiperda* na associação de LI e Bt bioinseticidas. A aplicação de chuva artificial proporcionou uma redução de até 50% no número de esporos e controle de *S. frugiperda*. A adição do adjuvante LI nas caldas de Bt bioinseticidas proporcionou em maiores quantidades de esporos e controle de

S. frugiperda. A persistência de esporos e controle de *S. frugiperda* é afetada 24 horas após a aplicação dos Bt bioinseticidas associados ou não a adjuvantes. Nos testes de persistência de esporos e controle em condições de campo, as caldas Bt bioinseticidas com adição do LI e Bt bioinseticidas isoladas proporcionaram as maiores quantidades de esporos e controle de *S. frugiperda* desde 1 hora após a aplicação dos tratamentos à 72 horas após a aplicação das caldas, porém foi observado uma redução gradativa na contagem de esporos e taxa de controle no decorrer do tempo de avaliação.

Palavras-chave: Bt bioinseticidas, controle microbiano, MIP, mistura em tanque

INFLUENCE OF RAIN ON THE EFFICACY OF *Bacillus thuringiensis* ASSOCIATED WITH ADJUVANTS ON THE CONTROL OF *Spodoptera frugiperda* IN COTTON.

ABSTRACT - Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) has great relevance to the world economy. Among the main limiting factors of production are the phytosanitary problems that occur at all stages of the crop. The insect *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) is important because of its ability to cause damage to cotton leaves and apples, often requiring insecticides to be applied frequently for its control. In general, chemical insecticides are used. However, the use of bioinsecticides has consistently increased, especially those based on *Bacillus thuringiensis*, called Bt bioinsecticides. Abiotic factors such as rain also interfere with the efficiency of Bt applications and consequently in the control of the target organism. An alternative that can protect Bt in the rain is the addition of adjuvants to the syrup. However, little is known about how the association of Bt with adjuvants affects vegetative growth, sporulation and bacterial persistence and control. Therefore, it is extremely important to understand the physicochemical and biological interactions of the mixture of Bt bioinsecticides and adjuvants. In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of the addition of adjuvants on the physicochemical and biological characteristics of Bt bioinsecticides in the formulations Dipel® WP and Dipel® SC submitted to artificial rain to control *S. frugiperda* in cotton plants. To simulate the rain, the 20mm artificial rain blades applied one hour after the application of the treatments and the control treatments without rain were used. For the evaluation of spore count with and without rain effect, a leaf disc of the middle part of the plant was used as samplers. For treatment control purposes, leaf disks of 10.25 cm² were offered to caterpillars up to the second instar of *S. frugiperda*. Larval mortality was recorded up to 96 hours from the start of the experiment for each period evaluated. Biological compatibility tests were performed to evaluate the biological parameters of Bt bioinsecticides and adjuvants, measuring the vegetative growth of the colonies, sporulation and control efficiency tests of *S. frugiperda* with Bt suspensions at 10⁶ and 3x10⁸ concentrations obtained from colony scraping. Finally, the characteristics of the droplet size spectrum, surface tension, contact angle and spray stability, pH and electrical conductivity were determined. Regarding the physicochemical parameters of the mixture of formulations Dipel® WP and Dipel® SC and adjuvants, the largest droplet size and lower susceptibility to drift were observed in the WP formulation mixtures, also presenting the lowest contact angles and surface tension of the droplets. Addition of LI adjuvant resulted in lower pH values and higher electrical conductivity in all rest periods evaluated. In the biological compatibility tests, the highest vegetative growth of colonies, spore numbers and mortality of *S. frugiperda* was observed in the association of LI and Bt bioinsecticides. The application of artificial rain provided a

reduction of up to 50% in the number of spores and control of *S. frugiperda*. Addition of L1 adjuvant to Bt bioinsecticide spray provided greater spore and control of *S. frugiperda*. Spore persistence and control of *S. frugiperda* is affected 24 hours after application of Bt bioinsecticides with or without adjuvants. In spore persistence tests and control under field conditions, Bt bioinsecticides with addition of LI and Bt isolated bioinsecticides provided the highest spore and *S. frugiperda* control levels for 1 hour after treatment application at 72 hours after treatment. However, a gradual reduction in the spore count and control rate was observed over the evaluation time.

Keywords: Bt bioinsecticides, microbial control, MIP, tank mix

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma planta perene e tropical, cultivado em mais de 100 países (Hedge et al., 2011). A cultura tem relevância para a economia mundial, principalmente devido à obtenção de fibras (pluma), óleo e farinha para alimentação animal (Bakhsh et al., 2015; Constable e Blange, 2015; Echer et al., 2010). O algodão é uma das principais commodities agrícolas brasileiras e possui diversos produtos e subprodutos com demanda crescente no mundo, além de abrigar grande quantidade de extensa cadeia produtiva (Macêdo et al., 2015). O Brasil é o quinto maior produtor mundial, o quarto lugar em exportação e o primeiro em produtividade em regime de sequeiro (Carvalho et al., 2015). Os estados do Mato Grosso e Bahia são responsáveis por 84,69% da produção brasileira (Conab, 2019).

A planta do algodão hospeda um complexo de pragas, que ocorrem desde as raízes até os capulhos. Essas pragas apresentam elevada capacidade reprodutiva e ampla dispersão, as quais infestam rapidamente as lavouras ocasionando danos, seja na queda da produtividade ou afetando características importantes da semente e da fibra (Santos, 2011).

Dentre as pragas, a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é a principal praga do milho (*Zea mays* L.) e do algodoeiro nos países da América do Norte e do Sul (Pogue, 2002; Martinelli et al., 2006). Esse inseto têm importância nas principais regiões produtoras de algodão do país (Fernandes et al., 2002; Santos et al., 2003), devido principalmente as suas características biológicas, como polifagia (Barros et al., 2010), alta capacidade reprodutiva e grande capacidade de dispersão de adultos (Nagoshi et al., 2015) e múltiplas gerações por ano (Fitt et al., 2006; Farias et al., 2014), o que favorece em altas taxas de infestação dessa praga em milho e algodão ao longo do ano (Horikoshi et al., 2016).

Recentemente, essa praga foi introduzida na África, na Ásia e agora está se espalhando rapidamente pelo continente, representando uma ameaça significativa à segurança alimentar (Stokstad, 2017; Physorg, 2018). O inseto ocasiona desfolha e

destruição de estruturas reprodutivas do algodoeiro (Santos, 2011; Ramalho et al., 2011), o que pode causar sérios danos e prejuízos aos produtores.

Uma tática de controle desse lepidóptero-praga é o uso de algodão transgênico que expressa proteínas inseticidas da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), (Greenberg et al., 2010, Akin et al., 2011). No entanto, em várias regiões do mundo, *S. frugiperda* vem apresentando resistência a essa tecnologia (Bernardi et al., 2015; Horikoshi et al., 2019). A evolução da resistência em populações de *S. frugiperda* é a principal ameaça à sustentabilidade das variedades e algodão Bt (Horikoshi, et al., 2016).

Outra tática que vem crescendo em utilização para o controle desta praga com menor risco de resistência é a aplicação de produtos formulados à base de *B. thuringiensis* nas plantas de algodão. O bioinseticida possui como principais fatores de virulências os cristais, que contém as toxinas Cry, e também os esporos, que tem atividade inseticida (Crickmore, 2006; Fiuza et al., 2017). A presença destes dois fatores de virulência reduz a velocidade da evolução da resistência.

Para isso torna-se indispensável uma aplicação correta de produtos fitossanitários proporcionando um controle eficiente (Ramos et al., 2010). Uma interação de fatores é necessária para se ter sucesso na aplicação de produtos fitossanitários, como: seleção das pontas, ajuste do volume de calda, parâmetros operacionais, condições ambientais favoráveis e momento correto da aplicação. Além disso, deve-se levar em consideração as recomendações agrônômicas de cada produto (Ferreira et al., 2013; Antuniassi e Baio, 2008) e os fatores abióticos durante uma aplicação de produtos fitossanitários que comprometem à eficácia do tratamento.

Dentre os fatores abióticos, a chuva atua na eficácia dos inseticidas utilizados para o controle de pragas, uma vez que pode retirar os produtos da superfície onde se depositaram. A sazonalidade das precipitações no Brasil desafiam as pulverizações nas culturas (Hulbert et al. 2011), em graus variáveis de acordo com a sua quantidade e intensidade, com o intervalo entre a aplicação do produto e a precipitação e com as características da superfície das folhas da cultura tratada (Hulbert et al., 2011).

As perdas de agrotóxicos por chuvas tornam mais onerosos os sistemas de cultivo, uma vez que a redução no controle pode requerer a uma nova aplicação, o

que aumenta os custos de produção e os riscos de contaminação (Rice et al., 2016; Doppler et al., 2014; Stehle et al., 2011; Leu et al., 2010). Essas perdas por chuva podem ultrapassar até 50% do total de depósito de produtos e biológicos aplicado nas plantas (Melo et al., 2015; Sundaram e Sundaram (1996)), em outros casos, essa perda pode chegar até 80% do volume aplicado (Hunsche et al., 2011).

Visando-se aumentar o depósito de esporos e cristais de Bt nas folhas, pode-se adicionar adjuvantes nas caldas. No entanto, há poucos estudos sobre o efeito da adição de adjuvantes à calda de *B. thuringiensis* quanto à sua viabilidade e persistência sob condições ambientais adversas, ou se essas substâncias podem colaborar com a eficiência de controle (Dito et al., 2016; Noosidum et al., 2016; Moreira et al., 2013).

No Brasil, ainda é pouco estudado o efeito da chuva na eficiência da aplicação de agrotóxicos e se a adição de adjuvantes a calda Bt pode causar efeitos antagônicos ou sinérgicos. Desta forma torna-se de extrema importância a compreensão das propriedades físico-químicas de caldas inseticidas, como: cobertura, depósito e efeito biológico da molécula após ocorrência de chuvas e associação com adjuvantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do algodão

O algodão é uma planta pertencente à família das malváceas, que apresenta 85 gêneros e 1.500 espécies distribuídas mundialmente (Joly, 1983). O gênero *Gossypium* (Lima et al., 2014) possui 52 espécies de ampla distribuição geográfica. Entretanto, apenas quatro espécies do gênero são cultivadas e exploradas economicamente. No Brasil são encontradas três espécies de algodoeiro, *G. hirsutum* (L.), *G. barbadense* (L.) e *G. mustelinum* (Mier), que são cultivadas para obtenção de fibras (Brubaker et al., 1999).

A cultura do algodoeiro se desenvolve em média em 150 dias para espécie *G. hirsutum* e 225 dias para a espécie *G. barbadense*, do plantio até a colheita, embora haja diferenças na duração do ciclo entre as variedades. Ambas as espécies necessitam de no mínimo 2.050 graus-dias para o início de abertura dos capulhos (Ogtr, 2008). O agroecossistema brasileiro apresenta condições de clima favorável,

com estações seca e chuvosa bem definidas e luminosidade uniforme, tornando o algodoeiro uma cultura relevante (Fontes et al., 2006).

A cultura se destaca como uma importante fonte de recursos renováveis, produzindo a fibra de origem vegetal mais consumida pela indústria têxtil mundial (Percival et al., 1999; Ulloa et al., 2006). Além do valor agregado para indústria têxtil, outros produtos do algodão são considerados de importância, tais como as sementes (caroços), empregados na alimentação animal, em forma de torta ou na produção de óleo comestível, constituindo-se produtos bioenergéticos (Alves et al., 2008), enquanto que a fibra de baixa qualidade é utilizada na fabricação de feltro, enchimento de colchão e papel especial, já a celulose processada é utilizada na fabricação de pasta de dente, baton, sorvete e outras aplicações na indústria química (Wakelyn et al., 2007; Oecd, 2010). No Brasil, o algodão é considerado uma das culturas mais importantes do agronegócio, gerando milhares de empregos diretos e indiretos em toda a sua cadeia produtiva (Valdez, 2011).

No Brasil a área plantada de algodão ocupou quase 1.600,000 hectares produzindo um total de 2.676,000 toneladas de pluma, sendo os estados do Mato Grosso e Bahia os maiores produtores da cultura contabilizando 84,69% da produção (Conab, 2019). Essa produtividade se dá pela alta tecnologia empregada na cultura nos últimos anos, tais como, colheita mecanizada, que proporcionou o cultivo em grandes áreas e o melhoramento genético, originando novos cultivares com maiores índices de produtividade, o que possibilitou a migração de áreas tradicionalmente produtoras para o cerrado brasileiro (Conab, 2011).

No entanto, a cultura atrai e habita um complexo de pragas que são considerados um dos principais fatores que contribuem para a redução da produtividade (Wu e Guo, 2005). Essas pragas apresentam elevada capacidade reprodutiva e ampla dispersão, as quais infestam rapidamente as lavouras ocasionando redução na produção de até 30% (Michelotto et al., 2013), seja na queda da produtividade ou afetando características importantes da semente e da fibra (Santos, 2011). Dentre as pragas que atacam a cultura, A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas do algodoeiro nos países da América do Norte e do Sul (Pogue, 2002; Martinelli et al., 2006) devido a voracidade (Barros et al., 2010; Tavares et al., 2010), alta

capacidade reprodutiva e dispersão de adultos (Nagoshi et al., 2015), variabilidade entre populações (Monnerat et al., 2006) e múltiplas gerações por ano (Farias et al., 2014) proporcionando altas infestações no campo.

2.2 *Spodoptera frugiperda*

A família Noctuidae inclui o maior número de espécies de importância agrícola da Ordem Lepidoptera (Specht et al., 2004). Dentre dessa família, *S. frugiperda* é uma das principais praga em diversas culturas, podendo também utilizar de fontes alternativas de alimento e abrigo como as culturas do alface, almeirão, amendoim, batata doce, berinjela, café, citrus, couve, feijão, maracujá entre outras (Silva et al., 1968), bem como desenvolver em plantas de famílias taxonomicamente distintas (Barros et al., 2010). Trata-se de uma espécie nativa das Américas distribuída desde o norte da Argentina até o sul dos Estados Unidos, incluindo a América Central e Caribe (Sparks, 1979; Ashley et al., 1989; Nagoshi e Meagher, 2008). Recentemente, foi introduzida na África, na Ásia e agora está se espalhando rapidamente pelo continente, representando uma ameaça significativa à segurança alimentar (Stokstad, 2017; Physorg, 2018).

Spodoptera frugiperda apresenta desenvolvimento holometabólico, ou seja, compreende as fases de ovo, larva, pupa e adultos (Luginbill, 1928). Os adultos são mariposas de coloração cinza-escuro com asas anteriores mosqueadas e posteriores esbranquiçadas, com bordas acinzentadas, sua envergadura pode variar de 35 a 45 mm (King e Saunders, 1984). Os machos se diferenciam das fêmeas por apresentarem asas anteriores com duas manchas mais claras, o que não é presente nas fêmeas (Cruz, 1995). Os adultos têm hábito noturno com pouca atividade durante o dia.

A atividade das mariposas se inicia próximo ao pôr-do-sol, movimentando-se perto das plantas hospedeiras mais favoráveis à sua alimentação e oviposição (Cruz, 1995). A longevidade dos adultos dura em média 12 dias, sendo que o período de oviposição se inicia no terceiro ou quarto dia após a emergência das fêmeas (Cruz, 1995). Entretanto, a duração dos parâmetros biológicos dos adultos é afetada pela temperatura e o substrato alimentar (Luginbill, 1928).

Após o acasalamento, as fêmeas realizam a oviposição preferencialmente na face abaxial das folhas (Boiça Júnior et al., 2013). O número de posturas é muito variável, podendo chegar até 13 posturas por fêmea (Cruz, 1995). As massas são irregulares e contêm de 30 a 300 ovos cada (King e Saunders, 1984). Os ovos inicialmente têm coloração verde-clara, após 12 horas da oviposição apresentam coloração alaranjada e escuros próximos à eclosão. O período de incubação é de três dias em uma temperatura de 25°C (Cruz, 1995). Todavia, esse período é influenciado pela temperatura (Luginbill, 1928; Labrador, 1967), umidade relativa e planta hospedeira (Cruz, 1995).

A fase larval de *S. frugiperda* apresenta duração média de 23 dias divididos em seis ínstar (Cruz, 1995). Em milho, a duração do período larval pode variar de 12,0 a 17,8 dias (Viana e Potenza, 2000; Sá et al., 2009). Em plantas de soja, sorgo granífero, sorgo forrageiro e braquiária, a duração média da fase larval é de 14,0 dias (Sá et al., 2009). O período larval também pode variar dependendo dos cultivares de cada cultura (Veloso, 2010).

As lagartas recém-eclodidas são esbranquiçadas, tornando-se esverdeadas após alimentação, atingindo até 1,9 mm ao final do primeiro ínstar. No segundo ínstar, as lagartas apresentam um sombreamento marrom no dorso, e medem de 3,5 a 4,0 mm de comprimento. Passando ao terceiro ínstar, adquirem coloração marrom-clara no dorso e esverdeada ventralmente, com linhas dorsais e subdorsais brancas. No 4º ínstar as lagartas atingem 10 mm de comprimento e apresentam coloração marrom-escura no o dorso e cápsula cefálica marrom avermelhada. Durante o quinto ínstar, as lagartas são semelhantes às do estágio anterior, todavia, são mais escuras e maiores. Por fim, no sexto ínstar, as lagartas têm o dorso marrom-acinzentado e as partes ventral e subventral esverdeadas, com manchas marrom-avermelhadas nessa última região, e podem medir até 35,0 mm de comprimento (Cruz, 1995).

Quando as lagartas estão completamente desenvolvidas, descem ao solo onde inicialmente ficam um período sem alimentação, denominado de pré-pupa. Após um ou dois dias se transformam em pupas (Cruz, 1995; Ávila et al., 1997), as quais são inicialmente verde-claras com tegumento transparente. Com o decorrer do tempo, se tornam marrom-avermelhadas, e escurecem progressivamente até a emergência dos

adultos variando de 13 a 16 mm de tamanho (Cruz, 1995). O estágio pupal pode variar de 8 a 25 dias, de acordo com a temperatura (Miranda, 2006).

O ciclo completo de desenvolvimento de *S. frugiperda* é influenciado pela cultura e cultivar onde ela se alimenta sendo de aproximadamente 30 dias na cultura do milho (Cruz, 1995), 24,2 a 26,3 dias em plantas de soja (Veloso, 2010) e de 26,6 a 32,5 dias quando criada em diferentes cultivares de algodoeiro (Campos, 2008). O número de gerações de *S. frugiperda* que ocorre durante o ano é dependente do hábitat, podendo haver seis ou mais gerações podendo ocorrer no ano todo caso tenha oferta de alimento (Boiça Júnior et al., 2006).

Esta praga ocasiona desfolha e destruição de estruturas reprodutivas do algodoeiro (Santos, 2011; Ramalho et al., 2011), diminuindo sua capacidade fotossintética e conseqüentemente sua produção, causando sérios prejuízos aos produtores de algodão. Seu controle é realizado por aplicações de inseticidas químicos, no entanto, a praga tem mostrado resistência a diversas moléculas químicas (Gutiérrez-Moreno et al., 2019; Nascimento et al., 2016; Carvalho et al., 2013). Por conta disso, o uso de bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* vem crescendo e ganhando destaque no controle de lepidópteros praga, sendo uma alternativa de controle eficiente aos químicos (Fiuza et al., 2017; Sanahuja et al., 2011)

2.3 *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria entomopatogênica gram-positiva que está presente em solos de áreas cultivadas, áreas desérticas, ambientes aquáticos, superfície e interior de plantas, restos vegetais, insetos e pequenos mamíferos mortos, teias de aranha, grãos armazenados e locais inabitados (Polanczyk, 2015). Durante sua fase de vegetativa e de esporulação Bt produz toxinas, especialmente as Vip e Cry (Chakroun et al., 2016; Palma et al., 2014), que são tóxicos para diversas ordens de insetos, ácaros, nematoides e protozoários (Crickmore, 2006).

O modo de ação do Bt envolve as etapas de ingestão do complexo esporo-cristal pelo inseto suscetível, o cristal é dissolvido pelo pH alcalino formando as pró-toxinas que são proteoliticamente convertidas em polipeptídios menores e estáveis no intestino médio do inseto. Estas toxinas ativadas ligam-se a receptores específicos nas microvilosidades apicais das células colunares do intestino médio, permitindo que

as proteínas se inserem na membrana e formem poros que rompem as células do intestino médio, formação de poros e lise celular (Jurat-Fuentes e Crickmore, 2017; Schünemann et al., 2014). A multiplicação de esporos e cristais no intestino médio do inseto leva a septicemia, processo de infecção iniciando quando o pH do intestino do inseto é reduzido, e que causa a morte do inseto (Raymond et al., 2008). Além dos efeitos letais que o Bt causa aos insetos praga, muitos casos de efeitos subletais são confirmados em outros estudos (Polanczyk, 2015).

Bacillus thuringiensis foi isolado pela primeira vez em 1901 pelo bacteriologista japonês Shigetane Ishiwata, que a nomeou "Sottokin-Bacillus" (Ishiwata, 1901; Steinhaus, 1961; Heimpel e Angus, 1963). Dez anos após sua descoberta, foi isolada pelo biólogo alemão Ernst Berliner que usou pupas de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) como hospedeira. Após o isolamento do Bt sua descrição foi realizada em 1915, denominada *Bacillus thuringiensis* Berliner (Berliner, 1911; Berliner, 1915). Os primeiros relatos da utilização do Bt visando o controle de pragas ocorreu no final da década de 1920 para o controle de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Limantriidae) no Nordeste dos Estados Unidos (Metalnikov e Chorine, 1929), enquanto que na Hungria e outros países da Europa Oriental foi utilizada para o controle de *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) (Husz, 1930; Metalnikov et al., 1930).

Devido a sua grande importância no controle de pragas pela capacidade de sintetizar diversas proteínas com atividade inseticida, o Bt é utilizado na formulação de produtos biológicos, os Bt bioinseticidas. Bioinseticidas à base de Bt são utilizados com sucesso no controle de pragas desde a segunda metade do século XX (Rosas-Garcia, 2009; Sanahuja et al., 2011; Sanchis, 2011; Polanczyk et al., 2012). O primeiro produto formulado a base de Bt foi registrado na França na década de 40 com o nome comercial de "Sporéine".

Atualmente os produtos à base de Bt ultrapassam os 300 bioinseticidas registrados contra insetos praga, os quais são responsáveis por 53% do mercado mundial de bioinseticidas, gerando um faturamento anual de 210 milhões de dólares (CAB Internacional Centre, 2010). O continente americano foi responsável por 50% deste mercado, principalmente os Estados Unidos e Canadá e a América Latina representaram apenas 8 a 10% do total (CAB Internacional Centre, 2010). No

mercado brasileiro de Bt bioinseticidas até 2010/12 era caracterizado por um pouco mais de meia dúzia de produtos, recomendados para 24 espécies praga em 12 culturas, mas principalmente no controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutela xylostella*. O volume comercializado de 300 toneladas anuais gerando um faturamento de US\$ 13 milhões (CAB International Center, 2010).

Entre 2013 e 2015 o mercado de bioinseticidas à base de Bt no Brasil passou de cerca de 300 mil hectares para mais de 5 milhões de hectares, sendo que foi comercializado quase 3 milhões de litros de Dipel na safra 2013/2014. Este aumento inesperado ocorreu devido à ineficiência dos produtos químicos convencionais no controle de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), o que fez com que os agricultores passassem a utilizar em grande escala os bioinseticidas à base de Bt, principalmente o Dipel (Gonçalves, 2015).

Polanczyk, van Frankenhuyzen e Pauli (2017) ressaltaram o aumento da adoção de Bt em sistemas de manejo integrado de pragas no Brasil, após a entrada e rápida dispersão da praga *H. armigera* e após o aumento de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), em lavouras de soja. Juntas essas pragas alavancaram consideravelmente o mercado de produtos contendo Bt em suas formulações, devido sua grande eficiência comprovada em campo. Atualmente a quantidade de produtos a base de Bt alcança os 24 produtos com registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Agrofit, 2019).

No entanto, alguns fatores estão relacionados com a limitação do uso de Bt bioinseticidas, como: a baixa persistência em campo da maioria das formulações; o baixo espectro de ação, a ineficácia contra pragas de solo e endofíticas (Gelernter e Schab, 1993; Navon, 2000), bem como o efeito da radiação Ultravioleta e chuva que pode lixiviar o produto das folhas das plantas após as aplicações.

2.4 Efeito da chuva na persistência de Bt

Bioinseticidas a base da bactéria *Bacillus thuringiensis* são eficazes para controlar uma gama de lepidópteros praga (Lereclus et al., 1993). No entanto, as condições ambientais no campo afetam adversamente a atividade inseticida de *B.*

thuringiensis (Frye et al., 1973, Leong et al., 1980, Dunkle e Shasha 1989, McGuire et al., 1994, McGuire e Shasha 1995).

A atividade residual do Bt bioinseticida é um fator chave no manejo bem-sucedido da determina praga. Entre os fatores que contribuem para o desempenho de Bt em campo são a persistência dos esporos e o deposito de gotas pulverizadas no dossel da cultura (Lewis et al., 1974; Moar et al., 1989; Navon, 1993). No entanto, a radiação solar e as chuvas são os principais contribuintes para a perda da atividade inseticida de *B. thuringiensis*. Van Frankenhuyzen e Nystrom (1989) confirmam que a chuva pode proporcionar uma menor persistência de *B. thuringiensis* em condições de campo do que a radiação ultravioleta, diminuindo consideravelmente o controle da bactéria.

A incidência da chuva após as aplicações de calda a base de Bt bioinseticidas promove a remoção dos esporos e cristais das folhas das plantas pela lavagem das folhas durante a ocorrência da chuva, reduzindo assim a atividade inseticida do bioinseticida e a atividade residual da bactéria (Cantwell 1967, Frye et al., 1973, McGuire et al., 1994, McGuire e Shasha 1995). Sundaram e Sundaram (1996) relatam que a intensidade de chuva que ocorre após as pulverizações, pode lavar até 50% dos esporos e cristais depositados nas folhas das plantas, o que diminui ainda mais o efeito de controle e persistência da bactéria em campo.

Sendo assim a incidência de chuvas após a aplicação do Bt bioinseticida torna a prática de controle ineficiente pela lavagem de esporos e cristais das folhas. Acerca disso, adjuvantes adicionados as caldas podem agir como protetores contra os efeitos da chuva (Behle et al., 1997; Mulrooney e Elmore, 2000; Gindin et al., 2008). Porém, para a prática da realização da mistura em tanque de Bt bioinseticidas e adjuvantes são necessários testes de compatibilidade biológica dos adjuvantes a calda, pois essa mistura pode acarretar efeitos antagônicos, neutros ou sinérgicos quanto ao desenvolvimento da bactéria.

2.5 Adjuvantes

Há várias definições sobre o que são adjuvantes, que vão desde “produtos que adicionados aos agroquímicos aumentam o desempenho da solução” (Sticker, 1992), “materiais adicionados ao tanque de mistura com o objetivo de modificar a ação

química e as propriedades físicas da calda” (Hazen, 2000). Uma definição consensual da comunidade especializada no tema ainda está sendo trabalhada no Brasil desde 2017 quando os adjuvantes foram desvinculados do Decreto Lei 4074, podendo receber uma normalização exclusiva desde os seus processos de fabricação¹.

A história de adjuvantes agrícolas tem sido relatada desde o início do século 18 quando aditivos como, resinas de pinheiro, farinha de trigo, melão e açúcar eram utilizadas com cal, enxofre, cobre, e arseniatos para melhorar a atividade biológica por meio das modificações físicas e químicas das caldas (Green e Beestman, 2007).

Os adjuvantes podem desempenhar funções específicas, incluindo tamponantes, dispersantes, emulsificantes, molhantes, adesivos e espalhantes. Também pode reduzir a evaporação, espuma, volatilização, deriva e atuar na deposição de gotas, retenção, absorção, translocação ou atividade biológica na superfície das plantas, o que pode variar de espécie para espécie ou em diferentes órgãos da planta (Hunsche et al., 2006; Kraemer et al., 2009, Griesang et al., 2017).

Os adjuvantes não podem desempenhar todas estas funções, mas diferentes adjuvantes compatíveis frequentemente são combinados para desempenhar múltiplas funções simultaneamente no tanque de pulverização (Tu e Randall, 2003; Stock, 2000). Por apresentarem essas características, os adjuvantes são adicionados nas caldas fitossanitárias proporcionando uma melhor qualidade na aplicação dos produtos fitossanitários (Iost, 2008; Mota, 2011).

Os adjuvantes são divididos em surfatantes, óleos (minerais e vegetais), adesivos, antiespumantes, anti-evaporantes, retardadores de deriva, acidificantes (reduzores de pH), tamponantes, protetores solar, espessantes, quelatizantes e fertilizantes nitrogenados (Araújo e Raetano, 2011).

A adição de adjuvantes à calda de pulverização pode alterar as características físico-químicas das soluções mostrando-se dependente de sua composição química e formulação (Iost e Raetano, 2010), diante disso, os adjuvantes atuam na redução ou aumento no pH e condutividade elétrica de caldas a base de Bt bioinseticidas (Santos et al., 2019), podem aumentar ou diminuir o diâmetro mediano volumétrico (Mota, 2011; Checheto e Antuniassi 2012), quebrar a tensão superficial da água (Iost e Raetano, 2010; Barrêto, 2011), reduzir a porcentagem de gotas menores que 100

¹ Tema debatido em mesa redonda no II Workshop de Adjuvantes em Caldas Fitossanitárias

μm , as quais são mais susceptíveis à deriva (Matthews, 2000), o que auxilia a correta colocação do produto fitossanitário no alvo (Ferreira et al., 2003).

Dentre as classes dos adjuvantes, os surfatantes são os mais utilizados (Miller e Westra, 1998). Durigan e Correia (2008) relataram que os surfatantes comercializados apresentam características de espalhante, adesivante e umectante. Dessa forma, um adjuvante pode ter mais que uma função, mas nenhum irá proporcionar todos os efeitos descritos sendo a classificação destes produtos apenas uma maneira de compreender seu modo de ação e suas propriedades (Stickle, 1992; Oliveira, 2011).

Os organossiliconados causam grande espalhamento das gotas na superfície das folhas, reduzindo drasticamente a tensão superficial (Hess, 1999). Por aumentar a superfície das gotas expostas, a taxa de evaporação destas gotas tende a aumentar. No entanto, organossilicones tem propriedades umectantes, que reduzem a evaporação (Hess, 1997).

Os óleos são basicamente de dois tipos: óleo mineral refinado e óleo vegetal (Hess, 1999). Os óleos podem ser utilizados nas aplicações agrícolas com diversas finalidades, tais como o controle de insetos ou fungos (Minguela e Cunha, 2010), como veículo de dispersão em baixos volumes de aplicação (Bohmont, 2006) e adjuvante. Uma das principais vantagens da utilização de óleos como adjuvantes é a maior facilidade de penetração através da cutícula (Durigan e Correia, 2008).

Embora o uso de adjuvantes tenha sido praticado em muitas situações, ainda escassos são os estudos sobre a interação dos Bt bioinseticidas com adjuvantes, especialmente sobre o efeito desta interação na viabilidade, persistência e eficiência do Bt em condições de campo (Knaak et al., 2010). Pois os adjuvantes podem afetar importantes características físico-químicas (Santos et al., 2019) e biológicas da calda, inibindo ou estimulando o crescimento vegetativo das colônias (Agostini et al., 2013; Morris, 1975), reprodução, mutações, ou até mesmo a inativação dos esporos e cristais do Bt bioinseticida (Alves et al., 1998).

2.6 Compatibilidade de Bt e Adjuvantes

Para a utilização em mistura de tanque os Bt bioinseticidas e adjuvantes é necessário avaliar a sua compatibilidade, pois os adjuvantes podem afetar importantes características físico-químicas (Santos et al., 2019) e biológicas da calda, inibindo ou estimulando o crescimento vegetativo das colônias (Agostini et al., 2013; Morris, 1975).

Os efeitos avaliados na compatibilidade da mistura entre adjuvantes e Bt podem ser classificadas como: efeitos deletérios, nulos ou mesmo sinérgicos (Morris, 1975; Habib e Garcia, 1981; Kuzmanova, 1981; Seleena et al., 1999). Os efeitos deletérios atuam inibindo o crescimento vegetativo, reprodução, germinação, diminuição da virulência e mutação do patógeno (Alves et al., 1998; Manachini, 2002). A sensibilidade de *B. thuringiensis* aos produtos fitossanitários, além de estar relacionada à molécula química de cada ingrediente ativo, também pode ser influenciada negativamente pela dosagem utilizada, e também pela presença de compostos adicionais nos referidos produtos comerciais, como os emulsificantes e outros adjuvantes (Dougherty et al., 1970; Morris e Armstrong, 1975; Morris et al., 1977; Batista Filho et al., 2001; Fadare e Amusa, 2003; Pinto et al., 2012). 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).

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 et al., 1998).

Pesquisas revelam 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 et al. (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.

Bacillus thuringiensis pode apresentar um melhor desempenho quando misturado com produtos fitossanitários, pois alguns micro-organismos do gênero *Bacillus*, degradam os compostos presentes no produto químico, visando o próprio desenvolvimento (Rache e Coats, 1988; Das et al., 1995; Das et al., 2003). Em vista disso, a integração de um adjuvante com o referido entomopatógeno poderá propiciar maior eficiência no controle de uma determinada praga quando comparado à calda aplicada isoladamente (Hardman e Gaul, 1990; Valentine et al., 1996).

Conforme verificado, no ambiente natural, diversos fatores bióticos e abióticos atuam minimizando os possíveis impactos sobre *Bacillus thuringiensis* e que escassos são os estudos sobre a interação dos Bt bioinseticidas com adjuvantes, especialmente sobre o efeito desta interação na viabilidade, persistência e eficiência do Bt em condições de campo (Knaak et al., 2010).

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agostini LT et al. (2013) Compatibility of products based on *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) with glyphosate in various strengths, used in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciência et Praxis** 6: 37-40.

Agrofit (2019) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons > Acesso em 17 out. 2019

Alves LRA, Barros GSC, Bacchi MRP (2008) Produção e exportação de algodão: Efeitos de choques de oferta e de demanda. **Revista Brasileira de Economia** 62: 381-405.

Alves SB, Moino-Júnior A, Almeida JEM (1998) Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: Alves, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ. p. 217-238.

Araújo D, Raetano CG (2011) Adjuvantes de produtos fitossanitários. In: Antuniassi, UR, Boller W. **Tecnologia de aplicação para culturas anuais**. Passo Fundo: Aldeia Norte; Fepaf. p. 27-50.

Ashley TR, Wiseman BR, Davis FM, Andrews KL (1989) The fall armyworm: a bibliography. **Florida Entomologist** 72: 152-202.

Ávila CJ, Degrande PE, Gómez AS (1997) Insetos-pragas: reconhecimento, comportamento, danos e controle. In: EMBRAPA. **Milho: informações técnicas**. Dourados: Embrapa-CPAO. 177 p.

Barrêto AF (2011) **Avaliação de parâmetros da tecnologia de aplicação para o controle da ferrugem asiática da soja**. 92 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Barros EM, Torres JB, Ruberson JR, Oliveira MD (2010) Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 137: 237-245.

Barros EM, Torres JB, Ruberson JR, Oliveira MD (2010) Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 137: 237-245.

Batista Filho A, Almeida JEM, Lamas C (2001) Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology** 30: 437-447.

- Behle RW, McGuire MR, Gillespie RL, Shasha BS (1997) Effects of alkaline gluten on the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economy Entomology** 90: 354-360.
- Berliner E (1911) Uber die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe, Zeitschrift ges. **Getreidew** 3: 63-70.
- Berliner E (1915) Eber die schlaffsucht der Mehlmottenraupe (*Ephesia kuehniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis*, n. sp. **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie** 2: 29-56.
- Bohmont BL (2006) Pesticides formulations and adjuvants. In: Bohmont BL. **The standard pesticide user's guide**. 7th. ed. Columbus: Pearson. chap. 11, p. 246-270.
- Boiça Júnior AL, Campos ZR, Campos AR, Valério Filho WV, Campos OR (2013) *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: vertical distribution of egg masses, effects of adult density and plant age on oviposition behavior. **Arquivos do Instituto Biológico** 80: 424-429.
- Boiça Júnior AL, Santos TM, Toledo MA (2006) Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho. **Revista de Agricultura** 80: 148-158.
- Brubaker C, Bourland EM, Wendel JE (1999) The origem and domestication of cotton. In: Smith, C. W.; Cothren, J. T. (Ed.) **Cotton: origin, history, and production**. New York: John Wiley. 850 p.
- CAB International Centre (2010) **The 2010 Worldwide Biopesticides Market Summary**. Wallingford: CAB International Centre, 2010. 40p.
- Campos ZR (2008) **Resistência de variedades de algodoeiro a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)** 67f. Tese (Doutorado em Agronomia – Área de Concentração: Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.
- Cantwell GE (1967) Inactivation of biological insecticides by irradiation. **Journal of Invertebrate Pathology** 9: 138-140.
- Carvalho RA, Omoto C, Field LM, Williamson MS, Bass C (2013) Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One** 8: e62268.
- Chakroun M, Banyuls N, Bel Y, Escriche B, Ferré J (2016) Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 80: 329-350.
- Checheto RG, Antuniassi UR (2012) Espectro de gotas gerado por diferentes adjuvantes e pontas de pulverização. **Engenharia Agrícola** 27:130-142.

Conab - Companhia Nacional de Abastecimento (2011) **Avaliação da safra agrícola 2010/2011**: grãos, décimo segundo levantamento, setembro 2011. Brasília: Conab. 41 p.

Conab - Companhia Nacional do Desenvolvimento (2019) Estimativa área plantada do Algodão. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>>. Acesso em: 15 de Out. de 2019.

Crickmore N (2006) Beyond the spore – past and future developments of *Bacillus thuringiensis* as a biopesticide. **Journal of Applied Microbiology** 101: 616-619.

Cruz, IA (1995) **lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 45 p. (Circular Técnica, 21)

Das AC, Chakravarty A, Sukul P, Mukherjee D (1995) Insecticides: their effect on microorganisms and persistence in rice soil. **Microbiological Research** 150: 187-194.

Das AC, Chakravarty A, Sukul P, Mukherjee D (2003) Influence and persistence of phorate and carbofuran insecticides on microorganisms in rice field. **Chemosphere** 53: 1033-1037.

Dougherty EM, Reichelderfer CF, Faust RM (1970) Sensitivity of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* to various insecticides and herbicides. **Journal of Invertebrate Pathology** 17: 292-293.

Dunkle RL, Shasha BS (1989) Response of starch encapsulated *Bacillus thuringiensis* containing ultraviolet screens to sunlight. **Environmental Entomology** 18: 1035-1041.

Durigan JC, Correia NB (2008) Efeitos de adjuvantes na aplicação e eficácia de herbicidas. In: Vargas L, Roman ES. **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo. p. 133-171.

Fadare TA, Amusa NA (2003) Comparative efficacy of microbial and chemical insecticides on four major lepidopterous pests of cotton and their (insect) natural enemies. **African Journal of Biotechnology** 2: 425-428.

Farias JR et al (2014) Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, 64: 150-158.

Ferreira MC (2003) **Caracterização da cobertura de pulverização necessária para controle do ácaro *Brevipalpus phoenicis* (G., 1939) em citros**. 64 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N (2017) ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Characterization and use in the field of biocontrol**. New York. 288p.

Fontes EMG. et al (2006) The cotton agricultural context in Brazil. In: HILBECK, A.; Andow DA, Fontes EMG. **Environmental risk assessment of genetically modified organisms: methodologies for assessing Bt cotton in Brazil**. Wallingford: CABI Publishing. p. 21-66.

Frye RD, Scholl CG, Scholz EW, Funke BR (1973) Effect of weather on a microbial insecticide. **Journal invertebrate Pathology** 22: 50-54.

Gelernter W, Schwab GE (1993) Transgenic bacteria, viruses, algae and other microorganisms as *Bacillus thuringiensis* toxin delivery systems. In: Entwistle, P. F.; Cory, J. S.; Bailey, M. J.; Higgs, S. (Ed.). **Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice**. Chichester: John Wiley. p. 89-104.

Gindin G, Kuznetsova T, Protasov A, Saphir N, Madar Z, Mendel Z (2008) Susceptibility of the Pistachio Processionary Moth *Thaumetopoea solitaria* to Three *Bacillus thuringiensis* Products. **Phytoparasitica** 36:472-482

Gonçalves, KC (2015) **Mortalidade e efeitos subletais de *Bacillus thuringiensis* Berliner em *Spodoptera albula* (Walker, 1857)**. 40f. Dissertação (Agronomia: Entomologia Agrícola). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Green JM, Beestman GB (2007) Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. **Crop Protection** 26: 320-327.

Griesang F et al. (2017) How Much Do Adjuvant and Nozzles Models Reduce the Spraying Drift? Drift in Agricultural Spraying. **American Journal of Plant Sciences** 08: 2785-2794.

Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sanchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodríguez-Maciel JC, DiFonzo C (2019) Field-Evolved Resistance of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of Economic Entomology** 112: 792-802.

Habib MEM, Andrade CES (1998) Bactérias entomopatogênicas. In: Alves SB (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 383-446.

Hardman JM, Gaul SO (1990) Mixtures of *Bacillus thuringiensis* and pyrethroids control winter moth (Lepidoptera: Geometridae) in orchards without causing outbreaks of mites. **Journal of Economic Entomology** 83: 920-936.

Hazen JL (2000) Adjuvants: terminology, classification and chemistry. **Weed Technology** 14: 773-784.

Heimpel AM, Angus TA (1963) Diseases caused by certain spore-forming bacteria. In: Steinhaus EA (Ed.). **Insect pathology: an advanced treatise**. New York: Academic Press, p. 21-73.

Hess FD (1997) Adjuvants. In: **Herbicide Action Couser**. Proceeding. West Lafayette: Purdue University. p. 38-61.

Hess FD (1999) Surfactans and additives. **Proceedings of the California Weed Science Society** 51: 156-172.

Hunsche M, Bringe K, Schmitz-Eiberger M, Noga G (2006) Leaf surface characteristics of apple seedlings, bean seedlings and kohlrabi plants and their impact on the retention and rainfastness of mancozeb. **Pest Manage Science** 62: 839- 847.

Husz B (1930) Field experiments on the application of *Bacillus thuringiensis* against the corn borer. **International Corn Borer Investment Science Reports** 3: 91-98.

lost CAR (2008) **Efeito de adjuvantes nas propriedades físico-químicas da água e na redução de deriva em pulverizações sobre diferentes espécies de plantas daninhas**. 63 f. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

lost CAR, Raetano CG (2010) Tensão superficial dinâmica e ângulo de contato de soluções aquosas com surfatantes em superfícies artificiais e naturais. **Engenharia Agrícola** 30: 670-680.

Ishiwata S (1901) On a kind of severe flacherie (sotto disease). **Dainihon Sanshi Kaiho** 114: 1-5.

Joly AB (1983) **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 1983. 777 p.

Jurat-Fuentes JL, Crickmore N (2017) Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. **Journal of Invertebrate Pathology** 142: 5 -10.

King ABS, Saunders JL (1984) **The invertebrate pests of annual food crops in Central America**. London: Overseas Development Administration. 166 p.

Knaak N, Azambuja AO, Lucho APR, Berlitz DL, Fiuza LM (2009/2010) Interações de *Bacillus thuringiensis* e o controle de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento** 38: 48-53.

Kraemer T, Hunsche M, Noga G (2009) Surfactant-induced deposit structures in relation to the biological efficacy of glyphosate on easy- and difficult-to-wet weed species. **Pest Manage Science** 65: 844-850.

Kuzmanova I (1981) Study on the compatibility of *Bacillus thuringiensis* Berliner with three organophosphorus insecticides. **Gradinarska i Lozarska Nauka** 18: 23-27.

Labrador JR (1967) **Estudio de la biología y combate del gusano cogollero del maíz *Laphygma frugiperda***. S. & A. Maracaibo: Universidad del Zulia. 83 p.

Leong KLH, Cano RJ, Kubinski AM (1980). Factors affecting *Bacillus thuringiensis* total field persistence. **Environmental Entomology** 9: 593-599

Lereclus D, Delecluse A, Lecadet M (1993) Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In Entwistle PF, Cory JS, Bailey MJ, and Higgs S [eds.] ***Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice***. Wiley, New York.

Lewis FB, Dubois NR, Gnrnble D, Metterhouse W, Qmmyby J (1974) Gypsy Moth: Efficacy of Aerially Applied *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology** 67: 351-354.

Lima TC, Aquino LA, Berger PG (2014) Botânica. In: **Algodão: do plantio à colheita**. (Ed.). Viçosa, MG: Ed. UFV. 312 p.

Luginbill PH (1928) The fall armyworm. **Technical Bulletin United States Department of Agriculture** 34: 1-91.

Manachini B (2002) Compatibility of chemical and biological pesticides. In: Pimentel D. **Encyclopedia of pest management**. New York: Marcel Dekker. p. 134-137.

Martinelli S, Barata RM, Zucchi MI., Silva-Filho MC, Omoto C (2006). Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology** 99: 519-526.

Matthews GA (2000) **Pesticide application methods**. London: Longman. 448 p.

McGuire MR, Shasha BS (1995) Starch encapsulation of microbial pesticides, pp. 229-237. In Hall FR, Barry JW [eds.] **Biorational pest control agents: formulation and delivery**. American Chemical Society, Washington, DC.

McGuire MR, Shasha BS, Lewis LC, Nelsen TC (1994) Residual activity of granular starchencapsulated *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economy Entomology** 87: 631-637.

Metalnikov S, Chorine V (1929) On the infection of the gypsy moth and certain other insects with *Bacterium thuringiensis*. **International Corn Borer Investment Science Reports** 2: 60-61.

Michelloto MD, Galli JÁ, Crosariol-Netto J (2013) Efeito do nível e da época de desfolha artificial sobre os componentes de produtividade de cultivares de algodoeiro. **Bioscience Journal** 29: 1806-1814.

Miller P, Westra P (1998) **How surfactants work**. Fort Collins: Colorado State University Cooperative Extension. (Crop Series Fact Sheet, 0.564).

Minguela JV, Cunha JPAR (2010) **Manual de aplicação de produtos fitossanitários**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil. 588 p.

Miranda JE (2006) **Distribuição vertical de lagartas de *Spodoptera frugiperda* no algodoeiro**. Campina Grande: EMBRAPA/CNPA. 4p. (Comunicado Técnico, 277).

Moat WJ, Trumble JT, Frederici BA (1989) Comparative Toxicity of Spores and Crystals from the NRD-12 and HD-1 Strains of *Bacillus thuringiensis* sub sp, kurstaki to Neonate Beet Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**. 82: 1593-1603.

Monnerat RG, Queiroz P, Orduz S, Benitende G, Cozzi J, Real MD, Ibarra J, Bravo A (2006) Genetic variability in *Spodoptera frugiperda* Smith populations in Latin America is associated to variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins. **Applied and Environmental Microbiology** 72: 7029-7035

Morris ON (1975) Effect of some chemical insecticides on the germination and replication of commercial *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Invertebrate Pathology** 26: 199-204.

Morris ON (1977) Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Canadian Entomologist** 109: 855-864.

Morris ON, Armstrong JÁ (1975) Preliminary field trials, with *Bacillus thuringiensis*. Chemical insecticide combinations in the integrated control of the spruce/budworm *Choristoneura fumiferana*. **The Canadian Entomologist** 107: 1281-1288.

Mota AAB (2011) **Quantificação do ar incluído e espectro de gotas de pontas de pulverização em aplicações com adjuvantes**. 74 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Mulrooney JE, Elmore CD (2000) Rainfastening of bifenthrin to cotton leaves with selected adjuvants. **Journal of Environmental Quality** 29:1863-1866.

Nagoshi RN, Meagher RL (2008) Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist** 91: 546-554.

Nagoshi RN, Rosas-García NM, Meagher RL, Fleischer SJ, Westbrook JK, Sappington TW, Hay-Roe M, Thomas JM, Murúa GM (2015) Haplotype profile comparisons between *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Mexico with those from Puerto Rico, South America, and the United States and their implications to migratory behavior. **Journal of Economic Entomology** 108: 135-144.

Nascimento AR, Farias JR, Bernardi D, Horikoshi RJ, Omoto C (2016) Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science** 72: 810-815.

Navon A (1993) Control of lepidopteran pests with *Bacillus thuringiensis*, in: Entwistle P, Cory J, Bailey M, Higgs S [Eds.] ***Bacillus thuringiensis, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice***. John Wiley and Sons, Chichester, UK. pp. 125-146.

Navon A (2000) *Bacillus thuringiensis* insecticides in crop protection – reality and Oecd (2010) Section 1 - Cotton (*Gossypium* spp.), in safety assessment of transgenic organisms, Oecd Publishing. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1787/9789264096158-5-en>> acesso em 15 de out. 2019.

Ogtr (2008) **The Biology of *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium barbadense* L. (Cotton)**, Ver. 2° Office of the Gene Technology Regulator, Australian Government Department of Health and Ageing, Canberra. 91 p.

Oliveira RB (2011) **Caracterização funcional de adjuvantes em soluções aquosas**. 134 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura) Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Palma L, Muñoz D, Berry C, Murillo J, Caballero P (2014) *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins** 6: 3296-3325.

Percival AE, Wendel JF, Stewart JM (1999) Taxonomy and germplasm resources. In: Smith, C. W.; Cothren, J. T. (Eds). **Cotton: origin, history, technology, and production**. New York: Wiley. p.33-63.

Physorg (2018) Crop-destroying Armyworm caterpillar detected in Asia Disponível em: <<https://phys.org/news/2018-08-crop-destroying-armyworm-caterpillar-asia.html>> Acesso em 11 set. 2019

Pinto LMN et al (2012) *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. **Brazilian Journal of Microbiology** 43: 618-626.

Pogue MG (2002) A world revision of the genus *Spodoptera* Guenee (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society** 43: 1-202.

Polanczyk RA, Van Frankenhuyzen K, Pauli G (2017) The American *Bacillus thuringiensis* based biopesticides market. In: Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N. (Ed.). ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*: Characterization and use in the field of control**. Switzerland: Gewerbestrasse. p. 173 - 184.

Polanczyk RA (2015) **Interação entre *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) visando ao controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)** 97 f. Tese de Livre-Docência – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Polanczyk RA, De Bortoli AS, De Bortoli CP (2012) *Bacillus thuringiensis* - based biopesticides against agricultural pests in Latin America. In: Larramendy, M.L.; Soloneski, S. (Eds.). **Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics**. Rijeka: Intech, p. 445-462.

Rache KD, Coats J (1988) Comparative biodegradation of organophosphorus insecticides in soil: specificity of enhanced microbial micro degradation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 36: 193-199.

Raymond B, Lijek RS, Griffiths RI, Bonsall MB (2008) Quantifying the reproduction of *Bacillus thuringiensis* HD1 in cadavers and live larvae of *Plutella xylostella*. **Journal of Invertebrate Pathology** 98: 307-313.

Rosas-Garcia NM (2009) Biopesticide production from *Bacillus thuringiensis*: An prospects. **Crop Protection** 19: 669-676.

Rossi-Zalaf LS, Alves SB, Lopes RB, Silveira Neto S, Tanzini MR (2008) Interação de micro-organismo com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: Alves SB e Lopes RB. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ. p. 279–302.

Sá VGM, Fonseca BVC, Boregas KGB, Waquil JM (2009) Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology** 38: 108-115.

Sanahuja G, Banakar R, Twyman RM, Capell T, Christou P (2011) *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and comercial applications. **Plant Biotechnology Journal** 9: 283-300.

Sanchis V (2011) From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review. **Agronomy for Sustainable Development** 31: 217-231.

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: 1-8.

Santos WJ (2011) Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: Freire, E. C. (Ed.). **Algodão no cerrado do Brasil**. 2. ed. Brasília: ABRAPA. Cap. 15, p. 495-566.

Schünemann R, Knaak N, Fiuza LM (2014) Mode of action and specificity of *Bacillus thuringiensis* toxins in the control of caterpillars and stink bugs in soybean culture. **ISRN Microbiol** 135675.

Seleena P, Lee HL, Chiang YF (1999) Compatibility of *Bacillus thuringiensis* serovar Israelensis and chemical insecticides for the control of *Aedes* mosquitoes. **Journal of Vector Ecology** 24: 216-223.

Silva AGA, Gonçalves CR, Galvão DM, Gonçalves AJL, Gomes J, Silva MN, Simoni L (1968) **Quarto catálogo de insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitoides e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, v.1, part, 2.

Sparks NA (1979) A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist** 62: 82-87.

Specht A, Silva EJE, Link D (2004) Noctuídeos (Lepidoptera, Noctuidae) do Museu Entomológico Ceslau Biezanko, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas RS. **Revista Brasileira Agrociência** 10: 389-409.

Steinhaus EA (1961) On the correct author of *Bacillus sotto*. **Journal of Insect Pathology** 3: 97-100.

Sticker WE (1992) The importance of adjuvants to the agricultural chemical industry. In: Foy, CL. **Adjuvants for agrichemicals**. New York: Marcell Dekker, 1992. p. 247-249.

Stock D, Briggs G (2000) Physiochemical properties of adjuvants: values and applications. **Weed Technology**. 14: 798-806.

Stokstad E (2017) New crop pest takes Africa at lightning speed. **Science** 356:473-474.

Sundaram A, Sundaram KMS (1996) Effect of sunlight radiation, rainfall and droplet spectra of sprays on persistence of *Bacillus thuringiensis* deposits after application of dipel® 76af formulation onto conifers, **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes** 31: 1119-1154

Tavares WS, Cruz I, Fonseca FG, Gouvei, NL, Serrao JE, Zanuncio JC (2020) Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Zeitschrift für Naturforschung C** 65: 412-418.

Tu M, Randall JM (2003) Adjuvants. In: Tu M et al., **Weed control methods handbook the nature conservancy**. Davis: TNC. p. 1-24

Ulloa M, Stewart JM, Garcia CEA, Godoy AS, Gaytan MA, Acosta NS (2006) Cotton genetic resources in the western states of Mexico: in situ conservation status and germplasm collection for ex situ preservation. **Genetic Resources and Crop Evolution** 53: 653-668.

Valdez C (2011) **Brazilian cotton - Briefing rooms**. Washington, D.C.: ERS-USDA.

Valentine BJ, Gurr GM, Thwaite WG (1996) Efficacy of the insect growth regulators tebufenozide and fenoxycarb for lepidopteran pest control in apples, and their compatibility with biological control for integrated pest management. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 36: 501-506.

Van Frankenhuyzen K, Nystrom C (1989) Residual toxicity of a high-potency formulation of *Bacillus thuringiensis* to spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology** 82: 868-872.

Veloso ES (2010) **Resistência de cultivares de soja a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)** 56f. Dissertação (Mestrado em agronomia – Área de Concentração: Sistemas de Produção) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010.

Viana PA, Potenza MR (2000) Avaliação de antibiose e não-preferência em cultivares selecionados com resistência à lagarta-do-cartucho. **Bragantia** 59: 27-33.

Wakelyn PJ. et al (2007) **Cotton Fiber Chemistry and Technology**. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 176 p.

Wu KM, Guo YY (2005) The evolution of pest management practices in China. **Annual Review of Entomology** 50: 31-52.

CAPÍTULO 2 – Efeito da adição de adjuvantes em características físico-químicas de calda Bt bioinseticida²

Cicero Antônio Mariano dos Santos^{1*}, Renata Thaysa da Silva Santos², Jaqueline Franciosi Della'Vechia¹, Fabiano Griesang², Ricardo Antônio Polanczyk³, Marcelo da Costa Ferreira⁴

¹Doutorando em Entomologia Agrícola, Departamento de Fitossanidade, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

²Doutorando em Produção Vegetal, Departamento de Produção Vegetal, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

³Professor Associado do Departamento de Fitossanidade, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

⁴Professor Titular do Departamento de Fitossanidade, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

*Correspondência e pedidos de materiais devem ser encaminhados a C.A.M.S. (e-mail: antony.ms@gmail.com) ou M.C.F. (e-mail: mc.ferreira@unesp.br)

Resumo

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria que produz toxinas e esporos tóxicos para diversas ordens de insetos, sendo a principal bactéria utilizada na formulação de bioinseticidas. Entretanto, a eficácia do Bt bioinseticida é influenciada pela qualidade das aplicações, sendo que a associação com outros produtos fitossanitários, como os adjuvantes, pode afetar os parâmetros físico-químicos da calda. Este trabalho teve o objetivo de avaliar os parâmetros físico-químicos; diâmetro mediano volumétrico (DMV), coeficiente de uniformidade das gotas (SPAN) e porcentagem de volume em gotas suscetíveis à deriva (%V <100µm), ângulo de contato, tensão superficial, potencial hidrogeniônico (pH) e condutividade elétrica (C.E.) de Bt bioinseticidas nas formulações suspensão concentrada (SC) e pó molhável (WP), associados a diferentes adjuvantes. O maior diâmetro de gotas e menores valores de gotas suscetíveis à deriva (%V <100µm) foram constatados na formulação WP, com menor potencial de deriva. A adição de óleo mineral e espalhante adesivo nas caldas do bioinseticida reduziram os valores de ângulo de contato e tensão superficial das gotas, implicando em maior espalhamento das gotas nas folhas. A adição do adjuvante a base de ácido propiônico e lecitina reduziu o pH das caldas em ambas as formulações. Os adjuvantes utilizados nesse estudo afetam as características físico-químicas das caldas, aprimorando ou prejudicando a qualidade das aplicações de Bt bioinseticidas.

² Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado no periódico *Scientific Reports* (2019) 9:12525

Introdução

A bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) produz toxinas durante as fases vegetativa e de esporulação^{1, 2, 3} que são tóxicas para diversas ordens de insetos, ácaros, nematoides e protozoários⁴. Os Bt bioinseticidas, possuem dois fatores de virulência mais importantes: toxinas Cry e esporos^{1, 2, 3}. O modo de ação envolve as etapas de (1) ingestão do complexo esporo-cristal pelo inseto suscetível, (2) solubilização e processamento da toxina, (3) ligação ao receptor, (4) inserção na membrana, (5) formação do poro e (6) lise celular⁵. Este último é responsável pela septicemia no final do processo de infecção quando o pH do intestino do inseto é reduzido, tornando possível sua germinação⁶.

A eficiência de bioinseticidas é fortemente influenciada pela qualidade das aplicações, uma vez que, quanto maior a cobertura foliar da pulverização maiores as chances de ingestão de dose letal do agente biológico pelos insetos alvos⁷. A aplicação dos Bt bioinseticidas é feita por pulverização, precedida por uma diluição em água. Essa pulverização pode ser isolada ou associada a outros produtos fitossanitários como, por exemplo, os adjuvantes^{7,8}. A adição de adjuvantes às caldas fitossanitárias vem crescendo em importância devido às melhorias proporcionadas na aplicação de produtos fitossanitários, como a proteção das gotas e das moléculas químicas, redução de deriva e da evaporação e melhor espalhamento das gotas na superfície foliar das plantas^{9, 10, 11}.

Além disso, os adjuvantes podem afetar importantes características físico-químicas das caldas fitossanitárias como por exemplo, o potencial hidrogeniônico (pH), a condutividade elétrica (C.E.), a tensão superficial, com efeito no ângulo de contato das gotas, bem como na formação das gotas, influenciando no diâmetro mediano volumétrico (DMV), no coeficiente de uniformidade (SPAN) e na porcentagem de gotas sujeitas à deriva (%V < 100µm). O pH em caldas a base de Bt bioinseticidas é de grande importância, pois valores abaixo ou acima do considerado ideal para a calda Bt influenciará na quantidade de esporos viáveis. Caldas de Bt bioinseticida com pH baixo ocasiona a inativação da toxina por aquecimento, enquanto que o pH elevado proporciona a solubilização de proteínas afetando o potencial de controle de insetos pragas^{12, 13}. A redução da tensão superficial e do ângulo de contato das gotas impacta no aumento do espalhamento das gotas, proporcionando maior cobertura da superfície de contato com o alvo, o que aumenta a probabilidade de contato com os insetos alvo e, conseqüentemente, a eficiência de controle^{14, 15, 16}.

No entanto, são escassos os estudos sobre a interação dos Bt bioinseticidas com os adjuvantes, especialmente sobre o efeito desta interação na eficiência e persistência do Bt sob condições ambientais adversas^{17, 18, 19}. Os adjuvantes podem inibir ou estimular o crescimento, a reprodução, mutações, ou até mesmo inativar os microrganismos, diminuindo a virulência para uma praga em particular, devido às interações físico-químicas na calda²⁰. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de adjuvantes nas características físico-químicas de caldas de Bt bioinseticidas.

Resultados

Espectro do tamanho de gotas de pulverização

Três fatores foram levados em consideração na avaliação do espectro do tamanho de gotas: o diâmetro mediano volumétrico (DMV), coeficiente de uniformidade das gotas (Span) e a porcentagem de gotas susceptíveis a deriva (%V <100µm), que afetaram a cobertura dos alvos da calda pulverizada.

Os maiores valores de DMV foram observados na formulação pó molhável (WP) quando comparada as caldas da formulação suspensão concentrada (SC). Quando adicionados os adjuvantes, não houve diferenças de DMV na calda do Bt WP. Na calda Bt SC, apenas a adição do óleo mineral (OM) aferiu em um maior DMV (Figura 1). Os maiores valores de Span foram observados nos tratamentos com adjuvante à base de lecitina (LAP), organossiliconado (OA) e nonil fenol etoxilado (NFE) na formulação WP e OM na calda Bt SC. Comparando o Span dentro das formulações, as caldas compostas por nonil fenol polietanol (NFPE) e NFE no Bt WP apresentaram os maiores valores, enquanto que nas caldas Bt SC, os maiores valores de Span foram obtidos nas adições dos adjuvantes OM, NFPE e NFE (Figura 1). As caldas da formulação SC apresentaram maior risco de deriva (%V < 100µm). Em ambas as formulações, a adição dos adjuvantes óleo vegetal (EMOS), NFPE e NFE proporcionaram maiores valores de %V < 100µm (Figura 1).

Tensão superficial e ângulo de contato

A adição dos adjuvantes OM, OA e EMOS às caldas WP e SC proporcionaram as menores tensões superficiais, sendo as maiores tensões observadas nas caldas Bt WP e com o adjuvante LESS (Figura 2). Entre as formulações, as menores tensões superficiais foram obtidas nas caldas OM, LAP, Bt SC e NFPE respectivamente e as maiores nas caldas com LESS e o NFE (Figura 3). Nas caldas compostas pelo Bt WP, as menores tensões superficiais foram obtidas nas caldas com a adição dos adjuvantes OM, OA e EMOS, enquanto as maiores nas caldas Bt sem adjuvantes e com os adjuvantes NFPE e LAP (Figura 2).

O ângulo de contato das gotas foi diferente para as duas superfícies avaliadas, com maiores valores na superfície de filme parafínico e menores na superfície de folha de algodão (Tabela 2). Na folha de algodão a formulação WP apresentou os menores ângulos de contato quando comparado a SC. Na superfície filme parafínico, os tratamentos WP com adição dos adjuvantes LAP, OA, NFPE e na SC sem adjuvante e com os adjuvantes LESS e NFE apresentaram maiores ângulos de contato (Tabela 2). Na comparação entre as caldas dentro da formulação, o LAP na formulação WP na superfície de folha, apresentou o maior ângulo, já na superfície de filme parafinado a calda Bt WP sem adjuvante foi maior. Na formulação SC, a adição do LAP e NFE proporcionou maiores ângulos de contato de gotas na superfície de folha. No parafilme, o Bt SC sem adjuvante e com NFE apresentaram os maiores valores de ângulo de contato das gotas (Tabela 2).

Potencial hidrogeniônico (pH) e Condutividade elétrica (C.E.)

As caldas foram submetidas a quatro horários de repouso após agitação para avaliação de potencial hidrogeniônico (pH), e condutividade elétrica (C.E.). Em todos os horários de repouso, as formulações SC e WP do Bt bioinseticida, a adição do adjuvante LAP proporcionou os menores valores de pH e os maiores valores de C.E., em todos os períodos de descanso. As caldas compostas pela formulação SC apresentaram os maiores valores de pH e menores valores de C.E., enquanto as caldas WP apresentaram os menores valores de pH e maiores de C.E. O pH e C.E. não variaram significativamente no decorrer do período de repouso das caldas (Figura 3).

Discussão

As caldas compostas pela formulação Dipel® WP proporcionaram maiores valores de diâmetro mediano volumétrico (DMV), e, portanto, menores riscos de susceptibilidade à deriva ($\%V < 100 \mu\text{m}$) e potencial de evaporação, reduzindo a inviabilização dos esporos da bactéria por desidratação, mantendo maior proteção à exposição direta aos raios ultravioleta²¹. Gotas maiores podem proporcionar maior persistência e sobrevivência do Bt em condições ambientais desfavoráveis, tais como dias quentes, devido à maior quantidade de água e esporos em sua constituição. Gotas muito finas, como as que possuem DMV menor que $100\mu\text{m}$, que são muito susceptíveis à deriva, são mais facilmente evaporadas em umidade do ar menor que 55%²².

Neste sentido foram observadas diferenças entre a uniformidade de gotas das caldas (SPAN), onde as caldas na formulação Dipel® SC, apresentaram menores valores, quando comparadas ao Dipel® WP. O Span indica a uniformidade no diâmetro de gotas, de modo que, quanto mais próximo de zero, maior será a uniformidade, ou seja, menor a variação de diâmetro em relação ao DMV. Então, estas caldas possuem maior uniformidade de gotas, permitindo aplicações com gotas de diâmetro mais próximo do escolhido, sem grandes variações entre gotas pequenas e grandes, que podem ser perdidas por deriva e por escorrimento, respectivamente²³. Com relação a susceptibilidade à deriva, as caldas Bt WP apresentaram menor potencial de perdas. Quanto menor for a porcentagem de volume em gotas menores que $100\mu\text{m}$, menor o risco potencial de deriva durante a aplicação de Bt, uma vez que gotas mais propensas à deriva sofrem mais intensamente a ação dos fenômenos meteorológicos²⁴. Houve diferenças no tamanho de gotas das formulações utilizadas do bioinseticida. Isto é atribuído à constituição da formulação, pois os componentes do produto comercial afetam diferentemente o espectro de gotas formadas durante a pulverização²⁵. Neste estudo a formulação SC apresentou maior susceptibilidade à deriva do que a formulação WP.

A adição dos adjuvantes diminuiu a tensão superficial das gotas das caldas de Bt SC e WP. As caldas contendo OM, EMOS e OA apresentam os menores valores de tensão superficial em ambas as formulações. A diminuição da tensão superficial da calda pode estar relacionada ao espalhamento foliar. Contudo, essa correlação é dependente da afinidade do líquido com a espécie vegetal na qual a gota é depositada. É importante ressaltar que existem diferenças na epiderme, como por exemplo, a composição da cera cuticular e da anatomia das células entre as espécies vegetais, que podem afetar de forma mais ou menos intensa o espalhamento^{26, 27}.

Resultados semelhantes foram encontrados para calda Bt quando adicionado óleo mineral e vegetal, reduzindo a tensão superficial das gotas de pulverização, proporcionando maior espalhamento da calda em folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)⁷. A redução na tensão superficial com adição de óleos na calda foi resultante da formação de micelas pelas moléculas na calda^{28, 29}. Essas ligações podem atuar como ponte entre moléculas de água e do inseticida, o que reduz a tensão superficial da calda, substituindo ligações mais fortes representadas por pontes de hidrogênio da água¹⁶. Maiores valores de tensão superficial foram observados nas caldas NFPE, NFE, LESS, Bt WP e Bt SC, indicando que essas podem ter menor poder de espalhamento na superfície foliar. Logo, gotas com maiores tensões superficiais, terão maiores DMV, proporcionando menores riscos de deriva devido à capacidade que as soluções com maior tensão superficial têm de produzir gotas grossas. Essas por sua vez são mais resistentes a ação do vento durante as pulverizações³⁰.

Os menores ângulos de contato das gotas foram verificados nas caldas da formulação WP, tanto para o parafilme como para a folha de algodão. Portanto, as caldas compostas por esta formulação apresentam maior capacidade de espalhamento sobre a superfície foliar das plantas. Deste modo, a tensão superficial influenciou diretamente no ângulo de contato das gotas, sendo que quanto menor foi a tensão superficial do líquido, menor foi o ângulo de contato. Isso é resultado da adição de tensoativos que promovem rearranjos moleculares de maneira que a extremidade polar das moléculas volte-se para a água, enquanto a outra extremidade voltada para a interface em que o líquido está em contato, “quebrando” assim a tensão superficial da calda e, por consequência reduzindo o ângulo de contato em relação à folha e aumentando a molhabilidade²⁸.

A adição do LAP nas caldas Bt resultou em redução do pH e aumento de condutividade elétrica em todos os períodos de descanso. Meios ácidos podem proporcionar uma maior esporulação em caldas a base de Bt¹², pois, durante o crescimento vegetativo, a bactéria produz e excreta para o meio de cultivo piruvato e acetato, provenientes da fermentação de carboidratos³¹. Ao final do crescimento vegetativo, inicia a síntese de poli-β-hidroxibutirato (PHB), o qual serve como reserva intracelular de carbono e energia para esporulação em muitas *Bacillus* spp.¹³. Quando um valor mínimo de pH é atingido, a síntese de PHB se inicia e é prolongada por algumas horas, até atingir uma concentração máxima juntamente com o início da

esporulação³². O LAP apresenta em sua composição ácido propiônico e lecitina, que influenciam na produção de esporos de Bt, pois, a síntese dos cristais proteicos requer uma elevada quantidade de energia¹³, e estes componentes, podem ser uma fonte de energia de grande importância para a síntese dos cristais, colaborando para o crescimento das colônias em número e em vigor.

A condutividade elétrica das caldas se manteve constante no decorrer do período de descanso. A formulação WP apresentou os maiores valores de C.E., essa diferença entre condutividade elétrica, pode ser atribuída pela composição da calda, o que altera a eficácia biológica dos produtos fitossanitários³³. O estudo do pH e da C.E., são importantes, pois estes fatores influenciam no resultado da aplicação, uma vez que podem acelerar a degradação dos produtos fitossanitários³⁴.

Conclusões

A formulação Bt WP, com e sem a adição adjuvantes, apresentou melhores características quanto ao espectro de tamanho de gotas e espalhamento de gotas na superfície vegetal, tendo um menor risco de susceptibilidade à deriva por proporcionar maiores tamanhos de gotas. A adição do adjuvante a base de ácido propiônico e lecitina proporcionou pH levemente ácido e condutividade elétrica elevada nas caldas, características físico-químicas favoráveis à produção de cristais e esporos de Bt durante o processo de fermentação atuando como fonte de energia.

Métodos

Espectro do tamanho das gotas de pulverização

O tamanho de gotas foi determinado com medidor de diâmetro de partículas por difração de raios laser (Mastersizer S[®] versão 2.19). Uma unidade óptica nesse equipamento determina o diâmetro das gotas do espectro pulverizado, por meio do desvio de trajetória sofrido pelo laser ao atingi-las. Quanto menor a partícula, maior é o grau de difração que o raio de luz sofre³⁵. Os tratamentos estão descritos na Tabela 1 nas formulações Suspensão concentrada (SC) e pó molhável (WP) e testados com o modelo de ponta de pulverização de energia hidráulica de jato plano de faixa ampliada XR11003 (TeeJet Technologies), para todas as caldas. A pulverização foi acionada por ar comprimido e a pressão mantida constante a 275 kPa com regulador de pressão de precisão para cada ponta. Três exemplares da ponta foram avaliados quatro vezes, totalizando 12 repetições por tratamento. Usou-se o delineamento inteiramente ao acaso e foram avaliados os valores de diâmetro mediano volumétrico (DMV), coeficiente de uniformidade (Span) e porcentagem do volume com gotas menores que 100 µm (%V < 100µm).

Tensão superficial e ângulo das gotas em superfície de folhas de algodão

A tensão superficial das caldas foi medida em uma seção de folha de algodão e parafilme, com 0,5 cm de largura por 5 cm de comprimento. A tensão superficial foi determinada pelo método da gota pendente em tensiômetro automático (modelo OCA 15 Plus, da Dataphysics Germany). A imagem da gota formada na extremidade de uma agulha em uma seringa é capturada por uma câmera e o equipamento analisa o formato da gota por assimetria de eixos (ADSA-Axisymmetric Drop Shape Analysis). A tensão superficial foi determinada através da digitalização e análise do perfil da gota, utilizando para ajuste a equação de Young-Laplace³⁶.

Estabilidade de calda, pH e condutividade elétrica

No preparo das caldas foram utilizadas provetas de 250 mL com tampa, nas concentrações recomendadas de cada produto (Tabela 1). Os produtos líquidos foram dosados utilizando uma pipeta graduada de 1.000 µL (LabMate®). O pH (pHmetro QUIMIS® Q400AS) e a condutividade (Condutivimetro Marte® MB-11P) elétrica foram medidos antes e após a mistura. O preparo das caldas e avaliações foram feitas com temperatura à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa à $65 \pm 5\%$.

A avaliação das caldas foi realizada nos seguintes intervalos: separação imediata após a mistura (0) e após duas, seis e 24 horas em período de repouso, sendo observados os efeitos das interações entre os produtos quanto a homogeneidade e heterogeneidade (floculação, sedimentação, separação de fases, formação de grumos e formação de cristais) e formação de espuma³⁷. Na avaliação da floculação, formação de grumos e cristais foi utilizada peneira de tecido metálico com abertura nominal de $149 \mu\text{m}$ ³⁸. A sedimentação foi medida pelo volume de calda depositada ao fundo da proveta.

Análise estatística

O espectro do tamanho de gotas e a tensão superficial foram analisados em esquema fatorial 2x8 (Formulação do Dipel® vs adjuvantes). O ângulo de contato em esquema fatorial 2x8x2 (Formulação do Dipel® vs adjuvantes vs superfície), e os valores de pH e C.E. analisados em esquema fatorial 2x8x4 (Formulação do Dipel® vs adjuvantes vs tempo de leitura). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa SAS USER³⁹ versão 9.3.

References

1. Van Frankenhuyzen, K. Specificity and cross-order activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. **In:** Fiuza, L.M.; Polanczyk, R.A.; Crickmore, N. (Eds.) *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Characterization and use in the field of biocontrol. New York: Springer International Publisher. 127-172 (2017).

2. Schnepf, E. et al. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **62**, 775-806 (1998).
3. Chakroun, M., Banyuls, N., Bel, Y., Escriche, B. & Ferré, J. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **80**, 329-350 (2016).
4. Crickmore, N. Beyond the spore – past and future developments of *Bacillus thuringiensis* as a biopesticide. *J. Appl. Microbiol.* **101**, 616-619 (2006).
5. Jurat-Fuentes, J. L. & Crickmore, N. Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. *J. Invertebr. Pathol.* **142**, 5 -10 (2017).
6. Raymond, B., Lijek, R. S., Griffiths, R. I. & Bonsall, M. B. Quantifying the reproduction of *Bacillus thuringiensis* HD1 in cadavers and live larvae of *Plutella xylostella*. *J. Invertebr. Pathol.* **98**, 307-313 (2008).
7. Salvalaggio, A. C. et al. Spreading drops of insecticide syrup with different doses of adjuvants on cassava leaves. *Sci. Agrar. Parana.* **16**, 246-252 (2017).
8. Agostini, L. T. et al. Compatibility of products based on *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) with glyphosate in various strengths, used in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Ciência et Praxis*, **6**, 37-40 (2013).
9. Griesang, F. et al. How Much Do Adjuvant and Nozzles Models Reduce the Spraying Drift? Drift in Agricultural Spraying. *AJPS.* **08**, 2785-2794 (2017).
10. Creech, F. C., Henry, R., Hewitt, A. & Kruger, G. Herbicide Spray Penetration into Corn and Soybean Canopies Using Air-Induction Nozzles and a Drift Control Adjuvant. *Weed Technol.* **32**, 72-79. doi:10.1017/wet.2017.84 (2018).
11. Wang, X. et al. Drift potential of UAV with adjuvants in aerial applications. *Int. J. Agric. & Biol. Eng.* **11**, 54-58 (2018)
12. Liu, B. L. & Tzeng, Y. M. Optimization of growth medium for production of spores from *Bacillus thuringiensis* using response surface methodology. *Bioprocess Eng.* **18**, 413-418 (1998).
13. Gong, Y. et al. Comparative proteomic analysis revealed metabolic changes and the translational regulation of Cry protein synthesis in *Bacillus thuringiensis*. *J. Proteomics*, **75**, 1235-1246 (2012).
14. Hess, F. D. & Foy, C. L. Interaction of surfactants with plant cuticles. *Weed Technol.* **14**, 807-813 (2000).
15. Van Zyl, S. A., Brink, J. C., Calitz, F. J., Coertze, S.; Fourie, P. H. The use of adjuvants to improve spray deposition and Botrytis cinerea control on Chardonnay grapevine leaves. *Crop Prot.* **29**, 58-67, (2010).
16. Xu, L., Hu, H., Ozkan, H. E., Bagley, W. E. & Krause, C. R. Droplet evaporation and spread on waxy and hairy leaves associated with the type and concentration of adjuvants. *Pest Manag. Sci.* **67**, 842-851, (2011).
17. Moreira, G. F., Batista, E. S. P., Campos, H. B. N., Lemos, R. E. & Ferreira, M. C. Spray nozzles, pressures, additives and stirring time on viability and pathogenicity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) for Greenhouses. *PlosOne* **8**, e65759 (2013).
18. Dito, D. F., Shapiro-Ilan, D. I., Dunlap, C. A., Behle, R. W. & Lewis, E. E. Enhanced biological control potential of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, applied with a protective gel formulation. *Biocontrol Sci. Technol.* **26**, 835-848 (2016).
19. Noosidum, A., Satwong, P., Chandrapatya, A. & Lewis, E. E. Efficacy of *Steinernema* spp. plus anti-desiccants to control two serious foliage pests of

- vegetable crops, *Spodoptera litura* F. and *Plutella xylostella* L. *Biol. Control*, **97**, 48-56 (2016).
20. Alves, S. B., Moino Júnior, A. & Almeida, J. E. M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. *In*: Alves, S. B. Controle microbiano de insetos. (ed. 2) 217-238 (FEALQ, 1998).
 21. Sundaram, A. & Sundaram, K. M. S. Effect of sunlight radiation, rainfall and droplet spectra of sprays on persistence of *Bacillus thuringiensis* deposits after application of dipel® 76af formulation onto conifers. *J. Environ. Sci. Health Part B-Pestic. Contam. Agric. Wastes*, **31**, 1119-1154 DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/03601239609373057> (1996).
 22. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Phytosanitary treatments for regulated pests. Rome, IPPC, FAO (2007).
 23. Ferguson, J. C. et al. Determining the drift potential of Venturi nozzles compared with standard nozzles across three insecticide spray solutions in a wind tunnel. *Pest Manag. Sci.* **72**, 1460-1466. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4214> (2016).
 24. Bravo, A., Likitvivatnanong, S., Gill, S. S. & Soberón, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **41**, 423-431 DOI:10.1016/j.ibmb.2011.02.006 (2011)
 25. Costa, L. L., Carneiro, A. L. C. G., Souza, A. D. V., Almeida, D. P. & Ferreira, M. C. Caracterização da aplicação com diferentes inseticidas e pontas de pulverização na cultura da soja. *Engenharia na Agricultura*, **25**, 116-123 (2017).
 26. Ribeiro, M. N. O., Carvalho, S. P. Pereira, F. J. & Castro, E. M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. *Rev. Ciênc. Agron.* **43**, 354-361 (2012).
 27. Oliveira, R. B., Antuniassi, U. R. & Gandolfo, M. A. Spray adjuvant characteristics affecting agricultural spraying drift. *Eng. Agríc.* **35**, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v35n1p109-116/2015> (2015).
 28. Iost, C. A. R. & Raetano, C. G. Tensão superficial dinâmica e ângulo de contato de soluções aquosas com surfactants em superfícies artificiais e naturais. *Eng. Agríc.* **30**, 670-680 (2010).
 29. Gimenes, M. J., Zhu, H., Raetano, C. G. & Oliveira, R. B. Dispersion and evaporation of droplets amended with adjuvants on soybeans. *Crop Prot.* **44**, 84-90 (2013).
 30. Mota, A. A. B. & Antuniassi, U. R. Influência de adjuvantes no espectro de gotas de ponta com indução de ar. *Energia na Agricultura*, **28**, 1-5 (2013).
 31. Chen, D. et al. Proteomic analysis of *Bacillus thuringiensis* Δ phaC mutant BMB171/PHB-1 reveals that the PHB synthetic pathway warrants normal carbon metabolism. *J. Proteomics*, *In press*, DOI: 10.1016. (2012).
 32. Kominek, L.; Halvorson, H. Metabolism of poli- β -hydroxybutyrate and acetoin in *Bacillus cereus*. *J. Bacteriol.* **90**, 1252-1259 (1965).
 33. Green, J. M. & Hale, T. Increasing and decreasing pH to enhance the biological activity of nicosulfuron. *Weed Technol.* **9**, 468-475 (2005).
 34. Hirata, R., Skortzaru, B. & Narciso, E.S. Avaliação da degradação de inseticidas, em função do pH, utilizando *Drosophila melanogaster* e teste de inibição enzimática. *Arq. Inst. Biol.* **70**, 359-365 (2003).
 35. Etheridge, R. E., Womac, A. R. & Mueller, C. T. Characterization of the spray droplet spectra and patterns of four venturi-type drift reduction nozzles. *Weed Technol.* **13**, 765-770 (1999).

36. Lasmar, O. & Ferreira, M. C. Cinética da tensão superficial e do ângulo de contato de gotas a partir de caldas com adjuvantes sobre folhas de laranja. *In*: III Simpósio sobre fitossanidade em citros, de 01 a 03 de Agosto de 2012/ UNESP/FCAV-Jaboticabal-SP (2012).
37. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13875: **Agrotóxico - Avaliação de compatibilidade físico-química**. Rio de Janeiro, dez. 2014.
38. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR NM ISSO 3310-1: **Peneiras de ensaio - Requisitos técnicos e verificação**. Rio de Janeiro, out. 2010.
39. SAS Institute. User`s guide, statistics. SAS Institute Cary, NC, USA (1998).

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Tabela 1: Produtos comerciais utilizados para avaliar as características físicas e químicas das caldas nas formulações WP e SC do Dipel, quanto o espectro de tamanho de gotas, ângulo de contato e tensão superficial das gotas e potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica das caldas.

Caldas*	Dosagens	i.a dos produtos
Dipel® SC	625mL ha ⁻¹	<i>Bacillus thuringiensis</i> , var. kurstaki
Dipel® SC + In-tec	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Nonil Fenol Etoxilado
Dipel® SC + Agral	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Nonil Fenoxi Poli Etanol
Dipel® SC + Li-700	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Lecitina e Ácido Propiônico
Dipel® SC + TA-35	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Lauril Éter Sulfato de Sódio
Dipel® SC + Nimbus	625mL ha ⁻¹ + 750mL ha ⁻¹	Bt + Óleo Mineral
Dipel® SC + Silwet	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Óxido de Alquileno
Dipel® SC + Aureo	625mL ha ⁻¹ + 375 mL ha ⁻¹	Bt + Éster Metílico de Óleo de Soja
Dipel® WP	700g ha ⁻¹	<i>Bacillus thuringiensis</i> , var. kurstaki
Dipel® WP + In-tec	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Nonil Fenol Etoxilado
Dipel® WP + Agral	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Nonil Fenoxi Poli Etanol
Dipel® WP + Li-700	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Lecitina e Ácido Propiônico
Dipel® WP + TA-35	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Lauril Éter Sulfato de Sódio
Dipel® WP + Nimbus	700g ha ⁻¹ + 750mL ha ⁻¹	Bt + Óleo Mineral
Dipel® WP + Silwet	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Óxido de Alquileno
Dipel® WP + Aureo	700g ha ⁻¹ + 375mL ha ⁻¹	Bt + Éster Metílico de Óleo de Soja

*Todas as dosagens são recomendadas pelos fabricantes para o volume de calda de 150L ha⁻¹. i.a: Ingrediente ativo.

Fonte: Autor

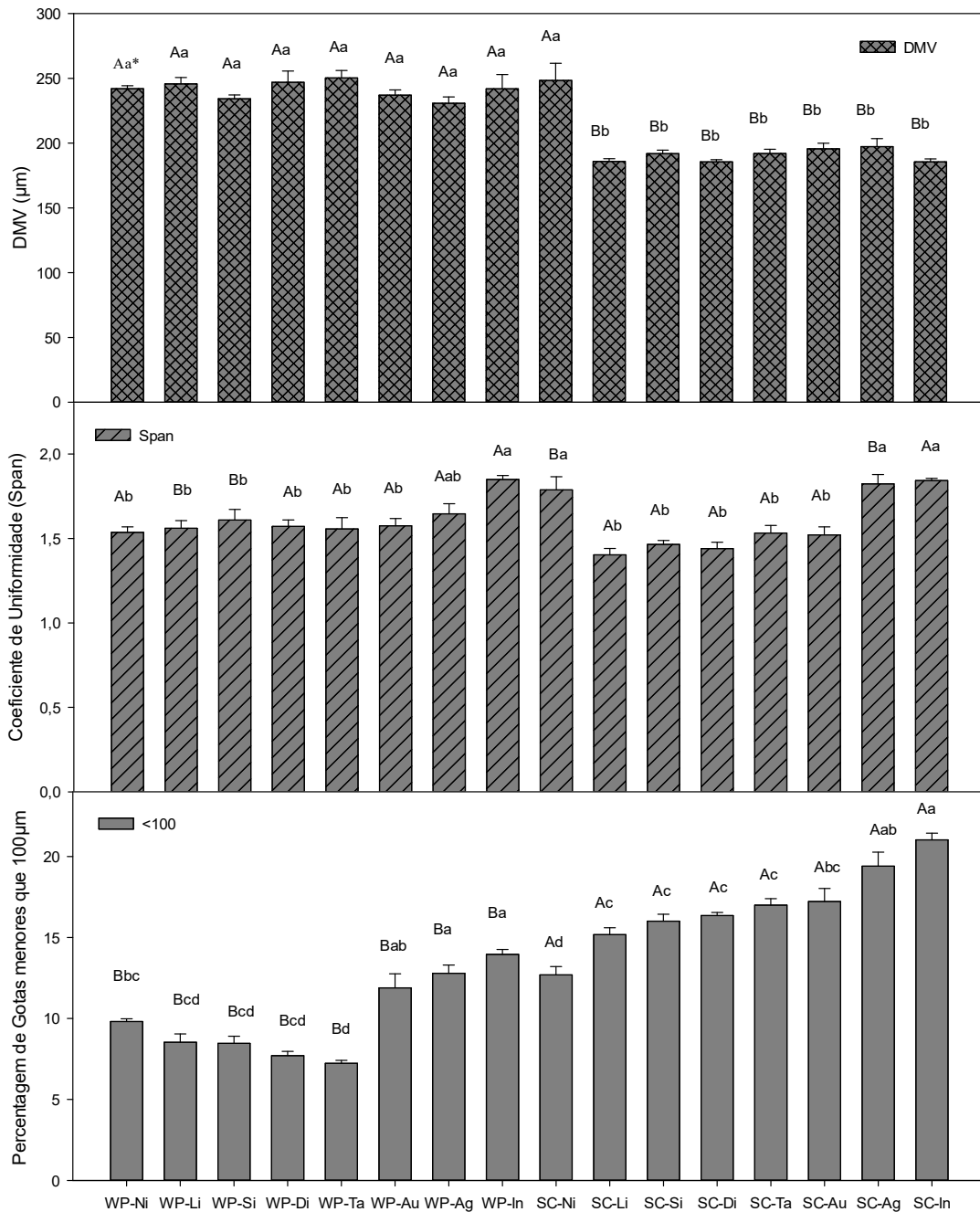


Figura 1: Valores de Diâmetro mediano volumétrico (DMV) Coeficiente de uniformidade (Span) e porcentagem de gotas menores que 100µm (<100) nas diferentes caldas. Legenda: SC-Ni: Formulação SC + OM; SC-Li: Formulação SC + LAP; SC-Si: Formulação SC + OA; SC-Di: Formulação SC; SC-Ta: Formulação SC + LESS; SC-Au: Formulação SC + EMOS; SC-Ag: Formulação SC + NFPE; SC-In: Formulação SC + NFE. WP-Ni: Formulação WP + OM; WP-Li: Formulação WP + LAP; WP-Si: Formulação WP + OA; WP-Di: Formulação WP; WP-Ta: Formulação WP + LESS; WP-Au: Formulação WP + EMOS; WP-Ag: Formulação WP + NFPE; WP-In: Formulação WP + NFE. *Letras maiúsculas comparam diferenças entre as formulações. Letras minúsculas, comparam diferenças entre os tratamentos dentro de cada formulações. Comparações seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste t de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor

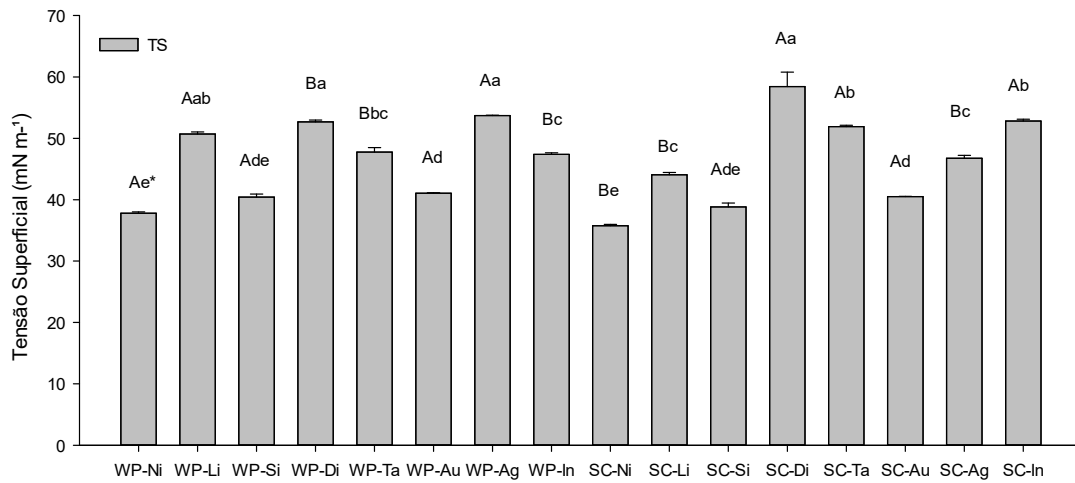


Figura 2: Valores da tensão superficial nas diferentes caldas aos 5 segundos. Legenda: SC-Ni: Formulação SC + OM; SC-Li: Formulação SC + LAP; SC-Si: Formulação SC + OA; SC-Di: Formulação SC; SC-Ta: Formulação SC + LESS; SC-Au: Formulação SC + EMOS; SC-Ag: Formulação SC + NFPE; SC-In: Formulação SC + NFE. WP-Ni: Formulação WP + OM; WP-Li: Formulação WP + LAP; WP-Si: Formulação WP + OA; WP-Di: Formulação WP; WP-Ta: Formulação WP + LESS; WP-Au: Formulação WP + EMOS; WP-Ag: Formulação WP + NFPE; WP-In: Formulação WP + NFE. *Letras maiúsculas comparam diferenças entre as formulações. Letras minúsculas, comparam diferenças entre os tratamentos dentro de cada formulações. Comparações seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste t de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor

Tabela 2: Valores de ângulo de contato de gotas para as caldas nas formulações WP e Sc nas superfícies de folha de algodão e parafilme.

Tratamentos	Superfície		
	Folha	Parafilme	
WP + OM	53,13Bbe*	73,70Aad	
WP + LAP	74,91Bba	88,20Aab	
WP + OA	64,73Babc	88,10Aab	
WP	57,32Bbcde	99,17Aba	
WP + LESS	53,62Bbde	86,57Abc	
WP + EMOS	59,06Bbcde	79,44Aacd	
Formulação	WP + NFPE	68,78Bbab	88,76Aab
	WP + NFE	61,49Bbbcd	88,82Abb
	SC + OM	59,10Bae	74,73Aae
	SC + LAP	82,52Baab	92,20Aab
	SC + OA	61,68Bade	79,35Abde
	SC	69,43Bacd	107,12Aaa
	SC + LESS	71,30Bac	96,26Aab
	SC + EMOS	72,50Bac	83,55Aacd
	SC + NFPE	75,86Babc	90,72Aabc
	SC + NFE	84,24Baa	105,77Aaa

*Legenda: Letras maiúsculas na linha comparam diferenças entre as superfícies nos diferentes tratamentos e formulações. Letras minúsculas na coluna, comparam diferenças entre formulações dentro dos tratamentos. Letras minúsculas sublinhadas comparam diferenças entre tratamentos dentro de cada formulação. Comparações seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste t de Tukey a 5% de probabilidade.

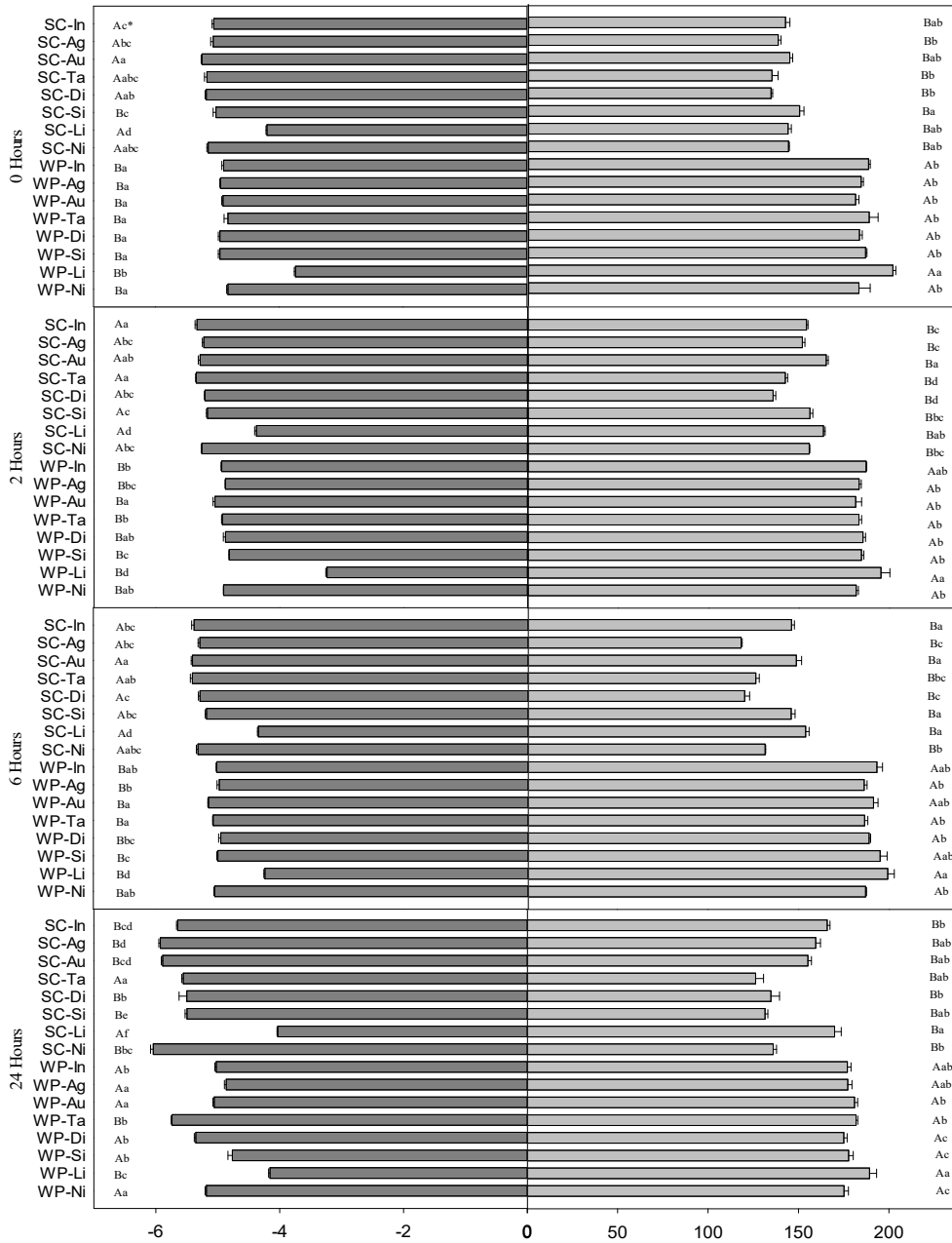


Figura 3: Valores de Potencial hidrogenionico (Esquerda) e Condutividade elétrica (Direita) nos diferentes periodos de repouso após agitação. Legenda: SC-Ni: Formulação SC + OM; SC-Li: Formulação SC + LAP; SC-Si: Formulação SC + OA; SC-Di: Formulação SC; SC-Ta: Formulação SC + LESS; SC-Au: Formulação SC + EMOS; SC-Ag: Formulação SC + NFPE; SC-In: Formulação SC + NFE. WP-Ni: Formulação WP + OM; WP-Li: Formulação WP + LAP; WP-Si: Formulação WP + OA; WP-Di: Formulação WP; WP-Ta: Formulação WP + LESS; WP-Au: Formulação WP + EMOS; WP-Ag: Formulação WP + NFPE; WP-In: Formulação WP + NFE. *Letras maiúsculas comparam diferenças entre as formulações. Letras minúsculas, comparam diferenças entre os tratamentos dentro de cada formulações. Comparações seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste t de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor Author

CAPÍTULO 3 – Compatibilidade de bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* e adjuvantes visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* em laboratório³

Cicero Antônio Mariano dos Santos^{1*}, Joacir do Nascimento¹, Kelly Cristina Gonçalves¹, Giovani Smaniotto¹, Leonardo de Freitas Zechin², Ricardo Antônio Polanczyk³, Marcelo da Costa Ferreira⁴

¹Doutorandos em Entomologia Agrícola, Departamento de Fitossanidade, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

²Estudante de Agronomia, Universidade Estadual Paulista, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

³Professor Associado do Departamento de Fitossanidade, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

⁴Professor Titular do Departamento de Fitossanidade, Unesp Jaboticabal, 14884-900, Brasil.

*Autor correspondente. e-mail: anttony.ms@gmail.com

Resumo- *Spodoptera frugiperda* é uma praga de importância econômica para diversas culturas com relatos de resistência crescentes para plantas Bt e inseticidas químicos. Bioinseticidas a base da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) podem ser uma alternativa aos inseticidas químicos para o seu controle. Entretanto, a eficácia do Bt

³ Este capítulo corresponde ao artigo científico submetido à revista Agriculture, Ecosystems & Environment e encontra-se em avaliação para publicação.

bioinseticida é influenciada pela associação com outros produtos químicos, como os adjuvantes, sendo que a mistura desses produtos pode afetar no crescimento vegetativo e esporulação do Bt. Este trabalho teve o objetivo de avaliar o crescimento vegetativo, esporulação e toxicidade de Bt bioinseticidas em mistura com adjuvantes para o controle de *S. frugiperda*. Os tratamentos foram constituídos pela associação do bioinseticida Dipel® nas formulações SC e WP associados a diferentes adjuvantes. Para as avaliações dos parâmetros biológicos do Bt, foram realizados testes de compatibilidade das misturas e crescimento de colônia e esporulação de esporos. Para as avaliações de mortalidade de *S. Frugiperda* foram utilizadas suspensões de Bt nas concentrações de 10^6 e 3×10^8 obtidas das misturas de Bt bioinseticidas e adjuvantes. Água destilada foi utilizada como testemunha. A adição do adjuvante LI, proporcionou maior crescimento e esporulação em ambas as formulações, sendo classificado como compatível com o Bt bioinseticida. Os demais adjuvantes foram muito tóxicos ao Bt, sendo prejudiciais ao crescimento e esporulação. Nos testes de mortalidade das suspensões de Bt à 10^6 e 3×10^8 , apenas a mistura de Bt bioinseticidas com LI e Bt isolado foram eficientes no controle de *S. frugiperda*. Estes resultados indicam que a adição de adjuvantes a calda com Bt bioinseticidas prejudicam o crescimento esporulação da bactéria o que reduz a eficiência do bioinseticida para *S. frugiperda*.

Palavras-chave: Bt, lagarta militar, mistura em tanque, toxicidade

1. Introdução

Spodoptera frugiperda (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga de importância econômica devido ao seu habito polífago e voracidade (Barros et al.,

2010; Tavares et al., 2010), alta capacidade reprodutiva e dispersão de adultos (Nagoshi et al., 2015), variabilidade entre populações (Monnerat et al., 2006) e múltiplas gerações por ano (Farias et al., 2014). Seu controle é baseado em inseticidas químicos e plantas Bt, técnicas de controle que apresentam relatos cada vez mais frequentes de resistência (Bolzan et al., 2019; Gutiérrez-Moreno et al., 2019; Farias et al., 2016; Storer et al., 2010). Por conta disso, o uso crescente de bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* vem ganhando destaque no controle de *S. frugiperda*, sendo uma tática de controle eficiente, comparável aos químicos (Fiuza et al., 2017; Sanahuja et al., 2011)

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria gram-positiva que produz toxinas durante as fases vegetativa e de esporulação que são tóxicas para insetos, ácaros, nematoides e protozoários (Van Frankenhuyzen, 2009; Crickmore, 2006). O Bt apresenta grande importância no controle de pragas devido à sua capacidade de sintetizar diversas proteínas com atividade inseticida, especialmente as toxinas Vip e Cry (Chakroun et al., 2016; Palma et al., 2014; Schnepf et al., 1998). O modo de ação do Bt bioinseticida envolve as etapas de ingestão do complexo esporo-cristal pelo inseto suscetível, solubilização e ativação por proteases intestinais, reconhecimento e ligação a receptores no intestino médio, formação de poros e lise celular (Jurat-Fuentes e Crickmore, 2017; Schünemann et al., 2014). A multiplicação de esporos no intestino médio do inseto leva a septicemia, processo de infecção iniciando quando o pH do intestino do inseto é reduzido, e que causa a morte do inseto (Raymond et al., 2008).

A aplicação dos Bt bioinseticidas é feita por pulverização, que pode ser isolada ou associada a adjuvantes (Santos et al., 2019; Salvalaggio et al., 2017). A adição de

adjuvantes às caldas fitossanitárias vem crescendo em importância devido a maior proteção das gotas e do ingrediente ativo, redução de deriva e da evaporação e melhor espalhamento das gotas na superfície foliar (Creech et al., 2018; Wang et al., 2018).

Entretanto, para utilizar a mistura dos Bt bioinseticidas e adjuvantes no tanque de pulverização é necessário avaliar a sua compatibilidade, pois os adjuvantes podem afetar importantes características físico-químicas (Santos et al., 2019) e biológicas da calda, inibindo ou estimulando o crescimento vegetativo do microrganismo (Agostini et al., 2013; Morris, 1975), reprodução, mutações, ou até mesmo a inativação dos esporos e cristais do Bt bioinseticida (Alves et al., 1998). Porém, faltam estudos sobre a interação dos Bt bioinseticidas com adjuvantes, especialmente sobre o efeito desta interação na viabilidade, persistência e eficiência do Bt em condições de campo (Knaak et al., 2010). Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar se a adição de adjuvantes na calda de Bt bioinseticida afeta no crescimento, esporulação e eficiência para controle de *S. frugiperda*.

2. Material e Métodos

2.1 Criação de Spodoptera frugiperda

Espécimes de *S. frugiperda* foram obtidos da criação massal da Embrapa Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil. Os adultos foram mantidos em gaiolas de plástico (35 × 30 cm), com dieta a base de solução de açúcar à 10% e os imaturos mantidos em dieta artificial (Greene et al., 1976). As posturas foram coletadas diariamente e após

a eclosão das larvas, estas foram individualizadas e acondicionadas em potes de 7cm de diâmetro e 3cm de altura, com dieta artificial até a formação das pupas. Após a formação das pupas, estão foram sexadas e acondicionadas nas gaiolas para emergência dos adultos. A criação permaneceu em câmara climatizada com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 60% a 70% de com fotoperíodo de 16:8 (luz: escuro) (Kim et al. 2016).

2.2 Produtos utilizados no experimento

Para a avaliação da compatibilidade de Bt bioinseticidas associado a adjuvantes foram estabelecidos tratamentos registrados para a cultura do algodão (Tabela 1).

Tabela 1: Produtos comerciais utilizados para avaliar as características físicas e químicas das caldas nas formulações WP e SC do Dipel, quanto o espectro de tamanho de gotas, ângulo de contato e tensão superficial das gotas e potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica das caldas.

Caldas*	Dosagens	i.a dos produtos
Dipel® SC	625mL ha ⁻¹	<i>Bacillus thuringiensis</i> , var. kurstaki
Dipel® SC + In-tec	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Nonil Fenol Etoxilado
Dipel® SC + Agral	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Nonil Fenoxi Poli Etanol
Dipel® SC + Li-700	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Lecitina e Ácido Propiônico
Dipel® SC + TA-35	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Lauril Éter Sulfato de Sódio
Dipel® SC + Nimbus	625mL ha ⁻¹ + 750mL ha ⁻¹	Bt + Óleo Mineral
Dipel® SC + Silwet	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Óxido de Alquileno
Dipel® SC + Aureo	625mL ha ⁻¹ + 375 mL ha ⁻¹	Bt + Éster Metílico de Óleo de Soja
Dipel® WP	700g ha ⁻¹	<i>Bacillus thuringiensis</i> , var. kurstaki
Dipel® WP + In-tec	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Nonil Fenol Etoxilado
Dipel® WP + Agral	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Nonil Fenoxi Poli Etanol
Dipel® WP + Li-700	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Lecitina e Ácido Propiônico
Dipel® WP + TA-35	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Lauril Éter Sulfato de Sódio
Dipel® WP + Nimbus	700g ha ⁻¹ + 750mL ha ⁻¹	Bt + Óleo Mineral
Dipel® WP + Silwet	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Óxido de Alquileno
Dipel® WP + Aureo	700g ha ⁻¹ + 375mL ha ⁻¹	Bt + Éster Metílico de Óleo de Soja

*Todas as dosagens são recomendadas pelos fabricantes para o volume de calda de 150L ha⁻¹. i.a: Ingrediente ativo.

Fonte: Autor

2.3 Testes de compatibilidade do *Dipel*[®] WP e *Dipel*[®] SC com os adjuvantes

Como substrato para as avaliações de compatibilidade de Bt bioinseticidas e adjuvantes, foi utilizado o meio de cultura ágar nutriente (NA), preparado através da dissolução de 18,0 gramas do produto formulado Nutrient Agar[®] (KASVI, Itália) 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, os adjuvantes nas doses recomendadas foram adicionados e homogeneizados ao meio de cultura com o auxílio de um agitador magnético, aferindo o pH da solução e então vertido em placas de Petri com 9,0 cm de diâmetro, totalizando 10 repetições para cada análise de compatibilidade. Cada calda foi considerada um tratamento. Para a testemunha foi utilizado somente Nutrient Agar[®] sem a adição dos adjuvantes no meio de cultura para o crescimento do produto biológico.

Após solidificação do meio, foi inoculada uma alíquota de 5,0 µL de calda do bioinseticida na região central da placa de Petri e espalhada com alça de Drigalski. As placas inoculadas foram acondicionadas em câmaras de germinação do tipo Biological Oxygen Demand (B.O.D.) por um período de sete dias, ajustada a temperatura favorável ao desenvolvimento do Bt ($30 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h de luz/12 h de escuro.

Para avaliar o crescimento da colônia, foi utilizado o medidor de área foliar (modelo CI-202).

Para a contagem de esporos para cada tratamento, foi utilizada uma câmara de Neubauer (BOCCO, Germany) em microscópio ótico de contraste de fases com aumento de 400 x (Zeiss AXIO).

2.4 Classificação de compatibilidade entre bioinseticidas e adjuvantes

Os valores de crescimento vegetativo e esporulação dos tratamentos foram padronizados pela classificação de compatibilidade desenvolvida por Alves et al. (1998) (Tabela 2), que se baseia nos valores médios da porcentagem de esporulação e crescimento das colônias de Bt, 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. A toxicidade dos produtos químicos a Bt é classificada em muito tóxico (T variando de 0 a 30), tóxico (T variando de 31 a 45), moderadamente tóxico (T variando de 46 a 60) e compatível (T acima de 60).

*2.5 Eficiência do Bt em diferentes concentrações para o controle de *Spodoptera frugiperda**

Para os bioensaios de mortalidade, foi utilizada uma alíquota de 100 mL de suspensão de Bt na concentração de 10^6 ou 3×10^8 esporos/mL, dependendo da esporulação dos tratamentos (Polanczyk et al., 2000), aplicadas em discos foliares de 2cm de diâmetro retirados das plantas de algodão. A aplicação foi realizada por meio de com auxílio de uma torre de Potter (Burkard Manufacturing) calibrada a 34,5 kPa, utilizando um volume de 2 mL de calda em cada pulverização (Della Vechia et al., 2018). Na testemunha foi aplicada água destilada.

Após a pulverização, os discos foram acondicionados sobre uma mistura geleificada de ágar-água a 2,5% (1 mL/célula) em potes de plásticos de 7cm de diâmetro por 3cm de altura. Os discos das folhas de algodão foram mantidos separados da camada ágar-água por um disco de papel filtro (Bernardi et al., 2015). Uma hora após a aplicação das concentrações, 20 lagartas de segundo ínstar, foram distribuídas em 10 repetições para cada tratamento (16 tratamentos + testemunha). Em cada disco de folha, com auxílio de um pincel fino foi inoculada duas lagartas de até segundo instar de *S. frugiperda*. No lote correspondente à testemunha foi aplicada água destilada, em volume equivalente aos tratamentos.

Para acondicionamento do material, foi utilizada câmara incubadora tipo B.O.D., regulada para $25 \pm 0,5$ °C, $65 \pm 10\%$ de UR e 12 horas de fotofase. Nesses bioensaios os tratamentos foram avaliados diariamente até o 7º após a aplicação da bactéria.

2.6 Estatística utilizada nos experimentos

O crescimento das colônias e o número de esporos foram representados em esquema fatorial 2x8 (Formulação do Dipel® vs adjuvantes). A mortalidade das lagartas foi analisada em esquema fatorial 2x8x7+1 (Formulação do Dipel® vs adjuvantes vs tempo de avaliação + testemunha). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa SAS USER versão 9.4.

3. Resultados

3.1 Efeito dos tratamentos no crescimento vegetativo.

A formulação SC apresentou maior desenvolvimento de colônias, em praticamente todas as misturas avaliadas, exceto da adição de TA, onde este apresentou maior tamanho de colônia na formulação do Dipel WP. A adição do adjuvante LI, que é composto por lecitina e ácido propiônico, acarretou efeito aditivo na calda do Bt bioinseticida, havendo maior crescimento vegetativo para ambas as formulações do Bt bioinseticida.

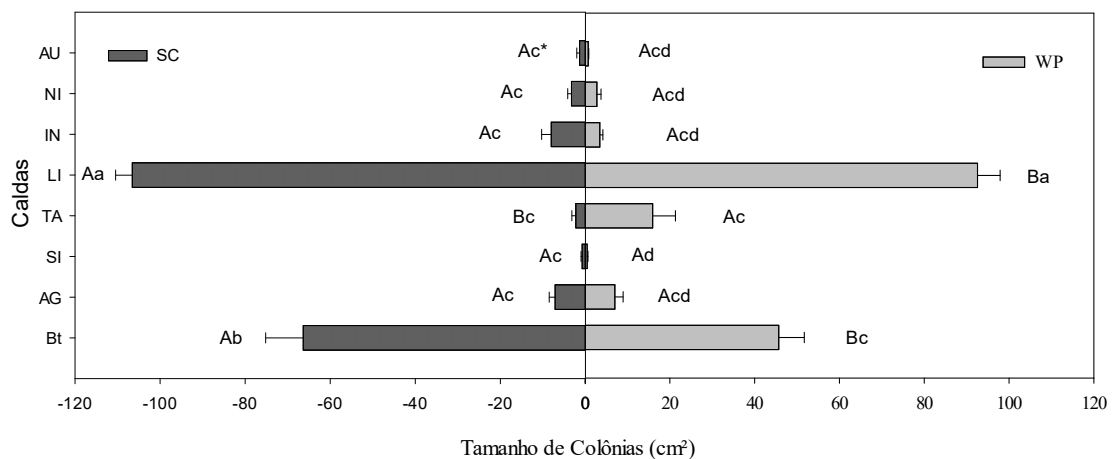


Fig. 1. Tamanho médio de colônias das misturas de Bt bioinseticidas com adjuvantes. Legenda: *Letras maiúsculas comparam efeito de formulação. Letras minúsculas comparam efeito de adição de adjuvante nas caldas. SC – Suspensão concentrada; WP – Pó molhável; AU – Aureo; NI – Nimbus; IN – In-tec; Li – Li-700; TA – TA35; SI – Silwet; AG – Agral; Bt – Bt bioinseticida. Fonte: autor

3.2 Efeitos dos tratamentos na esporulação

A adição dos adjuvantes siliconados, óleos e espalhantes adesivos causou redução no número de esporos, enquanto a adição do adjuvante LI proporcionou um maior número de esporos, sendo que esse adjuvante atuou como aditivo na calda bioinseticida, proporcionando maior esporulação do que os bioinseticidas isolados.

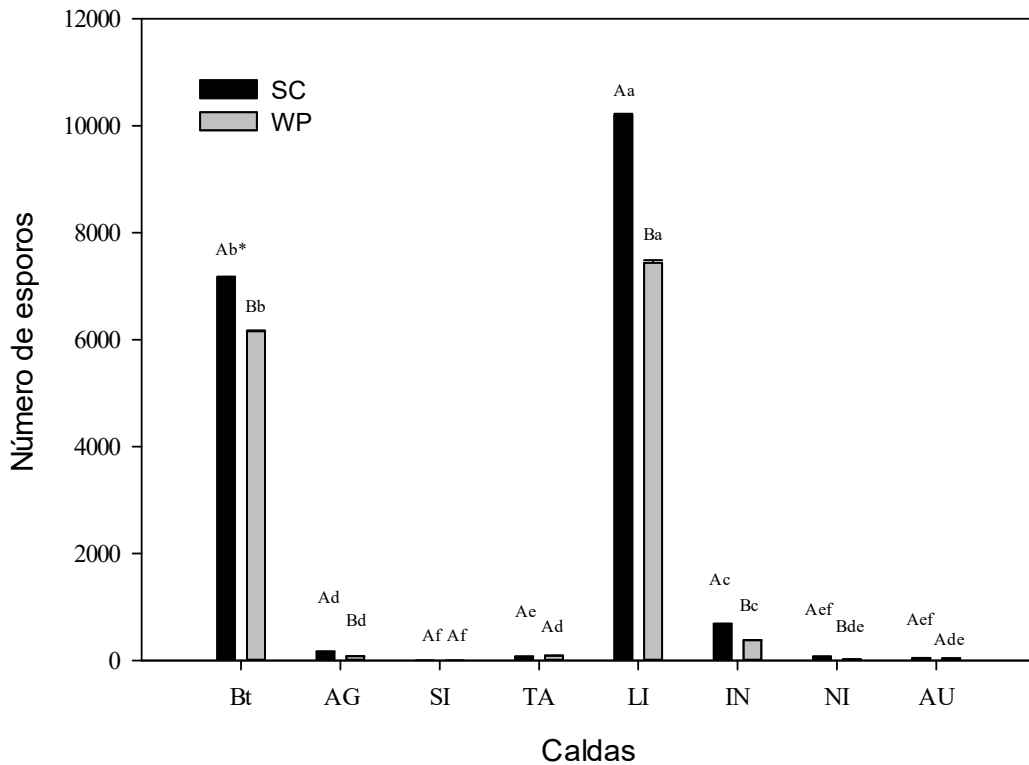


Fig. 2: Contagem média de esporos obtidos das misturas de Bt bioinseticidas com adjuvantes. Legenda: *Letras maiúsculas comparam efeito de formulação. Letras minúsculas comparam efeito de adição de adjuvante nas caldas. SC – Suspensão concentrada; WP – Pó molhável; AU – Aureo; NI – Nimbus; IN – In-tec; Li – Li-700; TA – TA35; SI – Silwet; AG – Agral; Bt – Bt bioinseticida. Fonte: autor

3.3 Classificação de compatibilidade dos adjuvantes à Bt bioinseticidas

Para a classificação de compatibilidade dos adjuvantes adicionados aos Bt bioinseticidas, todos os adjuvantes foram classificados como muito tóxicos quando adicionados a calda de Bt bioinseticidas, com exceção do LI que foi classificado como compatível (Tabela 2), além de apresentar efeito aditivo no crescimento vegetativo e esporulação para classificação de produtos, apresentando maiores quantidades de tamanho de colônias e esporos quando comparado ao Bt isolado que apresentou valor de T igual à 100.

Tabela 2: Valores de T para a classificação do efeito de adjuvantes sobre *Bacillus thuringiensis*.

Caldas	Valor de T	Classificação do Produto
SC + IN	3,19	Muito tóxico
SC + AG	2,18	Muito tóxico
SC + LI	146,07	Compatível
SC + TA	0,99	Muito tóxico
SC + NI	0,99	Muito tóxico
SC + SI	0,23	Muito tóxico
SC + AU	0,41	Muito tóxico
WP + IN	2,02	Muito tóxico
WP + AG	3,09	Muito tóxico
WP + LI	137,13	Compatível
WP + TA	6,99	Muito tóxico
WP + NI	1,23	Muito tóxico
WP + SI	0,22	Muito tóxico
WP + AU	0,34	Muito tóxico

Legenda: WP – Pó molhável; AU – Aureo; NI – Nimbus; IN – In-tec; LI – Li-700; TA – TA35; SI – Silwet; AG – Agral; Bt – Bt bioinseticida.

3.4 Eficiência dos Bt tratamentos para *Spodoptera frugiperda*

As suspensões na concentração de esporos de 10^6 do Bt bioinseticida nas formulações WP e SC causaram maior mortalidade 5 dias após a aplicação dos tratamentos, sendo que apenas as suspensões isoladas e com adição do LI causaram mortalidade acima dos 65% e nos demais tratamentos a mortalidade variou entre 15 e 30% (Tabela 3; Figuras 3 e 4). Para a mortalidade de *S. frugiperda* na concentração de 3×10^8 esporos, Bt bioinseticidas com e sem a adição do LI proporcionaram mais de 90% de mortalidade (Figura 5).

Tabela 3: Mortalidade diária de *Spodoptera frugiperda* submetida a misturas dos adjuvantes e Bt bioinseticidas nas formulações Dipel SC e Dipel WP.

Suspensões	1D	2D	3D	4D	5D	6D	7D
Testemunha	0Aa ± 0,00	5Aa ± 5,00	5Ab ± 5,00	10Ac ± 5,80	10Ab ± 5,80	10Ab ± 5,80	10Ab ± 5,80
Bt SC	0Aa ± 0,00	5Aa ± 5,00	30Aab ± 5,77	45Aab ± 5,00	65Aa ± 5,00	70Aa ± 5,00	80Aa ± 5,77
SC + IN	10Aa ± 5,77	15Aa ± 5,00	15Aab ± 5,00	20Abc ± 0,00	25Ab ± 5,00	25Ab ± 5,00	35Ab ± 9,57
SC + AG	0Aa ± 0,00	5Aa ± 5,00	5Ab ± 5,00	20Abc ± 8,20	25Ab ± 12,9	25Ab ± 12,9	25Ab ± 12,9
SC + LI	10Aa ± 5,8	10Aa ± 5,80	40Aa ± 0,00	50Aa ± 5,77	70Aa ± 5,00	85Aa ± 5,77	85Aa ± 5,00
SC + TA	5Aa ± 5,00	5Aa ± 5,00	15Aab ± 5,00	20Aab ± 5,80	20Ab ± 5,80	20Ab ± 5,80	20Ab ± 5,80
SC + NI	5Aa ± 5,00	10Aa ± 5,77	10Ab ± 5,77	20Abc ± 11,5	20Ab ± 9,57	20Ab ± 9,57	20Ab ± 9,57
SC + AU	0Aa ± 0,00	5Aa ± 5,00	10Ab ± 10,0	15bc ± 9,57	15Ab ± 11,54	15Ab ± 11,54	15Ab ± 11,54
Bt WP	10Aa ± 5,77	25Aa ± 9,57	45Aa ± 9,57	55Aa ± 12,5	75Aa ± 8,16	75Aa ± 9,57	75Aa ± 9,57
WP + IN	10Aa ± 10,0	10Aa ± 10,0	20Aab ± 5,77	25Abc ± 5,00	25Ab ± 5,00	25Ab ± 8,16	25Ab ± 8,16
WP + AG	0Aa ± 0,00	10Aa ± 5,77	20Aab ± 8,16	20Ac ± 5,00	20Ab ± 5,00	20Ab ± 5,00	20Ab ± 5,00
WP + LI	5Aa ± 5,00	20Aa ± 8,16	30Aab ± 10,0	50Aab ± 5,77	70Aa ± 5,00	80Aa ± 5,77	80Aa ± 5,77
WP + TA	5Aa ± 5,00	10Aa ± 5,77	15Ab ± 5,00	20Ac ± 0,00	20Ab ± 5,77	20Ab ± 5,00	20Ab ± 5,00
WP + NI	5Aa ± 5,00	10Aa ± 10,0	10Ab ± 10,0	15Ac ± 9,57	15Ab ± 8,16	15Ab ± 5,00	15Ab ± 5,00
WP + AU	5Aa ± 5,00	10Aa ± 5,77	15Ab ± 5,00	15Ac ± 5,00	15Ab ± 5,00	15Ab ± 5,00	15Ab ± 5,00

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas comparam valores de mortalidade entre as formulações. Letras minúsculas comparam efeito de mortalidade dentro de cada formulação. Legenda: SC-Suspensão concentra; WP-Pó molhável; AU-Aureo; NI-Nimbus; IN-In-tec; LI-Li-700; TA-TA35; SI-Silwet; AG-Agral; Bt-Bt bioinseticida. Testemunha - aplicação de água.

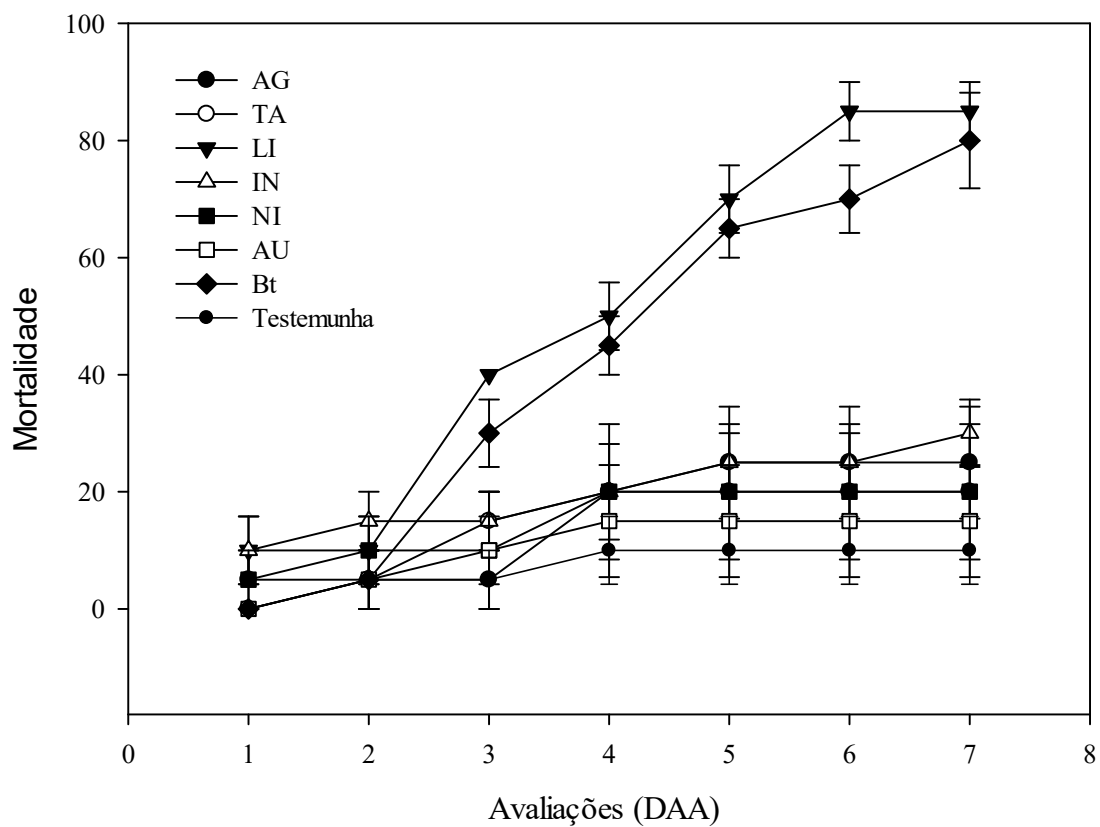


Fig. 3: Mortalidade acumulada de *Spodoptera frugiperda* causada por misturas de adjuvantes e Bt bioinseticidas na formulação suspensão concentrada (SC). Legenda: Concentração de 10^6 esporos por tratamento. Fonte: autor

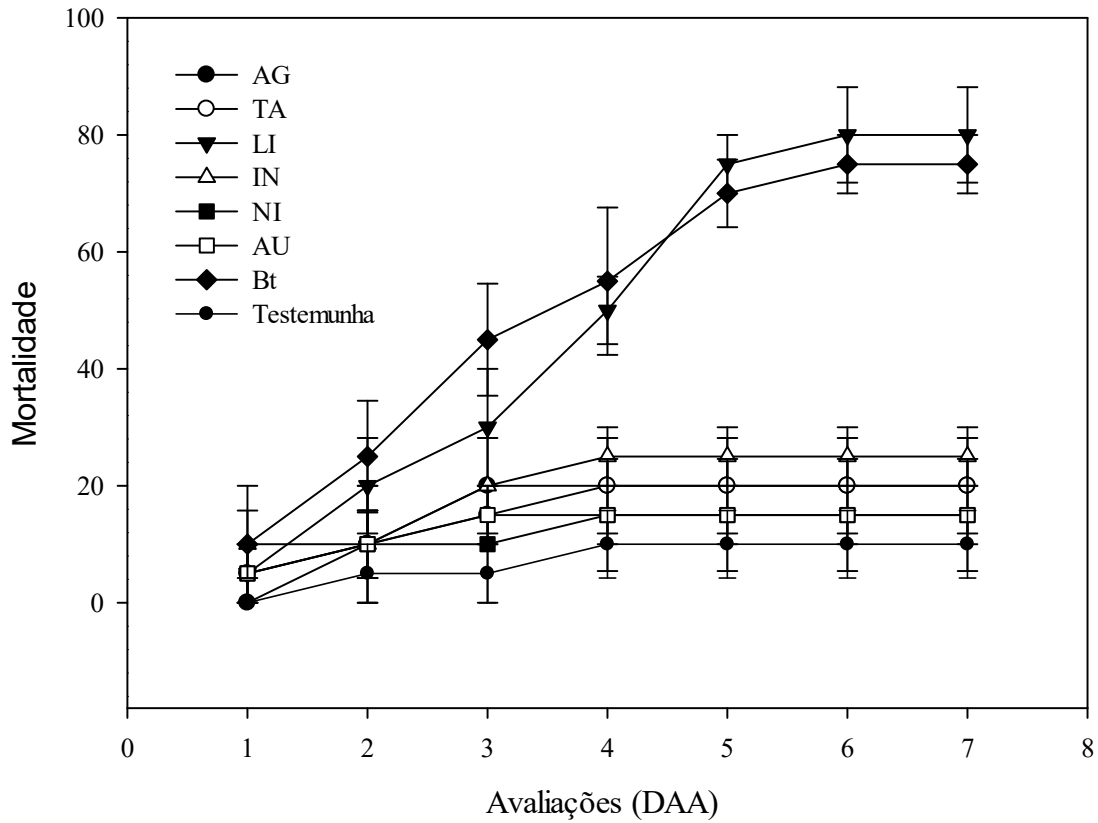


Fig. 4: Mortalidade acumulada de *Spodoptera frugiperda* mediante aplicação de misturas de adjuvantes e Bt bioinseticidas na formulação pó molhável (WP). Legenda: Concentração de 10^6 esporos por tratamento. Fonte: autor

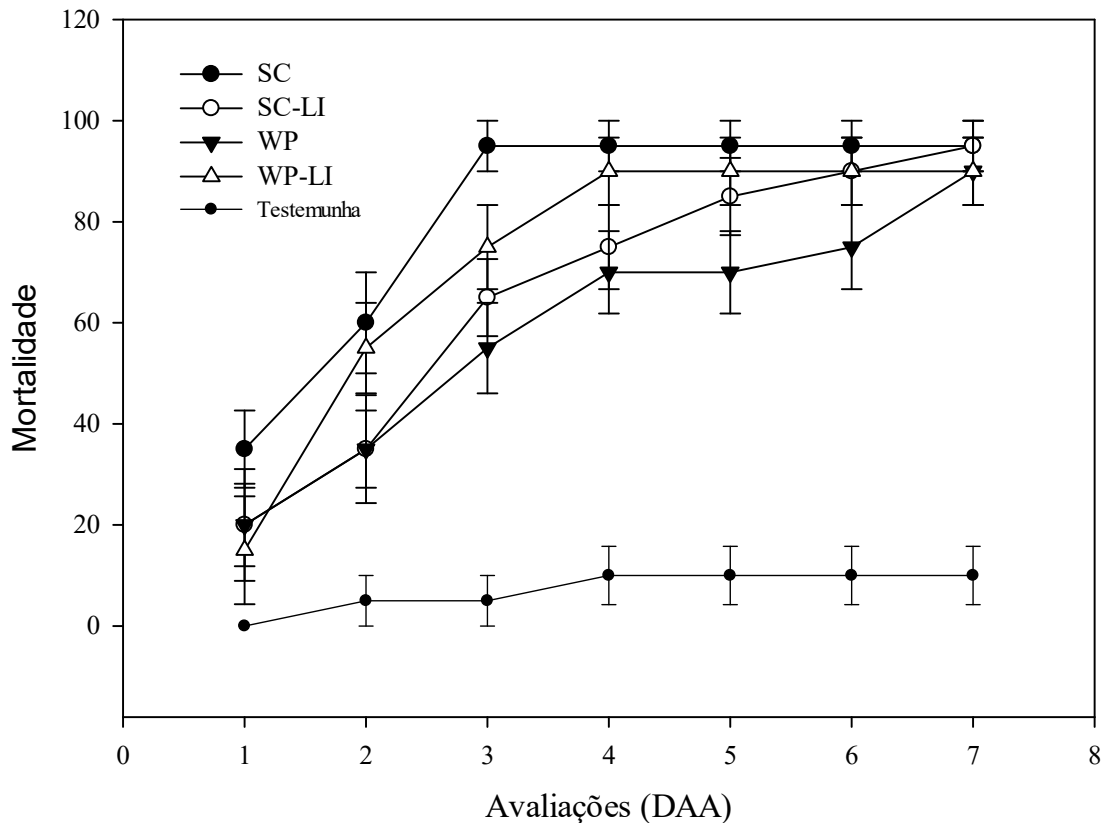


Fig. 5: Mortalidade acumulada de *Spodoptera frugiperda* mediante aplicação das misturas de Li e Bt bioinseticidas nas formulações pó molhável (WP) e suspensão concentrada (SC). Legenda: Concentração de 3×10^8 esporos por tratamento. Fonte: autor

4. Discussão

O adjuvante LI a base de ácido propiônico e lecitina proporcionou maior crescimento vegetativo principalmente na formulação Dipel SC. A lecitina e o ácido propiônico podem ser uma fonte de energia de grande importância para a síntese dos cristais, colaborando para o crescimento das colônias (Gong et al., 2012). Nos demais tratamentos o crescimento das colônias de *B. thuringiensis* foi pequeno, principalmente nas obtidas da mistura do Bt com o óxido de alquilenos.

As doses dos adjuvantes LI, SI, TA, IN e AG foram 10 vezes maiores na formulação WP do que na SC, conforme consta na bula dos bioinseticidas, o que

explica a redução do crescimento vegetativo para o LI nas caldas de Bt bioinseticidas na formulação WP. Para os adjuvantes a base de óleo mineral e óleo de soja, foram utilizadas as doses recomendadas pela fabricante dos adjuvantes, pois em situações de campo, o uso de doses reduzidas destes adjuvantes se torna inviável, podendo assim essas doses mais altas terem afetado no crescimento vegetativo e esporulação dos Bt bioinseticidas associados aos óleos.

A inibição ou redução do crescimento vegetativo de bioinseticidas é frequente quando o agricultor aumenta a dose de produtos fitossanitários, como por exemplo os inseticidas thiametoxan, malation e fipronil associado ao Bt bioinseticida (Pinto et al., 2012). No entanto, quando foi utilizada a dose recomendada pelo fabricante, não houve incompatibilidades entre o Bt bioinseticida e os inseticidas químicos (Pinto et al., 2012; Agostini et al., 2014). Isto reforça que a alteração da dose recomendada dos produtos químicos no preparo das misturas de caldas com Bt bioinseticidas aumenta as chances de incompatibilidade.

Apesar do pH ser um fator limitante para o crescimento vegetativo de colônias e esporulação de Bt, sendo que em meios ácidos de pH até 5,0 a germinação de esporos é reduzida substancialmente (Silva et al., 2012; Petras e Casida, 1985) e em meios alcalinos, com pH superiores a 8, a germinação dos esporos é cessada pela solubilização das proteínas (Wilson e Benoit, 1993), no presente estudo, foi verificado maior crescimento vegetativo e esporulação de esporos na mistura de Bt bioinseticidas e LI, com pH variando de 3,5 para a formulação WP e 4 para a SC (Santos et al., 2019), indicando que pH menor que 5 não afetou o crescimento vegetativo de colônias e número de esporos.

A adição do LI proporcionou um meio ácido para as caldas dos Bt bioinseticidas proporcionando maiores tamanhos de colônias e números de esporos, reforçando que meios ácidos podem proporcionar uma maior esporulação em caldas a base de Bt (Liu e Tzeng, 1998), pois a bactéria produz e excreta para o meio de cultivo piruvato e acetato durante o crescimento vegetativo, esses ácidos são provenientes da fermentação de carboidratos (Chen et al., 2012), os quais servem como reserva intracelular de carbono e energia para esporulação em muitas *Bacillus* spp. (Gong et al., 2012). Quando um valor mínimo de pH é atingido, a síntese de poli- β -hidroxibutirato (PHB) ocorre por algumas horas, até atingir uma concentração máxima com o início da esporulação (Kominck e Halvorson, 1965). Nesse caso a adição do adjuvante LI proporcionou reserva energética com lecitina e ácido propiônico durante a esporulação da bactéria influenciando em uma maior produção de esporos de Bt em ambas as formulações.

Neste sentido, presume-se que o pH não deve ser considerado o principal fator determinante na esporulação de Bt, mas também os componentes da formulação dos adjuvantes adicionados a cada Bt, como a lecitina e o ácido propiônico presente no LI. Além disso, outros três processos distintos estão envolvidos na germinação de esporos bacterianos, (1) a presença de receptores específicos na membrana interna do esporo, (2) a presença de canais iônicos e (3) a ação de enzimas líticas na degradação do córtex celular. Assim, a germinação pode ser desencadeada pela presença de aminoácidos, açúcares e nucleotídeos que se ligam a receptores, bem como sais e íons de Ca^{+2} presentes na calda (Setlow, 2003).

Todos os adjuvantes, com exceção do LI, foram classificados como muito tóxicos para o crescimento vegetativo e esporulação, proporcionando redução no

crescimento vegetativo e esporulação, o que afeta negativamente a eficiência dos Bt bioinseticidas. As principais variáveis entre a compatibilidade de um produto fitossanitário para com um Bt bioinseticida pode ser representada principalmente pelo ingrediente ativo e sua concentração utilizada, tanto para o grupo dos adjuvantes quanto para os herbicidas, inseticidas, fungicidas, e outros produtos fitossanitários (Morris, 1975; Chen et al., 1974). Nesse sentido os tensoativos presentes nos adjuvantes siliconados, espalhantes adesivos e os óleos utilizados nesse trabalho afetaram a compatibilidade entre o bioinseticida.

Os Bt bioinseticidas em mistura com adjuvantes siliconados, espalhantes adesivos e óleos não foram eficientes no controle de *S. frugiperda*. Diversos produtos fitossanitários adicionados a calda de Bt bioinseticidas podem inibir o crescimento vegetativo e esporulação Bt (Salama et al., 1984; Morris, 1977; Dougherty et al., 1971), este fato pode estar relacionado com a dose do produto químico adicionada na calda Bt, pois doses elevadas podem inibir o crescimento vegetativo da bactéria (Lozano et al., 2018; Agostini et al., 2013; Pinto et al., 2012; Silva et al., 2012) afetando sua eficiência no campo.

Diversos fatores podem afetar a atividade de Bt bioinseticidas, tais como estrutura e função intestinal dos insetos, dificultando a solubilização no intestino ou impedindo a ligação de proteínas para receptores específicos na membrana intestinal, diversidade de toxinas, estrutura proteica e solubilização da proteína, interações entre toxinas (Jurat-Fuentes e Crickmore, 2017; Gill, 1995), bem como a estrutura e processo de germinação dos esporos (Liu et al., 1998). Estes fatores podem estar associados a ligação desses produtos à proteína Cry, reduzindo a mortalidade o inseto alvo. A utilização de produtos fitossanitários seletivos a Bt bioinseticidas é um método

de manejo integrado muito importante quanto aos aspectos de segurança e eficiência no controle de pragas, principalmente em cultivos onde há diferentes tipos de aplicações de produtos fitossanitárias (Alves et al., 1998).

Com base nos resultados obtidos, é evidente que a ação de adjuvantes no crescimento vegetativo e esporulação de Bt pode ser influenciada pela natureza química dos produtos, bem como a sua concentração, podendo atuar como antagonistas, sinérgicos e aditivos na calda biológica (Batista-Filho, et al., 2001). Assim como os resultados demonstram, a presença de emulsificantes e outros aditivos emulsionáveis concentrados nas formulações dos adjuvantes podem contribuir para incompatibilidades com entomopatógenos, representando assim um fator adicional importante a ser controlado na elaboração de novas formulações comerciais (Morris, 1977). Desta forma, para o uso de adjuvantes associados a bioinseticidas, deve-se procurar aqueles que proporcionem a preservação da proteína Cry e interação favorável para a sua atuação na produção dos esporos e cristais potencializados no intestino dos insetos e responsáveis pela ação inseticida.

5. Conclusões

Conclui-se que o LI apresentou a melhor interação com os Bt bioinseticidas, proporcionando maiores tamanhos de colônias e número de esporos e um eficiente controle de *S. frugiperda* em condições de laboratório, podendo ser indicado para uso à campo. Os demais adjuvantes adicionados a calda Bt foram classificados como muito tóxico, afetando o crescimento vegetativo e esporulação da bactéria.

6. Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7. Referências Bibliográficas

- Agostini, L.T., Otuka, A.K., Silva, E.A., Baggio, M.V., Laurentis, V.L., Duarte, R.T., Agostini, T.T., Polanczyk, R.A., 2013. Compatibility of products based on *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) with glyphosate in various strengths, used in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Ciência et Praxis*, 6, 37-40.
- Alves, S.B., Moino Júnior, A., Almeida, J.E.M., 1998. Produtos fitossanitários e entomopatógenos, in: Alves, S.B. (Eds.), Controle microbiano de insetos. Piracicaba: FEALQ, pp. 217-238.
- Barros, E.M., Torres, J.B., Bueno, A.F., 2010. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. *Neotrop. Entomol.* 39, 996-1001.
- Barros, E.M., Torres, J.B., Ruberson, J.R.; Oliveira, M.D., 2010. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. *Entomol. Exp. Appl.* 137, 237-245.
- Batista-Filho, A., Almeida, J.E.M., Lamas, C., 2001. Effect of Thiamethoxam on Entomopathogenic Microorganisms. *Neotrop. Entomol.* 30, 437-447.
- Bernardi, D., Salmeron, E., Horikoshi, R.J., Bernardi, O., Dourado, P.M., Carvalho, R.A., Martinelli, S., Head, G.P., Omoto, C., 2015. Cross-resistance between

Cry1 proteins in fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) may affect the durability of current pyramided Bt maize hybrids in Brazil. PLoS One 10, e0140130.

Bolzan, A., Padovez, F.E.O., Nascimento, A.R.B., Kaiser, I.S., Lira, C., Amaral, F.S.A., Kanno, R.H., Malaquias, J.B., 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 Manag. Sci. 75, 2682-2689.

Chakroun, M., Banyuls, N., Bel, Y., Escriche, B., Ferré, J., 2016. Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 80, 329-350.

Chen, D., Xu, D., Li, M., He, J., Gong, Y., Wu, D., Sun, M., Yu, Z., 2012. Proteomic analysis of *Bacillus thuringiensis* Δ phaC mutant BMB171/PHB-1 reveals that the PHB synthetic pathway warrants normal carbon metabolism. J. Proteomics, In press, DOI: 10.1016.

Chen, K., Funke, B.R., Schulz, J.T., Carlson, R.B., Proshold, F.I., 1974. Effects of certain organophosphate and carbamate insecticides on *Bacillus thuringiensis*. J. Econ. Entomol. 67, 471-473.

Creech, F.C., Henry, R., Hewitt, A., Kruger, G., 2018. Herbicide Spray Penetration into Corn and Soybean Canopies Using Air-Induction Nozzles and a Drift Control Adjuvant. Weed Technol. 32, 72-79. doi:10.1017/wet.2017.84.

Crickmore, N., 2006. Beyond the spore – past and future developments of *Bacillus thuringiensis* as a biopesticide. J. Appl. Microbiol. 101, 616-619.

- DellaVechia, J.F., Ferreira, M.C., Andrade, D.J., 2018. Interaction of spiroadiclofen with insecticides for the control of *Brevipalpus yothersi* in citrus. *Pest Manag. Sci.* 74, 2438-2443
- Dougherty, E.M., Richelderfer, C.F., Faust, R.M., 1971. Sensitivity of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* to various insecticides and herbicides. *J. Invertebr. Pathol.* 17, 292-293.
- Farias, J.R., Andow, D.A., Horikoshi, R.J., Sorgatto, R.J., Freisa, P., Santos, A.C., Omoto, C., 2014. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Prot.* 64, 150-158.
- Farias, J.R., Andow, D.A., Horikoshi, R.J., Bernardi, D., Ribeiro, R.D., Nascimento, A.R., Santos, A.C., Omoto, C., 2016. Frequency of Cry1F resistance alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest Manag. Sci.* 72, 2295-2302.
- Fiuza, L.M., Polanczyk, R.A. Crickmore, N. 2017. *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Characterization and use in the field of biocontrol. Springer (Eds.), New York.
- Gill, S.S., 1995. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* toxins. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 90, 69-74.
- Greene, G.L., Leppla, N.C., Dickerson, W.A., 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69, 487-488.
- 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*. *J. Proteomics.* 75, 1235-1246.

- Gutiérrez-Moreno, R., Mota-Sanchez D., Blanco, C.A., Whalon, M.E., Terán-Santofimio, H., Rodriguez-Maciel, J.C., Di Fonzo, C., 2019. Field-Evolved Resistance of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico. *J Econ Entomol.* 112, 792-802. doi: 10.1093/jee/toy372.
- Jurat-Fuentes, J.L., Crickmore, N., 2017. Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. *J. Invertebr. Pathol.* 142, 5-10.
- Kim, J., Joo, Y., Lee, Y.J., Kim, J., Jang, M., Park, C G., 2016. Small scale-up validation for ionizing radiations against *Spodoptera frugiperda* larvae. *J. Asia-Pac. Entomol.* 19, 5-7.
- Knaak, N., Azambuja, A.O., Lucho, A.P.R., Berlitzs, D.L., Fiuza, L.M., 2009/2010. Interações de *Bacillus thuringiensis* e o controle de fitopatógenos. *Biologia, Ciência e Desenvolvimento.* 38, 48-53.
- Kominek, L., Halvorson, H., 1965. Metabolism of poli- β -hydroxybutyrate and acetoin in *Bacillus cereus*. *J. Bacteriol.* 90, 1252-1259.
- Liu, Y.B., Tabashnir, R.E., Moar, W.J., Smith, R.A., 1998. Synergism between *Bacillus thuringiensis* spores and toxins against resistant and susceptible diamond moths (*Plutella xylostella*). *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1385-1389.
- Liu, B.L., Tzeng, Y.M., (1998) Optimization of growth medium for production of spores from *Bacillus thuringiensis* using response surface methodology. *Bioprocess Eng.* 18, 413-418.
- Lozano, E.R., Neves, P.M.O.J., Alves, L.F.A., Potrich, M., Vilas-Bôas, G.F.L.T., Monnerat, R.G., 2018. Action of natural phytosanitary products on *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki S-1905. *Bull. Entomol. Res.* 108, 223–231.

- Monnerat, R.G., Queiroz, P., Orduz, S., Benitende, G., Cozzi, J., Real, M.D., Ibarra, J., Bravo, A., 2006. Genetic variability in *Spodoptera frugiperda* Smith populations in Latin America is associated to variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry toxins. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 7029-7035.
- Morris, O.N., 1975. Effect of some chemical insecticides on the germination and replication of commercial *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* 26, 199-204.
- Morris, O.N., 1977. Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki. *Can. Entomol.* 109, 855-864.
- Nagoshi, R.N., Rosas-García, N.M., Meagher, R.L., Fleischer, S.J., Westbrook, J.K., Sappington, T.W., Hay-Roe, M., Thomas, J.M., Murúa, G.M., 2015. Haplotype profile comparisons between *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations from Mexico with those from Puerto Rico, South America, and the United States and their implications to migratory behavior. *J. Econ. Entomol.* 108, 135-144.
- Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., Caballero, P., 2014. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. *Toxins* 6, 3296-3325.
- Petras, S.F., Casida, J.R.L.E., 1985. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 496-1501.
- Pinto, L.M.N., Dörr, N.C., Ribeiro, A.P.A., Salles, S.M., Oliveira, J.V., Menezes, V.G., Fiuza, L.M., 2012. *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. *Braz. J. Microbiol.* 43, 618-626.

- Polanczyk, R.A., Silva, R.E.P., Fiuza, L.M., 2000. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Braz. J. Microbiol. 31, 165-167. doi.org/10.1590/S1517-83822000000300003
- Raymond, B., Lijek, R.S., Griffiths, R.I., Bonsall, M.B., 2008. Quantifying the reproduction of *Bacillus thuringiensis* HD1 in cadavers and live larvae of *Plutella xylostella*. J. Invertebr. Pathol. 98, 307-313.
- Salama, H.S., Foda, M.S., Zaki, F.N., Moawad, S., 1984. Potency of Combinations of *Bacillus thuringiensis* and Chemical Insecticides on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 77, 885-890.
- Salvalaggio, A.C., Costa, N.V., Moratelli, G., Exteckoetter, V., Podkowa, C.I., Cazzo, V.N., 2017. Spreading drops of insecticide syrup with different doses of adjuvants on cassava leaves. Sci. Agrar. Parana. 16, 246-252.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R., Dean, D.H., 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 775-806.
- Schünemann, R., Knaak, N., Fiuza, L.M., 2014. Mode of action and specificity of *Bacillus thuringiensis* toxins in the control of caterpillars and stink bugs in soybean culture. ISRN Microbiol. 135675. doi: 10.1155/2014/135675. eCollection 2014.
- Silva, E.R.L., Alves, L.F.A., Santos, J., Potrich, M., Sene, L., 2008. Técnicas para avaliação in vitro do efeito de herbicidas sobre *Bacillus thuringiensis* Berliner var. Kurstaki. Arq. Inst. Bio. 75, 59-67.
- Silva, S.M.B., Silva-Werneck, J.O., Falcão, R., Gomes, A.C., Fragoso, R.R., Quezado, M.T., Neto, O.B.O., Aguiar, J.B., de Sá, M.F.G., Bravo, A., Monnerat, R.G.,

2004. Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. J. Appl. Entomol. 128, 102-107.
- Storer, N.P., Babcock, J.M., Schlenz, M., Meade, T., Thompson, G.D., Bing, J.W., Huckaba, R.M., 2010. Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. J. Econ. Entomol. 103, 1031-1038.
- Tavares, W.S., Cruz, I., Fonseca, F.G., Gouveia, N.L., Serrao, J.E., Zanuncio, J.C., 2010. Deleterious activity of natural products on postures of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Z. Naturforsch. C 65, 412-418.
- Van Frankenhuyzen, K., 2009. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. J. Invertebr. Pathol. 101, 1-16.
- Wang, X., He, X., Song, J., Wang, Z., Wang, C., Wang, S., Wu, R., Meng, Y., 2018. Drift potential of UAV with adjuvants in aerial applications. Int. J. Agric. & Biol. Eng. 11, 54-58.
- Wilson, G.R., Benoit, T.G., 1993. Alkaline pH activates *Bacillus thuringiensis* spores. J. Invertebr. Pathol. 62, 87-89.

CAPÍTULO 4 - Influência da adição de adjuvantes e incidência de chuva na eficácia de *Bacillus thuringiensis* no controle de *Spodoptera frugiperda* em algodão

Resumo: O algodão é uma cultura relevante na economia mundial, no entanto, sofre com a presença de pragas, a exemplo a *Spodoptera frugiperda*, que pode causar sérios danos a cultura. Uma alternativa ao controle químico dessa praga, bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) pode ser uma alternativa de controle eficiente. Porém a eficiência de Bt pode ser afetada por fatores abióticos como a chuva. Uma opção que possa dar proteção aos esporos de Bt, é a adição de adjuvantes na calda. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da chuva na eficiência de Bt bioinseticidas associados a adjuvantes para o controle de *S. frugiperda*. Os tratamentos foram compostos pelo bioinseticida Dipel® WP e Dipel® SC associado a diferentes adjuvantes. Após a aplicação dos tratamentos, parte das plantas de algodão foram submetidas a chuva artificial e outra parte foi acondicionada em casa de vegetação. Foi realizada a contagem de esporos para aferição da persistência dos esporos de Bt após aplicação da chuva artificial. Os testes de mortalidade foram avaliados 1, 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos tratamentos. A incidência da chuva proporcionou redução na quantidade de esporos e controle de *S. frugiperda* nos períodos de tempo avaliados. A persistência do Bt foi reduzindo gradativamente no decorrer das horas após aplicação das caldas. A adição do adjuvante LI acarretou maiores quantidades de esporos e taxas de controle de *S. frugiperda*. A cerca disso, Bt bioinseticidas associadas ao adjuvante LI pode ser incrementada no manejo integrado de pragas sendo uma alternativa eficiente ao controle químico.

Palavras-chave: Bt bioinseticidas, fatores abióticos, lagarta-do-cartucho, mistura em tanque.

Abstract: Cotton is a relevant crop in the world economy, however, suffers from the presence of pests, such as *Spodoptera frugiperda*, which can cause serious damage to the crop. An alternative to chemical control of this pest, *Bacillus thuringiensis* (Bt) based bioinsecticides may be an efficient control alternative. But Bt efficiency can be affected by abiotic factors such as rain. One option that can protect Bt spores is to add adjuvants to the syrup. Therefore, the objective of this work was to evaluate the influence of rain on the efficiency of Bt bioinsecticides associated with adjuvants to control *S. frugiperda*. The treatments were composed by bioinsecticide Dipel® WP and Dipel® SC associated with different adjuvants. After the treatments were applied, part of the cotton seedlings were subjected to simulated rain and another part was placed in a greenhouse. Spore counting was performed to measure the persistence of Bt spores after simulated rain application. Mortality tests were evaluated 1, 12, 24, 48 and 72 hours after treatment application. The incidence of rain provided reduction in the amount of spores and control of *S. frugiperda* in the evaluated time periods. Bt persistence gradually decreased over the hours after spray application. Addition of LI adjuvant resulted in higher spores and control rates of *S. frugiperda*. In addition, Bt adjuvant-associated bioinsecticides can be enhanced in integrated pest management as an efficient alternative to chemical control.

Keywords: abiotic factors, Bt bioinsecticides, fall armyworm, tank mix.

1. Introdução

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma cultura relevante para a economia mundial, devido principalmente à produção da fibra e dos subprodutos óleo e farinha para alimentação animal (Bakhsh et al., 2015; Constable e Blange, 2015; Echer et al., 2010). O cultivo do algodão hospeda um complexo de pragas, que ocorrem desde as raízes até os capulhos (Santos, 2011). Dentre as pragas, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tem se destacado devido aos danos causados na cultura (Martinelli et al., 2006).

O controle de *S. frugiperda* é realizado por aplicações de inseticidas químicos, no entanto, essa tática de controle tem apresentado alguns desafios, como a resistência da praga a diversas moléculas químicas (Gutiérrez-Moreno et al., 2019; Nascimento et al., 2016; Carvalho et al., 2013). Por conta disso, o uso de bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) vem crescendo e ganhando destaque no controle de *S. frugiperda*, sendo uma alternativa de controle eficiente aos químicos (Fiuza et al., 2017; Sanahuja et al., 2011) por sintetizarem diversas proteínas com atividade inseticida, especialmente as toxinas Vip e Cry (Chakroun et al., 2016; Palma et al., 2014; Schnepf et al., 1998).

No entanto, a eficiência de Bt bioinseticidas pode ser afetada por condições ambientais adversas, como a ocorrência de chuva após as aplicações. A incidência da chuva após as aplicações de Bt bioinseticidas pode promover a remoção de até 50% dos esporos e cristais das folhas das plantas pela lavagem das folhas durante a chuva, reduzindo assim a atividade inseticida e residual da bactéria (McGuire et al., 1994, McGuire e Shasha 1995; Sundaram e Sundaram, 1996). Sendo assim, necessário a adição de produtos à calda de Bt bioinseticida que possa promover proteção aos esporos.

Os adjuvantes podem ser adicionados as caldas de Bt bioinseticidas com a finalidade de promover proteção contra os efeitos da chuva (Behle et al., 1997; Mulrooney e Elmore, 2000; Gindin et al., 2008). Porém, a adição de adjuvantes a calda de Bt bioinseticidas pode afetar nas características físico-química das caldas, como pH e condutividade elétrica, tensão superficial, ângulo de contato e tamanho das gotas pulverizadas (Santos et al., 2019), bem como a viabilidade e número de esporos da

calda⁴ e poucos são os estudos que confirmem que a adição de adjuvantes à calda de Bt bioinseticidas possa ser eficiente na proteção de esporos e cristais mediante a incidência de chuvas. Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi aferir se a adição de adjuvantes na calda de Bt bioinseticidas possa promover proteção de esporos de Bt sob chuva artificial para o controle de *Spodoptera frugiperda* no algodão.

2. Metodologia

2.1 Plantio do algodoeiro

As plantas do algodão foram conduzidas em casa de vegetação do Depto. de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista, câmpus de Jaboticabal, São Paulo (latitude de 21° 15' 17" S, longitude de 48° 19' 20" W e altitude média de 575 m), em janeiro de 2017 e 2018. Vasos de 12 L (120 vasos) contendo substrato na proporção 3:1:1 (Terra: Areia: Esterco) foram semeados com 4 sementes de algodão da cultivar FM 910 da Bayer® susceptível a *S. frugiperda*. Vinte dias após a emergência das plântulas foi realizado desbaste deixando-se a planta mais vigorosa por vaso.

2.2 Criação de *Spodoptera frugiperda*

Indivíduos de *S. frugiperda* foram obtidos da criação massal da Embrapa sete lagoas, Minas Gerais, Brasil. Os adultos foram mantidos em gaiolas de plástico (35 × 30 cm), com dieta a base de solução de açúcar à 10% e os imaturos mantidos em dieta artificial (Greene et al, 1976). As posturas foram coletadas diariamente e após a eclosão das larvas, estas foram individualizadas e acondicionadas em potes de 7cm de diâmetro e 3cm de altura, com dieta artificial até a formação das pupas. Após a formação das pupas, estão foram sexadas e acondicionadas nas gaiolas para emergência dos adultos. A criação permaneceu em câmara climatizada com temperatura de 25 ± 2°C e umidade relativa de 60% a 70% de com fotoperíodo de 16:8 (luz: escuro) (Kim et al. 2016).

⁴ Dados não publicados

2.3 Produtos utilizados no experimento

Para os testes de chuva artificial e mortalidade de *Spodoptera frugiperda* foram utilizados Bt bioinseticidas nas formulações SC e WP associadas a adjuvantes nas doses registradas a campo para as culturas de algodão (Tabela 1).

Tabela 1: Produtos comerciais utilizados para avaliar o crescimento vegetativo e esporulação nas caldas nas formulações WP e SC do Dipel associadas a adjuvantes.

Caldas*	Dosagens	i.a dos produtos
Dipel® SC	625mL ha ⁻¹	<i>Bacillus thuringiensiskurstaki</i>
Dipel® SC + IN	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Nonil Fenol Etoxilado
Dipel® SC + AG	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Nonil Fenoxi Poli Etanol
Dipel® SC + LI	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Lecitina e Ácido Propiônico
Dipel® SC + TA	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Lauril Éter Sulfato de Sódio
Dipel® SC + NI	625mL ha ⁻¹ + 750mL ha ⁻¹	Bt + Óleo Mineral
Dipel® SC + SI	625mL ha ⁻¹ + 0,02% v/v	Bt + Óxido de Alquilenos
Dipel® SC + AU	625mL ha ⁻¹ + 375 mL ha ⁻¹	Bt + Éster Metílico de Óleo de Soja
Dipel® WP	700g ha ⁻¹	<i>Bacillus thuringiensiskurstaki</i>
Dipel® WP + IN	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Nonil Fenol Etoxilado
Dipel® WP + AG	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Nonil Fenoxi Poli Etanol
Dipel® WP + LI	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Lecitina e Ácido Propiônico
Dipel® WP + TA	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Lauril Éter Sulfato de Sódio
Dipel® WP + NI	700g ha ⁻¹ + 750mL ha ⁻¹	Bt + Óleo Mineral
Dipel® WP + SI	700g ha ⁻¹ + 0,2% v/v	Bt + Óxido de Alquilenos
Dipel® WP + AU	700g ha ⁻¹ + 375mL ha ⁻¹	Bt + Éster Metílico de Óleo de Soja

*Todas as dosagens são recomendadas pelos fabricantes para o volume de calda de 150L ha⁻¹. i.a - Ingrediente ativo. WP – Pó molhável; AU – Aureo; NI – Nimbus; IN – In-tec; LI – Li-700; TA – TA35; SI – Silwet; AG – Agral; Bt – Bt bioinseticida.
Fonte: Autor

2.4 Pulverização dos Bt bioinseticidas

As aplicações foram realizadas em um pulverizador montado em quadriciclo em que a calda foi pressurizada constantemente (CO₂) trabalhando à velocidade constante de 9 km/h e provido de pontas de pulverização de energia hidráulica de jato plano de faixa ampliada XR11003 na pressão de trabalho de 2,7 bar. Cada tratamento foi composto por quatro plantas de algodão que configuraram as repetições. As aplicações foram realizadas no período da manhã com temperatura média de 30 ± 2°C e umidade relativa variando de 50 ± 5%. Todas as caldas foram aplicadas com

intervalo de 5 minutos entre cada tratamento. Após as pulverizações, as plantas de algodão foram conduzidas para uma sala de chuva artificial.

2.5 Aplicação de chuva artificial

Uma hora após a pulverização dos Bt bioinseticidas, as plantas de algodão receberam uma lâmina de chuva artificial de 20 mm. O simulador de chuva foi posicionado a uma altura de 2.87m em relação ao nível do solo e trabalhará a uma pressão de 138 kPa (Decaro et al. 2016) e equipado com seis pontas de pulverização do modelo FL10 (TeeJet®), produzindo gotas extremamente grossas espaçadas a cada 0,25 metros uniformemente em um tubo circular.

2.6 Viabilidade e persistência de esporos

Uma, 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação da chuva artificial, foi retirado um disco foliar da parte médio-superior de cada planta por tratamento para verificação da contagem de esporos. Cada disco foliar foi acondicionado em tubos de Falcon® de 10mL contendo água destilada, os tubos foram agitados em agitador tipo vórtex (MOD. AP56 [rpm=2000]), e após agitação, foi retirada uma alíquota de 100 µL de solução. A contagem dos esporos foi realizada com o auxílio de câmera de Neubauer (Alves e Moraes, 1998) e microscópio de contraste de fase (Carl zeiss- Axio LabA1) em aumento de 400 x

2.7 Atividade larvicida de *Bacillus thuringiensis*

Uma, 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação da chuva artificial, discos foliares com 2 cm de diâmetro foram oferecidos para as lagartas de até 2° instar de *S. frugiperda* para efeito de eficiência de controle. A mortalidade larval foi registrada até 96 horas do início do experimento (Sathya et al., 2016). Cada tratamento foi composto por 4 repetições, tendo cada repetição um grupo de 5 lagartas de até 2° instar (Uçkan e Sak, 2010). Para anular o efeito de mortalidade dos adjuvantes a *S. frugiperda* foram

utilizadas caldas compostas por apenas adjuvantes e realizado os mesmos testes de mortalidade para as caldas de Bt bioinseticidas associadas a adjuvantes.

2. 8 Análises estatísticas

O número de esporos e a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* foram representados em esquema fatorial 2x2x8x5+1 (Presença e ausência de chuva vs formulação do Dipel® vs adjuvantes vs tempo de avaliação e testemunha). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste t de Student a 5% de probabilidade pelo programa SAS USER versão 9.4.

3. Resultados

A aplicação da chuva artificial proporcionou menores valores na contagem de esporos nas caldas de Bt bioinseticidas com e sem adição dos adjuvantes em todos os períodos avaliados. As caldas de Bt bioinseticidas nas formulações SC e WP isoladas e com adição do LI obtiveram a maior quantidade de esporos em todos os intervalos de tempo. As maiores quantidades de esporos foram verificados à 1 e às 12 horas após a aplicação dos tratamentos sobre as plantas de algodão, em ambas as formulações avaliadas tanto na ausência como na presença da chuva artificial (Figuras 1 e 2; Tabela 2).

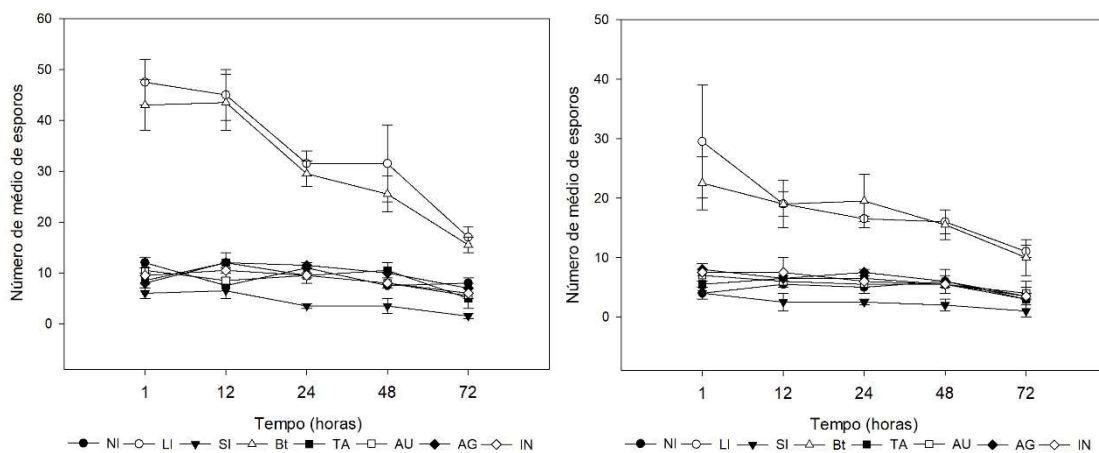


Figura 1. Número médio de esporos obtidos do Bt bioinseticida na formulação SC associado a diferentes adjuvantes, sem (esquerda) e com (direita) aplicação de chuva artificial. Legenda: SC-Suspensão concentra; AU–Aureo; NI–Nimbus; IN–In-tec; Li–Li-700; TA–TA35; SI–Silwet; AG–Agral; Bt–Bt bioinseticida.

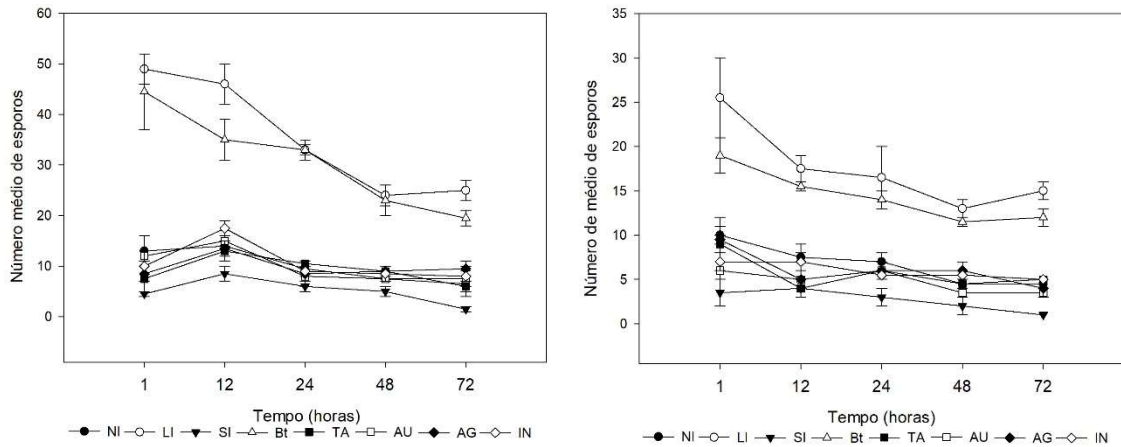


Figura 2. Número médio de esporos obtidos do Bt bioinseticida na formulação WP associado a diferentes adjuvantes, sem (esquerda) e com (direita) aplicação de chuva artificial. Legenda: WP-Pó molhável; AU–Aureo; NI–Nimbus; IN–In-tec; Li–Li-700; TA–TA35; SI–Silwet; AG–Agral; Bt–Bt bioinseticida.

Tabela 2. Contagem de esporos das misturas dos adjuvantes e Bt bioinseticidas nas formulações Dipel SC e Dipel WP com e sem aplicação de chuva artificial nas plantas de algodão nos diferentes períodos de tempo.

Suspensões	1h	12h	24h	48h	72h
Sem aplicação de chuva artificial					
Bt SC + NI	12±1Ab _a	7,5±2,5 Ab _a	11±1 Ab _b	7,5±0,5 Ab _a	8±1 Ab _b
Bt SC + LI	47,5±4,5 Aa _a	45±5 Aa _a	31,5±2,5 Aa _a	31,5±7,5 Aa _a	18±2 Aa _a
Bt SC + SI	6±1 Ab _a	6,5±1,5 Ab _a	3,5±0,5 Ac _a	3,5±1,5 Ab _a	1,5±0,5 Ac _a
Bt SC	43±5 Aa _a	43,5±5,5 Aa _a	29,5±2,5 Aa _a	25,5±3,5 Aa _a	15,5±1,5 Aa _a
Bt SC + TA	8,5±1,5 Ab _a	12±2 Ab _a	9,5±0,5 Ab _a	10,5±1,5 Ab _a	5±2 Ab _c
Bt SC + AU	10,5±0,5 Ab _a	8,5±0,5 Ab _a	9,5±1,5 Ab _a	8±1 Ab _a	5,5±2,5 Ab _c
Bt SC + AG	8±0 Ab _a	12±2 Ab _a	11,5±0,5 Ab _a	10±2 Ab _a	3,5±0,5 Ab _a
Bt SC + IN	9,5±1,5 Ab _a	10,5±0,5 Ab _a	9,5±0,5 Ab _a	8±1 Ab _a	6±1 Ab _c
Bt WP + NI	13±3 Ab _a	14±3 Ac _d	9,5±1,5 Ab _c	7,5±0,5 Ab _c	6,5±0,5 Ac _a
Bt WP + LI	49±3 Aa _a	46±4 Aa _a	33±2 Aa _a	26±2 Aa _a	25±2 Aa _a
Bt WP + SI	4,5±0,5 Ac _a	8,5±1,5 Ad _a	6±1 Ac _a	5±1 Ac _a	1,5±0,5 Ad _a
Bt WP	44,5±7,5 Aa _a	35±4 Ab _a	33±1 Ab _a	21±2 Aa _a	19,5±1,5 Ab _a
Bt WP + TA	7,5±2,5 Ab _c	13±1 Ac _d	10,5±0,5 Ab _a	9±0 Ab _a	6±2 Aa _a
Bt WP + AU	12±1 Ab _c	15±1 Ac _a	8±2 Ab _c	7±0,5 Ab _c	7±2,5 Aa _a
Bt WP + AG	8,5±1,5 Ab _c	9,5±0,5 Ac _d	8,5±1,5 Ab _c	9±1 Ab _a	9,5±1,5 Aa _a
Bt WP + IN	10±3 Ab _c	17,5±1,5 Ac _a	9±1 Ab _c	8,5±1,5 Ab _c	8±1 Aa _a
Com aplicação de chuva artificial					
Bt SC + NI	4±1 Ac _a	5,5±0,5 Ab _a	5±1 Ab _c	6±2 Ab _a	1±1 Ab _b
Bt SC + LI	29,5±9,5 Aa _b	19±2 Aa _b	17,5±0,5 Aa _b	19,5±4,5 Aa _b	14±1 Aa _b
Bt SC + SI	2,5±1,5 Ac _a	4±1 Ab _a	2,5±0,5 Ac _a	2±1 Ab _a	1±1 Ab _a
Bt SC	19,5±2,5 Ab _b	19±4 Aa _b	15,5±2,5 Aa _b	16±2 Aa _a	10±3 Aa _b
Bt SC + TA	5,5±0,5 Ac _a	6,5±0,5 Ab _a	6,5±0,5 Ab _a	6±1,5 Ab _a	3±1 Ab _a
Bt SC + AU	7±1 Ac _a	6±1 Ab _a	5,5±1,5 Ab _c	5,5±0,5 Ab _a	4±2 Ab _a
Bt SC + AG	6,5±0,5 Ac _a	8±1 Ab _a	7,5±0,5 Ab _b	6±1 Ab _a	3,5±0,5 Ab _a
Bt SC + IN	7,5±0,5 Ac _a	7,5±2,5 Ab _a	6±1 Ab _c	5,5±1,5 Ab _a	3,5±1,5 Ab _a
Bt WP + NI	10±2 Ab _a	7,5±1,5 Ab _b	7±1 Ab _a	4,5±0,5 Ab _a	4±0,5 Ab _c
Bt WP + LI	25,5±4,5 Aa _b	17,5±1,5 Aa _b	16,5±3,5 Aa _b	16±1 Aa _b	15±1 Aa _b
Bt WP + SI	3,5±1,5 Ab _a	4±1 Ab _a	3±1 Ab _a	2±1 Ab _a	1±0 Ac _a
Bt WP	19±2 Aa _b	15,5±0,5 Aa _b	14±1 Aa _b	11,5±0,5 Aa _b	12±1 Aa _b
Bt WP + TA	7,5±2,5 Ab _a	9±2 Aa _a	6±1 Ab _b	4,5±1,5 Ab _b	5±0 Ab _a
Bt WP + AU	6±1 Ab _a	5±1 Aa _b	6±1 Ab _a	3,5±0,5 Ab _b	3±0,5 Ab _c
Bt WP + AG	8,5±1,5 Ab _a	9,5±0,5 Aa _a	6±0 Ab _a	4±1 Ab _b	6±1 Ab _a
Bt WP + IN	7±1 Ab _a	7±1 Aa _b	5,5±0,5 Ab _a	5±0 Ab _a	5,5±0,5 Ab _a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem ao nível de 5% de significância pelo teste t de Student. Letras maiúsculas comparam valores do número de esporos entre as formulações Dipel SC x Dipel WP. Letras minúsculas comparam valores do número de esporos dentro de cada formulação. Letras minúsculas e sublinhadas comparam efeito da chuva nos tratamentos dentro de cada formulação. Legenda: SC-Suspensão concentra; WP-Pó molhável; NI-Nimbus; LI-Li-700; SI-Silwet; Bt-Bt bioinseticida; TA-TA35; AU-Aureo; AG-Agral; IN-In-tec. Testemunha - aplicação de água.

Não houve influência do fator formulação dos Bt bioinseticidas na mortalidade de *S. frugiperda* nos diferentes períodos com e sem aplicação de chuva artificial. Em ambas as formulações do Bt bioinseticida com e sem adição do adjuvante LI proporcionaram as maiores taxas de controle das lagartas, tanto para os tratamentos com e sem aplicação de chuva. A aplicação de chuva artificial proporcionou menores

taxas de controle de *S. frugiperda* para todos os tratamentos avaliados (Figuras 3 e 4; Tabela 3).

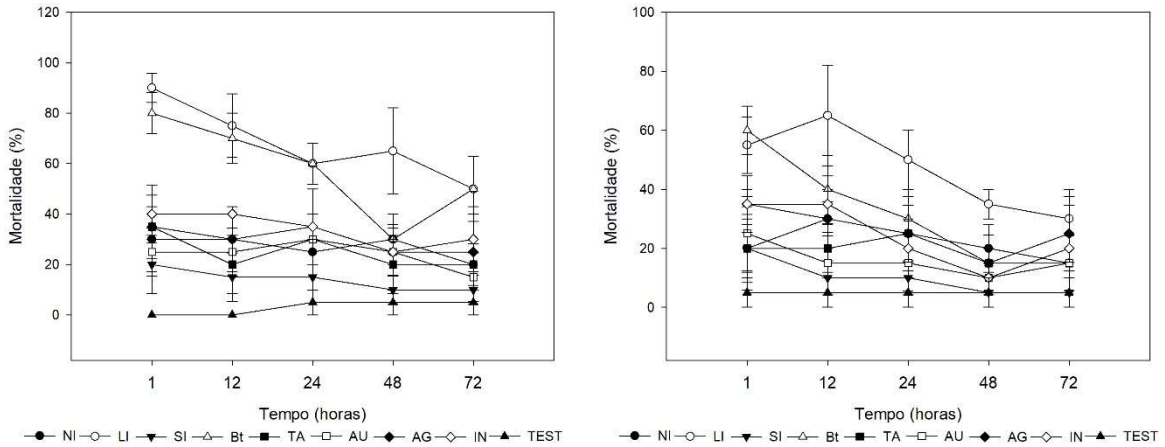


Figura 3. Taxa de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* após aplicação do Bt bioinseticida na formulação SC associado a diferentes adjuvantes, sem (esquerda) e com (direita) aplicação de chuva artificial. Legenda: SC-Suspensão concentra; AU–Aureo; NI–Nimbus; IN–In-tec; Li–Li-700; TA–TA35; SI–Silwet; AG–Agral; Bt–Bt bioinseticida. Testemunha - aplicação de água.

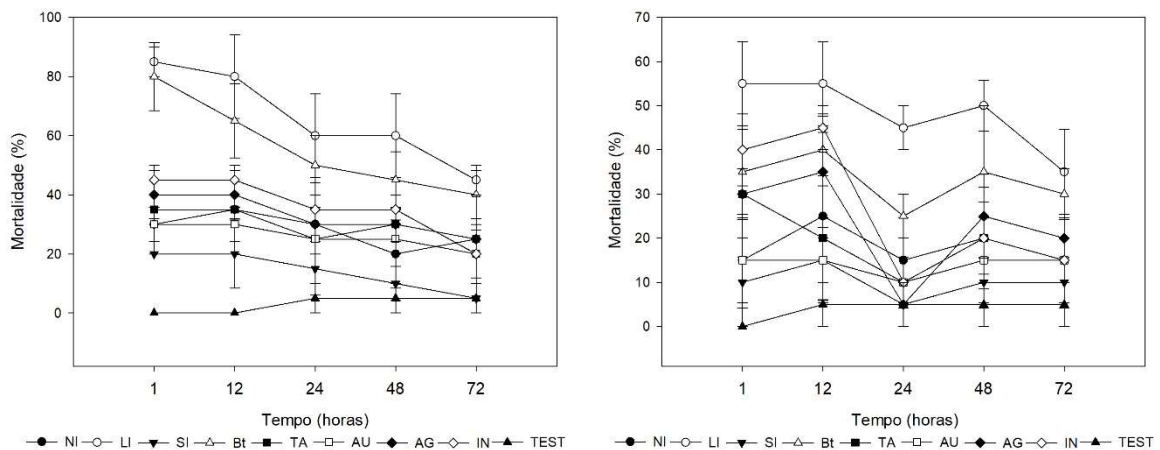


Figura 4. Taxa de mortalidade de *Spodoptera frugiperda* após aplicação do Bt bioinseticida na formulação WP associado a diferentes adjuvantes, sem (esquerda) e com (direita) aplicação de chuva artificial. Legenda: WP–Pó molhável; AU–Aureo; NI–Nimbus; IN–In-tec; Li–Li-700; TA–TA35; SI–Silwet; AG–Agral; Bt–Bt bioinseticida. Testemunha - aplicação de água.

Tabela 3. Mortalidade de *Spodoptera frugiperda* submetida a misturas dos adjuvantes e Bt bioinseticidas nas formulações Dipel SC e Dipel WP com e sem aplicação de chuva artificial nos diferentes períodos de tempo.

Suspensões	1h	12h	24h	48h	72h
Sem aplicação de chuva artificial					
Testemunha	0±0Bca	0±0Bca	5±5Bca	5±5Bca	5±5Bba
Bt SC + NI	30±12,9Aba	30±12,9Aba	25±5Abca	30±10Aba	20±8,16Aba
Bt SC + LI	90±5,8Aaa	80±12,8Aaa	60±0Aaa	65±17,08Aaa	50±12,91Aaa
Bt SC + SI	20±11,5Abca	15±9,27Abca	15±5Abca	10±5,77Abca	10±5,77Aba
Bt SC	80±8,2Aaa	70±10Aaa	55±8,16Aaa	30±5,77Aba	45±12,91Aaa
Bt SC + TA	35±12,6Aba	20±11,55Abca	30±10Aba	20±11,55Abca	20±8,16Aba
Bt SC + AU	25±9,6Abca	15±9,57Abca	30±10Aba	25±9,57Abca	15±9,57Aba
Bt SC + AG	35±5Aba	30±12,91Aba	35±5Aba	25±5Abca	25±15Aaba
Bt SC + IN	40±11,5Aba	40±0Aba	35±15Aba	25±15Abca	30±12,51Aaba
Testemunha	0±0dda	0±0Bda	5±5Bda	5±5Bea	5±5Bda
Bt WP + NI	30±5,77Abca	35±5Abca	30±5,77Abcda	20±11,55Acdea	25±5Abca
Bt WP + LI	85±5Aaa	80±14,14Aaa	60±14,14Aaa	60±14,14Aaa	45±5Aaa
Bt WP + SI	20±0Acda	20±11,55Acda	15±5Acda	10±5,77Adea	5±5Ada
Bt WP	80±11,55Aaa	65±12,58Aaba	50±10Aaba	45±9,57Aaba	40±8,16Aaba
Bt WP + TA	35±5Abca	35±15Abca	25±18,93Abcda	30±5,77Acda	25±15Abca
Bt WP + AU	30±10Abca	30±5,77Acda	25±18,93Abcda	25±5Abcdea	20±0Acda
Bt WP + AG	40±8,16Abca	40±8,16Abca	30±10Abcda	30±5,77Abcda	25±5Abca
Bt WP + IN	45±5Aba	45±5Abca	35±5Aabca	35±5Abcda	20±8,16Acda
Com aplicação de chuva artificial					
Testemunha	0±0Bca	5±5Bda	5±5Bca	5±5Bba	5±5Baa
Bt SC + NI	20±14,1Abca	30±10Abca	20±12,58Abca	20±8,18Aaba	15±9,57Aaa
Bt SC + LI	55±9,6Aab	65±17,08Aaa	50±10Aaa	35±5Aab	30±10Aaa
Bt SC + SI	20±11,5Abca	10±5,77Acda	10±5,77Abca	5±5Aba	5±5Aaa
Bt SC	60±8,2Aaa	40±11,55Aabb	30±10Aabb	15±9,57Aaba	25±12,58Aaa
Bt SC + TA	20±8,2Abca	20±8,16Abcda	25±5Abca	15±5Aaba	15±9,57Aaa
Bt SC + AU	25±12,6Abca	15±5Abcda	15±9,57Abca	10±5,77Aba	15±9,57Aaa
Bt SC + AG	35±5Aaba	25±5,57Abca	25±9,57Abca	15±5Aaba	20±9,57Aaa
Bt SC + IN	35±9,6Aaba	35±9,77Abca	20±0Abca	10±5,77Aba	20±0Aaa
Testemunha	0±0Bea	5±5Bca	5±5Bba	5±5Bca	5±5Bca
Bt WP + NI	15±9,57Acdea	25±18,93Aabca	15±9,57Aba	20±11,55Abca	15±9,57Abca
Bt WP + LI	55±9,57Aab	55±9,57Aaa	45±5Aaa	50±5,77Aaa	35±9,57Aaa
Bt WP + SI	10±5,77Adea	15±9,57Aaba	5±5Aba	10±5,77Aca	10±5,57Aca
Bt WP	35±9,57Aabcb	40±8,16Abca	25±5Aaba	45±9,57Aaba	30±5,57Aaba
Bt WP + TA	30±10Abcda	20±14,14Abca	10±10Aba	20±8,16Abca	15±5Abca
Bt WP + AU	15±15Acdea	15±5Anca	10±10Aba	15±9,57Abca	15±5Abca
Bt WP + AG	30±5,57Abcda	35±12,58Aabca	5±5Aba	25±9,57Abca	20±0Aabca
Bt WP + IN	35,816±Aaba	30±12,91Aabca	10±5,77Aba	20±8,16Abca	15±5Abca

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem ao nível de 5% de significância pelo teste t de Student. Letras maiúsculas comparam valores do número de esporos entre as formulações Dipel SC x Dipel WP. Letras minúsculas comparam valores do número de esporos dentro de cada formulação. Letras minúsculas e sublinhadas comparam efeito da chuva nos tratamentos dentro de cada formulação. Legenda: SC-Suspensão concentra; WP-Pó molhável; NI-Nimbus; LI-Li-700; SI-Silwet; Bt-Bt bioinseticida; TA-TA35; AU-Aureo; AG-Agral; IN-In-tec. Testemunha - aplicação de água.

Não foram observados efeitos de mortalidade sobre *S. frugiperda* quando utilizadas as caldas fitossanitárias contendo apenas adjuvantes.

4. Discussão

A adição dos adjuvantes não proporcionaram proteção aos esporos contra os efeitos da chuva, com exceção da adição do LI nas caldas de Bt bioinseticidas, que proporcionou a maior quantidade de esporos na presença da chuva artificial. O menor número de esporos nas folhas de algodão que receberam a chuva artificial pode estar relacionado à retirada proporcionada pelo escoamento da água na superfície foliar (Behle et al., 1997). Os efeitos proporcionados pela água da chuva após a pulverização de Bt bioinseticidas causam maiores danos na persistência de esporos e cristas na superfície das folhas das plantas do que mesmo a radiação ultravioleta (van Frankenhuyzen e Nystrom, 1989). O que diminui a eficiência de controle em campo.

Nesse estudo a incidência de 20 mm de chuva ocasionou uma redução no número de esporos de até 50%, mostrando-se ser um importante fator ambiental na redução da persistência de esporos nas folhas das plantas. Estes resultados corroboram com outros estudos, onde o depósito de esporos e cristais de Bt diminuíram consideravelmente após aplicação de chuva (Sundaram e Sundaram, 1996; Sundaram et al., 1994). A baixa persistência de esporos após a chuva pode estar relacionada com a formulação do Bt bioinseticida, onde a formulação do Dipel SC apresenta partículas menores por passar pelo processo de moagem líquida resfriada, proporcionando assim gotas menores que a formulação WP, gotas muito finas com diâmetro mediano volumétrico (DMV) de até 150 μm e finas com DMV de até 250 μm são mais facilmente carregadas pela chuva (Sundaram e Sundaram, 1996; Sundaram, 1994) ou carregadas para fora do alvo pela ação da deriva (Griesang et al., 2017). Foi verificado que as caldas de Bt bioinseticidas associadas aos adjuvantes apresentaram gotas finas, variando de 200 μm para a formulação Dipel SC e 250 para o Dipel WP (Santos et al., 2019), o que justifica a redução pela metade do número de esporos das plantas que receberam chuva artificial.

A adição do adjuvante LI proporcionou maiores valores de esporos em ambas as formulações avaliadas, tanto na ausência como na presença de chuva. Alguns estudos corroboram que a adição de adjuvantes e outros produtos nas caldas de Bt bioinseticidas promovem certa proteção aos esporos contra os efeitos da chuva

(Gindin et al., 2008; Gindin et al., 2007; Brar et al., 2006). Isso sugere que a adição do LI nas caldas de Bt bioinseticida pode aumentar a resistência dos esporos à chuva, com conseqüente melhoria do controle microbiano de pragas.

As maiores taxas de controle de *S. frugiperda* foram observadas nas caldas de Bt bioinseticidas com adição do adjuvante LI seguidas das caldas do Bt isoladas, variando de até 90% de controle 1 hora após aplicação e 50% 72 horas após a aplicação do Bt associado ao LI. Isso se deve pela maior concentração de esporos observados nas folhas de algodão destes tratamentos nas primeiras horas após a pulverização das caldas, diminuindo consideravelmente o número de esporos até o terceiro dia de avaliação. Este fato pode estar relacionado pela persistência dos esporos em campo, pois a ocorrência de efeitos dos fatores abióticos, como radiação ultravioleta e ocorrência de chuva, que ocasionam a redução do número de esporos, podendo alcançar até 95% da quantidade inicial três dias após a pulverização das caldas nas plantas (Ignoffo et al., 1974; Frye et al., 1972; Pinnock, 1971).

Outro fator importante que pode causar variabilidade nos testes de mortalidade contra lepidópteros-praga é presença de inertes na formulação comercial dos Bt bioinseticidas (Gonçalves et al., 2018; Monteiro e Souza, 2010) que podem servir como fonte de energia para a esporulação, bem como a origem das toxinas das formulações, pois pequenas diferenças na sequência dos aminoácidos de uma mesma toxina produzida por diferentes cepas de Bt podem influenciar a atividade inseticida para um determinado inseto alvo (Crickmore et al., 1998).

O sinergismo expresso na mistura de LI e Bt bioinseticidas pode estar relacionado com a capacidade de algumas espécies de *Bacillus* utilizarem as moléculas dos produtos químicos degradando os seus ingredientes e utilizando-os para o seu desenvolvimento (Das et al., 2003), bem como, pelo efeito aditivo proporcionado pela mistura de LI e Bt bioinseticidas, produzindo uma maior quantidade de esporos quando comparado aos demais adjuvantes adicionados aos Bt bioinseticidas⁵. Deste modo, em alguns casos, uma combinação de um produto químico com um produto biológico pode aumentar a eficiência de controle de uma

⁵ Dados não publicados.

determinada praga quando comparado com uma pulverização isolada dos Bt bioinseticidas (Hardman e Gaul, 1990).

Houve redução no controle de *S. frugiperda* quando as plantas tratadas com os Bt bioinseticidas foram submetidas a chuva artificial, isto é relacionado à redução no número de esporos presentes nas folhas de algodão, pois a ocorrência de chuvas acarretou em até 50% na redução da taxa de controle de pragas, semelhante à outros trabalhos já realizados (Behle et al., 1996). A atividade residual do Bt foi melhorada mediante a adição do LI, que se destacou dos demais adjuvantes por apresentar as maiores taxas de mortalidade nos Bt bioinseticidas nas formulações WP e SC após recebimento de chuva artificial.

5. Conclusões

A aplicação de chuva artificial após a pulverização dos Bt bioinseticidas associados a adjuvantes proporcionou em redução de até 50% no número de esporos e controle de *Spodoptera frugiperda*.

A adição do adjuvante LI nas caldas de Bt bioinseticidas proporcionou maiores quantidades de esporos e controle de *S. frugiperda*.

A persistência de esporos e controle de *S. frugiperda* é afetada 24 horas após a aplicação dos Bt bioinseticidas associados ou não a adjuvantes

6. Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7. Referências

Bakhsh A, Anayol E, Özcan SF, Hussain T, Aasim M, Khawar KM, Özcan S (2015) An insight into cotton genetic engineering (*Gossypium hirsutum* L.) current endeavors and prospects. **Acta Physiologiae Plantarum** 37:171

Behle RW, McGuire MR, Shasha BS (1997) Effects of sunlight and simulated rain on residual activity of *Bacillus thuringiensis* formulations. **Journal of Economy Entomology** 90:1560-1566.

Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Valero JR, Surampalli RY (2006) Screening of different adjuvants for wastewater/wastewater sludge-based *Bacillus thuringiensis* formulations. **Journal of Economic Entomology** 99:1065-1079.

Carvalho RA, Omoto C, Field LM, Williamson MS, Bass C (2013) Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **Plos One** 8: e62268.

Chakroun M, Banyuls N, Bel Y, Escriche B, Ferré J (2016) Bacterial vegetative insecticidal proteins (Vip) from entomopathogenic bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 80: 329-350.

Constable GA, Bange MP (2015) The yield potential of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Field Crops Research** 182: 98-106

Crickmore N, Zeigler DR, Feitelson J, Schnepf E, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Dean DH (1998) Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 62: 807-813

Das AC, Chakravarty A, Sukul P, Mukherjee D (2003) Influence and persistence of phorate and carbofuran insecticides on microorganisms in rice field. **Chemosphere** 53 1033-1037

Decaro RA, Decaro-Junior ST, Ferreira MC (2016) Deposit of pesticides without and with adjuvants on citrus seedlings following different intervals of artificial rain. **Ciência Rural** 46: 13-19.

Echer FR, Custódio CC, Hossomi ST, Dominato JC, Machado-Neto NB (2010) Estresse hídrico induzido por manitol em cultivares de algodão. **Revista Ciência Agronômica** 41: 638-645.

Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N (2017) ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Characterization and use in the field of biocontrol.** New York. 288p.

Frye RD, Scholl CG, Scholz EW, Funke BR (1973). Effect of weather on a microbial insecticide. **Journal of Invertebrate Pathology** 22:50-54.

Gindin G, Kuznetsova T, Protasov A, Saphir N, Madar Z, Mendel Z (2008) Susceptibility of the Pistachio Processionary Moth *Thaumetopoea solitaria* to Three *Bacillus thuringiensis* Products. **Phytoparasitica** 36:472-482

Gindin G, Navon A, Saphir N, Protasov A, Mendel Z (2007) Environmental persistence of *Bacillus thuringiensis* products tested under natural conditions against *Thaumetopoea wilkinsoni*. **Phytoparasitica** 35:255-263.

Gonçalves KC, Boiça Júnior AL, Duarte RT, Moreira LF, Nascimento J, Polanczyk RA (2018) *Spodoptera albula* susceptibility to *Bacillus thuringiensis* - based biopesticides. **Journal of Invertebrate Pathology** 157: 147-149.

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

Gutiérrez-Moreno R, Mota-Sanchez D, Blanco CA, Whalon ME, Terán-Santofimio H, Rodríguez-Maciel JC, DiFonzo C (2019) Field-Evolved Resistance of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of Economic Entomology** 112: 792-802.

Hardman JM, Gaul SO (1990) Mixtures of *Bacillus thuringiensis* and pyrethroids control winter moth (Lepidoptera: Geometridae) in orchards without causing outbreaks of mites. **Journal of Economic Entomology** 83: 920- 936

Ignoffo CM, Hostetter DL, Pinnell RE (1974) Stability of *Bacillus thuringiensis* and *Baculovirus heliothis* on soybean foliage. **Environmental Entomology** 3: 117-119.

Kim J, Joo Y, Lee YJ, Kim J, Jang M, Park CG (2016) Small scale-up validation for ionizing radiations against *Spodoptera frugiperda* larvae. **Journal of Asia-Pacific Entomology** 19: 5-7.

Martinelli S, Barata RM, Zucchi MI, Silva-Filho MC, Omoto C (2006) Molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology** 99: 519-526.

McGuire MR, Shasha BS (1995) Starch encapsulation of microbial pesticides, pp. 229-237. In Hall FR, Barry JW [eds.] **Biorational pest control agents: formulation and delivery**. American Chemical Society, Washington, DC.

McGuire MR, Shasha BS, Lewis LC, Nelsen TC (1994) Residual activity of granular starchencapsulated *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economy Entomology** 87: 631-637.

Monteiro LB, Souza A (2010) Controle de tortricídeos em macieira com duas formulações de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki em Fraiburgo – SC. **Revista Brasileira de Fruticultura** 32: 423-428

Mulrooney JE, Elmore CD (2000) Rainfastening of bifenthrin to cotton leaves with selected adjuvants. **Journal of Environmental Quality** 29:1863-1866.

Nascimento AR, Farias JR, Bernardi D, Horikoshi RJ, Omoto C (2016) Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science** 72: 810-815.

Palma L, Muñoz D, Berry C, Murillo J, Caballero P (2014) *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. **Toxins** 6: 3296-3325

Palma DCA (2011) Agrotóxicos em água e alimentos: risco à saúde humana. **Revista Uniará** 14: 7-21

Pinnock DE, Brand RJ, Milstead JE (1971) The field persistence of *Bacillus thuringiensis* spores. **Journal of Invertebrate Pathology** 18:405-411.

Sanahuja G, Banakar R, Twyman RM, Capell T, Christou P (2001) *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant Biotechnology Journal** 9: 283-300

Santos WJ, Santos KB, Santos RB (2003) **Ocorrência, descrição e hábitos de *Spodoptera* spp. em algodoeiro no Brasil.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 4., 2003, Goiânia, GO. Anais... Goiânia: EMBRAPA-CPAO p.5.

Sathya A, Vijayabharathi R, Kumari BR, Srinivas V, Sharma HC, Sathyadevi P, Gopalakrishnan S (2016) Assessment of a diketopiperazine, cyclo (Trp-Phe) from *Streptomyces griseoplanus* SAI-25 against cotton bollworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Applied Entomology and Zoology**. 51: 11-20.

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.

Sundaram A, Sundaram KMS (1996) Effect of sunlight radiation, rainfall and droplet spectra of sprays on persistence of bacillus thuringiensis deposits after application of dipel® 76af formulation onto conifers. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes** 31: 1119-1154

Sundaram KMS (1994) Rain-washing of mimic®, RH-5992, from balsam fir foliage following application of two formulations. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes** 29: 541-579, DOI: 10.1080/03601239409372894

Sundaram KMS, Sundaram A, Hammock BD (1994) Persistence of *Bacillus thuringiensis* deposits in a hardwood forest, after aerial application of a commercial formulation at two dosage rates. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes** 29: 999-1052, DOI: 10.1080/03601239409372914

Uçkan F, Sak O (2010) Cytotoxic effect of cypermethrin on *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) larval hemocytes. **Ekoloji** 19: 20-26.

Van Frankenhuyzen K, Nystrom C (1989) Residual toxicity of a high-potency formulation of *Bacillus thuringiensis* to spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economy Entomology** 82: 868-872.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foi constatado que a adição de adjuvantes a calda de Bt bioinseticidas, promove alterações químico-físicas e biológicas cruciais que podem afetar na viabilidade ou na melhoria dos parâmetros de crescimento vegetativo e esporulação de esporos afetando o controle de *Spodoptera frugiperda*.

A hipótese de que a adição de adjuvantes a calda dos Bt bioinseticidas promovessem proteção contra os efeitos da chuva, foi notável apenas para o LI adicionado nas caldas dos Bt bioinseticidas, promovendo maiores taxas de crescimento vegetativo de colônias, número de esporos, com maiores taxas de mortalidade sobre *S. frugiperda* quando comparado aos demais adjuvantes.

Novos estudos sobre a interação de adjuvantes sobre Bt bioinseticidas são de extrema importância, pois, o estudo isolado dos componentes da formulação dos adjuvantes são necessários para esclarecer qual o componente e/ou a mistura de componentes que contribuíram para o melhor desempenho do *Bacillus thuringiensis*. Podendo resultar em novas formulações mais potentes quanto a eficiência no controle de pragas.