

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

**VIRULÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS À *Plutella xylostella*
(L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E COMPATIBILIDADE
COM INSETICIDAS**

Rogério Teixeira Duarte

Engenheiro Agrônomo

2015

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

**VIRULÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS À *Plutella xylostella*
(L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E COMPATIBILIDADE
COM INSETICIDAS**

Rogério Teixeira Duarte

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk

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

2015

D812v Duarte, Rogério Teixeira
Virulência de micro-organismos à *Plutella xylostella* (L.)
(Lepidoptera: Plutellidae) e compatibilidade com inseticidas. / Rogério
Teixeira Duarte. -- Jaboticabal, 2015
vii, 137 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Ricardo Antonio Polanczyk

Banca examinadora: Sergio Antonio De Bortoli, Arlindo Leal Boiça
Junior, Italo Delalibera Júnior, Roberto Marchi Goulart

Bibliografia

1. Controle biológico. 2. Traça-das-crucíferas. 3. Interação. I.
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:632.937

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “VIRULÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS À *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS”

AUTOR: ROGÉRIO TEIXEIRA DUARTE

ORIENTADOR: Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA) pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ITALO DELALIBERA JÚNIOR
Universidade de São Paulo / Piracicaba/SP

Prof. Dr. ROBERTO MARCHI GOULART
SGS Gravena / Jaboticabal/SP

Data da realização: 13 de novembro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Rogério Teixeira Duarte, nascido no município de São Paulo, SP, em 14 de dezembro de 1985. Formado em Agronomia pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal, em fevereiro de 2010. Iniciação científica em Entomologia Agrícola iniciada a partir de 2008, sob orientação do Prof. Dr. Júlio César Galli (FCAV/Unesp), com bolsa de iniciação científica (IC) concedida pelo CNPq, e pesquisa voltada ao monitoramento populacional de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) na cultura da goiaba (*Psidium guajava* L.), evidenciada principalmente a partir de resumos apresentados em congressos nacionais de Iniciação Científica. A partir de março de 2010, início do Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola) (FCAV/Unesp), sob orientação do Prof. Dr. Júlio César Galli, e bolsa concedida pelo CNPq, com vigência entre março de 2010 e fevereiro de 2012, período no qual desenvolveu pesquisas de campo voltadas ao monitoramento populacional de pragas e inimigos naturais em cultivo orgânico e convencional de goiaba. Durante o Mestrado auxiliou em outras pesquisas desenvolvidas pela equipe do referido orientador, além da apresentação de trabalhos em congressos nacionais relacionados com Entomologia Agrícola e publicações de artigos em revistas científicas nacionais de renomada qualidade. Em março de 2012 ingressou no Doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola) (FCAV/Unesp), sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, trabalhando com micro-organismos entomopatogênicos voltados ao controle biológico de pragas agrícolas, com bolsa concedida pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), e vigência entre março de 2012 e outubro de 2014, período relacionado com o desenvolvimento de outras pesquisas da mesma área, além de apresentações de trabalhos científicos em congressos nacionais e internacionais, publicações de capítulos de livros nacionais e internacional, publicações em revistas científicas nacionais e internacionais, orientações e co-orientações de alunos de iniciação científica relacionados com os cursos de Biologia e Agronomia (Centro Universitário de Araraquara – Uniara), participações em bancas de monografia dos cursos de Agronomia e Zootecnia (FCAV/Unesp) e revisor de periódicos nacionais e internacionais.

“Combati o bom combate, terminei a corrida, guardei a fé” (2 Timóteo 4:7)

À minha esposa, Vilaine do Prado Silva Duarte, que tem construído comigo uma vida baseada na fé, no amor e na paz, seguindo o mesmo objetivo, de formar uma família unida, próspera e duradoura, e que tanto agradeço por me amar verdadeiramente, e me ensinar a cada dia o valor das pequenas coisas que Deus coloca em nossos caminhos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, minha mãe Inajá Batista, meu pai José Teixeira Duarte Filho e meu irmão Rodrigo Teixeira Duarte, pelo amor e carinho durante todos estes anos de estudo e dedicação exclusiva a pesquisa.

Ao meu tio Maurício Teixeira Duarte, que serei eternamente grato, por acreditar e confiar em meus objetivos.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal (FCAV/Unesp), por oferecer todo o suporte técnico, científico e de infra-estrutura para minha formação profissional.

Ao Departamento de Fitossanidade (FCAV/Unesp), que possibilitou o pleno desenvolvimento de minhas pesquisas, desde a Iniciação Científica até o Doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) (FCAV/Unesp), pela oportunidade concedida para o desenvolvimento do Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da modalidade da bolsa de estudos de Doutorado.

Aos Professores do Departamento de Fitossanidade (FCAV/Unesp), responsáveis pela formação profissional dentro do contexto da área de Entomologia Agrícola.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, não somente pela orientação, mas também pela amizade e incentivo profissional, responsáveis pelo meu amadurecimento profissional.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela amizade e confiança em minhas pesquisas, que possibilitaram o desenvolvimento desta tese, além de promover também meu amadurecimento profissional frente às parcerias para com suas linhas e equipe de pesquisa.

Aos Servidores do Departamento de Fitossanidade (FCAV/Unesp), Lúgia Dias Tostes Fiorezzi, Marcia Regina Macri Ferreira e José Altamiro de Souza, pela amizade e auxílio durante o desenvolvimento do Doutorado.

Aos integrantes do Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) (FCAV/Unesp), compreendidos pelo Engenheiro Agrônomo Dr. Wilson Carlos Pazini, pelos discentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), MSc. Caroline Placidi De Bortoli, MSc. Lucas Trevisoli

Agostini e Engenheiro(a) Agrônomo(a) Kelly Cristina Gonçalves, e também pelos graduandos Thiago Trevisoli Agostini, Yasser Pagliusi Abrahão, Gustavo Aparecido de Carvalho e Laís Fernanda Moreira.

Aos integrantes do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), compreendidos pelo(a) pesquisador(a) Dr.(a) Alessandra Marieli Vacari, pelo auxiliar agropecuário MSc. Wanderley Dibeli, e pelos discentes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola).

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	01
Introdução	01
Objetivo Geral	02
Revisão de Literatura	02
Família Brassicaceae.....	02
<i>Plutella xylostella</i>	04
Ocorrência e distribuição geográfica.....	04
Espécies hospedeiras.....	05
Descrição morfológica e comportamental	06
Ciclo biológico.....	07
Danos, prejuízos e custos do manejo de <i>P. xylostella</i>	09
Métodos de controle de <i>P. xylostella</i>	10
Controle químico.....	10
Controle biológico com micro-organismos entomopatogênicos.....	11
A bactéria entomopatogênica <i>B. thuringiensis</i>	13
Histórico.....	13
Aspectos gerais	15
Principais toxinas sintetizadas	16
δ -endotoxina	16
α -exotoxina	19
β -exotoxina	19
Endósporo.....	20
Exoenzimas	21
Proteínas vegetativas inseticidas (Vip)	21
Controle biológico de <i>P. xylostella</i> com <i>B. thuringiensis</i>	22
Fungos entomopatogênicos.....	24
Histórico do uso de fungos entomopatogênicos no Brasil.....	24

Aspectos gerais	25
Principais fungos entomopatogênicos	27
<i>Beauveria bassiana</i>	27
<i>Metarhizium anisopliae</i>	28
<i>Metarhizium rileyi</i>	29
<i>Isaria</i> sp. e <i>Lecanicillium</i> sp.	30
Controle biológico de <i>P. xylostella</i> com fungos entomopatogênicos.....	31
Compatibilidade entre micro-organismos entomopatogênicos e agrotóxicos ...	34
<i>B. thuringiensis</i>	34
Fungos entomopatogênicos.....	35
Referências.....	41
CAPÍTULO 2- EFICIÊNCIA DE ISOLADOS DE <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> BERLINER SOBRE <i>PLUTELLA XYLOSTELLA</i> (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E INTERAÇÃO COM INSETICIDAS QUÍMICOS	
Resumo.....	79
Introdução	80
Material e Métodos.....	82
População de <i>P. xylostella</i>	82
Substrato de alimentação de <i>P. xylostella</i>	83
Isolados da bactéria entomopatogênica <i>B. thuringiensis</i>	83
Patogenicidade de <i>B. thuringiensis</i> a <i>P. xylostella</i>	84
Estimativa da Concentração Letal Média (CL ₅₀) e Tempo Letal Médio (TL ₅₀) ..	85
Interação entre <i>B. thuringiensis</i> e agrotóxicos recomendados à cultura do repolho.....	85
Resultados e Discussão.....	87
Conclusões	91
Referências.....	91
CAPÍTULO 3 – POTENCIAL DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS COMO AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DA TRAÇA-DAS-CRUCÍFERAS (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS	
Resumo.....	103
Material e Métodos.....	105

População de <i>P. xylostella</i>	106
Isolados de fungos entomopatogênicos.....	107
Patogenicidade dos isolados de fungos entomopatogênicos.....	108
Estimativa da Concentração Letal Média (CL ₅₀) e Tempo Letal Médio (TL ₅₀)	109
Compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e agrotóxicos registrados para a cultura do repolho	110
Resultados e Discussão.....	112
Referências Citadas.....	117
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	136

VIRULÊNCIA DE MICRO-ORGANISMOS À *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E COMPATIBILIDADE COM INSETICIDAS

RESUMO – A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), é uma das principais pragas da família Brassicaceae, com controle baseado no uso indiscriminado de inseticidas, o que tem propiciado o aumento no número de casos de populações resistentes a diferentes ingredientes ativos. O controle biológico com a utilização de micro-organismos entomopatogênicos constitui uma importante ferramenta para o manejo desta praga. Entretanto, o principal entrave quanto à eficiência e conservação destes agentes microbianos no campo está relacionado à compatibilidade com os agrotóxicos. O objetivo da pesquisa foi analisar a suscetibilidade de *P. xylostella* a micro-organismos entomopatogênicos e avaliar a compatibilidade dos entomopatógenos mais virulentos com inseticidas registrados para o controle do complexo de pragas da cultura do repolho. Foi analisada a eficiência de 13 isolados da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis*, além de isolados dos fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium rileyi*, *Isaria fumosorosea*, *I. sinclairii* e *Lecanicillium muscarium*, através da realização de testes de patogenicidade e virulência (CL₅₀ e TL₅₀) sobre lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*. A interação entre os isolados e os ingredientes ativos foi realizada a partir da mistura do inseticida no meio de cultura, sendo inoculada uma alíquota da suspensão do micro-organismo após o meio se solidificar, sendo avaliado o número de esporos/mL (*B. thuringiensis*) e o crescimento da colônia, o número e a viabilidade dos conídios (fungos entomopatogênicos), após um período de sete dias da inoculação destes micro-organismos. Os isolados HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07 de *B. thuringiensis* foram os mais eficientes no controle de *P. xylostella*, responsáveis por ocasionar mortalidade total das lagartas, com CL₅₀ variando entre 0,75 e 11,66 × 10³ esporos/mL e TL₅₀ entre 25,12 e 34,47 h. Os isolados IBCB01, IBCB18, IBCB66 e IBCB87 de *B. bassiana*, LCMAP101 de *M. rileyi* e ARSEF7973 de *I. sinclairii* ocasionaram mortalidade entre 80 e 100%, com CL₅₀ e TL₅₀ entre 2,504 e 6,775 × 10⁴ conídios/mL e 52,22 e 112,13 h, respectivamente. Os isolados HD-1 e HD-4 apresentaram interação neutra com o ingrediente ativo tiametoxam, sendo positiva para com o isolado T-07, com aumento significativo da esporulação. Os ingredientes ativos tiametoxam e azadiractina foram compatíveis com os fungos entomopatogênicos. Os resultados sugerem que a utilização destes isolados é uma importante alternativa no manejo de *P. xylostella*, sendo possível o emprego do controle químico baseado principalmente no uso do ingrediente ativo tiametoxam.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, controle biológico, controle químico, fungos entomopatogênicos, interação, traça-das-crucíferas

VIRULENCE OF MICROORGANISMS ON *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) AND THE COMPATIBILITY WITH PESTICIDES

ABSTRACT – Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), is one of the main pest in Brassicaceae family with control based on the indiscriminate use of insecticides, which has provided an increase in the number of cases of resistant populations to different active ingredients. Biological control, by using of entomopathogenic microorganisms is an important tool for the management of this pest. However, the main obstacle in terms of efficiency and conservation of these microbial agents in the field is related to the compatibility with pesticides. The aim of the research was to analyze the susceptibility of *P. xylostella* to entomopathogenic microorganisms and evaluate the compatibility of the most virulent entomopathogens with insecticides registered for the control of pest complex in cabbage crop. Efficiency of 13 isolates of the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* was analyzed, in addition to isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium rileyi*, *Isaria fumosorosea*, *I. sinclairii* and *Lecanicillium muscarium* by performing pathogenicity and virulence tests (LC₅₀ and LT₅₀) on second instar larvae of *P. xylostella*. The interaction between the isolates and active ingredients was made from the mixture of the insecticide in the culture medium, inoculated with an aliquot of the microorganism suspension after medium solidify, evaluated the number of spores / mL (*B. thuringiensis*), and the colony growth, the number and conidia viability (entomopathogenic fungi) after seven days the inoculation of these microorganisms. The isolates of *B. thuringiensis* HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 and T-07 were the most efficient in *P. xylostella* control, responsible for overall mortality, with LC₅₀ ranging from 0.75 to 11.66 × 10³ spores / mL and TL₅₀ between 25.12 to 34.47 h. The isolates IBCB01, IBCB18, IBCB66 and IBCB87 of *B. bassiana*, LCMAP101 of *M. rileyi* and ARSEF7973 of *I. sinclairii* caused mortality between 80 and 100%, with LC₅₀ and LT₅₀ between 2.504 and 6.775 × 10⁴ conidia / mL and 52.22 and 112.13 hours, respectively. The HD-1 and HD-4 isolates showed neutral interaction with the active ingredient thiamethoxam, being positive towards the isolated T-07, with significant increase in sporulation. The active ingredients thiamethoxam and azadirachtin were compatible with the entomopathogenic fungi. The results suggest that the use of these isolates is an important alternative in the *P. xylostella* management, being possible the use of chemical control mainly based on the use of the active ingredient thiamethoxam.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, biological control, chemical control, entomopathogenic fungi, interaction, diamondback moth

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), é uma das principais pragas de Brassicaceae em mais de 80 países (ATTIQUE; KHALIQ; SAYYED, 2006; SARFRAZ; DOSDALL; KEDDIE, 2006; GRZYWACZ et al., 2010). Altas populações desta praga são mais frequentes nas regiões tropicais e subtropicais, devido às condições climáticas favoráveis e presença de grande quantidade de hospedeiros (SARFRAZ; KEDDIE, 2005; SAYYED; ATTIQUE; KHALIQ, 2005; GRZYWACZ et al., 2010). Dentre as espécies comerciais de brássicas, o repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) é um dos principais hospedeiros deste lepidóptero, com relatos de prejuízos de até 100%, representados por danos qualitativos e quantitativos, ou seja, o ataque da praga pode depreciar o produto, retardar o crescimento da planta e também ocasionar sua morte (OOI; KELDERMAN, 1979; BARROS et al., 1993; OHSAWA, 2001; MONNERAT et al., 2004).

Para a redução populacional desta praga são utilizados, de forma intensiva e indiscriminada, inseticidas de elevada toxicidade e amplo espectro de ação (CASTELO BRANCO et al., 2003; SARFRAZ; KEDDIE, 2005). A elevada pressão de seleção induzida pelo excessivo número de aplicações, aliada ao rápido desenvolvimento de *P. xylostella* e ao seu grande potencial de migração, são determinantes para o aumento dos casos de resistência de populações da traça-das-crucíferas a ingredientes ativos de muitos grupos químicos dos inseticidas (CASTELO BRANCO et al., 2003; SARFRAZ; KEDDIE, 2005; SAYYED; ATTIQUE; KHALIQ, 2005; ZHAO et al., 2006; THULER; DE BORTOLI; BARBOSA, 2007; ENDERSBY; RIDLAND; HOFFMANN, 2008; OLIVEIRA et al., 2011).

Como alternativa aos inseticidas convencionais, insetos predadores, parasitoides e entomopatógenos são potenciais agentes controladores desta praga, com destaque para os micro-organismos entomopatogênicos, principalmente a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner e o complexo de fungos, como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *M. rileyi* (Farlow)

(Kepler, Humber, Bischoff, Rehner), *Isaria* sp. e *Lecanicillium* sp. (GOPALAKRISHNAN, 1989; SILVA et al., 2003; THULER; DE BORTOLI; BARBOSA, 2007; GODONOU et al., 2009; XU; ALI; HUANG, 2011; MÉNDEZ, 2012; MORAES; FOERSTER, 2012; ZHANG et al., 2013).

Entretanto, um dos entraves na utilização e conservação destes agentes microbianos, visando ao controle de *P. xylostella*, está relacionado à compatibilidade com os agrotóxicos empregados para a redução populacional de outras pragas. Neste sentido, os resultados relacionados às avaliações de compatibilidade entre os agrotóxicos e os micro-organismos entomopatogênicos podem ser classificados como negativos, neutros ou positivos (MORRIS, 1975; HABIB; GARCIA, 1981; KUZMANOVA, 1981; SEELENA; LEE; CHIANG, 1999). Porém, as pesquisas nesta área são muito escassas, o que implica na necessidade de aprofundar o conhecimento relacionado a este assunto como forma de contribuir para com o manejo integrado de *P. xylostella*.

Objetivo Geral

Analisar a suscetibilidade de *P. xylostella* a micro-organismos entomopatogênicos e avaliar a compatibilidade dos entomopatógenos mais virulentos com inseticidas registrados para o controle do complexo de pragas da cultura do repolho.

Revisão de Literatura

Família Brassicaceae

Originária do norte da costa do mar Mediterrâneo, as brassicáceas, consideradas como uma das principais famílias botânicas de oleráceas, com aproximadamente 400 gêneros e 4.000 espécies, foram inicialmente disseminadas para outras localidades a partir do século XVII (KOCH; HAUBOLD; MITCHELL-OLDS, 2001; FREITAS LUZ; SABOYA; SILVA PEREIRA, 2002; JOHNSTON et al., 2005; ANJUM et al., 2012). A elevada capacidade adaptativa de muitas de suas

espécies às diferentes condições agrícolas e ambientais permitiu o desenvolvimento do cultivo comercial em distintas regiões do mundo (SUWABE et al., 2006; HONG et al., 2008).

Dentre estas, a canola (*Brassica napus* var. *oleifera*) e o repolho (*B. oleraceae* var. *capitata*) são as brássicas de importância econômica, sendo mundialmente cultivadas (FREITAS LUZ; SABOYA; SILVA PEREIRA, 2002). No Brasil, muitas espécies da família Brassicaceae são cultivadas comercialmente na região Centro-Sul, devido ao menor custo de produção quando comparadas a outras culturas oleráceas (FILGUEIRA, 2012). Normalmente, o cultivo é feito pelo pequeno e médio produtor, com destaque as culturas do repolho, couve (*B. oleraceae* var. *acephala*), brócolis (*B. oleraceae* var. *italica*) e couve-flor (*B. oleraceae* var. *botrytis*) (FILGUEIRA, 2012).

Entre as espécies da família Brassicaceae, a cultura do repolho é considerada a principal atividade comercial nacional, com um volume total comercializado de aproximadamente 50.000 ton. para o ano de 2012 (AGRIANUAL, 2014). A temperatura é um dos fatores limitantes para seu desenvolvimento no Brasil, pois, originalmente, esta espécie foi melhorada geneticamente para atender as condições climáticas europeias, ou seja, melhor adaptada em temperaturas mais amenas. Entretanto, com o avanço do melhoramento genético, o mercado conseguiu oferecer ao produtor cultivares adaptadas as condições de temperatura elevada, de forma a ampliar os períodos de plantio e colheita, o que possibilitou o cultivo desta espécie em regiões brasileiras mais quentes (FILGUEIRA, 2012).

Entre os fatores bióticos que limitam a produção, destacam-se os insetos pragas, como as lagartas desfolhadoras *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) e *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae), além dos hemípteros *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera Aphididae), *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) e *Bemisia tabaci* Gennadius Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) (KAHAN; RICCI, 2001; CASTELO BRANCO et al., 2003; MICHEREFF FILHO et al., 2011; MATA; LOMONACO, 2013; ZHANG et al., 2013; BRYANT et al., 2014).

Plutella xylostella

Ocorrência e distribuição geográfica

Plutella xylostella tem como ponto de origem a Europa (HARDY, 1938), África Meridional (KFIR, 1998) ou leste da Ásia (LIU et al., 2000), sendo considerada a maior praga cosmopolita das brássicas, com relatos em diferentes regiões do mundo, por se adaptar a condições climáticas adversas, e também por apresentar elevada capacidade migratória (HONDA; MIYARA; KEGASAWA, 1992; CHAPMAN et al., 2002; COULSON et al., 2002; ATTIQUE; KHALIQ; SAYYED, 2006).

Nas regiões tropicais e subtropicais, esta espécie não interrompe seu desenvolvimento, ocorrendo à continuidade das gerações (CHAPMAN et al., 2002). Entretanto, nos países localizados nas extremidades Norte e Sul do mundo, onde a sobrevivência de *P. xylostella* é improvável devido a temperaturas muito baixas, surtos desta praga podem ocorrer como resultado de imigrações (TALEKAR; SHELTON, 1993; COULSON et al., 2002). Em regiões temperadas, a maior densidade populacional de *P. xylostella* é originária de imigrações, relacionadas a localidades de clima mais ameno (TALEKAR; SHELTON, 1993; CHAPMAN et al., 2002).

No Brasil, *P. xylostella* é importante para a maioria das áreas produtoras de brássicas (MARCHIORO; FOERSTER, 2014), com distribuição desde a região Amazônica até o estado Rio Grande do Sul, com relatos nos estados de Alagoas, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Pernambuco, Bahia e Distrito Federal, devido às condições climáticas favoráveis, aliado a outros fatores bióticos e abióticos (FERRONATTO, 1984; CASTELO BRANCO; GUIMARÃES, 1990; BARROS et al., 1993; MELO; CASTELO BRANCO; MADEIRA, 1994; CARDOSO, 1999, CARDOSO et al., 2012).

Espécies hospedeiras

De acordo com Sarfraz, Dossall e Keddie (2006), as espécies de brássicas consideradas hospedeiras à *P. xylostella* podem ser divididas em plantas cultivadas economicamente ou selvagens (Tabela 1).

Tabela 1. Brassicáceas hospedeiras de *Plutella xylostella*.

Espécie/Varietade	Nome Comum	Tipo
<i>Brassica napus</i> L.	Canola	Cultivada
<i>Brassica rapa</i> L. (= <i>Brassica campestris</i> (L.))	Nabo silvestre	Cultivada
<i>Brassica carinata</i> L.	Mostarda da Etiópia	Cultivada
<i>Brassica juncea</i> (L.)	Mostarda marrom	Cultivada
<i>Brassica napa</i> L.	Nabo	Cultivada
<i>Brassica nigra</i> (L.)	Mostarda preta	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>acephala</i>	Couve	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>alboglabra</i>	Couve	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>botrytis</i>	Couve-flor	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>capitata</i>	Repolho	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>gemmifera</i>	Couve de Bruxelas	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>gongylodes</i>	Couve-rábano	Cultivada
<i>Brassica oleraceae</i> L. var. <i>itálica</i>	Brócolis	Cultivada
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>pakchoi</i>	Pak choi	Cultivada
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>pekinensis</i>	Couve chinesa	Cultivada
<i>Raphanus sativus</i> L.	Rabanete	Cultivada
<i>Sinapis alba</i> L. (= <i>Brassica hirta</i> Moench)	Mostarda Branca	Cultivada
<i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh	Arabeta	Selvagem
<i>Barbarea vulgaris</i> L. DC	Erva de Santa-Bárbara	Selvagem
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.)	Bolsa-de-Pastor	Selvagem
<i>Cardamine flexuosa</i> With.	Agrião-amargo	Selvagem
<i>Descurainia sophia</i> (L.)	Erva-Sofia	Selvagem
<i>Erysimum cheiranthoides</i> L.	Goivo-amarelo	Selvagem
<i>Lepidium campestre</i> (L.) R. Br.	Field pepperweed	Selvagem
<i>Lepidium virginicum</i> L.	Mastruço-de-galinha	Selvagem
<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	Saramago	Selvagem
<i>Rorippa indica</i> (L.) Hiern	Birí	Selvagem
<i>Rorippa islandica</i> (Oeder) Barbàs	Marsh yellowcress	Selvagem
<i>Sinapis arvensis</i> L.	Mostarda-dos-campos	Selvagem
<i>Sisymbrium altissimum</i> L.	Tumbling mustard	Selvagem
<i>Thlaspi arvense</i> L.	Stinkweed	Selvagem

Adaptado de Sarfraz, Dossall e Keddie (2006).

Além destas espécies da família Brassicaceae, a traça-das-crucíferas também se alimenta de plantas das famílias Tropaeolaceae (*Tropaeolum majus* L.),

Capparidae (*Cleome* sp.), Fabaceae (*Pisum sativum* L.) e Malvaceae (*Hibiscus esculentis* L.) (GUPTA, 1971; RENWICK; RADKE, 1990; LÖHR; GATHU, 2002; SARFRAZ; DOSDALL; KEDDIE, 2005).

Descrição morfológica e comportamental

Os adultos da traça-das-crucíferas são microlepidópteros de coloração parda, com aproximadamente 10 mm de comprimento, com hábito noturno, e que, durante o dia, ficam escondidos entre as folhagens (GALLO et al., 2002). Nos machos, a margem posterior das asas anteriores é branca, formando uma mancha dorsal clara, em forma de diamante, quando o inseto encontra-se em repouso, o que conferiu a esta praga à denominação internacional de “diamondback moth” (HARDY, 1938; GALLO et al., 2002; IMENES et al., 2002). O dimorfismo sexual dos adultos pode ser observado na parte ventral dos insetos, no final do abdome, cujos machos apresentam uma mancha escura e alongada nesta região, e as fêmeas duas manchas circulares escuras (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997) (Figura 1).

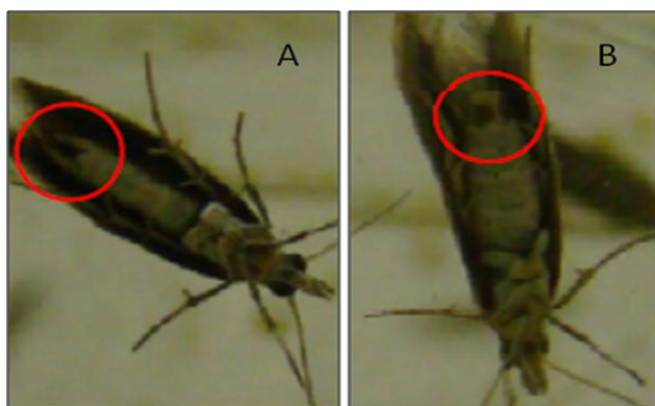


Figura 1. Dimorfismo sexual de adultos de *Plutella xylostella*. A – macho (mancha escura e alongada na região ventral, parte final do abdome); B – fêmea (duas manchas circulares na região ventral, parte final do abdome). Fonte: Vacari (2009).

As fêmeas ovipositam, em média, até 350 ovos nas faces abaxial e adaxial das folhas de brássicas, isoladamente ou agrupada por dois a três ovos, e normalmente acompanhando as nervuras (MARSH, 1917; CASTELO BRANCO;

FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997). Os ovos de *P. xylostella* são diminutos, menores que 1 mm, tanto em comprimento como em largura, com formato oval e uma coloração inicial amarelada, com escurecimento progressivo até o momento da eclosão das lagartas (HARDY, 1938; OOI; KELDERMAN, 1979).

A fase larval é representada por quatro ínstaes (ECOLE et al., 1999), com hábito minador no primeiro estágio, sendo os demais responsáveis por ocasionar perfurações nas folhas, sendo que, as lagartas conseguem crescer em até 10 mm de comprimento, com coloração relacionada à planta hospedeira, podendo ser verde-escuras quando se alimentam de folhas de repolho, brócolis e couve, e verde-claras quando consomem folhas de couve-flor (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997; GALLO et al., 2002). A fase de pupa é iniciada pela lagarta através da confecção de um casulo de fios de seda, formado na própria planta, e fixado geralmente na face abaxial das folhas, com coloração verde-claro, tendendo ao verde-escuro quando próximo da emergência dos adultos (HARDY, 1938; OOI; KELDERMAN, 1979; CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997).

Quando em baixa densidade populacional, as lagartas de *P. xylostella* apresentam preferência alimentar por folhas mais jovens, enquanto que, em densidade populacional mais elevada, observa-se uma distribuição homogênea por toda a planta. A localização das lagartas na planta está intimamente relacionada com a proteção e abrigo contra agentes bióticos e abióticos. Em plantas de repolho, lagartas e pupas são geralmente encontradas na face abaxial das folhas que circundam as cabeças, e também naquelas folhas mais externas (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997).

Ciclo biológico

A traça-das-crucíferas apresenta ciclo biológico curto (Figura 2), variando de acordo com as condições climáticas, principalmente temperatura, e também quanto à disponibilidade e o tipo de substrato alimentar, sendo multivoltina, com 5 a 10 gerações durante o ano, fator que pode interferir na flutuação populacional desta praga de um ano para outro (DIAS et al., 2004; DE BORTOLI et al., 2011; MARCHIORO; FOERSTER, 2014).

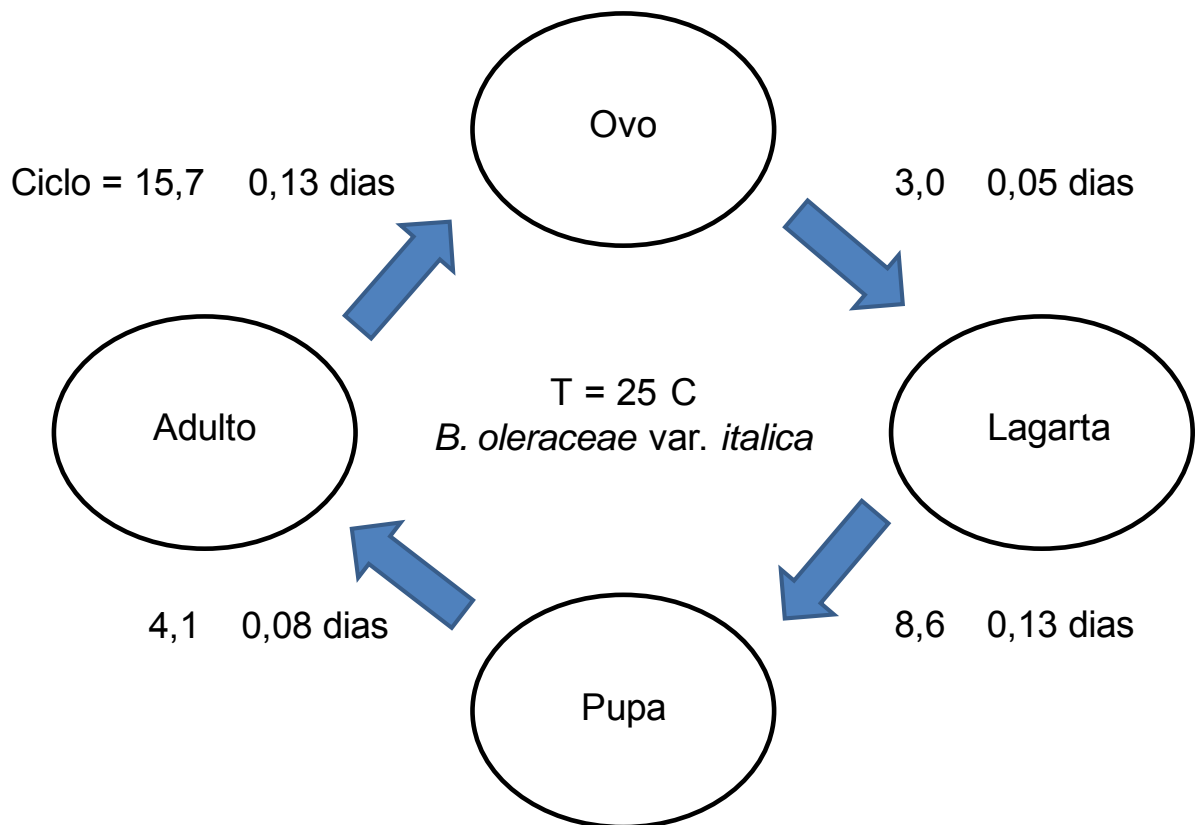


Figura 2. Ciclo biológico dos estágios imaturos de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de brócolis (*B. oleraceae* var. *italica*) submetidas a temperatura ambiente. Fonte: Marchioro e Foerster (2011).

O período de desenvolvimento ovo-adulto de *P. xylostella* é de 12 a 34 dias nas temperaturas extremas de 35 e 15°C, respectivamente (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997), com período de pré-oviposição podendo variar entre 2,6 a 5,7 dias nas temperaturas de 14 e 25°C (CREMA; CASTELO BRANCO, 2004). O ciclo biológico dos estágios imaturos desta praga pode oscilar de 13,4 a 72,6 dias a temperaturas de 32,5 e 10°C, respectivamente (MARCHIORO; FOERSTER, 2011).

De Bortoli et al. (2011) evidenciaram diferenças significativas nos parâmetros populacionais da tabela de vida de *P. xylostella* alimentadas com diferentes brássicas, comprovando que couve manteiga e brócolis proporcionaram melhor desenvolvimento e reprodução, diferentemente quanto ao emprego do repolho cultivar Midori. Thuler, De Bortoli e Hoffmann-Campo (2007) também relataram diferenças nas características biológicas da traça-das-crucíferas quando submetidas

a diferentes espécies de brássicas, utilizadas como substrato alimentar, demonstrando melhores resultados frente ao desenvolvimento da praga com o uso da couve manteiga em comparação com o repolho.

Danos, prejuízos e custos do manejo de *P. xylostella*

Após eclosão, as lagartas de primeiro ínstar de *P. xylostella* penetram no tecido foliar para se alimentarem do parênquima, formando galerias ou “minas”. Após dois a três dias, as lagartas de segundo ínstar abandonam estas galerias e, até o terceiro ínstar, consomem a epiderme da face abaxial das folhas. No quarto ínstar, as lagartas conseguem se alimentar de todas as partes da planta (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997; GALLO et al., 2002).

Na cultura do repolho, as injúrias ocasionadas pelo ataque de *P. xylostella* nas folhas, representadas pelo aspecto rendilhado, e nas cabeças, relacionadas às perfurações, resultam em danos que comprometem o valor comercial do produto (FREITAS LUZ et al., 2002). Em outros cultivos de brássicas, as lagartas não consomem apenas folhas, mas também inflorescências, como observado em brócolis e couve-flor, e os rebentos, referente à Couve de Bruxelas (*B. oleraceae* var. *gemmifera*) (TIBA, 2008).

De acordo com Shelton, Anoaloro e Barnaro (1982), as perdas econômicas devido aos danos desta praga em repolho foram de aproximadamente 95%, principalmente em áreas cujo ataque foi severo. A importância econômica de *P. xylostella* nas diferentes regiões do estado de São Paulo varia consideravelmente, mas as perdas são de até 60% na produção do repolho (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997). Porém existem relatos de até 100% de perdas das cabeças de repolho, consideradas como inadequadas para a comercialização (OOI; KELDERMAN, 1979; BARROS et al., 1993).

Nos Estados Unidos da América, especialmente no Texas, *P. xylostella* pode ocasionar perdas econômicas à cultura do repolho entre 40 e 70 milhões de dólares (SHELTON, 2004). No estado de Nova York, os prejuízos econômicos podem chegar a aproximadamente 80 milhões de dólares, se não houver nenhum tipo de manejo (SHELTON, 2004). Na Índia, a referida praga ocasionou perdas anuais de

até 16 milhões de dólares para as culturas do repolho e couve-flor (MOHAN; GUJAR, 2003). Na Austrália, o controle de *P. xylostella* nas culturas do repolho e canola geraram custos na ordem de 12 e 6 milhões de dólares australianos, respectivamente (SHELTON, 2004). No mundo, estima-se que os custos de controle desta praga fiquem em torno de um bilhão de dólares (TALEKAR; SHELTON, 1993).

Métodos de controle de *P. xylostella*

Controle químico

O método de controle químico é a principal estratégia na redução populacional de pragas entre os produtores de brássicas, desde o início do século XX (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997). Esta preferência está relacionada à praticidade, rapidez e eficiência para com o controle de pragas agrícolas, em especial a *P. xylostella* (CASTELO BRANCO; MELO, 2002, TIBA, 2008).

Dentre os inseticidas recomendados para as pragas dos cultivos de brássicas, os piretroides estão entre os mais utilizados para a redução populacional de *P. xylostella*. Porém, a sua utilização inadequada tem aumentado consideravelmente os relatos de resistência de diferentes populações (CARAZO et al., 1999; CASTELO BRANCO et al., 2001; CASTELO BRANCO et al., 2003; THULER; DE BORTOLI; BARBOSA, 2007). De acordo com Georghiou e Lagunestejada (1991) e Castelo Branco et al. (2001), populações de *P. xylostella* podem apresentar rápida evolução da resistência a determinado ingrediente ativo, levando ao aumento ineficiente do número de aplicações. Esta característica pode estar condicionada tanto ao potencial biótico da referida espécie, com ciclo biológico curto quando comparado a outros insetos, e também devido às constantes aplicações fitossanitárias dos mesmos ingredientes ativos (CASTELO BRANCO et al., 2003).

A traça-das-crucíferas foi a primeira espécie a apresentar resistência ao inseticida organoclorado dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (JOHNSON, 1953), sendo que, os grupos químicos dos piretroides, organofosforados, carbamatos, avermectinas, oxadiazinas, pirazoles, antranilamida (i.a. clorantraniliprole),

neonicotinoides, espinosade, e agonista do ecdisônio (i. a. fufenozide) apresentam relatos de resistência por diversas populações de *P. xylostella* (SAYYED; OMAR; WRIGHT, 2004; SAYYED; ATTIQUE; KHALIQ, 2005; ZHAO et al., 2006; SHELTON et al., 2007; SONODA; IGAKI, 2010; ENDERSBY et al., 2011; TANG et al., 2011; ZHOU; HUANG; XU, 2011; TROCZKA et al., 2012).

No Brasil, as primeiras evidências de resistência de *P. xylostella* foram relatadas por França et al. (1985), Castelo Branco e Melo (1992) e Castelo Branco e Gatehouse (1997) aos grupos químicos dos piretroides e organofosforados. Relatos de populações resistentes aos piretroides, avermectinas, benzoiluréias, metilcarbamato de oxima e oxadiazina também foram confirmados por Castelo Branco et al. (2003); Oliveira et al. (2011); Santos et al. (2011).

Dentre os inseticidas recomendados para o controle de *P. xylostella*, mesmo apresentando relatos de resistência, o grupo dos reguladores de crescimento tem demonstrado seletividade em relação aos inimigos naturais, considerada uma importante estratégia no manejo da traça-das-crucíferas (GALLO et al., 2002; CZEPAK et al., 2005; DE BORTOLI; THULER; LOPES, 2006; THULER et al., 2008; BACCI et al., 2009; GOULART et al., 2012).

Controle biológico com micro-organismos entomopatogênicos

A primeira classificação de um micro-organismo entomopatogênico foi realizada por Réaumur, ainda no século XVIII, com a identificação de um fungo do gênero *Cordyceps* atacando uma espécie de lepidóptero. No século XIX, Agostino Bassi, considerado o pai da patologia de insetos, relatou o fungo *Beauveria bassiana* como agente causal da doença “muscardine branca” em lagartas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), comprovando pela primeira vez a natureza infecciosa de um micro-organismo (ALVES, 1998).

Após este relato histórico, surgiu no final do século XIX o primeiro trabalho baseado no controle de pragas com entomopatógenos, mais precisamente com a utilização de *Metarhizium anisopliae* visando à redução populacional de larvas de *Anisoplia austriaca* Herbst (Coleoptera: Scarabaeidae). No século XX, outro

momento importante para a patologia de insetos foi à descoberta da bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* (ALVES, 1998).

No Brasil, os eventos relacionados com o desenvolvimento da patologia de insetos e do controle microbiano iniciaram-se a partir de 1923 (ALVES, 1998), com muitos exemplos de sucesso, como a utilização comercial de *M. anisopliae* para o controle de *Mahanarva fimbriolata* Stål (Hemiptera: Cercopidae) na cultura da cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA et al., 2004; LANDELL; VASCONCELOS, 2004), e também pelo uso de produtos comerciais e/ou isolados de *B. thuringiensis* visando ao controle de lepidópteros desfolhadores em monoculturas (MARTINS et al., 2007), nematoides para o controle de espécies de moscas-das-frutas (ALMEIDA et al., 2007), além da utilização do vírus da poliedrose nuclear (*Baculovirus anticarsia*) para o controle da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) (MACHADO; BATISTA FILHO, 1987).

As vantagens relacionadas ao emprego do controle biológico de pragas com micro-organismos entomopatogênicos estão relacionadas à especificidade e seletividade; a elevada capacidade de multiplicação e dispersão; aos efeitos secundários prejudiciais no desenvolvimento das pragas e, conseqüentemente, para com as gerações seguintes; o possível controle associado com outros métodos, como a utilização de inseticidas; as aplicações fitossanitárias relacionadas com máquinas agrícolas convencionais à aplicação de agrotóxicos; e a dificuldade das pragas agrícolas em desenvolverem resistência aos micro-organismos entomopatogênicos quando comparados aos inseticidas (ALVES, 1998).

Entretanto, a especificidade pode ser entendida também como uma desvantagem frente à utilização deste método de controle, aliado a ação mais lenta de um entomopatógeno com base em determinado ingrediente ativo de um inseticida de origem sintética; a exigência de condições favoráveis para melhor eficiência, problemas relacionados com o armazenamento, principalmente quanto à manutenção da viabilidade do micro-organismo, e a segurança deste material biológico para com os consumidores e ambiente, desde que manuseados incorretamente (ALVES, 1998).

A bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis*

Histórico

O micro-organismo entomopatogênico *B. thuringiensis* foi isolado pela primeira vez em 1901 pelo bacteriologista japonês Shigetane Ishiwata, que a nomeou "Sottokin-Bacillus" (ISHIWATA, 1901; STEINHAUS, 1961; HEIMPEL; ANGUS, 1963). Posteriormente, em 1911, esta bactéria foi redescoberta pelo biólogo alemão Ernst Berliner, que isolou este micro-organismo de pupas de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) coletadas em um engenho presente na província da Turíngia, com a descrição desta bactéria realizada em 1915, denominada *Bacillus thuringiensis* Berliner (BERLINER, 1911; BERLINER, 1915).

O referido pesquisador alemão mencionou em seus relatos a existência de cristais em culturas esporuladas de *B. thuringiensis*, entretanto, a relação destes cristais com a atividade inseticida só foi observada por Hannay (1953), devido à possível formação de determinada substância tóxica que causava mortalidade dos insetos, fato comprovado por Angus (1968). Os primeiros relatos na utilização da referida bactéria visando ao controle de insetos pragas ocorreu no final da década de 1920, com o objetivo em reduzir a densidade populacional de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Limantriidae) no Nordeste dos Estados Unidos da América (METALNIKOV; CHORINE, 1929), e também de *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) na Hungria e em outros países da Europa Oriental (HUSZ, 1930; METALNIKOV; HERGULA; STRAIL, 1930). No final da década de 1940, o primeiro produto comercial a base de *B. thuringiensis*, denominado "Sporéine", foi produzido na França (ENTWISTLE et al., 1993).

A descoberta da propriedade inseticida da molécula dicloro-difenil-tricloretoano (DDT) por Paul Müller, no ano de 1939, desencadeou a utilização em grande escala de compostos químicos na redução populacional de pragas agrícolas e controle de insetos de importância domissanitária (MARICONI, 1963; GREEN; HARTLEY; WEST, 1977; VEIGA et al., 2006). Assim, aliado ao início da Segunda Guerra

Mundial, os progressos quanto ao desenvolvimento de bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* foram praticamente interrompidos.

Este cenário começou a mudar novamente a partir da década de 1950, com o aumento no uso de *B. thuringiensis* para o controle de pragas, principalmente relacionada à ordem Lepidoptera (BEEGLE; YAMAMOTO, 1992). A retomada do interesse quanto ao uso da referida bactéria deve-se principalmente ao pesquisador Edward Steinhaus, devido ao início de experimentos com este micro-organismo, demonstrando conclusões promissoras no controle de *Colias eurytheme* Boisduval (Lepidoptera: Pieridae) (STEINHAUS, 1951).

Estes resultados serviram como base para algumas empresas quanto à síntese de produtos biológicos a base de *B. thuringiensis*, com a origem das marcas comerciais Thuricide®, nos Estados Unidos da América, Bactospéine®, na França, Entobacterin-3® e “Dendrobacilline”, na antiga União Soviética, e Biospor®, na Alemanha (SANCHIS, 2011). Em 1970, determinada estirpe de *B. thuringiensis* foi isolada de lagartas de *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae), designada como cepa HD-1 (DULMAGE, 1970), tornando-se a base para aqueles produtos comerciais biológicos que conseguiam competir com os inseticidas químicos, em termos de desempenho e custo, como por exemplo, o formulado comercial Dipel®, sintetizado pela empresa Abbott Laboratories, com sede nos Estados Unidos da América (SANCHIS, 2011).

A expansão do uso deste micro-organismo entre a década de 1970 e 1980 esteve principalmente relacionada com o desenvolvimento de tecnologias voltadas a metodologia de fermentação em larga escala, com aumento da eficiência de produção e melhorias quanto ao controle de qualidade (VAN FRANKENHUYZEN, 2000). Porém, até a década de 1990, apenas três produtos comerciais estavam disponíveis no mercado, Dipel®, Thuricide® e o Bactospeine® (HABIB; ANDRADE, 1991), representando 90% das vendas em relação aos demais bioinseticidas comercializáveis (CPL BUSINESS CONSULTANTS, 2013). Em 2010, os produtos à base de *B. thuringiensis* representaram 53% de todos os bioinseticidas comercializados mundialmente, reduzindo para 2013 na ordem de 45 a 50%, evidenciando o aumento na utilização de outros entomopatógenos para o controle de pragas, relacionado com um crescimento anual de 27%, entre 2007 e 2012, com

perspectivas muito promissoras até 2020 (CPL BUSINESS CONSULTANTS, 2010; 2013).

Aspectos gerais

A bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* pertence à família *Bacillaceae*, caracterizada como gram-positiva, aeróbia, podendo facultativamente se desenvolver em ambiente anaeróbico, dentro da faixa de 10 a 45°C (HABIB; ANDRADE, 1998; GLARE; O'CALLAGHAM, 2000; MONNERAT; BRAVO, 2000). Este micro-organismo é considerado quimio heterotrófico, com temperatura ideal de crescimento de aproximadamente $30 \pm 2^\circ\text{C}$ (MORAES; CAPALBO, 1986). A célula bacteriana possui formato de bastonete, com 1 a 1,2 μm de largura por 3 a 5 μm de comprimento, com esporos elípticos e cilíndricos, apresentando como característica típica a presença de um cristal proteico intracelular (HABIB; ANDRADE, 1998). Este entomopatógeno pode ser isolado em diferentes regiões do mundo, com ocorrência em diversos tipos de substratos, como solos agrícolas, água, grãos armazenados, excretas, e cadáveres de insetos (APAYDIN et al., 2005; KONECKA et al., 2007; BAIG; MEHNAZ, 2010; AMMOUNEH et al., 2011; POOPATHI et al., 2014).

A atividade tóxica desta bactéria está relacionada, principalmente, à produção de inclusões cristalinas, compostas de toxinas proteicas Cry, caracterizada por δ -endotoxinas, que se acumulam na célula bacteriana durante o processo de esporulação (BRAVO et al., 2011). Estas inclusões cristalinas podem conter uma ou mais proteínas Cry, sendo cada toxina codificada por um gene *cry* específico (LI; CARROL; ELLAR, 1991). Desta forma, estas proteínas podem apresentar atividade tóxica a uma grande variedade de organismos, como os insetos, principalmente às ordens Lepidoptera, Trichoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera e Orthoptera, além dos nematoides, ácaros e protozoários (FEITELSON 1993; KONECKA et al. 2007; SOBERON et al. 2007; CINAR et al. 2008, VAN FRANKENHUYZEN, 2009).

Principais toxinas sintetizadas

A principal toxina produzida por *B. thuringiensis* com atividade inseticida é a δ -endotoxina, classificada pela sua sequência primária de aminoácidos, e representada atualmente por mais de 700 diferentes sequências de genes *cry*, classificadas em 73 grupos (Cry1 ao Cry73) (CRICKMORE et al., 2014). Além deste composto proteico, o referido micro-organismo também é capaz de sintetizar outras toxinas com atividade inseticida, que podem potencializar a toxicidade das δ -endotoxinas, como α -exotoxina, β -exotoxina, hemolisinas, exoenzimas e proteínas inseticidas vegetativas (VIPs) (HABIB; ANDRADE, 1998). Além destas, os esporos também podem contribuir com a virulência da bactéria, através da ação sinérgica às proteínas Cry (JOHNSON; MCGAUGHEY, 1996).

δ -endotoxina

O cristal proteico é um agregado de moléculas com peso molecular de aproximadamente 230.000 daltons ou $7,22 \times 10^{-14}$ μ g. Estes cristais podem variar em tamanho, número e formato, caracterizados como esféricos, bipiramidais, cuboides ou também ausentes de uma forma definida (HABIB; ANDRADE, 1998) (Figura 3).

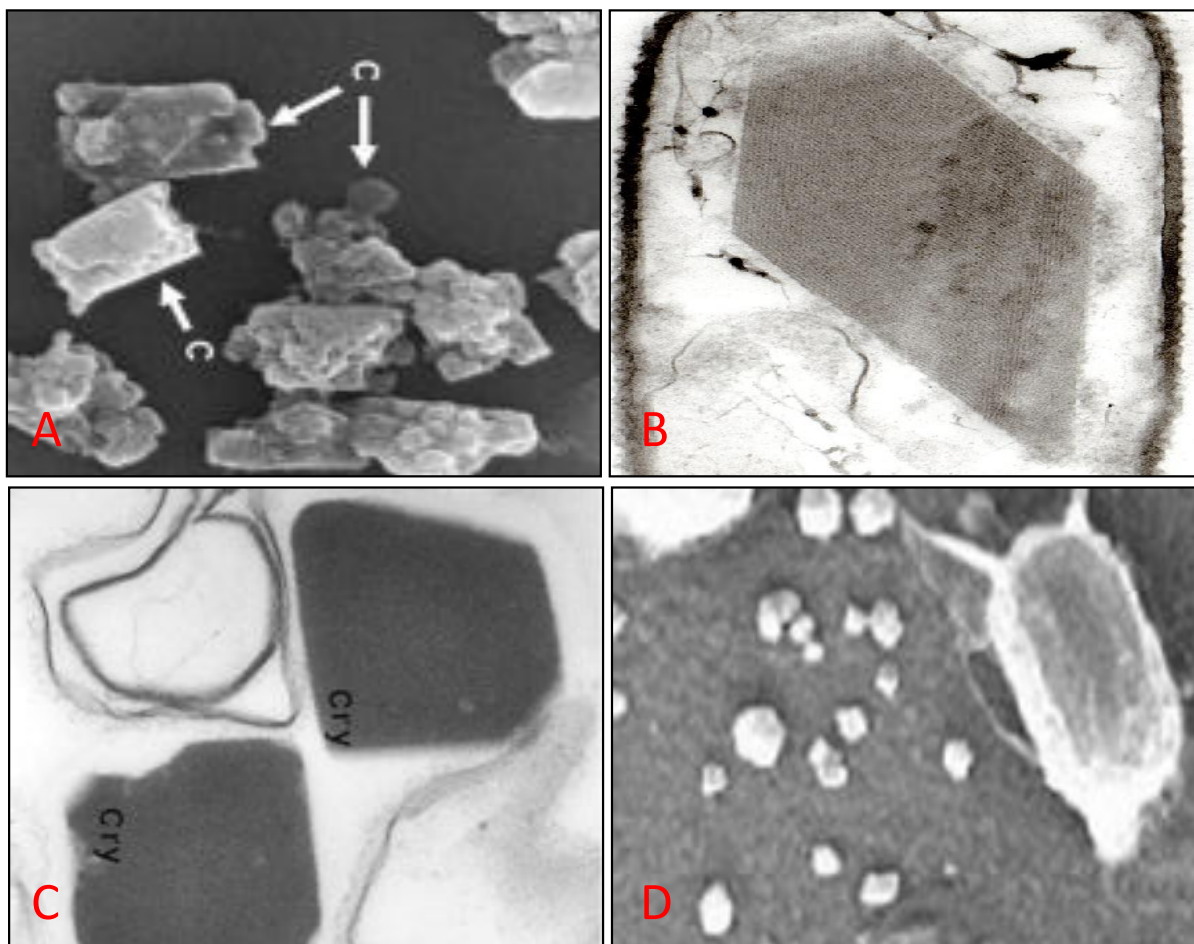


Figura 3. Formato dos cristais proteicos da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis*. A – amorfo (SOMWATCHARAJIT; TIANTAD; PANBANGRED, 2014); B – bipiramidal (SANCHIS, 2011); C – cuboide (THIÉRY et al., 1998); D – esférico (GUAN et al., 2014).

Este cristal proteico representa o componente principal dos produtos biológicos comerciais à base da referida bactéria entomopatogênica, denominado δ -endotoxina (HEIMPEL, 1967). Entretanto, como a maioria dos cristais contém mais de uma toxina, o ideal seria δ -endotoxinas ou toxinas do cristal (HABIB; ANDRADE, 1998). Em determinado momento do processo de crescimento vegetativo ou divisão celular, *B. thuringiensis* inicia o processo de esporulação, pelo qual ocorre a síntese das δ -endotoxinas, ou proteínas Cry, que apresentam características químicas e serológicas idênticas às proteínas da parede do endósporo (SOMERVILLE; DELAFIELD; RITTENBERG, 1968; DELAFIELD; SOMERVILLE; RITTENBERG, 1968).

Ausente de interferências externas, o cristal proteico de *B. thuringiensis* não tem ação tóxica, mas pode ser considerado como uma toxina, pois a sua dissolução em meio alcalino propicia a liberação de moléculas de diferentes tamanhos, algumas representadas como tóxicas para os insetos. Desta forma, a relação entre o cristal proteico e a alcalinidade do meio em que este se encontra explica a razão pela qual apenas os insetos de pH intestinal alcalino são suscetíveis a referida bactéria entomopatogênica (FAST; MARTIN, 1980; HABIB; ANDRADE, 1998).

O modo de ação das proteínas Cry nos insetos é constituído por diferentes etapas, composto inicialmente pela ingestão do cristal proteico ou do complexo esporo-cristal de *B. thuringiensis*, com posterior solubilização e ativação da toxina, ligação aos receptores do intestino médio, inserção da toxina na membrana apical, formação do poro e citólise (SCHNEPF et al., 1998). As proteínas Cry são formadas por prótoxinas, que, depois de ingeridas, são solubilizadas (SCHNEPF et al., 1998). Entretanto, este processo inicial depende de fatores intrínsecos, relacionados à fisiologia do inseto, como, por exemplo, condições de pH alcalino do intestino médio, considerado essencial para a solubilização das prótoxinas para a maioria dos lepidópteros e dípteros (HOFFMAN et al., 1988; KNOWLES, 1994; MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001), sendo responsável por diferenças quanto ao grau de toxicidade de determinado cristal proteico (ARONSON et al., 1991; DU; MARTIN; NICKERSON, 1994).

Após o processo de solubilização, a prótoxina deve ser processada por proteases presentes no intestino médio do inseto, para que ocorra a ativação destas (TOJO; AIZAWA, 1983). As principais proteases do intestino médio dos insetos da ordem Lepidoptera são as tripsinas e as quimotripsinas, como as serina-proteases, diferentemente da ordem Coleoptera, relacionadas às cisteína-proteases e aspártico-proteases (TERRA; FERREIRA, 1994; SCHNEPF et al., 1998). Algumas pesquisas sugerem que o mecanismo de resistência desenvolvido por determinada espécie de inseto pode estar relacionado com a redução de solubilidade e também com as proteases envolvidas no processo de ativação da prótoxina (ARONSON et al., 1991; CHANG et al., 2012; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2012).

Com as toxinas Cry ativadas, estas se ligam a receptores específicos presentes nas microvilosidades apicais das células colunares do intestino médio,

sendo essencial para a toxicidade e especificidade das toxinas Cry (MONNERAT; BRAVO, 2000; MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001; BRAVO et al., 2007; PIGOTT; ELLAR, 2007). Após este processo, ocorre a inserção da toxina na membrana apical, relacionada principalmente pela composição proteica da membrana, como por exemplo, a presença da aminopeptidase N e da caderina, que apresentam elevada afinidade para com toxinas Cry1A, devido a sua estrutura oligomérica, o que torna mais eficiente esta inserção (GILL; ELLAR, 2002; MORIN et al., 2003; BRAVO et al., 2004).

Posteriormente, ocorre à formação de poros nas células epiteliais do intestino médio, devido ao desequilíbrio osmótico destas, com posterior lise, o que propicia o extravasamento do conteúdo intestinal para a hemocele (COPPING; MENN, 2000; MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001; PRAÇA et al., 2004). Como consequência da intoxicação, os insetos cessam a alimentação, morrendo por inanição ou septicemia (GUPTA et al., 1985; BRAVO et al., 1992; MONNERAT; BRAVO, 2000; PRAÇA et al., 2004).

α -exotoxina

Esta toxina também é conhecida como fosfolipase C, lecitinase C ou fosfatidilcolina fosfohidrolase, caracterizada como uma enzima com atividade citolítica, termolábil, solúvel em água, que atua sobre os fosfolipídios presentes nas membranas celulares, e pode ser muito tóxica para algumas espécies de insetos e também para vertebrados, causando degeneração e lise das células (HABIB; ANDRADE, 1998; HANSEN; SALAMITOU, 2000). Esta exotoxina pode ser encontrada no sobrenadante de algumas culturas, durante a fase logarítmica de crescimento de determinadas estirpes de *B. thuringiensis* (HABIB; ANDRADE, 1998; HANSEN; SALAMITOU, 2000).

β -exotoxina

O nome β -exotoxina foi sugerido por Heimpel (1967), entretanto foi considerado inapropriado para a referida substância, devido a sua estrutura química,

evidenciada então pelo termo thuringiensina (KIM; HUANG, 1970; PAIS; DE BARJAC, 1974). Trabalhos mais recentes evidenciam ambas as denominações para a referida exotoxina (WANG et al., 2007; ZHOU et al., 2007; MAC INNES; BOUWER, 2009).

Este composto é sintetizado por algumas estirpes de *B. thuringiensis* durante a fase vegetativa, considerada termolábil, com baixa massa molecular, e dividida em β -exotoxina tipos I e II (FARKAS et al., 1969). A toxina tipo I é análoga ao ATP (adenosina trifosfato), composta por adenina, ribose, glicose e ácido fosfoalárico (FARKAS et al., 1969). Sua atividade tóxica está relacionada com a inibição da RNA polimerase através da competição com ATP, apresentando um amplo espectro de ação para várias espécies de insetos, ácaros, nematoides e também vertebrados (HANSEN; SALAMITOU, 2000). Entretanto, o efeito teratogênico e a possível mutagenicidade são fatores plausíveis de alguns países quanto à proibição do uso de linhagens de *B. thuringiensis* que sintetizam esta toxina (BURGES, 1975).

A β -exotoxina tipo II também é análoga ao ATP, porém mais tóxica que a tipo I, principalmente para coleópteros (LEVINSON et al., 1990). Por apresentar elevada toxicidade a mamíferos, as empresas produtoras de material biológico à base *B. thuringiensis* começaram a substituir as linhagens existentes da referida bactéria por outras não produtoras de tais toxinas (BASSAND; CARPY, 1977; McCLINTOCK; SCHAFFER; SJOBLAD, 1995).

Endósporo

A confirmação da presença de uma proteína na parede do endósporo, química e serologicamente semelhante à proteína do cristal, e o efeito tóxico desta para com *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae), comprovou a importância desta estrutura para com o controle populacional de algumas espécies de insetos, mesmo que, muitas vezes sendo mascarada ao efeito do cristal proteico (SOMERVILLE; DELAFIELD; RITTENBERG, 1968; DELAFIELD; SOMERVILLE; RITTENBERG, 1968; BURGES; THOMSON; LATCHFORD, 1976).

Além desta observação, em insetos considerados suscetíveis a *B. thuringiensis*, em que a mortalidade da espécie é causada principalmente por

septicemia, a função do esporo apresenta extrema importância, haja vista também, do papel sinérgico para com as proteínas Cry presentes no meio, o que possibilita melhor eficiência de controle da praga frente à utilização conjunta destes (BURGES; THOMSON; LATCHFORD, 1976).

Exoenzimas

As exoenzimas, representadas pelas quitinases e as proteases, são sintetizadas por *B. thuringiensis* e também estão relacionadas com a patogenicidade a insetos. Essas enzimas são liberadas pela bactéria e provocam a ruptura da membrana peritrófica favorecendo o acesso das δ -endotoxinas ao epitélio intestinal (REDDY; KUMAR; ESWERLU, 1998; SAMPSON; GOODAY, 1998).

Proteínas vegetativas inseticidas (Vip)

Além das δ -endotoxinas, a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* sintetiza proteínas inseticidas chamadas “Vip” (vegetative insecticidal proteins), produzidas durante a fase vegetativa ou de crescimento (ESTRUCH et al., 1996). Este tipo de toxina inclui as proteínas Vip1, Vip2, Vip3 e Vip4, sendo as duas primeiras específicas para a ordem Coleoptera, e também para o afídeo *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), enquanto que, a terceira toxina está relacionada à ordem Lepidoptera (ESTRUCH et al., 1996; WARREN, 1997; SHI et al., 2004; SAMPURNA; MAITI, 2011; CRICKMORE et al., 2014). Atualmente, existem 126 tipos de toxinas “Vip”, distribuídas em quatro grupos e 32 classes, classificadas de acordo com a sequência de aminoácidos (CRICKMORE et al., 2014).

Estas proteínas não apresentam nenhuma semelhança para com as proteínas Cry, sendo considerada uma nova classe de proteínas inseticidas (YU et al., 1997; LEE et al., 2003; YU et al., 2011). Desta forma, existem relatos sobre a atividade inseticida destas toxinas em alguns insetos de importância econômica, como *Agrotis ipsilon* Hufnagel (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae), *S. exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), *S. littoralis*

Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae) (ESTRUCH et al., 1996; YU et al., 1997; HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2013; PALMA et al., 2013). O modo de ação destas toxinas é similar às proteínas Cry, relacionado à ligação destas nos receptores específicos presentes na membrana epitelial do intestino médio dos insetos, com posterior formação de poro, fator responsável pela mortalidade do hospedeiro (LEE et al., 2003; LEE; MILES; CHEN, 2006; SENA; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ; FERRÉ, 2009).

Controle biológico de *P. xylostella* com *B. thuringiensis*

O uso de estratégias de controle e redução populacional de *P. xylostella* com micro-organismos tem sido cada vez mais citado na literatura, com enfoque à bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* (KHAN et al., 2005; MEDEIROS et al., 2006a,b; THULER et al., 2007; VIANA et al., 2009; HWANG et al., 2010; DE BORTOLI et al., 2012; KIM et al., 2013).

Dentre as proteínas Cry identificadas para o controle de insetos, entre 40 a 50% apresentam atividade para uma ou mais espécies da ordem Lepidoptera (SCHNEPF et al., 2005). Com relação à *P. xylostella*, foram identificadas diferentes toxinas patogênicas a referida praga, representados pelos grupos Cry1, Cry2, Cry7, Cry9, Cry30 e Cry32, além da proteína vegetativa Vip3 (NAKAMURA et al., 1990; TABASHNIK et al., 1996; TANG et al., 1996; TABASHINIK et al., 2000; SAYYED; CRICKMORE; WRIGHT, 2001; BALASUBRAMANIAN et al., 2002; BHALLA et al., 2005; HUANG et al., 2007; SILVA-WERNECK; ELLAR, 2008; TAN et al., 2010). Além destes, de acordo com van Frankenhuisen (2009), as toxinas dos cristais proteicos Cry32 e Cry51 também são patogênicos a traça-das-crucíferas.

No Brasil, o controle de *P. xylostella* com a referida bactéria entomopatogênica é realizado através da aplicação de produtos formulados devidamente registrados para determinada cultura agrícola, sendo os mais empregados à base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, que expressam principalmente às toxinas Cry1Aa, Cry1Ab e Cry1Ac (THULER et al., 2007) (Quadro 1). Além dos produtos comerciais biológicos, muitas pesquisas têm sido direcionadas à caracterização de novas cepas de *B. thuringiensis*, obtidas através de isolamento de

diferentes substratos, com o intuito de descobrir toxinas de elevada eficiência visando ao controle de *P. xylostella* (MONNERAT et al., 2004; VIANA et al., 2009; JAYAKUMAR; KAUR, 2013).

Quadro 1. Produtos comerciais à base de *Bacillus thuringiensis* recomendados para o controle de *Plutella xylostella* nas principais culturas brasileiras de brássicas.

Culturas	Produto Comercial	Grupo Químico	Ingrediente Ativo	Formulação	Classe	
					Toxicológica	Ambiental
Brócolis	Bac Control	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
	Dipel	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	II	IV
	Thuricide	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
Couve-Flor	Bac Control	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
	Dipel	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	II	IV
	Thuricide	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
Repolho	Able	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	SC	III	IV
	Agree	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> GC 91 + <i>B. thuringiensis</i> subsp.	WP	III	IV
	Bac Control	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
	Dipel	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WG	II	IV
	Dipel	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	II	IV
	Thuricide	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
	Xentari	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	WG	II	III
Couve	Bac Control	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV
	Dipel	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	II	IV
	Thuricide	Biológico	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	WP	IV	IV

Fonte: MAPA (2014). WP = Pó Molhável; WG = Granulado Dispersível; SC = Suspensão Concentrada.

Entretanto, a pequena variabilidade no número de toxinas relacionadas aos produtos biológicos comerciais, aliada a elevada quantidade de aplicações realizadas no campo, tem induzido a pressão de seleção de populações de *P. xylostella*, com conseqüente evolução da resistência desta praga a determinadas toxinas de *B. thuringiensis* (TABASHNIK, 1994; CASTELO BRANCO et al., 2003; GONG et al., 2010; ZAGO et al., 2014). Desta forma, o manejo integrado da traça-das-crucíferas baseado no controle biológico com *B. thuringiensis* constitui um importante método de controle nas lavouras de brássicas, porém, o uso desta ferramenta deve ser bem planejado, primeiramente por existir populações resistentes, o que implica na necessidade do manejo da resistência, para evitar problemas futuros e prejudicar todo o programa de controle desta praga (DE BORTOLI et al., 2013).

Fungos entomopatogênicos

Histórico do uso de fungos entomopatogênicos no Brasil

Os primeiros estudos com fungos entomopatogênicos no Brasil datam de 1932, porém estas pesquisas obtiveram destaque somente a partir de 1964, com observações de epizootia de *M. anisopliae* sobre cigarrinhas da cana-de-açúcar (ALVES et al., 2008). A partir desta data, muitos projetos com fungos entomopatogênicos começaram a ganhar notoriedade dentro do cenário agrícola nacional, além do avanço das pesquisas científicas nesta área, o que garantiu os bons resultados de muitos projetos atuais, como por exemplo, a utilização de *M. anisopliae* no controle de *M. fimbriolata* e *M. posticata* na cultura da cana-de-açúcar.

Estas pesquisas foram iniciadas em 1969, com a instalação de laboratórios setoriais na região Nordeste a partir de 1975, visando à produção em larga escala de *M. anisopliae* (MARQUES et al., 1981). No estado de São Paulo, o controle da cigarrinha da cana-de-açúcar com o referido entomopatógeno é realizado desde 2001 (ALMEIDA; BATISTA FILHO; DA COSTA, 2007), devido à grande importância econômica desta praga a partir da redução das queimadas nas lavouras canavieiras (ALVES et al., 2008).

Além deste grande projeto de controle biológico com fungos entomopatogênicos, outros de menor dimensão também representam importante valor frente ao manejo populacional de pragas, como por exemplo, o emprego de *Sporothrix insectorum* (Hoog & Evans) visando ao controle de *Leptopharsa heveae* Drake & Poor (Hemiptera: Tingidae) na cultura da seringueira. O sucesso deste programa só foi possível devido aos estudos iniciais de epizootias naturais, a partir da década de 1980, e a posterior seleção de isolados, produção e formulação (CELESTINO FILHO; MAGALHÃES, 1986; JUNQUEIRA et al., 1999; ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2001).

Outros projetos estão voltados para o controle de cupins do gênero *Cornitermes* com os fungos *B. bassiana* e *M. anisopliae*; redução populacional de gafanhotos com aplicação de *M. flavoviride*; associação de fungos entomopatogênicos com iscas atrativas visando ao controle de *Sphenophorus levis*

Vaurie (Coleoptera: Dryophthoridae) e *Metamasius hemipterus* L. (Coleoptera: Dryophthoridae), na cultura de cana-de-açúcar, e de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Dryophthoridae), na cultura da banana; uso de *B. bassiana* na cultura do café para o controle de *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae); utilização de fungos entomopatogênicos para a redução populacional de pragas de cultivos protegidos (ALVES et al., 2008).

Aspectos gerais

Estes micro-organismos, caracterizados pela grande variabilidade quanto ao tamanho e formato, podendo ser unicelulares ou representados por um conjunto filamentosos de micélio, e composto por células denominadas hifas, são considerados os primeiros patógenos de insetos a serem utilizados no controle biológico (ALVES, 1998). Uma das principais vantagens é sua variabilidade genética, o que torna possível a seleção de isolados de fungos com elevada virulência, além de outras características fundamentais neste processo de escolha, como o grau de especificidade e a compatibilidade com outros compostos químicos (HAJEK; ST. LEGER, 1994; ALVES, 1998).

Os fungos entomopatogênicos podem infectar diferentes estágios de desenvolvimento dos insetos, desde a fase de ovo até os adultos, com penetração normalmente realizada via tegumento, o que caracteriza uma importante vantagem em relação a outros entomopatógenos, como *B. thuringiensis*, que necessita ser ingerido pela praga para ser patogênico (ALVES, 1998). Entretanto, a relação fungo-hospedeiro depende de condições ambientais adequadas, principalmente no que diz respeito à temperatura e umidade, além das características intrínsecas do hospedeiro, como as condições nutricionais e imunológica (HAJEK; ST. LEGER, 1994; ALVES, 1998).

Em relação ao ciclo de relações entre fungos entomopatogênicos e hospedeiros (Figura 4), a primeira etapa, denominada adesão, constitui um evento que ocorre após a deposição da estrutura reprodutiva do micro-organismo sobre a cutícula do inseto, com objetivo de preparar o substrato para a fase de penetração (HAJEK; ST. LEGER, 1994; HOLDER; KEYHANI, 2005). Com condições climáticas

favoráveis, estas estruturas iniciam o processo de germinação sobre o hospedeiro, com a formação de um tubo germinativo, cuja extremidade é formada por uma dilatação das hifas, denominada apressório, que tem a função de iniciar o processo de penetração da epicutícula e procutícula do tegumento do inseto (BOUCIAS; PENDLAND, 1991; ALVES et al., 1998; HAJEK; EASTBURN, 2003).

A fase de penetração é caracterizada por processos físicos (pressão da hifa sobre o tegumento) e químicos (enzimas), que auxiliam na penetração mecânica e o metabolismo pelo tubo germinativo (CHARNLEY; ST. LEGER, 1991; HAJEK; ST. LEGER, 1994; ALVES, 1998). A partir de então se inicia o processo de colonização do hospedeiro, com engrossamento e ramificação das hifas em direção a hemocele do inseto, e posterior expansão aos diferentes órgãos. A reprodução, caracterizada como sexuada e/ou assexuada, ocorre após a morte do inseto, em que as hifas começam a emergir inicialmente pelos espiráculos e regiões intersegmentares, formando uma cobertura micelial, que desencadeará na conidiogênese, caracterizada como uma formação pulverulenta que recobre o hospedeiro (ALVES, 1998). Os principais tipos de propágulos produzidos por estes micro-organismos são os conídios, esporos, zoósporos, ascósporos, zigósporos, clamidósporos, esclerócios e esporodóquios, que posteriormente serão dispersos pelo ambiente através de fatores bióticos e abióticos (HAJEK; CARRUTHERS; SOPER, 1990; HAJEK; ST. LEGER, 1994; ALVES, 1998; MEYLING; EILENBERG, 2007).

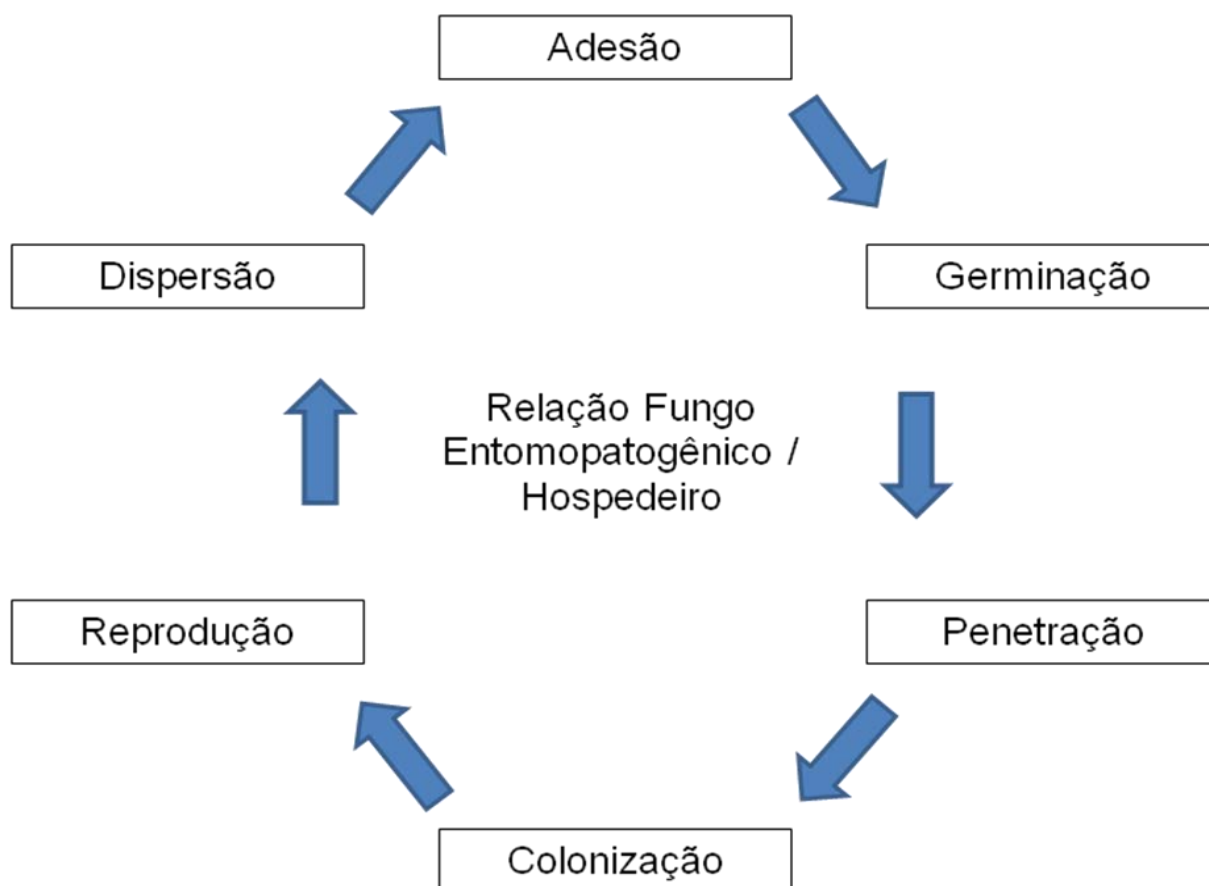


Figura 4. Processos da relação dos fungos entomopatogênicos e de seus hospedeiros.

Principais fungos entomopatogênicos

Beauveria bassiana

O entomopatógeno *B. bassiana* foi o primeiro fungo a ser estudado com detalhes pelo italiano Agostino Bassi. Este micro-organismo é considerado generalista, encontrado com frequência sobre insetos e amostras de solo, e patogênico a diferentes ordens de insetos, como Lepidoptera, Coleoptera e Hemiptera (ALVES, 1998; BIDOCHKA; KASPERSKI; WILD, 1998; MEYLING; EINLENBERG, 2006; MEYLING; EINLENBERG, 2007; ZIMMERMANN, 2007). Este entomopatógeno pertence à ordem Hypocreales e à família Clavicipitaceae (FERNANDES et al., 2006), conhecido como o fungo da “muscardine branca”, devido sua coloração, que pode variar do branco até o amarelo claro (ALVES, 1998).

A importância deste fungo no controle microbiano de insetos vem desde o início da história da patologia, através de observações realizadas em criação de *B. mori*, utilizado atualmente como uma estratégia comercial para o controle biológico de importantes pragas da agricultura e de insetos vetores de doenças de animais (ALVES, 1998; FAN; KRUEER; KEYHANI, 2011). A ocorrência natural de *B. bassiana* foi documentada em mais de 700 espécies de hospedeiros, com estudos voltados principalmente às pragas agrícolas, mas também com um crescente quanto as pesquisas com predadores e parasitoides (INGLIS et al., 2001; MEYLING, EILENBERG, 2006).

Metarhizium anisopliae

O primeiro estudo baseado no controle microbiano de pragas com o uso de fungos entomopatogênicos foi realizado com *M. anisopliae* visando ao controle de larvas de determinada espécie de curculionídeo, uma importante praga da beterraba. A pesquisa foi conduzida pelo zoologista e patologista Ilya Metchnikoff, no ano de 1879 (ALVES, 1998). Esta espécie pertence à ordem Moniliales e à família Moniliaceae, com relatos de ocorrência em mais de 300 espécies de insetos (ZIMMERMANN, 1993; ALVES, 1998).

Diferentes isolados deste entomopatógeno podem ser facilmente obtidos em amostras de solos de diferentes regiões do mundo (VÄNNINEN, 1996; BIDOCHKA et al., 1998; KELLER; KESSLER; SCHWEIZER, 2003; ROCHA et al., 2013), cada qual com características peculiares quanto a especificidade e virulência, além de particularidades morfológicas e de crescimento (ALVES, 1998), características que foram responsáveis pela recente revisão da taxonomia do gênero *Metarhizium* (BISCHOFF et al., 2009).

A patologia básica do referido micro-organismo nos insetos pode ser caracterizada pelo endurecimento de todo corpo do artrópode, associado a uma cobertura pulverulenta de conídios, sendo que, no final da conidiogênese, o cadáver pode apresentar coloração verde, com tom claro ou escuro, ou ainda esbranquiçado com pontuações esverdeadas, conhecida como “muscardine verde” (ALVES, 1998).

A descoberta de que este fungo também pode ser encontrado em associação com a rizosfera de diversas espécies de plantas, local onde pode atuar como agente de controle biológico de pragas, além de garantir a sua sobrevivência, como forma de persistência, despertou ainda mais o interesse comercial sobre o uso deste entomopatógeno como bioinseticida (HU; ST. LEGER, 2002; BRUCK, 2005; BAIS, 2006; ST. LEGER, 2008).

Este micro-organismo entomopatogênico apresenta um metabolismo extremamente versátil, pois cresce em diversas condições ambientais, além de sintetizar compostos letais para outros fungos, como forma de competição pelo substrato alimentar (ROBERTS; ST. LEGER, 2004). Embora o número de hospedeiros de *M. anisopliae* seja muito elevado, alguns isolados podem apresentar grande especificidade, o que garante vantagens quanto ao controle populacional de determinada praga agrícola, não comprometendo organismos considerados não-alvo (SCHRANKA; VAINSTEIN, 2010).

Metarhizium rileyi

O fungo entomopatogênico *M. rileyi* foi originalmente descrito como *Botrytis rileyi* (Farlow) e mais tarde como *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles, sendo posteriormente redefinido por Kish et al. (1974) para o gênero *Nomuraea*. Entretanto, Kepler et al. (2014) reclassificaram este entomopatógeno como *M. rileyi*. Este micro-organismo é um fungo entomopatogênico dimórfico, com crescimento em meio de cultura caracterizado por um estágio inicial leveduriforme (semelhante à cultura de bactéria), o qual vagarosamente vai se transformando em micélio, sendo que, ao contrário dos entomopatógenos generalistas, como *B. bassiana* e *M. anisopliae*, tem comportamento especialista, infectando muitas vezes apenas espécies de lepidópteros, principalmente da família Noctuidae (ALVES, 1998; SUWANNAKUT; BOUCIAS; WIWAT, 2005). Porém, este entomopatógeno já foi observado em mais de 32 espécies de insetos, das ordens Coleoptera, Lepidoptera e Orthoptera (ALVES, 1998).

O referido fungo entomopatogênico apresenta elevada exigência nutricional, ausente de características saprofíticas (BOUCIAS et al., 2000). Em todo o mundo,

este micro-organismo tem a capacidade de ocasionar epizootias em populações das principais pragas agrícolas, sendo identificadas mais de 30 espécies de lepidópteros suscetíveis a *M. rileyi* (IGNOFFO, 1981; SUJII; CARVALHO; TIGANO, 2002). Em condições ambientais adequadas, este entomopatógeno é capaz de reduzir significativamente a densidade populacional de algumas espécies de pragas da família Noctuidae, com relatos desta elevada eficiência observada nos Estados Unidos, México, Equador, Brasil, Argentina, Índia e Austrália (CARNER, 1980; CORRÊA; SMITH, 1975; FARIA; TIGANO-MILANI; LECUONA, 1993; DEVI et al., 2003). Em alguns sistemas agrícolas de regiões subtropicais e temperadas, este micro-organismo pode ocasionar mortalidade superior a 90% em insetos pragas (BOUCIAS et al., 2000).

No Brasil, este agente de controle biológico foi responsável por reduzir naturalmente a densidade populacional de lagartas de *A. gemmatalis* na cultura da soja, principalmente na década de 70, com relatos de mortalidade entre 83 e 94% (CÔRREA; SMITH, 1975; GALILEO; GASTAL; HEINRICHS, 1977; HOFFMANN; NEWMAN; FOERSTER, 1979). Além de *A. gemmatalis*, este fungo entomopatogênico também foi responsável por ocasionar elevada mortalidade sobre *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do algodão, com um controle em campo entre 50 a 60% (ALVES; NAKANO; NAKAYAMA, 1978).

***Isaria* sp. e *Lecanicillium* sp.**

Conhecida anteriormente como *Paecilomyces* sp., o gênero *Isaria* é um grupo de micro-organismos de ampla distribuição geográfica, composto por muitas espécies patogênicas a diferentes ordens de insetos, e pode ser facilmente isolado de amostras de solo (SAMSON, 1974; TIGANO-MILANI et al., 1993; GAMS et al., 2005). As principais espécies entomopatogênicas são *I. fumosorosea*, *I. farinosa*, *I. sinclairii*, *I. tenuipes* e *I. amoenerosus*, relacionados a doença de insetos chamada “muscardine amarela” (ALVES, 1998). No Brasil, muitas espécies deste gênero já foram constatadas sobre lepidópteros, coleópteros, hemípteros e ortópteros (ALVES, 1998; SPECHT et al., 2009).

O gênero *Lecanicillium*, anteriormente conhecido como *Verticillium* (ZARE; GAMS, 2001), é representado principalmente pelas espécies entomopatogênicas *L. lecanii*, *L. longisporum* e *L. muscarium*, sendo encontrado frequentemente em regiões tropicais e subtropicais, relatado sobre diferentes ordens de insetos, como Coleoptera, Diptera, Hymenoptera e Lepidoptera (GOPALAKRISHNAN, 1989; ALVES, 1998; ESCANDÓN-ARBOLAY; DÍAZ-VIRULICHE; CASTRO-LIZARO, 2013; FADAYIVATA; MORAVVEJ; KARINI, 2014; RIVAS et al., 2014). A presença de insetos doentes pode ser determinada visualmente em função do aparecimento de um halo branco ao redor da área atacada, com formato bem característico do conidióforo (estrutura de um furador), acrescido dos conídios do fungo (ALVES, 1998).

Na Inglaterra, o gênero *Lecanicillium* tem sido utilizado em condições de semi-campo para o controle de diferentes espécies de pulgões e também mosca-branca, além de formas imaturas e adultos de tripes. No Brasil, espécies deste gênero são observadas naturalmente causando epizootias em cochonilhas de citrus, mas principalmente em *Coccus viridis* (Green) (Hemiptera: Coccidae), na cultura do café (ALVES, 1998).

Controle biológico de *P. xylostella* com fungos entomopatogênicos

Dentre os diferentes gêneros e espécies de fungos entomopatogênicos descritos atualmente, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *M. rileyi*, *Isaria* sp., *Lecanicillium* sp., *Zoophthora radicans* (Brefelt) Batko, *Fusarium* sp., *Pandora* sp., *Erynia* sp., *Conidiobolus* sp. e *Scopulariopsis* sp. já foram isolados de *P. xylostella* (GOPALAKRISHNAN, 1989; VANDENBERG et al., 1998; SILVA et al., 2003; CHERRY et al., 2004; KIRK et al., 2004; THULER; DE BORTOLI; BARBOSA, 2007; GODONOU et al., 2009; XU; ALI; HUANG, 2011; MÉNDEZ, 2012; MORAES; FOERSTER, 2012; ZHANG et al., 2013).

A utilização de *B. bassiana* visando ao controle de lagartas de *P. xylostella* tem se mostrado altamente eficiente para o controle desta praga (WRAIGHT et al., 2010), com relatos de 100% de controle entre três a sete dias da pulverização na concentração de 3×10^6 conídios/mL (FURLONG, 2004). A elevada mortalidade de

lagartas de terceiro ínstar da traça-das-crucíferas também foi observada por Correa-Cuadros, Rodríguez-Bocanegra e Sáenz-Aponte (2014), com a utilização de *B. bassiana* na concentração de 10^5 conídios/cm².

Entretanto, Batta et al. (2010) conseguiram controle de 100% de lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella* apenas com a aplicação de *B. bassiana* na concentração de 10^9 conídios/mL. De acordo com Anaisie, Eziah e Owusu (2011), o fungo entomopatogênico *B. bassiana* na concentração de 10^9 conídios/mL causou mortalidade acima de 80% em lagartas de *P. xylostella*. Para lagartas de segundo ínstar, Silva et al. (2003) observaram mortalidade superior a 80% a partir da concentração de 10^8 conídios/mL, sendo que, entre as concentrações de 10^5 e 10^6 conídios/mL, a mortalidade variou entre 28 e 60%. Rondelli et al. (2013) também observaram baixa mortalidade (60%) de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* quando expostas a *B. bassiana* na concentração de 5×10^6 conídios/mL.

Silva et al. (2003) observaram mortalidade entre 70 e 96% em lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, após um período de oito dias da pulverização de *M. anisopliae* na concentração de 10^8 conídios/mL, com destaque aos isolados IPA-207 e ESALQ E9, que foram considerados mais virulentos do que isolados de *B. bassiana*. Entretanto, o isolado ESALQ E9, na concentração de 10^7 conídios/mL, ocasionou mortalidade inferior a 45% em lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella* (SANTOS JÚNIOR et al., 2006). Resultados não satisfatórios do controle de lagartas de terceiro ínstar com *M. anisopliae* também foram observados por Godonou et al. (2009), cuja mortalidade foi inferior a 25%.

Isolados de *M. anisopliae*, pulverizados na concentração de 10^7 conídios/mL, em condições de laboratório, causaram mortalidade entre 79 e 88% de lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella*. Este resultado foi muito semelhante à mortalidade entre 73 e 81% observada em casa de vegetação. Entretanto, valores inferiores a 30% de mortalidade foram obtidos em campo, o que demonstrou a influência de agentes bióticos e abióticos na eficiência deste entomopatógeno (LOC; CHI, 2007).

Pesquisa realizada por Altre, Vandenberg e Cantone (1999), com oito isolados do fungo entomopatogênico *I. fumosorosea*, constatou baixa mortalidade de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, entre 2 e 50%. Alguns fatores como a reduzida velocidade de germinação e capacidade de adesão, aliado a pequena

dimensão do conídio podem explicar estes resultados pouco promissores. Entretanto, o isolado 1576 de *I. fumosorosea* foi patogênico a lagartas de *P. xylostella*, causando mortalidade de 39%, somente quando estas ficaram sem alimento antes da aplicação do fungo (ALTRE; VANDENBERG, 2001).

O controle de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* com o fungo entomopatogênico *I. fumosorosea* também foi analisado por Huang et al. (2010), com estimativa da concentração de $2,33 \times 10^9$ conídios/mL para reduzir em 95% a população da praga. A utilização de altas concentrações do referido micro-organismo entomopatogênico visando ao controle de lagartas de segundo ínstar também foram relatadas em pesquisa realizada por Maketon, Orosz-Coghlan e Jaengarun (2008), em que, a pulverização do isolado CKPF-095 a $1,25 \times 10^{13}$ conídios/ha apresentou resultados semelhantes quando comparados com a aplicação da bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* à concentração de 10^{11} esporos/ha.

Os melhores resultados frente à redução populacional de lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella* foram obtidos com a utilização do isolado PF01-N4 de *I. fumosorosea*, na concentração de 10^7 conídios/mL, com mortalidade próxima a 70%. Concentrações inferiores do fungo entomopatogênico, indiferente do período de avaliação, evidenciaram resultados pouco promissores, com valores abaixo de 55% frente a redução populacional da praga (XU; ALI; HUANG, 2011).

O micro-organismo *M. rileyi*, também considerado patogênico a *P. xylostella*, causou mortalidade entre 30 e 65% em lagartas de segundo ínstar nas concentrações de 10^4 e 10^8 conídios/mL, respectivamente (JUN, 2000). Em pesquisa de campo, Méndez (2012) comprovou que as aplicações do referido entomopatógeno devem ser realizadas a cada sete dias, visando à elevada eficiência na redução populacional da traça-das-crucíferas e também rentabilidade econômica ao produtor. Outros fungos entomopatogênicos, como *L. lecanii* e *Z. radicans*, podem representar importante papel como agentes de controle microbiano de lagartas de *P. xylostella*, e ocasionar mortalidade total nos primeiros ínstares larvais (OOI, 1981; GOPALAKRISHNAN, 1989).

Compatibilidade entre micro-organismos entomopatogênicos e agrotóxicos

B. thuringiensis

As avaliações de compatibilidade entre os agrotóxicos e os micro-organismos entomopatogênicos podem ser classificadas como negativas, neutras ou positivas (MORRIS, 1975; HABIB; GARCIA, 1981; KUZMANOVA, 1981; SEELENA; LEE; CHIANG, 1999). Os resultados negativos da compatibilidade de *B. thuringiensis* com diferentes ingredientes ativos da classe dos inseticidas podem estar intimamente relacionados com a diminuição na capacidade de infecção, baixa taxa reprodutiva, inibição do crescimento e esporulação, e mutações genéticas (ALVES; MOINO JÚNIOR; ALMEIDA, 1998; MANACHINI, 2002).

A sensibilidade de *B. thuringiensis* aos agrotóxicos, 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 aditivos concentrados, conhecidos como adjuvantes (DOUGHERTY; REICHELDERFER; FAUST, 1970; MORRIS; ARMSTRONG, 1975; MORRIS et al., 1977; BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001; MANACHINI, 2002; FADARE; AMUSA, 2003; PINTO et al., 2012).

Dentre os ingredientes ativos da classe dos inseticidas, endossulfam, profenofós + lufenurum e malationa foram capazes de impedir o desenvolvimento satisfatório *in vitro* de *B. thuringiensis* (ALMEIDA et al., 2003; BATISTA FILHO et al., 2003; PINTO et al., 2012), evidenciando a elevada sensibilidade deste micro-organismo a uma gama de compostos químicos sintéticos de determinada toxicidade. Alves, Moino Júnior e Almeida (1998) salientaram que a elevada toxicidade de um determinado produto comercial testado em laboratório nem sempre demonstra similaridade no campo, mas possibilita inferir sobre a ocorrência de problemas futuros.

O melhor desempenho de *B. thuringiensis* quando em contato com os agrotóxicos pode apresentar relação para com a capacidade de alguns micro-organismos do gênero *Bacillus* em degradarem os compostos presentes no produto

químico, visando o próprio desenvolvimento (RACHE; COATS, 1988; DAS et al., 1995; DAS et al., 2003). Em vista disso, a integração de um inseticida com o referido entomopatógeno poderá propiciar maior eficiência no controle de determinada praga quando comparado à adoção de apenas um único método de controle (HARDMAN; GAUL, 1990; VALENTINE; GURR; THWAITE, 1996).

Produtos comerciais à base de *B. thuringiensis* associados ao ingrediente ativo espiromesifeno apresentaram resultados positivos quanto à compatibilidade, visando ao controle de *Heliothis virescens* F. (Lepidoptera: Noctuidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) na cultura do algodão (AGOSTINI et al., 2014). Estas evidências correspondem ao efeito sinérgico entre estes compostos químicos (MANACHINI, 2002), sendo também observada por Batista Filho et al. (2001), que relataram o efeito sinérgico entre o inseticida fipronil e a referida bactéria entomopatogênica.

O mesmo foi relatado por Hardman e Gaul (1990), que obtiveram elevada eficiência no controle de *Operophtera brumata* L. (Lepidoptera: Geometridae) e de ácaros da cultura da maçã com a associação de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e ingredientes ativos do grupo químico dos piretroides, principalmente cipermetrina. Os inseticidas do grupo químico dos organofosforados e carbamatos também foram sinérgicos com a esporulação e desenvolvimento de *B. thuringiensis* (CHEN et al., 1974; MORRIS, 1977; DAS et al., 2003). Resultados positivos relacionados à compatibilidade de *B. thuringiensis* também foram observados com os inseticidas classificados como reguladores de crescimento (VALENTINE et al., 1996).

Fungos entomopatogênicos

Os fungos entomopatogênicos também estão entre os inimigos naturais que podem sofrer influência da aplicação de agrotóxicos, entretanto, devido à grande variabilidade genética e intensa capacidade de multiplicação, as pesquisas estão evoluindo no sentido de descobrir e analisar linhagens compatíveis a estas moléculas químicas (GUINII; KIMATI, 2000).

A compatibilidade entre os ingredientes ativos acetamiprido, imidacloprido e tiametoxam, enquadrados no grupo químico dos neonicotinóides, para com as

principais espécies de fungos entomopatogênicos, evidenciou resultados muito promissores quanto ao emprego conjunto destes visando ao controle de pragas (Tabela 2), fatores relacionados à baixa toxicidade das moléculas químicas para com os micro-organismos, mas também pela possível capacidade dos entomopatógenos em degradarem estes compostos visando seu desenvolvimento e reprodução (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001; NEVES et al., 2001; CAVALCANTI et al., 2002; ALMEIDA et al., 2003; OLIVEIRA; NEVES; KAWAZOE, 2003; ANDALÓ et al., 2004; CUTHBERTSON; WALTERS; DEPPE, 2005; GASSEN et al., 2008; WENZEL et al., 2008; BOTELHO; MONTEIRO, 2011; SCHUMACHER; POEHLING, 2012; CINTRA et al., 2013; GONZÁLEZ; NICAÑO; MUIÑO, 2013; SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2013; NIASSY et al., 2014).

Muitas pesquisas também apresentaram resultados positivos entre o uso conjunto do ingrediente ativo azadiractina, caracterizada como um tetranortriterpenoide, com os fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *M. anisopliae* (Tabela 2), considerada uma molécula química compatível com estes micro-organismos (DEPIERI; MARTINEZ; MENEZES JÚNIOR, 2005; SANTOS et al., 2009; ISLAM; CASTLE; REN, 2010; PIRES et al., 2010; ISLAM et al., 2011; HERNÁNDEZ et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012; ROCHA et al., 2012).

Em relação ao grupo químico dos organofosforados, as pesquisas evidenciaram muitos casos de compatibilidade entre os fungos entomopatogênicos e os diferentes ingredientes ativos, mas também muitos relatos relacionados à incompatibilidade (Tabela 2), o que pode caracterizar diferenças frente à metodologia empregada, e também dosagens dos agrotóxicos utilizados (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001; TANZINI; ALVES; SETTEN, 2002; GASSEN et al., 2008; WENZEL et al., 2008; ANHALT et al., 2010; ARCHANA; RAMASWAMY, 2012; PINTO et al., 2012; CINTRA et al., 2013; SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2013; BERNAL; ÁLVAREZ; MOGOLLÓN, 2014; NIASSY et al., 2014).

A incompatibilidade dos agrotóxicos para com as espécies de fungos entomopatogênicos foi observada principalmente para com os ingredientes ativos relacionados ao grupo dos piretroides (Tabela 2), o que demonstra o elevado grau de toxicidade destas moléculas químicas em relação à sobrevivência destes micro-organismos (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001; CAVALCANTI et al., 2002;

TANZINI; ALVES; SETTEN, 2002; OLIVEIRA; NEVES; KAWAZOE, 2003; SILVA et al., 2006; ARCHANA; RAMASWAMY, 2012; NIASSY et al., 2014).

Desta forma, testes laboratoriais de compatibilidade entre agrotóxicos e entomopatógenos podem ser considerados a primeira etapa para analisar todos os possíveis efeitos para com o desenvolvimento e reprodução destes microorganismos, auxiliando na escolha de inseticidas seletivos frente a estes agentes de controle biológico, que podem apresentar ocorrência natural ou serem aplicados em associação com estes agrotóxicos (ALVES; LOPES, 2008).

Tabela 2. Compatibilidade de ingredientes ativos da classe dos inseticidas e espécies de fungos entomopatogênicos.

Ingrediente ativo	Grupo Químico	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>I. fumosorosea</i>	<i>S. insectorum</i>	<i>L. lecanii</i>	<i>L. muscarium</i>	<i>M. rileyi</i>
clorfenapir	análogo de pirazol	-	C ⁽³⁴⁾ ; I ⁽³⁴⁾	-	-	-	-	-
abamectina	avermectina	C ⁽²⁶⁾	C ^(14,26,34) ; I ⁽³⁴⁾	C ⁽²⁶⁾	-	C ⁽⁹⁾	-	-
flufenoxurom	benzoiluréia	C ⁽³²⁾	-	-	-	-	-	-
lufenurom	benzoiluréia	-	-	I ⁽¹⁾	-	I ⁽¹⁸⁾	-	-
amitraz	bis(arilformamidina)	-	C ⁽¹⁹⁾	-	-	-	-	-
espiromesifeno	cetoenol	-	MT ⁽¹⁴⁾	-	-	-	C ⁽⁷⁾	-
endossulfam	ciclodienoclorado	I ^(15,23,24,25)	I ^(23,25)	-	I ⁽²⁵⁾	I ^(22,23)	-	-
tebufenozida	diacilhidrazina	-	C ⁽³⁾	-	-	-	-	-
piriproxifem	éter piridiloxipropílico	MT ⁽¹⁶⁾	-	-	-	-	-	-
espinosade	espinosinas	-	C ⁽³⁴⁾	-	-	-	-	-
diafentiurom	feniltiouréia	C ⁽²⁵⁾	MT ⁽²⁵⁾ ; I ⁽²⁵⁾	-	I ⁽²⁵⁾	-	-	-
carbofurano	metilcarbamato de benzofuranila	C ⁽²⁾	-	-	-	-	-	-
carbosulfano	metilcarbamato de benzofuranila	C ⁽²¹⁾ ; I ⁽²⁵⁾	C ⁽²¹⁾ ; I ^(21,25)	I ⁽²¹⁾	C ^(21,25)	C ⁽²¹⁾	-	-
metiocarbe	metilcarbamato de fenila	-	-	-	-	C ⁽²²⁾	-	-
aldicarb	metilcarbamato de oxima	I ⁽²⁷⁾	I ^(5,27)	-	-	-	-	-
metomil	metilcarbamato de oxima	-	-	-	-	C ⁽²²⁾ ; MT ⁽³⁵⁾	-	-
acetamiprido	neonicotinóide	C ^(13, 30) ; MT ⁽³⁰⁾ ; I ⁽³⁰⁾	C ⁽¹³⁾ ; T ⁽¹³⁾	-	-	-	-	-
imidacloprid	neonicotinóide	C ^(2,4,13,30) ; MT ^(16,25,30) ; I ⁽³⁰⁾	C ^(13,14,19) ; MT ⁽²⁵⁾ ; I ⁽²⁵⁾	I ⁽¹⁾	C ⁽²⁵⁾	C ^(9,18,22)	C ⁽⁶⁾	-
tiametoxam	neonicotinóide	C ^(2,4,13,15,23,25,27) ; MT ^(16,23)	C ^(5,13,14,20,23,25,27)	C ⁽²⁵⁾ ; I ⁽¹⁾	C ⁽²⁵⁾	C ^(22,23,25) ; I ⁽¹⁸⁾	-	C ⁽²⁵⁾

Continua...

Ingrediente activo	Grupo Químico	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>I. fumosorosea</i>	<i>S. insectorum</i>	<i>L. lecanii</i>	<i>L. muscarium</i>	<i>M. rileyi</i>
acefato	organofosforado	C ^(25,30) ; MT ⁽³⁰⁾ ; I ⁽³⁰⁾	MT ⁽²⁵⁾ ; I ⁽²⁵⁾	-	C ⁽²⁵⁾	C ⁽²²⁾	-	-
clorpirifós	organofosforado	-	I ^(3,14)	I ⁽³¹⁾	-	-	-	-
diazinona	organofosforado	-	I ⁽¹⁴⁾	-	-	-	-	C ⁽²⁴⁾
fenitrotiona	organofosforado	C ⁽³⁰⁾ ; MT ⁽³⁰⁾	I ⁽³⁾	-	-	MT ⁽³⁵⁾	-	-
malationa	organofosforado	I ⁽¹⁶⁾	-	I ^(1,31)	-	I ⁽¹⁸⁾	-	-
metamidofós	organofosforado	C ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾ ; MT ⁽²⁰⁾ ; I ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾ ; I ⁽⁹⁾	-	-
metidationa	organofosforado	-	I ⁽³⁾	-	-	-	-	-
monocrotofós	organofosforado	C ⁽²¹⁾ ; I ⁽²⁵⁾	MT ⁽²¹⁾ ; I ^(21,25)	C ⁽²¹⁾	C ^(21,25) ; I ⁽²⁵⁾	C ^(21,22)	-	-
terbufós	organofosforado	-	I ⁽⁵⁾	-	-	-	-	-
triazofós	organofosforado	I ⁽¹⁵⁾	-	-	-	-	-	-
triclorfom	organofosforado	C ⁽³⁰⁾ ; MT ⁽³⁰⁾ ; I ^(21;30)	C ⁽²¹⁾ ; I ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾	MT ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾	-	-
indoxacarbe	oxadiazina	-	C ⁽³⁴⁾	-	-	-	-	-
fipronil	pirazol	MT ^(25,27) ; I ⁽²⁵⁾	C ^(19,27) ; MT ^(19,20,25) ; I ^(5,25)	-	C ⁽²⁵⁾	-	-	-
acrinatrina	piretroide	C ⁽²⁶⁾	C ⁽²⁶⁾	C ⁽²⁶⁾	-	-	-	-
alfa-cipermetrina	piretroide	MT ⁽¹⁵⁾	-	-	-	-	-	-
ciflutrina	piretroide	C ⁽¹⁵⁾ ; I ⁽¹⁵⁾	-	-	-	-	-	-
cipermetrina	piretroide	I ⁽²⁸⁾	I ⁽²⁰⁾	-	-	C ⁽³⁵⁾	-	-
deltametrina	piretroide	I ^(15,25)	C ⁽²⁵⁾ ; MT ⁽²⁵⁾	I ⁽³¹⁾	I ⁽²⁵⁾	I ⁽²¹⁾	-	-
esfenvalerato	piretroide	MT ⁽¹⁶⁾	-	-	-	-	-	-
fempropatrina	piretroide	I ^(4,15)	-	-	-	-	-	-

Continua...

Ingrediente ativo	Grupo Químico	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>	<i>I. fumosorosea</i>	<i>S. insectorum</i>	<i>L. lecanii</i>	<i>L. muscarium</i>	<i>M. rileyi</i>
lambda-cialotrina	piretroide	I ⁽²¹⁾	C ⁽²⁰⁾ ; MT ⁽²¹⁾ ; I ^(14,21)	MT ⁽²¹⁾	I ⁽²¹⁾	C ⁽²¹⁾	-	-
permetrina	piretroide	-	C ⁽¹⁹⁾	I ⁽³¹⁾	-	C ⁽³⁵⁾	-	-
azadiractina	tetranortriterpenóide	C ^(8,10,11,17,32,33) ; MT ^(8,16,17,33) ; I ⁽⁸⁾	C ^(29,34) ; I ^(14,34)	MT ⁽¹²⁾	-	-	-	-
buprofezina	tiadinazinona	-	-	I ⁽¹⁾	-	I ⁽¹⁸⁾	-	-
ciromazina	triazinamida	-	-	-	-	C ⁽²²⁾	-	-

C= Compatível; MT= Moderadamente Tóxico; I= Incompatível.

(1) Bernal, Álvarez e Mogollón (2014); (2) Andaló et al. (2004); (3) Anhalt et al. (2010); (4) Cavalcanti et al. (2002); (5) Cintra et al. (2013); (6) Cuthbertson, Walters e Deppe (2005); (7) Cuthbertson et al. (2008); (8) Depieri, Martinez e Menezes Júnior (2005); (9) González, Nicao e Muiño (2013); (10) Islam, Castle e Ren (2010); (11) Islam et al. (2011); (12) James (2003); (13) Neves et al. (2001); (14) Niassy et al. (2014); (15) Oliveira, Neves e Kawazoe (2003); (16) Pinto et al. (2012); (17) Rocha et al. (2012); (18) Santos et al. (2013); (19) Schumacher e Poehling (2012); (20) Silva et al. (2013); (21) Tanzini, Alves e Setten (2002); (22) Wenzel et al. (2008); (23) Almeida et al. (2003); (24) Batista Filho et al. (2003); (25) Batista Filho, Almeida e Lamas (2001); (26) Oliveira et al. (2002); (27) Botelho e Monteiro (2011); (28) Silva et al. (2006); (29) Santos et al. (2009); (30) Gassen et al. (2008); (31) Archana e Ramaswamy (2012); (32) Hernández et al. (2012); (33) Ribeiro et al. (2012); (34) Pires et al. (2010); (35) Khalil, Shah e Naeem (1985).

Referências

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

AGRIANUAL. **Agriannual 2014**: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Informa Economics FNP, 2014. 305-307.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. Biodiversidade para o controle de pragas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 20, p. 30-33, 2001.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; DA COSTA, E. A. D. Efeito de adjuvantes em associação com tiamethoxam 250WG e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no controle da cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* Stal (Hemiptera: Cercopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 135-140, 2007.

ALMEIDA J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; OLIVEIRA, F. C.; RAGA A. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi and nematode on medfly *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **BioAssay**, Piracicaba, v. 2, n. 7, p.1-7, 2007.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; LAMAS, C.; LEITE, L. G.; TRAMA, M.; SANO, A. H. Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 1, p. 79-84, 2003.

ALTRE, J. A.; VANDENBERG, J. D. Factors influencing the infectivity of isolates of *Paecilomyces fumosoroseus* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 78, p. 31-36, 2001.

ALTRE, J. A.; VANDENBERG, J. D.; CANTONE, F. A. Pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* isolates to diamondback moth, *Plutella xylostella*: correlation with spore size, germination speed, and attachment to cuticle. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 73, p. 332-338, 1999.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.

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

ALVES, S. B.; NAKANO, O.; NAKAYAMA, K. *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, eficiente patógeno de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802). **Ecosystema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 3, p. 77, 1978.

ALVES, S. B.; LOPES, R. B.; VIEIRA, S. A.; TAMAI, M. A. Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 69-110.

AMMOUNEH, H.; HARBA, M.; IDRIS, E.; MAKEE, H. Isolation and characterization of native *Bacillus thuringiensis* isolates from Syrian soil and testing of their insecticidal activities against some insect pests. **Turkish Journal of Agriculture & Forestry**, Ankara, v. 35, p. 421-431, 2011.

ANAISIE, P.; EZIAH, V.; OWUSU, E. The potential of indigenous entomopathogenic fungi for the management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) in Ghana. **Journal of Biochemistry and Bioinformatics**, San Bernardino, v. 1, n. 10, p. 275-281, 2011.

ANDALÓ, V.; MOINO JÚNIOR, A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, G. C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 463-467, 2004.

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

ANHALT, F. A.; AZEVEDO, J. L.; SUGAYAMA, R. L.; SPECHT, A.; BARROS, N. M. Potential of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Ascomycetes, hypocreales) in the control of *Bonagota salubricola* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae) and its compatibility with chemical insecticides. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v.70, n. 4, p. 931-936, 2010.

ANJUM, N. A.; GILL, S. S.; AHMAD, I.; PACHECO, M.; DUARTE, A. C.; UMAR, S.; KHAN, N. A.; PEREIRA, M. E. The plant family Brassicaceae: An introduction. In: ANJUM, N. A.; AHMAD, I.; PEREIRA, M. E.; DUARTE, A. C.; UMAR, S.; KHAN, N. A. (Eds.). **The plant family Brassicaceae**. London: Springer, 2012, p. 1-33.

APAYDIN, Ö; YENIDÜNIA, A. F.; HARSA, S.; GÜNES, H. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from different grain habitats in Turkey. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, New York, v. 21, p. 285-292, 2005.

ARCHANA, M. R.; RAMASWAMY, K. Interactive effect of entomopathogenic fungi *Paecilomyces fumosoroseus* with few organophosphate and pyrethroid pesticides: an in vitro study. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, Jaipur, v. 2, n. 2, p. 10-17, 2012.

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

ATTIQUE, M. N. R.; KHALIQ, A.; SAYYED, A. H. Cold resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? **Journal of Applied Entomology**, Hoboken, v. 130, n. 2, p. 122-127, 2006.

BACCI, L.; PICANÇO, M. C.; DA SILVA, E. M.; MARTINS, J. C.; CHEDIAK, M.; SENA, M. E. Seletividade fisiológica de inseticidas aos inimigos naturais de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em brássicas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 2045-2051, 2009.

BAIG, D. N.; MEHNAZ, S. Determination and distribution of cry-type genes in halophilic *Bacillus thuringiensis* isolates of Arabian Sea sedimentary rocks. **Microbiological Research**, Jena, v. 165, p. 376-383, 2010.

BAIS, H. P.; WEIR, T. L.; PERRY, L. G.; GILROY, S.; VIVANCO, J. M. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 57, p. 233–266, 2006.

BALASUBRAMANIAN, P.; JAYAKUMAR, R.; SHAMBHARKAR, P.; UNNAMALAI, N.; PANDIAN, S. K.; KUMARASWAMI, N. S.; ILANGOVA, R.; SEKAR, N. S. Cloning and characterization of the crystal protein-encoding gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 1, p. 408-411, 2002.

BARROS, R.; ALBERT JÚNIOR, I. B.; OLIVEIRA, A. J.; SOUZA, A. C. F.; LOGES, V. Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera; Plutellidae) em repolho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, p. 463-469, 1993.

BASSAND, D.; CARPY, S. Absence of beta-exotoxin in Thuricide preparations. **Expertientia**, v. 33, p. 1545, 1977.

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

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

BATTA, Y.; RAHMAN, M.; POWIS, K.; BAKER, G.; SCHMIDT, O. Investigations into the development in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L., Yponomeutidae: Lepidoptera) to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bal.) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and the toxin Dipel® of *Bacillus thuringiensis*. **Trends in Entomology**, v. 6, p. 15-21, 2010.

BEEGLE, C. C.; YAMAMOTO, T. History of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. **Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 124, n. 4, p. 587-616, 1992.

BERLINER E. Über die Schlafsucht der Mehlmottenraupe, **Zeitschrift ges. Getreidew**, v. 3, p. 63–70, 1911.

BERLINER, E. Eber die schlafsucht der Mehlmottenraupe. (*Ephesia kuehniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis*, n. sp. **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, v. 2, p. 29-56, 1915.

BERNAL, E. P. G.; ÁLVAREZ, M. I. G.; MOGOLLÓN, M. V. Z. Compatibilidad in vitro de *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown y Smith (Hypocreales: Clavicipitaceae) con plaguicidas comerciales. **Acta Agronómica**, Palmira, v. 63, n. 1, p. 48-54, 2014.

BHALLA, R.; DALAL, M.; PANGULURI, S. K.; JAGADISH, B.; MANDAOKAR, A. D.; SINGH, A. K.; KUMAR, P. A. Isolation, characterization and expression of a novel vegetative insecticidal protein gene of *Bacillus thuringiensis*. **FEMS Microbiology Letters**, Hoboken, v. 243, n. 2, p. 467-472, 2005.

BIDOCHKA, M. J.; KASPERSKI, J. E.; WILD, G. A. M. Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and near-northern habitats. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 76, p. 1198–1204, 1998.

BISCHOFF, JOSEPH F., STEPHEN A. REHNER, AND RICHARD A. HUMBER. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, Lawrence, v. 101, n. 4, p. 512-530, 2009.

BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 2, p. 361-369, 2011.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. Attachment of mycopathogens to cuticle. In: COLE, G. T.; HOCH, H. C. (Eds.). **The fungal spore and disease initiation in plant and animals**. New York: Plenum Press, 1991. p. 101-127.

BOUCIAS, D. G.; STOKES, C.; SUAZO, A.; FUNDERBUCK, J. AFLP analysis of the entomopathogen *Nomuraea rileyi*. **Mycologia**, Ottawa, v. 92, p. 638–648, 2000.

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

BRAVO, A., JANSENS, S.; PEFFEROEN, M. Immunocytochemical localization of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins in intoxicated insects. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 60, p. 237-246, 1992.

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

BRAVO, A.; GÓMEZ, I.; CONDE, J.; MUNÓZ-GARAY, C.; SÁNCHEZ, J.; MIRANDA, R.; ZHUANG, M.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1667, p. 38–46, 2004.

BRUCK, D. J. Ecology of *Metarhizium anisopliae* in soilless potting media and the rhizosphere: implications for pest management. **Biological Control**, San Diego, v. 32, p. 155–163, 2005.

BRYANT, A.; COUDRON, T.; BRAINARD, D.; SZENDREI, Z. Cover crop mulches influence biological control of the imported cabbageworm (*Pieris rapae* L., Lepidoptera: Pieridae) in cabbage. **Biological Control**, San Diego, v. 73, p. 75-83, 2014.

BURGES, H. D. Teratogenicity of the thermostable beta-exotoxins of *Bacillus thuringiensis* in *Galleria mellonella*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 26, p. 419-420, 1975.

BURGES, H. D.; THOMSON, E. M.; LATCHFORD, R. A. Importance of spores and beta endotoxin protein crystal of *Bacillus thuringiensis* in *Galleria mellonella*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 27, p. 87-94, 1976.

CARAZO, E. R.; CARTIN, V. M. L.; MONGE, A. V.; LOBO, J. A. S.; ARAYA, L. R. Resistencia de *Plutella xylostella* a deltametrina, metamidofós y cartap em Costa Rica. **Manejo Integrado de Plagas**, Turrialba, v. 53, p. 52-57, 1999.

CARDOSO, M. O. Avaliação de repolhos de verão na várzea do estado do Amazonas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 17, n. 1, p. 51-53, 1999.

CARDOSO, M. O.; BERNI, R. F.; KRUG, C.; ANTONIO, I. C. **Danos por *Plutella xylostella* em couve-de-folhas jovem afetados pela altura e pelo nitrogênio**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2012. 19 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 16).

CARNER, G. R. Sampling pathogens of soybean insect pests. In: KOGAN, M.; HERZOG, D. C. (Eds.). **Sampling methods in soybean entomology**. New York: Springer-Verlag, 1980 p. 559-574.

CASTELO BRANCO, M.; GUIMARÃES, A. L. Controle das traças das crucíferas em repolho. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v.10, n. 1, p. 24-25.1990.

CASTELO BRANCO, M.; MELO, C. A. Resistência a abamectin e cartap em populações de traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 20, n. 4, p. 541-543, 2002.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BOAS, G. L. **Traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997. 4 p. (Comunicado Técnico, 4).

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e da traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 19, n. 1, p. 60-63, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; PONTES, L. A.; AMARAL, P. S. T. Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.

CAVALCANTI, R. S.; MOINO JÚNIOR, A.; SOUZA, G. C.; ARNOSTI, A. Efeito dos produtos fitossanitários fenpropatrina, imidaclopride, iprodione e tiametoxam sobre o desenvolvimento do fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 3, p. 17-22, 2002.

CELESTINO, FILHO, P.; MAGALHÃES, F. E. L. **Ocorrência do fungo *Sporothrix insectorum* Hoog & Evans, parasitando a mosca-de-renda (*Leptopharsa heveae* Drake & Poor) em seringal de cultivo**. Manaus: Embrapa-CNPAP, 1986. 2 p.

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

CHAPMAN, J. W.; REYNOLDS, D. R.; SMITH, A. D.; RILEY, J. R.; PEDGLEY, D. E.; WOIWOD, I. P. High altitude migration of the diamondback moth *Plutella xylostella* to the UK: a study using radar, aerial netting, and ground trapping. **Ecological Entomology**, Hoboken, v. 27, p. 641–650, 2002.

CHARNLEY, A. K.; ST. LEGER, R. J. The role of cuticle-degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. In: COLE, G. T.; HOCH, H. C. (Eds.). **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum, 1991. p. 267-286.

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

CHERRY, A. J.; MERCADIER, G.; MEIKLE, W.; CASTELO-BLANCO, M.; SCHROER, S. The role of entomopathogens in DBM biological control. In: KIRK, A. A.; BORDAT, D. (Eds.). **Improving biocontrol of *Plutella xylostella***. Montpellier: Proceedings of the International Symposium, 2004. p. 51-70.

CINAR, C.; APAYDIN, O.; YENIDUNYA, A. F.; HARSA, S.; GUNES, H. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from olive related habitats in Turkey. **Journal of Applied Microbiology**, Hoboken, v. 104, p. 515–525, 2008.

CINTRA, E. R. R.; LOUREIRO, E. S.; ALMEIDA, J. E. M.; GASSEN, M. H.; BATISTA FILHO, A.; WENZEL, I. M.; HOJO, H. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* à cigarra do café *Fidicinoides pronoe* (Hemiptera: Cicadidae) e sua compatibilidade com agrotóxicos utilizados na cultura do cafeeiro. **Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 1, p. 63-70, 2013.

COPPING, L. G.; MENN, J. J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 56, p. 651-676, 2000.

CORRÊA, B. S; SMITH, J. G. *Nomuraea rileyi* attacking the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hubner, in Paraná. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 58, p. 280, 1975.

CORREA-CUADROS, J. P.; RODRÍGUEZ-BOCANEGRA, M. X.; SÁENZ-APONTE, A. Susceptibility of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae; Linnaeus 1758) to *Beauveria bassiana* Bb9205, *Metarhizium anisopliae* Ma9236 and *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100. **Universitas Scientiarum**, Bogotá, v. 19, n. 3, p. 277-285, 2014.

COULSON, S. J.; HODKINSON, I. D.; WEBB, N. R.; MIKKOLA, K.; HARRISON, J. A.; PEDGLEY, D. E. Aerial colonization of high Arctic islands by invertebrates: the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) as a potential indicator species. **Diversity and Distributions**, Hoboken, v. 8, p. 327–334, 2002.

CPL BUSINESS CONSULTANTS. **Biopesticides worldwide market 2013**. Oxfordshire: CAB International Centre, 2013. 88 p.

CPL BUSINESS CONSULTANTS. **The 2010 worldwide biopesticides market summary**. Oxfordshire: CAB International Centre, 2010. 39 p.

CREMA, A.; CASTELO BRANCO, M. Impacto da temperatura e fotoperíodo no desenvolvimento ovariano e oviposição da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 22, n. 2, p. 305-308, 2004.

CRICKMORE, N.; BAUM, J.; BRAVO, A.; LERECLUS, D.; NARVA, K.; SAMPSON, K.; SCHNEPF, E.; SUN, M.; ZEIGLER, D. R. **Bacillus thuringiensis toxin nomenclature**. 2014. Disponível em: <http://www.btnomenclature.info/>

CUTHBERTSON, A. G. S.; WALTERS, K. F. A.; DEPPE, C. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for eradication of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. **Mycopathologia**, North Liberty, v. 160, p. 35-41, 2005.

CUTHBERTSON, A. G. S.; BLACKBURN, L. F.; NORTHING, P.; LUO, W.; CANNON, R. J. C.; WALTERS, K. F. A. Further compatibility tests of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* with conventional insecticide products for control of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* on poinsettia plants. **Insect Science**, Hoboken, v. 15, p. 355-360, 2008.

CZEPAK, C.; FERNANDES, P. M.; SANTANA, H. G.; TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, C. L. Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 129-131, 2005.

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

DAS, A. C.; CHAKRAVARTY, A.; SUKUL, P.; MUKHERJEE, D. Insecticides: their effect on microorganisms and persistence in rice soil. **Microbiological Research**, Jena, v. 150, n. 2, p. 187-194, 1995.

DE BORTOLI, S. A.; THULER, R. T.; LOPES, B. S. Efeito de lufenuron e azadiractina sobre adultos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 53-58, 2006.

DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; DUARTE, R. T. *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. (Eds.). **Weed and pest control – conventional and new challenges**. Croatia: InTech, 2013. p. 31-52.

DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; GOULART, R. M.; SANTOS, R. F.; VOLPE, H. X. L.; FERRAUDO, A. S. Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas para diferentes brassicáceas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 187-192, 2011.

DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; MAGALHÃES, G. O.; DIBELLI, W.; DE BORTOLI, C. P.; ALVES, M. P. Subdosagens de *Bacillus thuringiensis* em *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 2, p. 50-57, 2012.

DELAFIELD, F. P.; SOMERVILLE, H. J.; RITTENBERG, S. C. Immunological homology between crystal and spore protein of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 96, p. 713-720, 1968.

DEPIERI, R. A.; MARTINEZ, S. S.; MENEZES JÚNIOR, A. O. Compatibility of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 601-606, 2005.

DEVI, P. V.; PRASAD, Y. G.; CHOWDARY, D. A.; RAO, L. M.; BALAKRISHNAN, K. Identification of virulent isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F.) Samson for the management of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*. **Mycopathologia**, North Liberty, v. 156; n. 4, p. 365-373, 2003.

DIAS, D. G. S.; SOARES, C. M. S.; MONNERAT, R. G. Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 553-556, 2004.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; VASCONCELOS, A. C. M.; FERREIRA, J. M. G.; GARCIA JÚNIOR, C. A.; COELHO, A. L.; GIL, M. A. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 743-749, 2004.

DOUGHERTY, E. M.; REICHELDERFER, C. F.; FAUST, R. M. Sensitivity of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* to various insecticides and herbicides. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 17, n. 2, p. 292-293, 1970.

DU, C.; MARTIN, P. A. W.; NICKERSON, K. W. Comparison of disulfide contents and solubility at alkaline pH of insecticidal and noninsecticidal *Bacillus thuringiensis* protein crystals. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, p. 3847-3853, 1994.

DULMAGE, H. D. Insecticidal activity of HD1, a new isolate of *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*, **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 15, p. 232-239, 1970.

ECOLE, C.C.; ANJOS, N.; MICHEREFF FILHO, M.; PICANÇO, M. C. Determinação do número de ínstares larvais em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 21, n. 2, p. 331-335, 1999.

ENDERSBY, N. M.; RIDLAND, P. M.; HOFFMANN, A. A. The effects of local selection versus dispersal on insecticide resistance patterns: longitudinal evidence from diamondback moth (*Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)) in Australia evolving resistance to pyrethroids. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 98, n. 2, p. 145-157, 2008.

ENDERSBY, N. M.; VIDUKA, K.; BAXTER, S. W.; SAW, J.; HECKEL, D. G.; McKECHNIE, S.W. Widespread pyrethroid resistance in Australian diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), is related to multiple mutations in the *para* sodium

channel gene. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge v. 101, p. 393-405, 2011.

ENTWISTLE, P. F.; CORY, J. S.; BAILEY, M. J.; HIGGS, S. ***Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice**. Chichester: John Wiley & Sons, 1993. 330 p.

ESCANDÓN-ARBOLAY, M. C.; DÍAZ-VIRULICHE, L.; CASTRO-LIZARO, I. *Lecanicillium lecanii* (Zare and Gams) parasiting larvae of *Agraulis vanillae insularis* Maynard. **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v. 28, p. 78, 2013.

ESTRUCH, J. J.; WARREN, G. W.; MULLINS, M. A.; NYE, G. J.; CRAIG, J. A.; KOZIEL, M. G. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. **Proceedings of National Academy of Science**, Boston, v. 93, p. 5389–5394, 1996.

FADARE, T. A.; AMUSA, N. A. Comparative efficacy of microbial and chemical insecticides on four major lepidopterous pests of cotton and their (insect) natural enemies. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 2, n. 11, p. 425-428, 2003.

FADAYIVATA, S.; MORAVVEJ, G.; KARIMI, J. Pathogenicity of the fungus *Lecanicillium longisporum* against *Sipha maydis* and *Metopolophium dirhodum* in laboratory conditions. **Journal of Plant Protection Research**, Poznan, v. 54, n. 1, p. 67-73, 2014.

FAN, Y.; KRUER, S. N.; KEYHANI, N. O. High-throughput insertion mutagenesis and functional screening in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 106, p. 274-279, 2011.

FARIA, M. R.; TIGANO-MILANI, M. S; LECUONA, R. E. Incidência natural de *Nomuraea rileyi* Farlow em população de *Anticarsia gemmatalis* Hübner no Distrito Federal. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, p. 385-388, 1993.

FARKAS, J.; SEBESTA, K.; HORSKA, K.; SAMEK, Z.; DOLIJS, J.; SORM, F. The structure of exotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *gelechiae*. **Collection of Czechoslovak Chemical Communications**, Praga, v. 34, p. 1118–1120, 1969.

FAST, P. G.; MARTINS, W. G. *Bacillus thuringiensis* parasporal crystal toxin: dissociation into toxic low molecular weight peptides. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 95, p. 1314-1320, 1980.

FEITELSON, J. The *Bacillus thuringiensis* family tree. In: KIM, L. (Ed.). **Advanced engineered pesticides**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 63–72.

FERNANDES, E. K. K.; FERNANDES, E. K. K.; COSTA, G. L.; MORAES, A. M. L.; ZAHNER, V.; BITTENCOURT, V. R. E. P. Study on morphology, pathogenicity, and genetic variability of *Beauveria bassiana* isolates obtained from *Boophilus microplus* tick. **Parasitology Research**, New York, v. 98, n. 4, p. 324-332, 2006.

FERRONATTO, E. M. O. **Abundância de larvas e pupas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em *Brassica oleraceae* L. var. *acephala* D. C., mortalidade causada por parasitoides e biologia de *Tetrastichus sokolowskii* Kurdjmov, 1912 (Hymenoptera: Eulophidae)**. 1984. 215 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1984.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012. p. 279-280.

FRANÇA, F. H.; CORDEIRO, C. M. T.; GIORDANO, L. B.; RESENDE, A. M. Controle da traça das crucíferas em repolho, 1984. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 3, p. 47-53, 1985.

van FRANKENHUYZEN, K. Applications of *Bacillus thuringiensis* in forestry. In: CHARLES, J. F.; DELÉCLUSE A.; NIELSEN-LEROUX C. (Eds.). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 371–382.

van FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 101, p. 1-16, 2009.

FREITAS LUZ, F. J.; SABOYA, R. C. C.; SILVA PEREIRA, P. R. V. **O cultivo do repolho em Roraima**. Boa Vista: Embrapa, 2002, 17 p. (Circular Técnica).

FURLONG, M. J. Infection by the immature stages of *Diadegma semiclausum*, an endolarval parasitoid of the diamondback moth by *Beauveria bassiana*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 85, p. 52-55, 2004.

GALILEO, M. H. M.; GASTAL, H. A. O.; HEINRICHS, E. A. Ocorrência do fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, de taquinídeos e himenópteros parasitas em *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Plusia* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) criada em laboratório. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 50, p. 51-59, 1977.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 920 p.

GAMS, W.; HODGE, K. T.; SAMSON, R. A.; KORF, R. P.; SEIFERT, K. A. Proposal to conserve the name *Isaria* (anamorphic fungi) with a conserved type. **Taxon**, Bratislava, v. 54, n. 2, p. 537, 2005.

GASSEN, M. H.; BATISTA FILHO, A.; ZAPPELINI, L. O.; WENZEL, I. M. Efeito de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 327-342, 2008.

GEORGHIOU, G.; LAGUNES-TEJADA, A. **The occurrence of resistance to pesticides in arthropods. An index of cases reported through 1989**. Rome: FAO, 1991. 318 p.

GILL, M.; ELLAR, D. Transgenic *Drosophila* reveals a functional in vivo receptor for the *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac1. **Insect Molecular Biology**, Hoboken, v. 11, p. 619–625, 2002.

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

GODONOU, I.; JAMES, B.; ATCHA-AHOWE, C.; VODOUHE, S.; KOOYAMAN, C.; AHANCHEDE, A.; KORIE, S. Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 220-224, 2009.

GONG, Y. J.; WANG, C. L.; YANG, Y. H.; WU, S. W.; WU, Y. D. Characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in *Plutella xylostella* from China. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 104, p. 90-96, 2010.

GONZÁLEZ, L. C.; NICAÑO, M. E. L.; MUIÑO, B. L. Compatibilidad de cuatro plaguicidas de diferentes grupos químicos con *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) Zare & Gams. **Revista de Protección Vegetal**, Mayabeque, v. 28, n. 3, p. 199-203, 2013.

GOPALAKRISHNAN, C. Susceptibility of cabbage diamondback moth *Plutella xylostella* L. to the entomofungal pathogen *Verticillium lecanii* (Zimmerm) Viegas. **Current Science**, Bangalore v. 58, p.1256-1257, 1989.

GOULART, R. M.; VOLPE, H. X. L.; VACARI, A. M.; THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A. Insecticide selectivity to two species of *Trichogramma* in three different hosts, as determined by IOBC/WPRS methodology. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 68, p. 240-244, 2012.

GREEN, M. B.; HARTLEY, G. S.; WEST, T. F. **Chemicals for crop protection and pest control**. Oxford: Pergamon, 1977. 291 p.

GRZYWACZ, D.; ROSSBACH, A.; RAUF, A.; RUSSELL, D.; SRINIVASAN, R.; SHELTON, A. M. Current control methods for diamondback moth and prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetables brássicas in Asia and Africa. **Crop Protection**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 68-79, 2010.

GUAN, P.; DAI, X.; ZHU, J.; LI, Q.; LI, S.; WANG, S.; LI, P.; ZHENG, A. *Bacillus thuringiensis* subsp. *sichuansis* strain MC28 produces a novel crystal protein activity against *Culex quinquefasciatus* larvae. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v. 30, p. 1417-1421, 2014.

GUINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78 p.

GUPTA, J. C. Okra, a new host of diamondback moth. **FAO Plant Protection Bulletin**, Roma, v. 19, p. 89-90, 1971.

GUPTA, B. L.; DOW, J. A. T.; HALL, T. A.; HARVEY, W. R. Electron probe X-ray microanalysis of the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* crystal protein insecticide on ions in an electrogenic K⁺-transporting epithelium of the larval midgut

in the lepidopteran, *Manduca sexta*, *in vitro*. **Journal of Cell Science**, Cambs, v. 74, p. 137-152, 1985.

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

HABIB, M. E. M.; ANDRADE, C. F. S. Controle microbiano de insetos com o uso de bactérias. **Informe Agropecuário**, v. 15, n. 167, p. 21-26, 1991.

HABIB, M. E. M.; GARCIA, M. A. Compatibility and synergism between *Bacillus thuringiensis* (Kurstaki) and two chemical insecticides. **Journal of Applied Entomology**, Hoboken, v. 91, n. 1, p. 7-14, 1981.

HAJEK, A. E.; EASTBURN, C. C. Attachment and germination of *Entomophaga maimaiga* conidia on host and non-host larval cuticle. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 82, p. 12-22, 2003.

HAJEK, A. E.; ST. LEGER, R. J. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 293-322, 1994.

HAJEK, A. B.; CARRUTHERS, R. I.; SOPER, R. S. Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthoraceae), a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). **Environmental Entomology**, Annapolis, v. 19, p. 85-90, 1990.

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

HANSEN, B. M.; SALAMITOU, S. Virulence of *Bacillus thuringiensis*. In: CHARLES, J. F.; DELECLUSE, A.; NIELSEN-LE ROUX, C. (Ed). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 41-44.

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

HARDY, J. E. *Plutella maculipennis*, Curt., its natural and biological control in England. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 29, n. 4, p. 343-372, 1938.

HEIMPEL, A. M. A taxonomic key for crystalliferous bacteria relates to *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 9, p. 364-375, 1967.

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

HERNÁNDEZ, M. M.; MARTÍNEZ-VILLAR, E.; PEACE, C.; PÉREZ-MORENO, I.; MARCO, V. Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with flufenoxuron and azadirachtin against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 58, p. 395-405, 2012.

HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; VAN RIE, J.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Insecticidal activity of Vip3Aa, Vip3Ad, Vip3Ae, and Vip3Af from *Bacillus thuringiensis* against lepidopteran corn pests. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 113, p. 78-81, 2013.

HERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, P.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; KRISHNAN, V.; CRICKMORE, N.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J. Lack of Cry1Fa binding to the midgut brush border membrane in a resistant colony of *Plutella xylostella* moths with a mutation in the ABCC2 locus. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 78, n. 18, p. 6759-6761, 2012.

HOFFMANN, C. B. L.; NEWMAN, G. C.; FOERTER, L. A. Incidência estacional de doenças e parasitas em populações naturais de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Plusia* spp. em soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 8, p. 115-124, 1979.

HOFMANN, C.; LÜTHY, P.; HÜTTER, R.; PLISKA, V. Binding of the delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush-border membrane vesicles of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). **European Journal of Biochemistry**, Oxon, v. 173, p. 85-91, 1988.

HOLDER, D. J.; KEYHANI, N. O. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 9, p. 5260-5266, 2005.

HONDA, K. I.; MIYAHARA, Y.; KEGASAWA, K. Seasonal abundance and the possibility of spring immigration of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Yponomeutidae), in Morioka City, northern Japan. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 27, p. 517–525, 1992.

HONG, C. P.; KWON, S. J.; KIM, J. S.; YANG, T. J.; PARK, B. S.; LIM, Y. P. Progress in understanding and sequence the genome of *Brassica rapa*. **International Journal of Plant Genomics**, New York, v. 2008, 2008.

HU, G.; ST. LEGER, J. Field studies using a recombinant mycoinsecticide (*Metarhizium anisopliae*) reveal that it is rhizosphere competent. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, p. 6383–6387, 2002.

HUANG, D.; ZHANG, J.; SONG, F.; LANG, Z. Microbial control and biotechnology research on *Bacillus thuringiensis* in China. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 95, n. 3, p. 175-180, 2007.

HUANG, Z.; ALI, S.; REN, S-X.; WU, J-H. Effect of *Isaria fumosorosea* on mortality and fecundity of *Bemisia tabaci* and *Plutella xylostella*. **Insect Science**, Hoboken, v. 17, p. 140-148, 2010.

HUSZ B. Field experiments on the application of *Bacillus thuringiensis* against the corn borer. **International Corn Borer Investment Science Reports**, v. 3, p. 91–98, 1930.

HWANG, I. C.; PARK, C.; KANG, D. K.; JIN, N. Y.; JUNG, S. Y.; SEO, M. J.; KIM, J. E.; YOUN, Y. N.; YU, Y. M. Combined application of *Trichogramma ostrinae* and *Bacillus thuringiensis* for eco-friendly control of *Plutella xylostella*. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, Seoul, v. 53, p. 316-322, 2010.

IGNOFFO, C. M. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In BURGERS, H. D. (Ed.). **Microbial control of pests and plant diseases: 1970-1980**. London: Academic Press, 1981. p. 513-538.

IMENES, S. D. L.; DE CAMPOS, T. B. ; RODRIGUES NETTO, S. M.; BERGMANN, E. C. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 81-84, 2002.

INGLIS, G. D.; GOETTEL, M. S.; BUTT, T. M.; STRASSER, H. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: BUTT, T. M.; JACKSON, C.; MAGAN, N. (Eds.). **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential**. Wallingford: CABI Publishing, 2001. p. 23–69.

ISHIWATA S. On a kind of severe flacherie (sotto disease) (No. 1), **Dainihon Sanshi Kaiho**, v. 114, p. 1–5, 1901.

ISLAM, M. T.; CASTLE, S. J.; REN, S. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Hoboken, v. 134, p. 28-34, 2010.

ISLAM, M. T.; OMAR, D.; LATIF, M. A.; MORSHED, M. M. The integrated use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with botanical insecticide, neem against *Bemisia tabaci* on eggplant. **African Journal of Microbiology Research**, Lagos, v. 5, n. 21, p. 3409-3413, 2011.

JAMES, R. R. Combinig Azadirachtin and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to control *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 96, n. 1, p. 25-30, 2003.

JAYAKUMAR, S.; KAUR, S. Occurrence of *cry* genes in *Bacillus thuringiensis* (Bt) isolates recovered from ptyloplanes of crops growing in the New Delhi regions of India and toxicity towards diamond-back moth (*Plutella xylostella*). **Journal of Biological Sciences**, Macau, v. 13, n. 6, p.463-473, 2013.

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

JOHNSON, D. R. *Plutella maculipennis* resistance to DDT in Java. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 46, p. 176, 1953.

JOHNSTON, J. S.; PEPPER, A. E.; HALL, A. E.; CHEN, Z. J.; HODNETT, G.; DRABEK, J.; LOPEZ, R.; PRICE, H. J. Evolution of genome size in Brassicaceae. **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 229-235, 2005.

JUN, M. A. Laboratory susceptibility of *Plutella xylostella* to *Metarhizium anisopliae* and *Nomuraea rileyi*. **Entomologia Sinica**, Beijing, v. 7, n. 1, p. 53-57, 2000.

JUNQUEIRA, N. T. V.; PINHEIRO, E.; ALVES, R. T.; CELESTINO FILHO, P.; PEREIRA, A. V.; OLIVEIRA, M. A. S.; FIALHO, J. F.; GASPAROTTO, L. **Controle biológico do percevejo-de-renda (*Leptopharsa heveae* Drake & Poor) em seringais de cultivo**. Andradina: Embrapa Cerrados, 1999. 30 p.

KAHAN, A. E.; RICCI, E. M. Fertilidad, tablas de vida y supervivencia de *Brevicoryne brassicae* L (Homoptera: Aphidoidea) sobre distintas variedades comerciales de repollo (*Brassica oleraceae* var. *capitata* L.). **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, Madri, v. 27, n. 3, p. 389-394, 2001.

KELLER, S.; KESSLER, P.; SCHWEIZER, C. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium anisopliae*. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 48, p. 307–319, 2003.

KEPLER, R. M.; HUMBER, R. A.; BISCHOFF, J. F.; REHNER, S. A. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics. **Mycologia**, Ottawa, v. 106, p. 464-480, 2014.

KFIR, R. Origin of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Annapolis, v. 91, n. 2, p. 164–167, 1998.

KHALIL, S. K.; SHAH, M. A.; NAEEM, M. Laboratory studies on the compatibility of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* with certain pesticides. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 13, p. 329-334, 1985.

KHAN, M. F. R.; GRIFFIN, R. P.; CARNER, G. R.; GORSUCH, C. S. Susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from collard fields in South Carolina to *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, v. 22, n. 1, p. 19-26, 2005.

KIM, K.; KIM, H.; PARK, Y-U.; KIM, G-H.; KIM, Y. An integrated biological control using an endoparasitoid wasp (*Cotesia plutellae*) and a microbial insecticide (*Bacillus thuringiensis*) against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Korean Journal of Applied Entomology**, v. 52, p. 35-43, 2013.

KIM, Y. T.; HUANG, P. The beta-exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. I. Isolation. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 15, p. 100-108, 1970.

KIRK, A. A.; MERCADIER, G.; BORDAT, D.; DELVARE, G.; PICHON, A.; ARVANITAKIS, L.; GOUDÉGNON, A. E.; RINCON, C. Variability in *Plutella* and its natural enemies: implications for biological control. In: ENDERSBY, N. M.; RIDLAND, P. M. (Eds.). **The management of diamondback moth and other crucifer pests**. Melbourne: Proceedings of the Fourth International Workshop, 2004. p. 71-77.

KISH, L. P.; SAMSON, R. A.; ALLEN, G. E. The genus *Nomuraea* Maublanc. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 24, p.154–158, 1974.

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

KOCH, M.; HAUBOLD, B.; MITCHELL-OLDS, T. Molecular systematics of the Brassicaceae: evidence from coding plastidic *matK* and nuclear *Chs* sequences. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 88, p. 534-544, 2001.

KONECKA, E.; KAZNOWSKI, A.; ZIEMNICKA, J.; ZIEMNICKI, K. Molecular and phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated during epizootics in *Cydia pomonella* L. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 94, p. 56–63, 2007.

KONECKA, E.; KAZNOWSKI, A.; ZIEMNICKA, J.; ZIEMNICKI, K.; PAETZ, H. Analysis of *cry* gene profiles in *Bacillus thuringiensis* strains isolated during epizootics in *Cydia pomonella* L. **Current Microbiology**, New York, v. 55, p. 217-222, 2007.

KUZMANOVA, I. Study on the compatibility of *Bacillus thuringiensis* Berliner with three organophosphours insecticides. **Gradinarska i Lozarska Nauka**, v. 18, p. 23-27, 1981.

LANDELL, M. G. A.; VASCONCELOS, A. C. **Grupo fitotécnico de cana-de-açúcar: atas das reuniões 1992/2003**. Ribeirão Preto: Grupo Fitotécnico, 2004. 400 p.

LEE, M. K.; MILES, P.; CHEN, J. S. Brush border membrane binding properties of *Bacillus thuringiensis* Vip3A toxin to *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* midguts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 339, p. 1043–1047, 2006.

LEE, M. K.; WALTERS, F. S.; HART, H.; PALEKAR, N.; CHEN, J. S. The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab δ -endotoxin. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, p. 4648–4657, 2003.

LEVINSON, B. L.; KASYAN, K. J.; CHIU, S. S.; CURRIER, S.; GONZÁLEZ, J. M. Jr. Identification of β -exotoxin production, plasmids encoding β -exotoxin and a new exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by using high-performance liquid chromatography. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 172, n. 6, p. 3172–3179, 1990.

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

LIU, S.; WANG, X.; GUO, S.; HE, J.; SHI, Z. Seasonal abundance of the parasitoid complex associated with the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in Hangzhou, China. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 90, p. 221–231, 2000.

LOC, N. T.; CHI, V. T. B. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Omonrice**, v. 15, p. 86-93, 2007.

LÖHR, B.; GATHU, R. Evidence of adaptation of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), to pea, *Pisum sativum* L. **Insect Science and its Application**. Cambridge, v. 22, p. 161–174, 2002.

LOUREIRO, E. S.; MOINO JÚNIOR, A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G. C. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 263-269, 2002.

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

MACHADO, L. A.; BATISTA FILHO, A. Criação da lagarta da soja – *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 – em dieta artificial para estudos com *Baculovirus anticarsia*. **Biológico**, Campinas, v. 53, p. 71-73, 1987.

MAC INNES, T. C.; BOUWER, G. An improved bioassay for the detection of *Bacillus thuringiensis* beta-exotoxin. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 101, p. 137-139, 2009.

MAKETON, M.; OROSZ-COGLAN, P.; JAENGARUN, J. Field evaluation of *Isaria fumosorosea* in controlling the diamondback moth (*Plutella xylostella*) in chinese kale. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 36, n. 3, p. 260-263, 2008.

MANACHINI, B. Compatibility of chemical and biological pesticides. In: PIMENTEL, D. **Encyclopedia of pest management**. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 134-137.

MAPA. **Agrofit**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 26 ago. 2014.

MARCHIORO, C. A.; FOERSTER, L. A. Development and survival of the diamond moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) as a function of temperature: effect on the number the generations in tropical and subtropical regions. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 5, p. 533-541, 2011.

MARCHIORO, C. A.; FOERSTER, L. A. Preference-performance linkage in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and implications for its management. **Journal of Insect Science**, Cary, v. 14, n. 85, p. 1-14, 2014.

MARICONI, F. A. M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. São Paulo: Ceres, 1963. 607 p.

MARQUES, E. J.; VILLAS BOAS, A. M.; PEREIRA, C. E. F. Orientações técnicas para a produção do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. em laboratórios setoriais. **Boletim Técnico Planalsucar**, v. 3, p. 5-23, 1981.

MARSH, H. O. Life history of *Plutella maculipennis*, the diamond-back moth. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 10, n. 1, p. 1-12, 1917.

MARTINS, E. S.; PRAÇA, L. B.; DUMAS, V. F.; SILVA-WERNECK, J. O.; SONE, E. H.; WAGA, I. C.; BERRY, C.; MONNERAT, R. G. Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates toxic to cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*). **Biological Control**, San Diego, v. 40, n. 1, p. 65-6, 2007.

MATA, R. F. F.; LOMONACO, C. Toxicity, deterrence and repellence of aqueous extracts of *Cabralea canjerana* ssp *polytricha* (Meliaceae) on *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera), the cabbage caterpillar. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 37, n. 2, p. 361-368, 2013.

McCLINTOCK, J. T.; SCHAFFER, C. R.; SJOBLAD, R. D. A comparative review of mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 45, n. 2, p. 95-105, 1995.

MEDEIROS, P. T.; SONE, E. H.; SOARES, C. M. S.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G. Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 24, n. 2, p. 245-248, 2006b.

MEDEIROS, P. T.; FERREIRA, M. N.; MARTINS, E. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1145-1148, 2006a.

MELO, P. E.; CASTELO BRANCO, M.; MADEIRA, N. R. Avaliação de genótipos de repolho para a resistência a traça das crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 12, n. 1, p. 19-24, 1994.

MÉNDEZ, A. Potencialidad de aislamientos autóctonos de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson para el control de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) y *Plutella xylostella* (L.). **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v. 27, n. 1, p. 67-67, 2012.

METALNIKOV, S.; CHORINE, V. On the infection of the gypsy moth and certain other insects with *Bacterium thuringiensis*. **International Corn Borer Investment Science Reports**, v. 2, p. 60–61, 1929.

METALNIKOV, S.; HERGULA, B.; STRAIL, D. M. Experiments on the application of bacteria against the corn borer. **International Corn Borer Investment Science Reports**, v. 3, p. 148–151, 1930.

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 43, p. 145-155, 2007.

MEYLING, N. V.; EILENBERG, J. Occurrence and distribution of soil borne entomopathogenic fungi within a single organic agroecosystem. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 113, p. 336–341, 2006.

MICHEREFF FILHO, M.; OLIVEIRA, S. O. D.; LIZ, R. S.; FARIA, M. Cage and field assessment of *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticides for *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) control in cabbage. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 4, p. 470-476, 2011.

MOHAN, M.; GUJAR, G. T. Local variation in susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) to insecticides and detoxification enzymes. **Crop Protection**, Oxon, v. 22, p. 495–504, 2003.

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

MONNERAT, R. G.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; BERTIOLI, D. J.; BUTT, T. M.; BORDAT, D. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 22, n. 3, p. 607-609, 2004.

MORAES, C. P.; FOERSTER, L. A. Toxicity and residual control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) with *Bacillus thuringiensis* Berliner and insecticides. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1335-1340, 2012.

MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. Produção de bactérias entomopatogênicas. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: Manole, 1986. p. 127-170.

MORIN, S.; BIGGS, R. W.; SISTERTON, M. S.; SHRIVER, L.; ELLERS-KIRK, C.; HIGGINSON, D.; HOLLEY, D.; GAHAN, L. J.; HECKEL, D. G.; CARRIÈRE, Y.; DENNEHY, T. J.; BROWN, J. K.; TABASHNIK, B. E. Three cadherin alleles associated with resistance to *Bacillus thuringiensis* in pink bollworm. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 100, p. 5004–5009, 2003.

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

MORRIS, O. N. Effect of some chemical insecticides on the germination and replication of commercial *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 26, n. 2, p. 199-204, 1975.

MORRIS, O. N.; ARMSTRONG, J. A. Preliminary field trials, with *Bacillus thuringiensis*. Chemical insecticide combinations in the integrated control of the spruce/budworm *Choristoneura fumiferana*. **The Canadian Entomologist**, New York, v. 107, n. 9, p. 1281-1288, 1975.

NAKAMURA, K.; OSHIE, K.; SHIMIZU, M.; TAKADA, Y. Construction of chimeric insecticidal proteins between the 130-kDa and 135-kDa proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* for analysis of structure-function relationship. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 54, n. 3, p. 715-724, 1990.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P. T.; MOINO JÚNIOR, A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 263-268, 2001.

NIASSY, S.; MANIANIA, N. K.; SUBRAMANIAN, S.; GITONGA, M. L.; MARANGA, R.; OBONYO, A. B.; EKESI, E. S. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* isolate ICIPE 69 with agrochemicals used in French bean production. **International Journal of Pest Management**, Oxon, v. 58, n. 2, p. 131-137, 2012.

OHSAWA, K. Efficacy of plant extracts for reducing larval populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) and cabbage

webworm, *Crociodolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), and evaluation of cabbage damage. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 36, n. 1, p. 143-149, 2001.

OLIVEIRA, A. C.; SIQUEIRA, H. A. A.; OLIVEIRA, J. V.; SILVA, J. E.; MICHEREFF FILHO, M. Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 2, p. 154-159, 2011.

OLIVEIRA, C. N.; NEVES, P. M. O. J.; KAWAZOE, L. S. Compatibility between the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 663-667, 2003.

OLIVEIRA, R. C.; NEVES, P. M. O. J.; GUZZO, E. C.; ALVES, V. S. Compatibilidade de fungos entomopatogênicos com agroquímicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 211-216, 2002.

OOI, P. A. C. Microbial control of the diamondback moth in Cameron Highlands, Malaysia. **Malaysian Applied Biology**, v. 10, p. 49-56, 1981.

OOI, P. A. C.; KALDERMAN, W. The biology of three common pests of cabbages in Cameron Highlands, Malaysia. **Malaysian Agricultural Journal**, Kuala Lumpur, v. 52, n. 1, p. 85-101, 1979.

PAIS, M.; BARJAC, H. Thermostable exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Carbohydrates, Nucleosides, Nucleotides**, New York, v. 1, p. 213-223, 1974.
WANG, Z.; CHEN, S. W.; RUAN, L. F.; SUN, M.; YU, Z. A fundamental regulatory role of format on thuringiensin production by resting cell of *Bacillus thuringiensis* YBT-032. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, New York, v. 30, p. 225-229, 2007.

PALMA, L.; ESCUDERO, I. R.; MAEZTU, M.; CABALLERO, P.; MUÑOZ, D. Screening of *vip* genes from a Spanish *Bacillus thuringiensis* collection and characterization of two Vip3 proteins highly toxic to five lepidopteran crop pests. **Biological Control**, San Diego, v. 66, p. 141-149, 2013.

PIGOTT, C. R.; ELLAR, D. J. Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 71, n. 2, p. 255-281, 2007.

PINTO, A. P. F.; BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J. E. M.; WENZEL, I. M. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* ao psilídeo *Diaphorina citri* e compatibilidade do fungo com produtos fitossanitários. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 12, p. 1673-1680, 2012.

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

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

POOPATHI, S.; THIRUGNANASAMBANTHAM, K.; MANI, C.; RAGUL, K.; SUNDARAPANDIAN, S. M. Isolation of mosquitocidal bacteria (*Bacillus thuringiensis*, *B. sphaericus* and *B. cereus*) from excreta of arid birds. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v. 52, p. 739-747, 2014.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 1, p. 11-16, 2004.

RACHE, K. D.; COATS, J. Comparative biodegradation of organophosphorus insecticides in soil: specificity of enhanced microbial micro degradation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, n. 1, p. 193-199, 1988.

REDDY, S. T.; KUMAR, N. S.; ESWERLU, G. V. Comparative analysis of intracellular proteases in sporulates *Bacillus thuringiensis* strains. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 20, n. 3, p. 279-281, 1998.

RENWICK, J. A. A.; RADKE, C. D. Plant constituents mediating oviposition by the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Phytophaga**, v. 3, p. 37-46, 1990.

RIBEIRO, R. P.; BLUME, E.; BOGORNÍ, P. C.; DEQUECH, S. T. B.; BRAND, S. C.; JUNGES, E. Compatibility of *Beauveria bassiana* commercial isolate with botanical

insecticides utilized in organic crops in southern Brazil. **Biological Agriculture & Horticulture**, Oxon, v. 28, n. 4, p. 223-240, 2012.

RIVAS, F.; NUNEZ, P.; JACKSON, T.; ALTIER, N. Effect of temperature and water activity on mycelia radial growth, conidial production and germination of *Lecanicillium* spp. isolates and virulence against *Trialeurodes vaporariorum* on tomato plants. **Biocontrol**, Dordrecht, v. 59, p. 99-109, 2014.

ROBERTS, D. W.; ST. LEGER, R. J. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 44, p. 1-70, 2004.

ROCHA, L. F. N.; INGLIS, P. W.; HUMBER, R. A.; KIPNIS, A.; LUZ, C. Occurrence of *Metarhizium* spp. in Central Brazilian soils. **Journal of Basic Microbiology**, Hoboken, v. 53, p. 251-259, 2013.

ROCHA, R. B.; MELO, E. A. S. F.; SANTOS, O. O.; BITTENCOURT, A. L. Compatibilidade e efeito de produtos comerciais à base de nim e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Metamasius hemipterus* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Magistra**, Cruz das Almas, v. 24, p. 39-51, 2012.

RONDELLI, V. M.; PRATISSOLI, D.; SANTOS JÚNIOR, H. J. G.; ZAGO, H. B.; MACHADO, L. C.; RODRIGUES, H. S.; VALBON, W. R. Insecticide activity of *Beauveria bassiana* and castor bean oil against *Plutella xylostella* under greenhouse. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1187-1193, 2013.

SAMPSON, M. N.; GOODAY, G. W. Involvement of chitinases of *Bacillus thuringiensis* during pathogenesis in insects. **Microbiology**, New York, v. 144, p. 2189-2194, 1998.

SAMPURNA, S.; MAITI, M. K. Molecular characterization of a novel vegetative insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis* effective against sap-sucking insect pest. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 21, p. 937-946, 2011.

SAMSON, R. A. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. **Studies in Mycology**, Utrecht, v. 6, p. 1-119, 1974.

SANCHIS, V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review. **Agronomy for sustainable development**, Paris, v. 31, p. 217-231, 2010.

SANTOS, A.; GRIJALBA, E.; ZULUAGA, M. V.; GÓMEZ, M.; VILLAMIZAR, L. Compatibilidad *in vitro* de un bioplaguicida a base de *Lecanicillium lecanii* (Hypocreales: Clavicipitaceae) con agroquímicos empleados en los cultivos de algodón y berenjena. **Revista Colombiana de Biotecnología**, Bogotá, 15, n. 2, p. 132-142, 2013.

SANTOS, A. B. S.; SILVA, T. F. B.; SANTOS, A. C.; PAIVA, L. M.; LIMA, E. A. L. Efeito fungitóxico do óleo de nim sobre *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 2, p. 17-22, 2009.

SANTOS, V. C.; SIQUEIRA, H. A. A.; SILVA, J. E.; FARIAS, M. J. D. C. Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 264-270, 2011.

SANTOS JÚNIOR, H. J. G.; MARQUES, E. J.; BARROS, R.; GONDIM JÚNIOR, G. C. Interação de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e o parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre larvas da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 241-245, 2006.

SARFRAZ, M.; KEDDIE, B. A. Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, Hoboken, v. 129, n. 3, p. 149-157, 2005.

SARFRAZ, M.; DOSDALL, L. M.; KEDDIE, B. A. Diamondback moth-host plant interactions: Implications for pest management. **Crop Protection**, Oxford, v. 25, n. 7, p. 625-639, 2006.

SARFRAZ, M.; DOSDALL, L. M., KEDDIE, B. A. Evidence for behavioural resistance by the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). **Journal of Applied Entomology**, Hoboken, v. 129, p. 340-341, 2005.

SAYYED, A. H.; ATTIQUE, M. N. R.; KHALIQ, A. Stability of field selected resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. **Journal of Applied Entomology**, Hoboken, v. 129, n. 9, p. 542-547, 2005.

SAYYED, A. H.; CRICKMORE, N.; WRIGHT, D. J. Cyt1Aa from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* is toxic to the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and synergizes the activity of Cry1Ac towards a resistant strain. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 12, p. 5859-5861, 2001.

SAYYED, A. H.; OMAR, D.; WRIGHT, D. J. Genetics of spinosad resistance in a multi-resistant field-selected population of *Plutella xylostella*. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 60, n. 8, p. 827-832, 2004.

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

SCHNEPF, H. E.; LEE, S.; DOJILLO, J.; BURMEISTER, P.; FENCIL, K.; MORERA, L.; NYGAARD, L.; NARVA, K. E.; WOLT, J. D. Characterization of Cry34/Cry35 binary insecticidal proteins from diverse *Bacillus thuringiensis* strain collections. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, p. 1765-1774, 2005.

SCHRANKA, A.; VAINSTEIN, M. H. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. **Toxicon**, Oxford, v. 56, p. 1267-1274, 2010.

SCHUMACHER, V.; POEHLING, H-M. *In vitro* effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. **Fungal Biology**, Oxon, v. 116, p. 121-132, 2012.

SELEENA, P.; LEE, H. L.; CHIANG, Y. F.; Compatibility of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* and chemical insecticides for the control of *Aedes* mosquitoes. **Journal of Vector Ecology**, Corona, v. 24, n. 2, p. 216-223, 1999.

SENA, J. A.; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C. S.; FERRÉ, J. Interaction of *Bacillus thuringiensis* Cry1 and Vip3A proteins with *Spodoptera frugiperda* midgut binding sites. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 75, p. 2236–2237, 2009.

SHELTON, A. M. Management of the diamondback moth: de' ja' vu all over again? In: ENDERSBY, N. M.; RIDLAND, P. M. (Ed.). **The management of diamondback moth and other crucifer pests**. Melbourne: Department of Natural Resources and Environment, 2004. p. 3–8.

SHELTON, A. M.; ANOALORO, J. T.; BARNARO, J. Effects of cabbage looper, imported cabbage worm and diamond back moth on fresh market and processing cabbage. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 75, n. 4, p. 742-745, 1982.

SHELTON, A. M.; ROUSH, R. T.; WANG, P.; ZHAO, J. Z. Resistance to insect pathogens and strategies to manage resistance: An update. In: LACEY, L.; KAYA, H. K. (Ed.). **Field manual of techniques in invertebrate pathology**. Netherlands: Springer, 2007. p. 793-811.

SHI, Y.; XU, W.; YUAN, M.; TANG, M.; CHEN, J.; PANG, Y. Expression of vip1/vip2 genes in *Escherichia coli* and *Bacillus thuringiensis* and the analysis of their signal peptides. **Journal of Applied Microbiology**, Hoboken, v. 97, p. 757–765, 2004.

SILVA, I. D. S.; NUNES, G. H. S.; LIMA, E. A. L. A.; ALVES, N. D.; FEIJÓ, F. M. C. Avaliação do fungo *Beauveria bassiana*, associado a mosquicida com método de controle biológico de dípteros de interesse médico veterinário sob condições de laboratório. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, Patos, v. 2, n. 1, p. 24-28, 2006.

SILVA, R. A.; QUINTELA, E. D.; MASCARIN, G. M.; BARRIGOSI, J. A. F.; LIÃO, L. M. Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 3, p. 152-160, 2013.

SILVA, V. C. A.; BARROS, R.; MARQUES, E. J.; TORRES, J. B. Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 653-658, 2003.

SILVA-WERNECK, J. O.; ELLAR, D. J. Characterization of a novel Cry9Bb δ -endotoxin from *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 98, p.320-328, 2008.

SOBERON, M.; FERNANDEZ, L. E.; PEREZ, C.; GILL, S. S.; BRAVO, A. Mode of action of mosquitoicidal *Bacillus thuringiensis* toxins. **Toxicon**, Oxford, v. 49, p. 597–600, 2007.

SOMERVILLE, H. J.; DELAFIELD, F. P.; RITTENBERG, S. C. Biochemical homology between crystal and spore protein of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 96, p. 721-726, 1968.

SOMWATCHARAJIT, R.; TIANTAD, I.; PANBANGRED, W. Coexpression of the silent cry2Ab27 together with cry1 genes in *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* SP41 leads to formation of amorphous crystal toxin and enhanced toxicity against *Helicoverpa armigera*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 116, p. 48-55, 2014.

SONODA, S.; IGAKI, C. Characterization of acephate resistance in the diamondback moth *Plutella xylostella*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 98, n. 1, p. 121-127, 2010.

SPECHT, A.; AZEVEDO, J. L.; LIMA, E. A. L. A.; BOLDO, J. T.; MARTINS, M. K.; LORINI, L. M.; BARROS, N. M. Ocorrência do fungo entomopatogênico *Isaria javanica* (Frieder. & Bally) Samson & Hywell-Jones (Fungi, Sordariomycetes) em lagartas de *Lonomia obliqua* Walker (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 53, n. 3, p. 493-494, 2009.

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

STEINHAUS E. A. Possible use of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an aid in the biological control of the alfalfa caterpillar. **Hilgardia**, v. 20, p. 359–381, 1951

ST. LEGER R. J. Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 98, p. 271–276, 2008.

SUJII, E.; CARVALHO, V.; TIGANO, E. Cinética da esporulação e viabilidade de conídios de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson sobre cadáveres da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera Noctuidae), em condições de campo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 85-90, 2002.

SUWABE, K.; TSUKAZAKI, H.; IKETANI, H.; HATAKEYAMA, K.; KONDO, M.; FUJIMURA, M.; NUNOME, T.; FUKUOKA, H.; HIRAI, M.; MATSUMOTO, S. Simple sequence repeat-based comparative genomics between *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*: The genetic origin of clubroot resistance. **Genetics**, Austin, v. 173, n. 1, p. 309-319, 2006.

SUWANNAKUT, S.; BOUCIAS, D. G.; WIWAT, C. Genotypic analysis of *Nomuraea rileyi* collected from various noctuid hosts. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 90, p. 169-176.

TABASHNIK, B. E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 47-79, 1994.

TABASHNIK, B. E.; JOHNSON, K. W.; ENGLEMAN, J. T.; BAUM, J. A. Cross-resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins Cry1Ja in a strain of diamondback moth adapted to artificial diet. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 76, p. 81-83, 2000.

TABASHNIK, B. E.; MALVAR, T.; LIU, Y. B.; FINSON, N.; BORTHAKUR, D.; SHIN, B. S.; PARK, S. H.; MASSON, L.; MAAGD, R. A.; BOSH, D. Cross-resistance of the diamondback moth indicates altered interactions with domain II of *Bacillus thuringiensis* toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 8, p. 2839-2844, 1996.

TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 38, p. 275-301, 1993.

TAN, F.; ZHENG, A.; ZHU, J.; WANG, L.; LI, S.; DENG, Q.; WANG, S.; LI, P.; TANG, X. Rapid cloning, identification, and application of one novel crystal protein gene *Cry30Fa1* from *Bacillus thuringiensis*. **FEMS Microbiology Letters**, Hoboken, v. 302, n. 1, p. 46-51, 2010.

TANG, B.; SUN, J.; ZHOU, X.; GAO, X.; LIANG, P. The stability and biochemical basis of fufenozide resistance in a laboratory-selected strain of *Plutella xylostella*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 101, p. 80-85, 2011.

TANG, J. D.; SHELTON, A. M.; VAN RIE, J.; DE ROECK, S.; MOAR, W. J.; ROUSH, R. T.; PEFEROEN, M. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* spore and crystal protein to

resistant diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 2, p. 564-569, 1996.

TANZINI, M. R.; ALVES, S. B.; SETTEN, A. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados no controle de *Leptopharsa heveae* para fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 4, p. 65-69, 2002.

TERRA, W.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109B, p. 1-62, 1994.

THIÉRY, I.; HAMON, S.; DELÉCLUSE, A.; ORDUZ, S. The introduction into *Bacillus sphaericus* of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *medellin* cyt1Ab1 gene results in higher susceptibility of resistant mosquito larva populations to *B. sphaericus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, n. 10, p. 3910-3916, 1998.

THULER, A. M. G.; THULER, R. T.; CÍCERO, E. S.; DE BORTOLI, S. A.; LEMOS, M. V. F. Estudo da variabilidade gênica em isolados brasileiros de *Bacillus thuringiensis* para emprego no controle biológico de *Plutella xylostella*. **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**, v. 33, p. 409-417, 2007.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; BARBOSA, J. C. Eficácia de inseticidas químicos e produtos vegetais visando ao controle de *Plutella xylostella*. **Científica**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 166-174, 2007.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; HOFFMAN-CAMPO, C. B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência da traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 467-474, 2007.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P.; PRATISSOLI, D. Interação tritrófica e influência de produtos químicos e vegetais no complexo: brássicas x traça-das-crucíferas x parasitóides de ovos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1154-1160, 2008.

TIBA, L. M. **Efeito de alguns inseticidas sobre a mariposa *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera, Plutellidae) por meio de iscas esterilizantes**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

TIGANO-MILANI, M. S.; FARIA, M. R.; MARTINS, I.; LECUONA, R. E. Ocorrência de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Paecylomyces* sp. em solos de diferentes regiões do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, p. 391-393, 1993.

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

TROCZKA, B.; ZIMMER, C. T.; ELIAS, J.; SCHORN, C.; BASS, C.; DAVIES, T. G. E.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; SLATER, R.; NAUEN, R. Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane-spanning domain of the ryanodine receptor. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 42, n. 11, p. 973-880, 2012.

VACARI, A. M. **Caracterização biológico-comportamental de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) predando *Plutella xylostella* (L. 1758)**. 2009. 102 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

VALENTINE, B. J.; GURR, G. M.; THWAITE, W. G. 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**, Victoria, v. 36, n. 4, p. 501-506, 1996.

VANDENBERG, J. D.; SHELTON, A. M.; WILSEY, W. T.; RAMOS, M. 1998. Assessment of *Beauveria bassiana* sprays for control of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on crucifers. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 91, p. 624-630, 1998.

VÄNNINEN, I. Distribution and occurrence of four entomopathogenic fungi in Finland: effect of geographical location, habitat type and soil type. **Mycological Research**, Oxon, v. 100, p. 93–101, 1996.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M. V. C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 11, p. 2391-2399, 2006.

VIANA, C. L. T. P.; DE BORTOLI, S. A.; THULER, R. T.; GOULART, R. M.; THULER, A. M. G.; LEMOS, M. V. F.; FERRAUDO, A. S. Efeito de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Científica**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 22-31, 2009.

WARREN, G. W. Vegetative insecticidal proteins: novel proteins for control of corn pests. In: CAROZZI, N. B.; KOZIEL, M. (Eds). **Advances in insect control, the role of transgenic plants**. London: Taylors & Francis Ltd, 1997. p. 109–121.

WENZEL, I. M.; BATISTA FILHO, A.; GASSEN, M. H.; ALMEIDA, A. M. B. Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* (Hyphomycetes), em condições de laboratório e estufa, aos agrotóxicos utilizados na cultura do crisântemo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 2, p. 157-166, 2008.

WRAIGHT, S. P.; RAMOS, M. E.; AVERY, P. B.; JARONSKI, S. T.; VANDENBERG, J. D. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* isolates against lepidopteran pests of vegetable crops. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 103, p. 186-199, 2010.

XU, D.; ALI, S.; HUANG, Z. Insecticidal activity influence of 20-Hydroxyecdysone on the pathogenicity of *Isaria fumosorosea* against *Plutella xylostella*. **Biological Control**, San Diego, v. 56, n. 3, p. 239-244, 2011.

YU, C. G.; MULLINS, M. A.; WARREN, G. W.; KOZIEL, M. G.; ESTRUCH, J. J. The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3 lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, p. 532–536, 1997.

YU, X.; ZHENG, A.; ZHU, J.; WANG, S.; WANG, L.; DENG, Q.; LI, S.; LIU, H.; LI, P. Characterization of vegetative insecticidal proteins *vip* genes of *Bacillus thuringiensis* from Sichuan Basis in China. **Current Microbiology**, New York, v. 62, p. 752-757, 2011.

ZAGO, H. B.; SIQUEIRA, H. A. A.; PEREIRA, E. J. G.; PICANCO, M. C.; BARROS, R. Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 70, p. 488-495, 2014.

ZARE, R. GAMS, W. A revision of *Verticillium* section Prostrata. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium*. **Nova Hedwigia**, Stuttgart, v. 73, n. 1-2, p. 1-50, 2001.

ZHANG, L.; QIU, S.; HUANG, T.; HUANG, Z.; XU, L.; WU, C.; GELBIC, I.; GUAN, X. Effect of chemical additives on *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 106, n. 3, p. 1075-1080, 2013.

ZHANG, S. Z.; HUANG, H.; SHAN, H. W.; ZHANG, F.; WAN, F. H.; LIU, T. X. Defense against *Pieris rapae* in cabbage plants induced by *Bemisia tabaci* biotype B. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Hoboken, v. 147, n. 3, p. 293-300, 2013.

ZHAO, J. Z.; COLLINS, H. L.; LI, Y. X.; MAU, R. F. L.; THOMPSON, G. D.; HERTLEIN, M.; ANDALORO, J. T.; BOYKIN, R.; SHELTON, A. M. Monitoring diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, v. 99, n. 1, p. 176-181, 2006.

ZHOU, J. W.; CHANG, Y. F.; XU, Z. H.; YU, Z. N.; CHEN, S. W. Production of thuringiensin by fed-batch culture of *Bacillus thuringiensis* subsp *darmstadiensis* 032 with an improved pH-control glucose feeding strategy. **Process Biochemistry**, Oxon, v. 42, p. 52-56, 2007.

ZHOU, L.; HUANG, J.; XU, H. Monitoring resistance of field populations of diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) to five insecticides in South China: a ten-year case study. **Crop Protection**, Oxforshire, v. 30, n. 3, p. 272-278, 2011.

ZIMMERMANN, G. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. **Biocontrol Science and Technology**, Oxon, v. 17, n. 6, p. 553-596, 2007.

ZIMMERMANN, G. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potencial as a biocontrol agent. **Pesticide Science**, Sussex, v. 37, p.375-379, 1993.

CAPÍTULO 2 – Eficiência de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner sobre *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e interação com inseticidas recomendados à cultura do repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*)

Rogério Teixeira Duarte¹, Kelly Cristina Gonçalves¹, David Jossue López Espinosa¹, Lais Fernanda Moreira¹, Sergio Antonio De Bortoli², Ricardo Antonio Polanczyk¹

¹Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil. Telefone: +55 (16) 3209-7306. E-mail: rogerio.tduarte@yahoo.com.br; kellcrist2010@hotmail.com; daespi24.7@gmail.com; rapolanc@fcav.unesp.br

²Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil. Telefone: +55 (16) 3209-7862. E-mail: bortoli@fcav.unesp.br

Resumo

Frente os problemas do uso do controle químico na redução populacional de *Plutella xylostella* (L.), a utilização de *Bacillus thuringiensis* constitui importante ferramenta no manejo desta praga. Entretanto, um dos entraves quanto à eficiência deste entomopatógeno está relacionada à interação deste com agrotóxicos. O objetivo da pesquisa foi analisar a suscetibilidade de *P. xylostella* a isolados de *B. thuringiensis* e avaliar a interação dos

entomopatógenos mais virulentos com ingredientes ativos de inseticidas registrados para o controle de pragas do repolho. Foi analisada a eficiência de 13 isolados, realizada através de testes de patogenicidade e virulência (CL_{50} e TL_{50}) sobre lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*. A interação entre os isolados e os ingredientes ativos foi realizada a partir da mistura do inseticida no meio de cultura, sendo inoculada uma alíquota da suspensão do micro-organismo após o meio se solidificar, sendo avaliado o número de esporos/mL após sete dias de crescimento do entomopatógeno. Os isolados HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07 são os mais eficientes no controle de *P. xylostella*, responsáveis por ocasionar mortalidade total das lagartas, com CL_{50} variando entre 0,75 e $11,66 \times 10^3$ esporos/mL e TL_{50} entre 25,12 e 34,47 h. Os isolados HD-1 e HD-4 apresentam interação neutra com o ingrediente ativo tiametoxam, sendo positiva para o isolado T-07, com aumento significativo da esporulação. Os demais ingredientes ativos são considerados tóxicos em relação ao desenvolvimento reprodutivo de *B. thuringiensis*, fatores estes que contribuem para o manejo populacional da referida praga.

Palavras-chave: traça-das-crucíferas, bactéria entomopatogênica, controle biológico, controle químico

1. Introdução

A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner é reconhecida cientificamente por sua capacidade em sintetizar cristais proteicos, apresentando interesse mundial frente ao manejo populacional de pragas agrícolas, devido tanto à especificidade quanto a sua atividade inseticida (Schnepf et al., 1998). A principal toxina produzida por *B. thuringiensis* com atividade inseticida é a δ -endotoxina, classificada pela sua sequência

primária de aminoácidos, e representada atualmente por mais de 700 diferentes sequências de genes *cry*, classificadas em 73 grupos (Cry1 ao Cry73), caracterizados por cepas, que são analisadas em pesquisas científicas baseadas em testes de patogenicidade e virulência para diferentes espécies de pragas agrícolas, mas também a inimigos naturais, visando determinar sua atividade inseticida (van Frankenhuyzen, 2009; Crickmore et al., 2014).

Neste sentido, van Frankenhuyzen (2009) publicou uma revisão sobre a atividade inseticida de cristais proteicos de *B. thuringiensis* para diferentes espécies de pragas, como, por exemplo, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera Plutellidae), demonstrando o grande interesse científico frente ao manejo populacional desta praga com a referida bactéria entomopatogênica. Este microlepidóptero, também conhecido como a traça-das-crucíferas, é uma das principais pragas de culturas agrícolas da família Brassicaceae (Attique et al., 2006; Sarfraz et al., 2006; Grzywacz et al., 2010), sendo no Brasil a responsável por ocasionar perdas significativas à cultura do repolho (*Brassica oleraceae* var *capitata*) (Barros et al., 1993; Monnerat et al., 2004).

A redução populacional desta espécie é realizada quase que exclusivamente pela utilização do controle químico, o que tem culminado em elevada pressão de seleção e, conseqüentemente, ao aumento de relatos de resistência de populações desta praga a diferentes ingredientes ativos do grupo químico dos inseticidas (Castelo Branco et al., 2003; Thuler et al., 2007; Oliveira et al., 2011). Desta forma, a utilização estratégica do controle microbiano com *B. thuringiensis* no Brasil constitui uma importante ferramenta para o manejo populacional da traça-das-crucíferas. O principal entrave na utilização destes agentes microbianos está relacionado à interação deste micro-organismo com agrotóxicos empregados para a redução populacional do complexo de pragas de determinado cultivo agrícola (Almeida et al., 2003; Batista Filho et al., 2003; Pinto et al., 2012; Agostini et al., 2014).

Assim, pesquisas nesta área são muito importantes, o que implica em trabalhos relacionados com a atividade patogênica de *B. thuringiensis* a *P. xylostella* aliada à interação deste micro-organismo com agrotóxicos empregados na cultura do repolho, como forma de contribuir para com o manejo integrado da traça-das-crucíferas. O objetivo da pesquisa foi analisar a suscetibilidade de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* a isolados de *B. thuringiensis* e avaliar a interação dos entomopatógenos mais virulentos com diferentes ingredientes ativos de inseticidas registrados para o controle do complexo de pragas da cultura do repolho.

2. Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) e Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), alocados no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, SP.

População de P. xylostella

Para a condução dos bioensaios foi utilizada uma população de *P. xylostella* oriunda de área comercial convencional de repolho do município de Recife – PE, sendo coletados 143 adultos em 15 de janeiro de 2007. Esta população foi conduzida ao LBCI, e mantida isolada reprodutivamente, com a criação massal baseada na metodologia descrita por De Bortoli et al. (2011).

Substrato de alimentação de P. xylostella

Para a criação massal de *P. xylostella* foram utilizadas folhas de repolho (*B. oleraceae* var. *capitata* cv. Chato de Quintal) como substrato alimentar, com idade entre 45 e 60 dias, caracterizada como uma cultivar suscetível a referida praga (Boiça Júnior et al., 2013). A cultura foi conduzida em casa de vegetação, em que, mudas de repolho, com aproximadamente 30 dias de idade, foram obtidas de uma empresa relacionada à produção de mudas de olerícolas (Agrimonte Produtos Agrícolas Ltda., Monte Alto, SP), e transplantadas individualmente em vasos de polietileno com capacidade interna de 5 L, contendo uma mistura homogênea de solo (latossolo vermelho), areia grossa peneirada e esterco de curral curtido e peneirado, na proporção 2:1:1 (Boiça Júnior et al., 2013). Mensalmente, mudas de repolho eram transplantadas, com o propósito de manter constante a produção de folhas, para servirem como substrato de alimentação à *P. xylostella*.

Isolados da bactéria entomopatogênica B. thuringiensis

Foram utilizados 13 isolados de *B. thuringiensis*, obtidos junto ao Banco de Entomopatógenos do LCMAP e também da Coleção de Entomopatógenos do Laboratório de Controle Biológico (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG) (Tabela 1).

Estes isolados foram multiplicados em placas de Petri com meio de cultura nutriente ágar (NA) [dissolução de 28 g do produto formulado Nutrient Agar[®] (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia) em 1.000 mL de água deionizada, posterior autoclavagem a 1 atm. por 20 minutos] e incubados a 30°C por cinco dias, para desenvolvimento e esporulação da bactéria. Após este período, o conteúdo bacteriano foi transferido para tubo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada e 0,05% do espalhante adesivo Tween[®] 20. A

suspensão foi homogeneizada, sendo a mistura (esporos, cristais e células vegetativas) submetida a três centrifugações consecutivas (3.600 rpm por 20 minutos). O sobrenadante foi descartado, com o objetivo de eliminar as toxinas extracelulares, como as β -exotoxinas, com posterior adição de água deionizada autoclavada. Após a última centrifugação foi obtida uma nova suspensão e, a partir desta, foram feitas duas diluições seriadas para a contagem de esporos em câmara de Neubauer (Alves e Moraes, 1998) e padronização da suspensão na concentração de 10^8 esporos/mL.

Patogenicidade de B. thuringiensis a P. xylostella

Para este experimento foram utilizadas lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, sendo cada tratamento compreendido por 10 discos foliares de repolho (10 repetições), *B. oleraceae* var. *capitata* cv. Chato de Quintal, com 8 cm de diâmetro, que foram imersos em determinada suspensão [10 mL de água deionizada autoclavada + Tween[®] 20 (0,05%) + isolado de bactéria] por 1 minuto, e posteriormente conduzidos para sala de secagem, em temperatura ambiente.

Estes discos foliares, posterior secagem, foram transferidos individualmente para placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro (8 cm de diâmetro) umedecido com água deionizada autoclavada. Para cada placa de Petri, com auxílio de um pincel de cerdas macias, foram inseridas 10 lagartas de *P. xylostella*. Em seguida, estas placas foram transferidas e mantidas em câmara BOD à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12:12 h. O tratamento controle seguiu a mesma metodologia descrita acima, composta por água deionizada autoclavada + Tween[®] 20 (0,05%).

As avaliações de mortalidade foram realizadas após 72 h da confecção do bioensaio. A mortalidade total foi corrigida em relação à observada no controle (Abbott, 1925). O

experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados sujeitos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) (SAS Institute, 2002). Como critério para estimativa da concentração letal média (CL_{50}) e do tempo letal médio (TL_{50}) foram selecionados os isolados responsáveis por ocasionar mortalidade corrigida $\geq 80\%$.

Estimativa da Concentração Letal Média (CL_{50}) e Tempo Letal Médio (TL_{50})

Para estimar a CL_{50} dos isolados de *B. thuringiensis* foram preparadas suspensões nas concentrações de 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 e 10^8 esporos/mL. Quanto à estimativa da TL_{50} , foram preparadas 10 repetições para cada isolado selecionado, compreendendo 10 lagartas de segundo instar de *P. xylostella* por repetição, com suspensão de *B. thuringiensis* padronizada na concentração de 10^8 esporos/mL. A condução dos bioensaios relacionados à CL_{50} e TL_{50} foi idêntica a metodologia descrita sobre a avaliação da patogenicidade. As avaliações referentes à mortalidade das lagartas pelo entomopatógeno foram efetuadas a cada 24 h da confecção do bioensaio, até o quinto dia. Os resultados relacionados à mortalidade foram submetidos a análise probit ($P > 0,05$), através do programa estatístico Minitab 15[®] (Minitab, 2007).

Interação entre B. thuringiensis e agrotóxicos recomendados à cultura do repolho

Os isolados de *B. thuringiensis* mais virulentos a *P. xylostella* foram utilizados nas avaliações sobre a interação destes micro-organismos com diferentes inseticidas recomendados no controle de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae), *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae) e *Bemisia tabaci* Gennadius biótipo B (Homoptera: Aleyrodidae) na cultura do repolho (Tabela 2).

O meio de cultura nutriente ágar (NA) foi preparado através da dissolução de 28 g do produto formulado Nutrient Agar[®] (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia) em 1.000 mL de água deionizada, sendo posteriormente autoclavado a 1 atm. por 20 minutos. Após atingir temperatura de 45°C, ponto em que o meio ainda não se encontra solidificado, cada inseticida com concentração conhecida foi adicionado e homogeneizado no meio de cultura (Botelho e Monteiro, 2011), e então vertido em placas de Petri com 9 cm de diâmetro, totalizando 10 repetições para cada análise de interação.

Após solidificação do meio em placas de Petri, foram inoculadas no respectivo substrato (meio de cultura + ingrediente ativo do inseticida) suspensões de células do pré-cultivo na concentração de 10^8 esporos/mL de cada isolado de *B. thuringiensis*, perfazendo uma pontuação de 5 µL de cada suspensão do entomopatógeno na região central da placa de Petri.

As placas inoculadas foram acondicionadas em câmara BOD a temperatura ótima de desenvolvimento de *B. thuringiensis* ($30 \pm 2^\circ\text{C}$), com umidade relativa média de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo 12:12 h, por um período de sete dias. Após esta etapa, foi realizada a contagem de esporos para cada tratamento com auxílio de uma câmara de Neubauer, recortando-se a colônia do meio de cultura e acondicionando-as em tubos para criação com 10 mL de água deionizada autoclavada mais espalhante adesivo Tween[®] 20 (0,05%), sendo esta suspensão homogeneizada com auxílio de um agitador (Phoenix[®] ModeloAP56, São Paulo, Brasil) por um período de 1 minuto. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados sujeitos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) (SAS Institute, 2002).

3. Resultados e Discussão

Todos os isolados de *B. thuringiensis* foram patogênicos a *P. xylostella*. Entretanto, foi observada diferença significativa entre os tratamentos relacionados aos isolados de *B. thuringiensis*, com resultados muito promissores para aqueles oriundos da Embrapa (HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07), caracterizados por ocasionar mortalidade total em lagartas de segundo ínstar, quando comparados com os isolados referentes ao LCMAP, cuja mortalidade variou entre 43 e 59% (Figura 1).

Com relação à estimativa da concentração letal média dos isolados selecionados de *B. thuringiensis*, representados pela elevada virulência quando comparado com os demais, os melhores resultados foram obtidos dos isolados HD-1, HD-11 e HD-73, sendo os mais tóxicos a lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, em que, HD-1 e HD-11 diferiram estatisticamente dos isolados HD-4 e T-07, com valores estimados em $1,2 \times 10^3$; $0,75 \times 10^3$ esporos/mL, respectivamente (Tabela 3).

Para a estimativa do tempo letal médio (TL_{50}) foram observadas diferenças significativas entre os isolados HD-4 e HD-11 em relação ao HD-1, correspondendo em um período de tempo menor para ocasionar mortalidade média das lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* (Tabela 4). O isolado HD-11 apresentou elevada virulência quando comparado com os demais tratamentos, representado pelos menores valores estimados da CL_{50} e TL_{50} , com concentração de $0,75 \times 10^3$ esporos/mL e um período de 25,12 h para ocasionar mortalidade de 50% da população de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* (Tabela 3 e 4).

A baixa suscetibilidade de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* aos isolados referentes ao Banco de Entomopatógenos do LCMAP pode estar relacionada com a ausência

de genes responsáveis por codificar as proteínas Cry1Aa, Cry1Ab e Cry1Ac, consideradas importantes por ocasionar elevada mortalidade para esta praga (Medeiros et al., 2005; Monnerat et al., 2007; Thuler et al., 2007; Gao et al., 2008). Além disso, de acordo com Li et al. (1992) e Gao et al. (2008), muitos isolados de *B. thuringiensis* podem apresentar baixa ou nenhuma toxicidade a determinada praga, caracterizados como específicos a determinadas funções, pois são representados por apenas um ou poucos genes *cry*, o que pode representar reduzido espectro de ação, fato observado no presente estudo, pois estes isolados continham, em sua maioria, apenas um gene codificador de determinado cristal protéico.

Em relação aos isolados mais virulentos de *B. thuringiensis*, a presença das proteínas Cry1 e Cry2 podem estar diretamente envolvidas no grau de toxicidade a lagartas de segundo instar de *P. xylostella*. As proteínas Cry1 estão associadas à síntese de cristais bipiramidais, com a ação tóxica a insetos da ordem Lepidoptera, como *P. xylostella* (Bravo et al., 1998; Monnerat et al., 1999; Medeiros et al., 2005), enquanto que Cry2 estão relacionados a cristais cubóides, mas também evidenciados como tóxicos a espécies de lepidópteros (Wu et al., 1991; Medeiros et al., 2005).

Além destes, outros cristais proteicos representados nos isolados mais virulentos de *B. thuringiensis* também podem ter influenciado diretamente na mortalidade da referida praga, como, por exemplo, a proteína Cry9, presente nos isolados HD-11 e T-07, considerada de elevada toxicidade a traça-das-crucíferas (Lambert et al., 1996; Higushi et al., 2000). Dentre os cristais proteicos de *B. thuringiensis* identificados como patogênicos a *P. xylostella*, destacam-se os grupos Cry1, Cry2, Cry7, Cry9, Cry30 e Cry32, além da proteína vegetativa Vip3 (Tabashnik et al., 1996; Tang et al., 1996; Tabashnik et al., 2000; SAyyed et al., 2001; Balasubramanian et al., 2002; Bhalla et al., 2005; Huang et al., 2007; Silva-Werneck e Ellar,

2008; Tan et al., 2010). De acordo com van Frankenhuisen (2009), os cristais proteicos Cry32 e Cry51 também são considerados patogênicos a traça-das-crucíferas.

Desta forma, o elevado grau de toxicidade dos isolados de *B. thuringiensis* oriundos da Embrapa pode estar relacionado com o incremento no número de cristais proteicos presentes (Mohan e Gujar, 2001). Outros fatores também podem ter influenciado na elevada mortalidade de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, como a quantidade de genes *cryI* expressos, a grande concentração de toxinas acumuladas, mas também a presença de outros cristais proteicos, que não foram identificados pelos *primers* utilizados no processo de sequenciamento molecular (Monnerat et al., 2007; Chen et al., 2014).

Nos testes sobre a interação entre os isolados mais virulentos a *P. xylostella* com os principais ingredientes ativos dos inseticidas recomendados para o controle de pragas da cultura do repolho, foram observadas interações neutras entre os isolados HD-1 e HD-4 em relação ao ingrediente ativo tiametoxam, com interação positiva entre a referida molécula química e o isolado T-07, devido ao estímulo de esporulação, diferindo estatisticamente do controle (Tabela 5). Em relação aos demais ingredientes ativos utilizados, foi observado o efeito tóxico destes no processo reprodutivo da bactéria, o que demonstrou interação negativa dos demais inseticidas para com os referidos isolados de *B. thuringiensis* (Tabela 5).

O ingrediente ativo tiametoxam, representado pelo grupo químico dos neonicotinoides, é também citado em outras literaturas como uma molécula química que apresenta uma interação positiva não somente com *B. thuringiensis*, mas com muitas espécies de fungos entomopatogênicos (Batista Filho et al., 2001; Almeida et al., 2003; Batista Filho et al., 2003; Andaló et al., 2004; Wenzel et al., 2008; Botelho e Monteiro, 2011; Cintra et al., 2013). Outros ingredientes ativos enquadrados como neonicotinoides, como imidacloprido e acetamiprido, também são relatados como compatíveis a diferentes espécies de micro-

organismos entomopatogênicos, também representados por sua importância frente ao manejo integrado de pragas (Batista Filho et al., 2001; Neves et al., 2001; Andaló et al., 2004; Niassy et al., 2014).

A ação dos inseticidas com os aspectos reprodutivos de cada isolado de *B. thuringiensis* tem relação direta com a natureza química do ingrediente ativo analisado, demonstrado através da variação dos resultados destas interações quando comparado com o controle, fator também observado por Batista Filho et al. (2001). Outra variável que pode ter influenciado nas interações entre os isolados de *B. thuringiensis* com os ingredientes ativos está relacionado à presença de adjuvantes no produto comercial, sendo um fator de elevada importância a partir da biossíntese de um produto biológico (Morris, 1977).

Neste sentido, com base na problemática evidenciada atualmente para com a resistência de populações de *P. xylostella* a determinados produtos comerciais biológicos a base de *B. thuringiensis* (Zago et al., 2014), aliado a ausência de informações a respeito da interação destes com inseticidas, a descoberta de diferentes isolados de elevada virulência a traça-das-crucíferas, além da compatibilidade destes com agrotóxicos, pode ser considerada uma importante ferramenta na biossíntese de novos produtos biológicos (Monnerat et al., 2007). Esta estratégia pode favorecer na diminuição da pressão de seleção, através da utilização racional dos materiais comerciais biológicos disponíveis no mercado e, porventura, reduzir gradativamente o número de casos de populações resistentes desta praga para com inseticidas biológicos relacionados à *B. thuringiensis* (Khan, et al., 2005; Mohan et al., 2009; Jayakumar e Kaur, 2013).

Além deste fator, outra possibilidade advém do desenvolvimento de plantas transgênicas, já bem caracterizadas para espécies da família Brassicaceae, como a canola (*Brassica napus* var. *oleifera*) (James, 2010), relacionadas à expressão daquelas toxinas

referenciadas inicialmente por testes com isolados de característica genética conhecida, mas também por metodologias baseadas no uso de proteínas Cry purificadas visando ao controle de pragas agrícolas (Mohan e Gujar, 2001; Bravo et al., 2011).

4. Conclusões

Os isolados de *Bacillus thuringiensis* mais eficientes visando ao controle de lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella* são HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07.

Os isolados HD-1, HD-4 não apresentam interação negativa com o ingrediente ativo tiametoxam, sendo positiva para o isolado T-07 devido ao estímulo à esporulação.

5. Referências

- Abbott WS (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Agostini LT, Duarte RT, Volpe HXL, Agostini TT, Carvalho GA, Abrahão YP, Polanczyk RA (2014). Compatibility among insecticides, acaricides, and *Bacillus thuringiensis* used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton fields. *Afr. J. Agric. Res.* 9: 941-949.
- Almeida JEM, Batista Filho A, Lamas C, Leite LG, Trama M, Sano AH (2003). Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. *Arq. Inst. Biol.* 70: 79-84.
- Alves SB, Moraes SA (1998). Quantificação de inóculos de patógenos de insetos. In: Alves SB (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. Piracicaba: FEALQ, p.765-777.
- Andaló V, Moino Júnior A, Santa-Cecília LVC, Souza GC (2004). Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Neotrop. Entomol.* 33: 463-467.
- Attique MNR, Khaliq A, Sayyed AH (2006). Cold resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? *J. Appl. Entomol.* 130:122-127.
- Balasubramanian P, Jayakumar R, Shambharkar P, Unnamalai N, Pandian SK, Kumaraswami NS, Ilangovan R, Sekar NS (2002). Cloning and characterization of the crystal protein-encoding gene of *Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis*. *Appl. Environ. Microb.* 68: 408-411.
- Barros R, Albert Júnior IB, Oliveira AJ, Souza ACF, Loges V (1993). Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera; Plutellidae) em repolho. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22: 463-469.

- Batista Filho A, Almeida JEM, Lamas C (2001). Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. *Neotrop. Entomol.* 30: 437-447.
- Batista Filho A, Ramiro ZA, Almeida JEM, Leite LG, Cintra ERR, Lamas C (2003). Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. *Arq. Inst. Biol.* 70: 61-67.
- Bhalla R, Dalal M, Panguluri SK, Jagadish B, Mandaokar AD, Singh AK, Kumar PA (2005). Isolation, characterization and expression of a novel vegetative insecticidal protein gene of *Bacillus thuringiensis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 243: 467-472.
- Boiça Júnior AL, Janini JC, Souza BHS, Rodrigues NEL (2013). Efeito de cultivares de repolho e doses de extrato aquoso de nim na alimentação e biologia de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). *Bioscience Journal* 29: 22-31.
- Botelho AAA, Monteiro AC (2011). Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia* 70: 361-369.
- Bravo A, Sarabia S, Lopez L, Ontiveros H, Abarca C, Ortiz A, Ortiz M, Lina L, Villalobos V, Pena G, Nunez-Valdez M, Soberon M, Quintero R (1998). Characterization of *cry* genes in Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 4965-4972.
- Castelo Branco M, França FH, Pontes LA, Amaral PST (2003). Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. *Horticultura Brasileira* 21: 549-552.
- Chen M-L, Chen P-H, Pang J-C, Lin C-W, Hwang C-F, Tsen H-Y (2014). The correlation of the presence and expression levels of *cry* genes with the insecticidal activities against *Plutella xylostella* for *Bacillus thuringiensis* strains. *Toxins* 6: 2453-2470.
- Cintra ERR, Loureiro ES, Almeida JEM, Gassen MH, Batista Filho A, Wenzel IM, Hojo H (2013). Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* à cigarra do café *Fidicinoides pronoe* (Hemiptera: Cicadidae) e sua compatibilidade com agrotóxicos utilizados na cultura do cafeeiro. *Biológico* 75: 63-70.
- Crickmore N, Baum J, Bravo A, Lereclus D, Narva K, Sampson K, Schnepf E, Sun M, Zeigler DR (2014). *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. Disponível em: <<http://www.btnomenclature.info/>>
- De Bortoli SA, Vacari AM, Goulart RM, Santos RF, Volpe HXL, Ferraudo AS (2011). Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas para diferentes brassicáceas. *Horticultura Brasileira* 29: 187-192.
- Gao M, Li R, Dai S, Wu Y, Yi D (2008). Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from soil in China and their pesticidal activities. *Biol. Control* 44: 380-388.
- Grzywacz D, Rossbach A, Rauf A, Russell D, Srinivasan R, Shelton AM (2010). Current control methods for diamondback moth and prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetables brassicas in Asia and Africa. *Crop Prot.* 29: 68-79.
- Higuchi K, Saitoh H, Mizuki E, Ichimatsu T, Ohba M (2000). Larval susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), to *Bacillus thuringiensis* H serovars isolated in Japan. *Microbiol. Res.* 155: 23-29.
- Huang D, Zhang J, Song F, Lang Z (2007). Microbial control and biotechnology research on *Bacillus thuringiensis* in China. *J. Invertebr. Pathol.* 95: 175-180.
- James C (2010). *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010*. New York: ISAAA.
- Jayakumar S, Kaur S (2013). Occurrence of *cry* genes in *Bacillus thuringiensis* (Bt) isolates recovered from phylloplanes of crops growing in the New Delhi region of India and toxicity towards diamond-back moth (*Plutella xylostella*). *J. Biol. Sci.* 13: 463-473.

- Khan MFR, Griffin RP, Carner GR, Gorsuch CS (2005). Susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from collards fields in South Carolina to *Bacillus thuringiensis*. *J. Agr. Urban Entomol.* 22: 19-26.
- Lambert B, Buysse L, Decock C, Jansens S, Piens C, Saey B, Seurinck J, van Audenhove K, van Rie J, van Vliet A, Peferoen M (1996). A *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein with a high activity against members of the family Noctuidae. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 80–86.
- Li R, Dai S, Li X (1992). Morphology and δ -endotoxin proteins of *Bacillus thuringiensis* from soil and their toxicities to insects. *Acta Microbiologica Sinica*, 32: 387–393.
- MAPA. Agrofit: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 18 nov. 2013.
- Medeiros PT, Ferreira MN, Martins ES, Gomes ACMM, Falcão R, Dias JMCS, Monnerat RG (2005). Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40: 1145-1148.
- Minitab (2007). Meet Minitab 15. EUA: Minitab Inc.
- Mohan M, Gujar GT (2001). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains and commercial formulations to the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Crop Prot.* 20: 311-316.
- Mohan M, Sushil SN, Selvakumar G, Bhatt JC, Gujar GT, Gupta H (2009). Differential toxicity of *Bacillus thuringiensis* and their crystal toxins against high-altitude Himalayan populations of diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Pest Manag. Sci.* 65: 27-33.
- Monnerat RG, Leal-Bertioli SCM, Bertioli DJ, Butt TM, Bordat D (2004). Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Horticultura Brasileira* 22: 607-609.
- Monnerat RS, Masson L, Brousseau R, Pusztai Carey M, Bordat D, Frutos R (1999). Differential activity and activation of *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins in diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Current Microbiology* 39: 159-162.
- Monnerat RG, Batista AC, Medeiros PT, Martins ES, Melatti VM, Praça LB, Dumas VF, Morinaga C, Demo C, Gomes ACM, Falcão R, Siqueira CB, Silva-Werneck JO, Berry C (2007). Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. *Biol. Control* 41: 291-295.
- Morris ON (1977). Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Can. Entomol.* 109: 855-864.
- Neves PMOJ, Hirose E, Tchujo PT, Moino Júnior A (2001). Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoids insecticides. *Neotrop. Entomol.* 30: 263-268.
- Niassy S, Maniania NK, Subramanian S, Gitonga ML, Maranga R, Obonyo AB, Ekesi ES (2012). Compatibility of *Metarhizium anisopliae* isolate ICIPE 69 with agrochemicals used in French bean production. *Int. J. Pest Manage.*, 58: 131-137.
- Oliveira AC, Siqueira HAA, Oliveira JV, Silva JE, Michereff Filho M (2011). Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. *Scientia Agricola* 68: 154-159.
- Pinto LMN, Dorr NC, Ribeiro APA, De Salles SM, De Oliveira JV, Menezes VG, Fiuza LM (2012). *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43: 618-626.
- Sarfraz M, Dossdall LM, Keddie BA (2006). Diamondback moth-host plant interactions: Implications for pest management. *Crop Prot.* 25: 625-639.
- SAS Institute (2002). User's guide: statistics, version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Sayed AH, Crickmore N, Wright DJ (2001). Cyt1Aa from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* is toxic to the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and synergizes the activity of Cry1Ac towards a resistant strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5859-5861.

- Schnepf HE, Crickmore N, van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal toxins. *Microbiol. Mol. Bio. R.* 62: 775-806.
- Silva-Werneck JO, Ellar DJ (2008). Characterization of a novel Cry9Bb δ -endotoxin from *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* 98: 320-328.
- Tabashnik BE, Johnson KW, Engleman JT, Baum JA (2000). Cross-resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins Cry1Ja in a strain of diamondback moth adapted to artificial diet. *J. Invertebr. Pathol.* 76: 81-83.
- Tabashnik BE, Malvar T, Liu YB, Finson N, Borthakur D, Shin BS, Park SH, Masson L, Maagd RA, Bosh D (1996). Cross-resistance of the diamondback moth indicates altered interactions with domain II of *Bacillus thuringiensis* toxins. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2839-2844.
- Tan F, Zheng A, Zhu J, Wang L, Li S, Deng Q, Wang S, Li P, Tang X (2010). Rapid cloning, identification, and application of one novel crystal protein gene *Cry30Fa1* from *Bacillus thuringiensis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 302: 46-51.
- Tang JD, Shelton AM, van Rie J, De Roeck S, Moar WJ, Roush RT, Peferoen M (1996). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* spore and crystal protein to resistant diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 564-569.
- Thuler AMG, Thuler RT, Cícero ES, De Bortoli SA, Lemos MVF (2007). Estudo da variabilidade gênica em isolados brasileiros de *Bacillus thuringiensis* para emprego no controle biológico de *Plutella xylostella*. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 33: 409-417.
- Thuler RT, De Bortoli SA, Barbosa JC (2007). Eficácia de inseticidas químicos e produtos vegetais visando ao controle de *Plutella xylostella*. *Científica* 35: 166-174.
- van Frankenhuyzen K (2009). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *J. Invertebr. Pathol.* 101: 1-16.
- Wenzel IM, Batista Filho A, Gassen MH, Almeida AMB (2008). Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* (Hyphomycetes), em condições de laboratório e estufa, aos agrotóxicos utilizados na cultura do crisântemo. *Arq. Inst. Biol.* 75: 157-166.
- Wu D, Cao XL, Bai YY, Aronson AI (1991). Sequence of an operon containing a novel delta-endotoxin gene from *Bacillus thuringiensis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 65: 31-35.
- Zago HB, Siqueira HAA, Pereira EJJ, Picanço MC, Barros R (2014). Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. *Pest Manag. Sci.* 70: 488-495.

Tabela 1. Isolados de *Bacillus thuringiensis* utilizados nos bioensaios.

Número	Isolado	Obtenção do isolado	Toxinas presentes
1	LCMAP04	Cultura da Soja (FCAV)	Vip2
2	LCMAP05	Cultura da Soja (FCAV)	Vip2
3	LCMAP06	Cultura do Milho/Soja (FCAV)	Cry2Ab
4	LCMAP20	APP (FCAV)	Cry2Ab
5	LCMAP27	Cultura do Algodão (FCAV)	Cry1C; Vip2
6	LCMAP29	Cultura do Milho (FCAV)	Vip2
7	LCMAP45	Cultura do Eucalipto (FCAV)	Cry2Ab
8	LCMAP46	Cultura da Goiabeira (FCAV)	Cry2Ab
9	HD-1	EMBRAPA	Cry1Ab/1Ac; Cry1Aa/1Ad; Cry1Ac; Cry1B; Cry1A5; Cry1Ab; Cry1Fb; Cry II; Cry2Ab
10	HD-11	EMBRAPA	Cry1Aa/1Ad; cry1B; Cry1D; Cry1A5; Cry II; Cry2Ab; Cry9
11	HD-4	EMBRAPA	Cry1Aa/1Ad; Cry1Fa/1Fb; Cry1A5
12	HD-73	EMBRAPA	Cry1Ab/1Ac; Cry1Ac; Cry1A5; Cry1Fb
13	T-07	EMBRAPA	Cry1Ab/1Ac; Cry1Aa/1Ad; Cry1B; Cry1C; Cry1D; Cry1Ea/1Eb; Cry1Fa/1Fb; Cry1A5; Cry1Ab; Cry II; Cry2Ab; Cry9

Tabela 2. Inseticidas químicos recomendados para o controle de pragas da cultura do repolho.

Nome Comercial	Recomendação	Princípio Ativo	Grupo Químico	Concentração Recomendada
AzaMax	<i>B. brassicae</i>	azadiractina	tetranortriterpenóide	200mL/100L
Decis 25EC	<i>A. monuste orseis</i> e <i>B. brassicae</i>	deltametrina	piretróide	30mL/100L
Lannate BR	<i>A. monuste orseis</i> e <i>B. brassicae</i>	metomil	metilcarbamato de oxima	100mL/100L
Actara 250WG	<i>B. tabaci</i>	tiametoxam	neonicotinoide	20g/100L
Orthene 750 BR	<i>B. brassicae</i>	acefato	organofosforado	100g/100L

Fonte: Mapa (2013).

Tabela 3. Estimativa da concentração letal média (CL_{50}) dos isolados de *Bacillus thuringiensis* mais virulentos a lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella*.

Tratamento	N	Slope \pm EP	CL_{50} (IC 95%) ($\times 10^3$ esporos/mL)	χ^2 ⁽¹⁾
HD-1	500	0,43 \pm 0,05	1,20 (0,65 – 1,88)	1,00
HD-4	500	0,24 \pm 0,02	11,66 (6,25 – 19,96)	4,28
HD-11	500	0,26 \pm 0,03	0,75 (0,26 – 1,57)	9,18
HD-73	500	0,21 \pm 0,02	1,18 (0,37 – 2,68)	13,33
T-07	500	0,25 \pm 0,02	4,32 (2,13 – 7,65)	4,63

⁽¹⁾Qui-Quadrado ($P > 0,05$).

Tabela 4. Estimativa do tempo letal médio (TL₅₀) dos isolados de *Bacillus thuringiensis* mais virulentos a lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella*.

Tratamento	N	Slope ± EP	TL ₅₀ (IC _{95%}) (h)	χ^2 ⁽¹⁾
HD-1	100	0,07 ± 0,006	34,47 (31,35 - 37,36)	4,62
HD-4	100	0,07 ± 0,008	27,74 (24,18 - 30,75)	35,52
HD-11	100	0,09 ± 0,013	25,12 (22,13 - 27,63)	0,001
HD-73	100	0,06 ± 0,007	29,12 (25,46 - 32,24)	12,62
T-07	100	0,11 ± 0,013	29,31 (27,13 - 31,61)	0,0001

⁽¹⁾Qui-Quadrado (P > 0,05).

Tabela 5. Número médio de esporos/mL (\pm EP) dos isolados mais virulentos de *Bacillus thuringiensis* submetidos a tratamentos com ingredientes ativos da classe dos inseticidas.

Tratamentos	Esporos de <i>Bacillus thuringiensis</i> ($\times 10^9$) / mL				
	HD-1	HD-4	HD-11	HD-73	T-07
Controle	3,15 \pm 0,20 a	3,30 \pm 0,17 a	2,83 \pm 0,28 a	4,05 \pm 0,24 a	2,85 \pm 0,19 b
azadiractina	1,49 \pm 0,05 b	2,00 \pm 0,21 bc	1,30 \pm 0,14 b	1,93 \pm 0,15 b	1,68 \pm 0,17 c
deltametrina	0,80 \pm 0,09 b	1,26 \pm 0,13 cd	0,99 \pm 0,19 b	1,09 \pm 0,12 c	1,28 \pm 0,16 c
metomil	1,43 \pm 0,14 b	1,34 \pm 0,21 cd	0,98 \pm 0,12 b	0,95 \pm 0,12 c	1,07 \pm 0,07 c
acefato	1,21 \pm 0,07 b	0,79 \pm 0,09 d	0,58 \pm 0,12 b	1,00 \pm 0,19 c	1,56 \pm 0,16 c
tiametoxam	3,24 \pm 0,39 a	2,57 \pm 0,21 ab	0,91 \pm 0,13 b	2,04 \pm 0,16 b	3,90 \pm 0,16 a
F	27,92	28,87	20,80	49,92	49,32
P	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 1. Mortalidade corrigida (%) de lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella* submetidas a isolados da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis*. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). A barra de erros corresponde ao erro padrão ($\pm EP$).

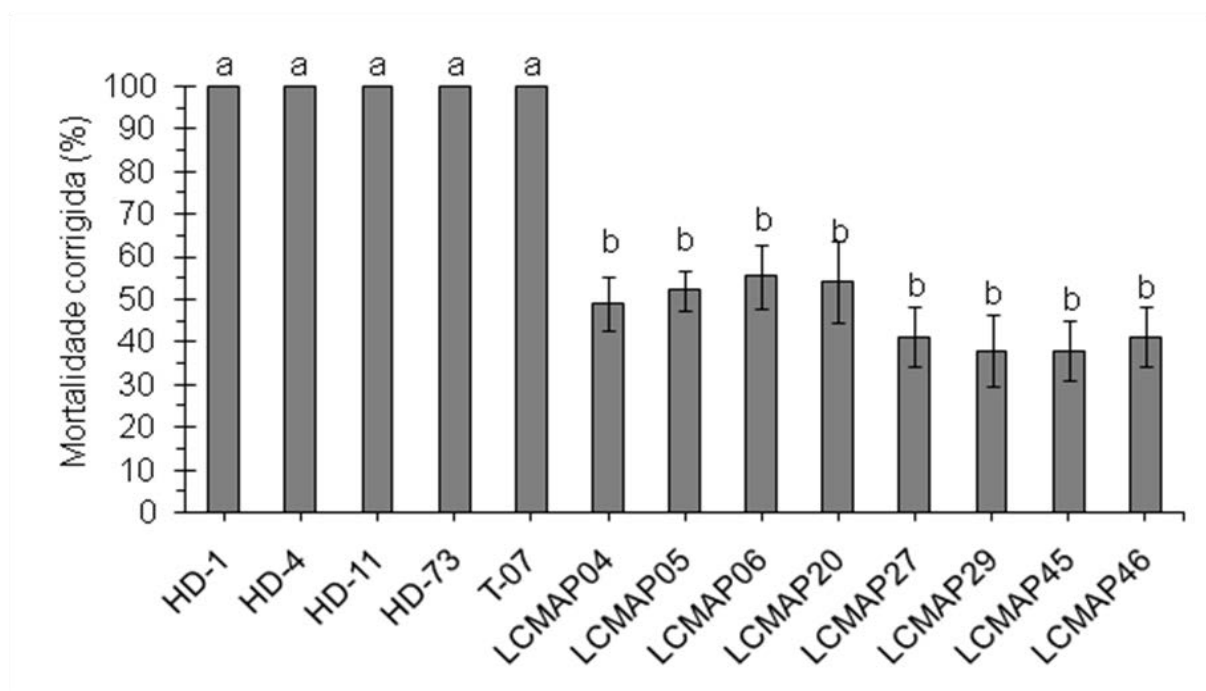


Fig. 1.

CAPÍTULO 3 – Potencial de fungos entomopatogênicos como agentes de controle biológico da traça-das-crucíferas (Lepidoptera: Plutellidae) e compatibilidade com inseticidas

R. T. Duarte¹, K. C. Gonçalves¹, D. J. L. Espinosa¹, L. F. Moreira¹, S. A. De Bortoli¹, R. A. Humber², R. A. Polanczyk¹

¹Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brasil.

²Biological Integrated Pest Management Unit, United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service, Robert W. Holly Center for Agriculture and Health, Ithaca, NY, 14853-2901, USA.

RESUMO Os objetivos da pesquisa foram avaliar a eficiência de fungos entomopatogênicos no controle de *Plutella xylostella* (L.) e a compatibilidade dos isolados mais virulentos com inseticidas registrados para a cultura do repolho. Para os testes de patogenicidade foram utilizados isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium rileyi*, *Isaria fumosorosea*, *I. sinclairii* e *Lecanicillium muscarium*, padronizados na concentração de 10^7 conídios/mL. Discos foliares de repolho foram imersos nestas suspensões, e após a evaporação do excesso de água, foram inseridas 10 lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, totalizando 10 discos foliares para cada tratamento. A mortalidade foi avaliada 7 d após a aplicação dos tratamentos, e os isolados que causaram mortalidade acima de 80% foram utilizados nos testes de estimativa da concentração letal média (CL_{50}) e tempo letal médio (TL_{50}). A compatibilidade entre os isolados mais virulentos e os ingredientes ativos dos agrotóxicos convencionais foi conduzida a partir da mistura destes no meio de cultura, e após o meio se solidificar foi inoculada uma alíquota da suspensão do isolado. Os seguintes parâmetros foram avaliados: crescimento da colônia, número e viabilidade dos conídios. Os isolados IBCB01, IBCB18, IBCB66 e IBCB87 de *B. bassiana*, LCMAP101 de *M. rileyi* e ARSEF7973 de *I. sinclairii* causaram mortalidade entre 80 e 100%, com CL_{50} e TL_{50} entre $2,504$ e $6,775 \times 10^4$ conídios/mL e 52,22 e 112,13 h, respectivamente. Os ingredientes ativos tiametoxam e azadiractina foram compatíveis com os fungos entomopatogênicos. Os resultados sugerem que a utilização destes isolados constitui importante alternativa no manejo de *P. xylostella*, com a possibilidade no uso associado do controle químico baseado nos ingredientes ativos tiametoxam e azadiractina.

PALAVRAS-CHAVE *Plutella xylostella*, controle biológico, controle químico, interação

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), é uma das principais pragas de plantas da família Brassicaceae, com relatos de sua ocorrência em diferentes regiões do mundo, tanto por apresentar grande capacidade migratória como também por se adaptar a condições climáticas adversas e possuir alto potencial biótico, representado por um ciclo biológico curto e elevada fecundidade (Honda et al. 1992, Chapman et al. 2002, Coulson et al. 2002, Ulmer et al. 2002, Attique et al. 2006, Sarfraz et al. 2006, Grzywacz et al. 2010). No Brasil, esta espécie é importante na maioria das áreas produtoras de brassicáceas (Marchioro e Foerster 2014), com distribuição desde a região Amazônica até o estado do Rio Grande do Sul (Ferronato 1984, Castelo Branco e Guimarães 1990, Barros et al. 1993, Melo et al. 1994, Cardoso 1999, Cardoso et al. 2012).

Dentre as espécies comerciais, o repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) é um dos principais hospedeiros deste microlepidóptero, cuja fase larval se alimenta do tecido foliar, ocasionando danos quantitativos e qualitativos na cultura, representados desde a depreciação do produto vegetal até a morte da planta, comprometendo até 100% da produção (Ooi e Kelderman 1979, Shelton et al. 1982, Barros et al. 1993, Castelo Branco et al. 1997, Ohsawa 2001, Monnerat et al. 2004). Para reduzir a densidade populacional desta praga, o método de controle químico com inseticidas de elevada toxicidade e amplo espectro de ação tem sido a principal estratégia adotada pelos produtores, principalmente pelo uso dos grupos químicos dos piretroides e organofosforados (Castelo Branco e Medeiros 2001, Castelo Branco et al. 2003, Filgueira 2007). Entretanto, a elevada pressão de seleção, induzida pelo excessivo número de aplicações, é um dos fatores cruciais para o aumento dos casos de resistência de populações de *P. xylostella* a ingredientes ativos de muitos grupos químicos dos inseticidas (Castelo Branco et al. 2003, Sarfraz e Keddie 2005, Sayyed et al. 2005, Zhao et al. 2006, Thuler et al. 2007, Endersby et al. 2008, Oliveira et al. 2011).

Para minimizar esta problemática, diferentes agentes de controle biológico podem contribuir para o controle de *P. xylostella*, com destaque aos micro-organismos entomopatogênicos, principalmente o complexo de fungos, como *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *M. rileyi* (Farlow) (Kepler, Humber, Bischoff, Rehner), *Isaria* sp. e *Lecanicillium* sp. (Gopalakrishnan 1989, Silva et al. 2003, Godonou et al. 2009, Xu et al. 2011, Méndez 2012). Um dos entraves para a utilização mais eficiente e também frente à conservação destes agentes microbianos no campo está relacionado à compatibilidade com os agrotóxicos empregados para o controle de outras pragas ou doenças agrícolas (Batista Filho et al. 2001, Almeida et al. 2003, Batista Filho et al. 2003, Cuthbertson et al. 2005, Wenzel et al. 2008, Botelho e Monteiro 2011, Schumacher e Poehling 2012, Niassy et al. 2014).

Entretanto, poucos estudos relacionam o potencial das diferentes espécies de fungos entomopatogênicos no controle biológico de *P. xylostella* e a possível compatibilidade destes com o controle químico baseado no uso de inseticidas (Tian e Feng 2006), o que requer melhor compreensão das possíveis interações entre estes agentes microbiológicos e químicos envolvidos, no intuito de aprimorar as estratégias de controle. O objetivo da pesquisa foi analisar a eficiência de fungos entomopatogênicos visando ao controle de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* e avaliar a compatibilidade dos isolados mais virulentos com ingredientes ativos de inseticidas registrados para o controle de pragas na cultura do repolho.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (LCMAP) e Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI),

localizados no Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal, SP.

População de *P. xylostella*

Para a condução dos bioensaios foi utilizada uma população de *P. xylostella* oriunda de área comercial convencional de repolho do município de Recife – PE, formada a partir da coleta de 143 adultos em 15 de janeiro de 2007. Esta população foi conduzida ao *LBCI* e mantida isolada reprodutivamente, com a criação laboratorial baseada na metodologia descrita por De Bortoli et al. (2011).

Para a criação laboratorial da fase larval de *P. xylostella* foram utilizadas folhas de repolho (*B. oleraceae* var. *capitata* cv. Chato de Quintal) como substrato alimentar, com idade entre 45 e 60 d, caracterizada como uma cultivar suscetível à referida praga (Boiça Júnior et al. 2013). Plantas com aproximadamente 20 d foram obtidas da empresa Agrimonte Produtos Agrícolas Ltda., Monte Alto, SP, e transplantadas individualmente em vasos de polietileno com capacidade interna de 5 litros, contendo uma mistura homogênea de solo (latossolo vermelho), areia grossa peneirada e esterco de curral curtido e peneirado, na proporção 2:1:1 (Boiça Júnior et al., 2013). Estes vasos foram acondicionados em casa de vegetação. Mensalmente, mudas de repolho foram transplantadas, com o propósito de manter constante a produção de folhas, para alimentar as lagartas de *P. xylostella*.

A criação dos adultos foi realizada em recipientes cilíndricos de plástico transparente (15 cm de diâmetro × 25 cm de altura), contendo um disco foliar de repolho com 8 cm de diâmetro, inserido sobre um disco de papel filtro de mesmo diâmetro, levemente umedecido com água destilada. Este disco de papel foi disposto sobre um copo plástico transparente (5

cm de diâmetro × 8 cm de altura), com a abertura voltada para baixo, ficando o disco foliar de repolho elevado dentro da gaiola, onde ocorreu a oviposição. No ápice do recipiente foi efetuada uma abertura de aproximadamente 3 cm de diâmetro, utilizada para fixação de uma esponja embebida em solução aquosa de mel a 10%. Em cada gaiola foi realizada uma abertura lateral (10 cm de comprimento × 10 cm de largura), coberta com tecido tipo “voile”, para melhorar a aeração interna. Diariamente, estes discos foliares de repolho foram repostos, sendo retirados aqueles com a presença das posturas, e transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro), onde ficavam até a eclosão das lagartas.

Isolados de fungos entomopatogênicos

Os isolados dos fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios pertencem às espécies *B. bassiana*, *L. muscarium* (Petch.) Zare & Gams, *I. fumosorosea*, *I. sinclairii* (Berk.) Llund e *M. rileyi* (Tabela 1). Estes isolados estão armazenados em tubos de ensaio e placas de Petri (9 cm de diâmetro) a temperatura de -4 °C (freezer) no Banco de Entomopatógenos do LCMAP. Para sua utilização, os isolados foram repicados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), e incubados em câmara BOD à temperatura de 28 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12:12 h, por um período de 15 d. Posteriormente, foram realizadas suspensões [10 mL de água deionizada autoclavada + espalhante adesivo Tween[®] 20 (0,05%) + isolado de fungo entomopatogênico]. A partir desta suspensão foram feitas duas diluições seriadas para a quantificação do número de conídios/mL, com auxílio de uma câmara de Neubauer, sendo esta padronizada na concentração de 10^7 conídios/mL.

Patogenicidade dos isolados de fungos entomopatogênicos

Para este experimento foram utilizadas lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, sendo cada tratamento compreendido por 10 discos foliares de repolho (10 repetições), *B. oleraceae* var. *capitata* cv. Chato de Quintal, com 8 cm de diâmetro, que foram imersos em suspensão [10 mL de água deionizada autoclavada + Tween[®] 20 (0,05%) + isolado de determinado fungo entomopatogênico] por 1 min, e posteriormente conduzidos para sala de secagem.

Após este procedimento, os discos foliares foram transferidos individualmente para placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro (8 cm de diâmetro) umedecido com água deionizada autoclavada. Em cada placa de Petri, com auxílio de um pincel de pelos macios, foram inseridas 10 lagartas de *P. xylostella*. Em seguida, estas placas foram transferidas e mantidas em câmara *BOD* à temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12:12 h. O tratamento controle seguiu a mesma metodologia descrita acima, apenas composto por água deionizada autoclavada + Tween[®] 20 (0,05%).

A mortalidade foi avaliada no sétimo dia após a aplicação dos tratamentos, com a transferência dos insetos mortos para uma câmara úmida, com o propósito de confirmar a mortalidade pelo entomopatógeno. A câmara úmida consistiu em disco de papel filtro (8 cm de diâmetro) sob uma espuma, ambos esterilizados e umedecidos com água deionizada autoclavada, inserida em placa de Petri (9 cm de diâmetro) e mantida em câmara *BOD* à temperatura de 28 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12:12 h. A confirmação da mortalidade das lagartas pelos fungos entomopatogênicos foi realizada após 10 d da transferência das mesmas para o interior da câmara úmida, através da observação das estruturas reprodutivas do fungo sobre os cadáveres dos referidos organismos, realizado com auxílio de um microscópio estereoscópio (modelo Stemi 2000-C, Carl Zeiss Corporate, Alemanha).

A mortalidade total foi corrigida em relação à mortalidade observada no controle (Abbott 1925). O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) (PROC GLM, SAS Institute 2002). Como critério para estimativa da concentração letal média (CL_{50}) e do tempo letal médio (TL_{50}) foram selecionados os isolados patogênicos que causaram mais de 80% de mortalidade.

Estimativa da Concentração Letal Média (CL_{50}) e Tempo Letal Médio (TL_{50})

A estimativa da CL_{50} dos isolados dos fungos entomopatogênicos mais promissores ao controle de *P. xylostella* foi realizada através do preparo de suspensões nas concentrações de 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/mL, sendo a mortalidade avaliada no sétimo dia após a aplicação dos tratamentos. Quanto à estimativa da TL_{50} , foram preparadas 10 repetições para cada isolado selecionado, compreendendo 10 lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* por repetição, com suspensão padronizada na concentração de 10^7 conídios/mL. As avaliações referentes à mortalidade das lagartas pelo entomopatógeno foram efetuadas a cada 24 h, até o sétimo dia. A condução dos bioensaios referentes à CL_{50} e TL_{50} foi idêntica a metodologia descrita sobre a avaliação da patogenicidade.

A confirmação da mortalidade foi realizada após 10 d da transferência das lagartas mortas para o interior da câmara úmida, através da observação das estruturas reprodutivas do fungo sob os cadáveres dos insetos, realizado com auxílio de um microscópio estereoscópio (modelo Stemi 2000-C, Carl Zeiss Corporate, Alemanha). Os resultados relacionados à mortalidade foram sujeitos a análise probit ($P > 0,05$), através do programa estatístico Minitab 15[®] (Minitab 2007).

Compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e agrotóxicos registrados para a cultura do repolho

Os isolados mais virulentos para *P. xylostella* foram utilizados nos testes de compatibilidade com ingredientes ativos recomendados para o controle do complexo de pragas da cultura do repolho: azadiractina (AzaMax – 200 mL × 100 litros⁻¹), deltametrina (Decis - 30 mL × 100 litros⁻¹), metomil (Lannate BR - 100 mL × 100 litros⁻¹), tiametoxam (Actara – 20 g × 100 litros⁻¹) e acefato (100 g × 100 litros⁻¹) (Mapa 2013).

O efeito tóxico dos inseticidas sobre os entomopatógenos foi determinado em laboratório pela adição dos produtos químicos em meio de cultura *BDA*, preparado a partir da dissolução de 39 g do produto formulado Potato Dextrose Agar[®] (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia) em 1 litro de água deionizada, sendo posteriormente autoclavado a 1 atm por 20 min. Após atingir temperatura de 45 °C, ponto em que o meio ainda não se encontra solidificado e também não afeta as propriedades químicas dos agrotóxicos (Botelho e Monteiro 2011), cada inseticida foi adicionado e homogeneizado no meio de cultura, e então vertido em placas de Petri com 9 cm de diâmetro, totalizando 10 repetições para cada análise de compatibilidade.

Após solidificação do meio em placas de Petri, foram inoculadas as estruturas reprodutivas dos fungos entomopatogênicos, na concentração de 10⁷ conídios/mL, perfazendo uma pontuação de 5 µL da suspensão do entomopatógeno na região central de cada placa de Petri, sendo posteriormente acondicionadas em câmara *BOD* a temperatura de 28 ± 2 °C, com umidade relativa média de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12:12 h, por 7 d. Após este período, foi mensurada a área de crescimento da colônia (cm²), sendo recortada uma folha de sulfite do tamanho da mesma, ilustrando uma figura, que foi analisada com auxílio de um aparelho

medidor de área foliar (Model CI-202, CID Bio-Science, Washington, Estados Unidos da América).

Depois de mensurada a área da colônia foi realizada a contagem de conídios para cada tratamento, recortando-se a colônia do meio de cultura e acondicionando-as em tubos para criação com 10 mL de água deionizada autoclavada mais espalhante adesivo Tween[®] 20 (0,05%), sendo esta suspensão homogeneizada com auxílio de um agitador (Model AP56, Phoenix, São Paulo, Brasil) por um período de 1 min, e retirada uma pequena alíquota da suspensão para visualização das estruturas reprodutivas em microscópio ótico, com a contagem destas realizada com auxílio de uma câmara de Neubauer.

A viabilidade dos conídios foi analisada através da técnica de microcultivo e exame direto em lâmina, proposta por Marques et al. (2004). Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados submetidos à análise de variância e as médias do tamanho das colônias, o número e a viabilidade de conídios referentes a cada tratamento foram comparados entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (PROC GLM, SAS Institute 2002), sendo padronizados pela classificação de compatibilidade desenvolvida por Alves et al. (2007), com auxílio da seguinte fórmula ($IB = 47 [CV] + 43 [ESP] + 10 [GER] / 100$), em que IB = índice biológico; CV = porcentagem de crescimento vegetativo da colônia após 7 d, em relação ao controle; ESP = porcentagem de esporulação da colônia após 7 d, em relação ao controle; GER = porcentagem de germinação dos conídios após 24 h.

Resultados e Discussão

Todos os isolados analisados foram patogênicos a *P. xylostella*, com mortalidade variando entre 46 e 100% (Fig. 1). As espécies que causaram mortalidade acima de 80% foram *B. bassiana*, *I. sinclairii* e *M. rileyi*, com destaque a IBCB01, IBCB18, IBCB66 e LCMAP101, responsáveis por ocasionar mortalidade entre 98 e 100% de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, não diferindo estatisticamente entre si, seguido de ARSEF7973 e IBCB87, com 80 e 94% de mortalidade, respectivamente (Fig. 1).

A CL_{50} estimada variou entre 2,504 e $6,775 \times 10^4$ conídios/mL, com diferença significativa apenas entre IBCB01 e IBCB18 de *B. bassiana*, sendo o primeiro caracterizado como o mais virulento (Tabela 2). O isolado LCMAP101 de *M. rileyi* apresentou o menor TL_{50} , resultado significativo em relação aos demais tratamentos, representado pelo valor médio de 52,22 h, seguido de IBCB18 e IBCB01, com valores de 63,48 e 69,56 h, respectivamente (Tabela 3).

Os isolados IBCB01, IBCB18, IBCB66 e IBCB87 de *B. bassiana* foram muito virulentos para lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, o que demonstrou elevado potencial para com o manejo populacional da referida praga. Outros trabalhos também apresentaram resultados promissores de *B. bassiana* no controle da traça-das-crucíferas, porém em concentrações mais elevadas. Silva et al. (2003) relataram mortalidade entre 78 e 90% para lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* quando submetidas a suspensões de *B. bassiana* utilizando ESALQ 447, ESALQ 760, ESALQ 900, ESALQ 634 e IPA-205 na concentração de 10^8 conídios/mL. Batta et al. (2010) e Anaisie et al. (2011) constataram mortalidade de 80% e 100%, respectivamente, de lagartas de *P. xylostella* com a aplicação de *B. bassiana* na concentração de 10^9 conídios/mL. Na referida pesquisa, a concentração de 10^7

conídios/mL foi o suficiente para ocasionar mortalidade entre 94 e 100% de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, resultados muito interessantes do ponto de vista econômico, principalmente em relação a uma possível formulação e comercialização destes micro-organismos entomopatogênicos.

Outro resultado de extrema importância está relacionado ao fungo entomopatogênico *M. rileyi*, responsável por ocasionar mortalidade total de lagartas de *P. xylostella* no sétimo dia após aplicação, além de apresentar o menor tempo letal quando comparado aos demais entomopatógenos, o que demonstra elevada virulência para esta praga. Este micro-organismo é considerado patogênico à *P. xylostella*, porém pouco virulento (Jun 2000), contrastando com os resultados do presente estudo. Esta variabilidade pode ser atribuída às diferenças nos fatores de virulência entre os isolados, conforme observado por Khan et al. (2012) para *Myzus persicae*.

O micro-organismo *L. muscarium*, considerado um importante agente de controle de *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) (Cuthbertson et al. 2005, Cuthbertson et al. 2008) foi patogênico a traça-das-crucíferas, porém não apresentou resultados tão satisfatórios quando comparado com as demais espécies de fungos entomopatogênicos analisadas (Fig. 1). Entretanto, este é o primeiro relato de patogenicidade deste entomopatógeno em relação a *P. xylostella*, considerada uma importante etapa frente a futuras pesquisas baseadas em bioensaios com *L. muscarium* visando ao controle da referida praga.

Com relação ao gênero *Isaria*, foi observado que apenas um isolado de *I. sinclairii* apresentou resultados promissores visando a redução populacional de lagartas de segundo ínstar da traça-das-crucíferas (Fig. 1). Os poucos trabalhos sobre o uso deste gênero de fungo entomopatogênico no controle deste lepidóptero evidenciam unicamente a espécie *I. fumosorosea*, caracterizada como potencial a partir do uso de elevadas concentrações do

entomopatígeno, o que pode tornar o método de controle inviável em termos econômicos (Maketon et al. 2008, Huang et al. 2010). A presente pesquisa, além de ser o primeiro relato científico em relação a patogenicidade de *I. sinclairii* para *P. xylostella*, também evidenciou o elevado potencial deste entomopatígeno no manejo integrado desta praga, considerando o uso de uma concentração experimental (10^7 conídios/mL) com base em outras pesquisas, e também com resultados muito satisfatórios quanto a mortalidade, com redução em 80% de lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* (Fig. 1), características que possibilitam sua plena utilização futura visando ao controle da traça-das-crucíferas.

A diferença dos resultados entre as pesquisas pode ser decorrente de uma série de fatores, caracterizados inicialmente pelos isolados dos fungos entomopatogênicos, cuja variabilidade genética pode determinar uma resposta à virulência para lagartas de *P. xylostella*. Outra questão está relacionada à diferença genética das populações da traça-das-crucíferas utilizadas nas pesquisas, o que pode resultar em diferentes respostas de mortalidade para um mesmo isolado de determinada espécie de fungo entomopatogênico. Por fim, diferenças metodológicas empregadas na condução de testes de patogenicidade e virulência também podem influenciar diretamente os resultados de mortalidade de lagartas de *P. xylostella* em relação ao fungo entomopatogênico analisado.

Quanto aos testes de compatibilidade entre os fungos entomopatogênicos mais virulentos a *P. xylostella* com os principais ingredientes ativos dos inseticidas recomendados para o controle de pragas da cultura do repolho, a maioria dos micro-organismos analisados não sofreu interferência significativa em relação ao crescimento vegetativo da colônia quando em contato com tiametoxam, salvo apenas IBCB18 de *B. bassiana* (Tabela 4).

O ingrediente ativo azadiractina também não interferiu significativamente no crescimento vegetativo de IBCB01 de *B. bassiana*, ARSEF7973 de *I. sinclairii* e LCMAP101

de *M. rileyi* em comparação com o controle. Entretanto, as demais moléculas químicas reduziram de forma significativa o desenvolvimento vegetativo da colônia de todos os entomopatógenos analisados, principalmente quando em contato com metomil (Tabela 4). O ingrediente ativo tiametoxam não influenciou no número de conídios produzidos pelos micro-organismos entomopatogênicos, enquanto que, azadiractina, deltametrina, acefato e metomil foram responsáveis por reduzir o número de conídios produzidos pelos micro-organismos (Tabela 5).

A viabilidade dos conídios foi elevada quando em contato com as moléculas químicas azadiractina e tiametoxam, com variação entre 75,20 e 88,80% e 87,40 e 90,80%, respectivamente, não diferindo estatisticamente do controle. Os demais ingredientes ativos reduziram a viabilidade das estruturas reprodutivas dos entomopatógenos, principalmente quando em contato com acefato e metomil (Tabela 6).

Desta forma, azadiractina e tiametoxam, seguindo o padrão de classificação de compatibilidade desenvolvida por Alves et al. (2007), foram compatíveis com os fungos entomopatogênicos testados. A molécula química deltametrina foi compatível apenas com *M. rileyi*, sendo moderadamente tóxico e também tóxico aos demais entomopatógenos. O ingrediente ativo acefato foi moderadamente tóxico quando em contato com a maioria dos fungos entomopatogênicos, enquanto que metomil foi classificado como tóxico para praticamente todos os micro-organismos, considerado como o mais prejudicial em relação ao desenvolvimento vegetativo e reprodutivo destes agentes de controle biológico (Tabela 7).

A compatibilidade de azadiractina e tiametoxam, classificados dentro dos grupos químicos tetranortriterpenóide e neonicotinóide, respectivamente, com os isolados dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana*, *I. sinclairii* e *M. rileyi* pode estar relacionada à baixa toxicidade destas moléculas químicas para os micro-organismos, mas também pela possível

capacidade dos entomopatógenos em degradarem estes compostos visando seu desenvolvimento e reprodução. Diferentes trabalhos evidenciaram a possibilidade da utilização destes ingredientes ativos com diferentes espécies de fungos entomopatogênicos, demonstrando resultados positivos quanto às questões voltadas à compatibilidade (Batista Filho et al. 2001, Andaló et al. 2004, Botelho e Monteiro 2011, Hernández et al. 2012, Ribeiro et al. 2012, Rocha et al. 2012, Cintra et al. 2013).

O ingrediente ativo deltametrina apresentou resultados divergentes em relação às espécies dos fungos entomopatogênicos, sendo considerada, para a maioria das pesquisas, tóxica ou moderadamente tóxica para com estes micro-organismos (Oliveira et al. 2003, Silva et al. 2006, Archana e Ramaswamy 2012, Niassy et al. 2014), fato observado no presente estudo, contrastando apenas para com *M. rileyi*, cuja molécula química foi compatível com o referido agente de controle biológico (Tabela 7).

Ademais, tanto acefato como metomil foram prejudiciais para o desenvolvimento dos entomopatógenos, o que demonstra o elevado grau de toxicidade destas moléculas em relação a estes micro-organismos. Ambos os ingredientes ativos são representados como compatíveis, para alguns casos, mas também como moderadamente tóxicos ou incompatíveis (Khalil et al. 1985, Batista Filho et al. 2001, Gassen et al. 2008, Wenzel et al. 2008), o que pode caracterizar diferenças frente à metodologia empregada e a variação na dosagem dos agrotóxicos utilizados.

Estes resultados, relacionados ao âmbito laboratorial, cujas condições são plenamente favoráveis ao desenvolvimento dos fungos entomopatogênicos, de forma a expressar o melhor potencial destes entomopatógenos, são muito importantes para a obtenção de informações básicas quanto à seleção inicial destes agentes microbiológicos para pesquisas a semi-campo e a campo. A partir deste processo inicial, testes *in vitro* sobre a compatibilidade entre

agrotóxicos e os micro-organismos mais virulentos podem ser considerados uma importante etapa para analisar todos os possíveis efeitos para com o desenvolvimento e reprodução destes agentes de controle biológico, auxiliando na escolha de inseticidas seletivos frente a estes fungos entomopatogênicos, que podem apresentar ocorrência natural ou serem aplicados em associação com estes agrotóxicos (Alves et al. 2008). Também é plausível considerar o fato do referido micro-organismo, depois de aplicado para o controle de pragas em determinada cultura, se adaptar no agroecossistema, o que pode permitir a ação enzoótica, e também epizoótica do entomopatógeno na área, o que pode acrescentar no controle natural da praga.

Assim, o uso correto do controle biológico com os fungos entomopatogênicos mais virulentos, visando a redução populacional de *P. xylostella*, conjuntamente ao método de controle químico associado a produtos comerciais com ingredientes ativos compatíveis com estes agentes de controle, possibilitará um importante incremento frente ao manejo integrado da referida praga, com possível redução no emprego de agrotóxicos, devido a diminuição dos impactos ecológicos propiciados ao uso indiscriminado de inseticidas, aliado a melhoria das condições do ecossistema, com impactos positivos para homem e também ao meio ambiente.

Referências Citadas

- Abbott, W. S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Almeida, J. E. M., A. Batista Filho, C. Lamas, L. G. Leite, M. Trama, and A. H. Sano. 2003.** Avaliação da compatibilidade de defensivos agrícolas na conservação de microrganismos entomopatogênicos no manejo de pragas do cafeeiro. Arq. Inst. Biol. 70: 79-84.

- Alves, S. B., M. L. Haddad, M. Faion, G. C. Baptista, and L. S. Rossi-Zalaf. 2007.** Novo índice biológico para a classificação de agrotóxicos para fungos entomopatogênicos. *In:* Resumos, 10th Simpósio de Controle Biológico. Brasília, Brasil.
- Alves, S. B., R. B. Lopes, S. A. Vieira, and M. A. Tamai. 2008.** Fungos entomopatogênicos usados no controle de pragas na América Latina, pp. 69-110. *In:* S. B. Alves, and R. B. Lopes (eds.), Controle microbiano de pragas na América Latina. FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- Anaisie, P., V. Eziah, and E. Owusu. 2011.** The potential of indigenous entomopathogenic fungi for the management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) in Ghana. *Journal of Biochemistry and Bioinformatics* 1: 275-281.
- Andaló, V., A. Moino Junior, L. V. C. Santa-Cecília, and G. C. Souza. 2004.** Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinley (Hemiptera: Pseudococcidae). *Neotrop. Entomol.* 33: 463-467.
- Archana, M. R., and K. Ramaswamy. 2012.** Interactive effect of entomopathogenic fungi *Paecilomyces fumosoroseus* with few organophosphate and pyrethroid pesticides: an in vitro study. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences.* 2: 10-17.
- Attique, M. N. R., A. Khaliq, and A. H. Sayyed. 2006.** Cold resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? *J. Appl. Entomol.* 130: 122-127.
- Barros, R., I. B. Albert Júnior, A. J. Oliveira, A. C. F. Souza, and V. Loges. 1993.** Controle químico da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera; Plutellidae) em repolho. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22: 463-469.

- Batista Filho, A., J. E. M. Almeida, and C. Lamas. 2001.** Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. *Neotrop. Entomol.* 30: 437-447.
- Batista Filho, A., Z. A. Ramiro, J. E. M. Almeida, L. G. Leite, E. R. R. Cintra, and C. Lamas. 2003.** Manejo integrado de pragas em soja: impacto de inseticidas sobre inimigos naturais. *Arq. Inst. Biol.* 70: 61-67.
- Batta, Y., M. Rahman, K. Powis, G. Baker, and O. Schmidt. 2010.** Investigations into the development in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L., Yponomeutidae: Lepidoptera) to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bal.) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and the toxin Dipel® of *Bacillus thuringiensis*. *Trends in Entomology* 6: 15-21.
- Boiça Júnior, A. L., J. C. Janini, B. H. S. Souza, and N. E. L. Rodrigues. 2013.** Efeito de cultivares de repolho e doses de extrato aquoso de nim na alimentação e biologia de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae). *Bioscience Journal* 29: 22-31.
- Botelho, A. A. A., and A. C. Monteiro. 2011.** Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. *Bragantia* 70: 361-369.
- Cardoso, M. O. 1999.** Avaliação de repolhos de verão na várzea do estado do Amazonas. *Hortic. Bras.* 17: 51-53.
- Cardoso, M. O., R. F. Berni, C. Krug, and I. C. Antonio. 2012.** Danos por *Plutella xylostella* em couve-de-folhas jovem, afetados pela altura e pelo nitrogênio. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Brasil.
- Castelo Branco, M., and A. L. Guimarães. 1990.** Controle das traças das crucíferas em repolho. *Hortic. Bras.* 10: 24-25.
- Castelo Branco, M., and M. A. Medeiros. 2001.** Impacto de inseticidas sobre parasitoides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. *Pesq. Agrop. Bras.* 36: 7-13.

- Castelo Branco, M., F. H. França, and G. L. Villas Boas. 1997.** Traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). Embrapa Hortaliças, Brasília, Brasil.
- Castelo Branco, M., F. H. França, L. A. Pontes, and P. S. T. Amaral. 2003.** Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. *Hortic. Bras.* 21: 549-552.
- Chapman, J. W., D. R. Reynolds, A. D. Smith, J. R. Riley, D. E. Pedgley, and I. P. Woiwod. 2002.** High altitude migration of the diamondback moth *Plutella xylostella* to the UK: a study using radar, aerial netting, and ground trapping. *Ecol. Entomol.* 27: 641–650.
- Cintra, E. R. R., E. S. Loureiro, J. E. M. Almeida, M. H. Gassen, A. Batista Filho, I. M. Wenzel, and H. Hojo. 2013.** Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* à cigarra do café *Fidicinoides pronoe* (Hemiptera: Cicadidae) e sua compatibilidade com agrotóxicos utilizados na cultura do cafeeiro. *Biológico* 75: 63-70.
- Coulson, S. J., I. D. Hodkinson, N. R. Webb, K. Mikkola, J. A. Harrison, and D. E. Pedgley. 2002.** Aerial colonization of high Arctic islands by invertebrates: the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) as a potential indicator species. *Diversity and Distributions* 8: 327–334.
- Cuthbertson, A. G. S., K. F. A. Walters, and C. Deppe. 2005.** Compatibility of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* and insecticides for eradication of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Mycopathologia* 160: 35-41.
- Cuthbertson, A. G. S., L. F. Blackburn, P. Northing, W. Luo, R. J. C. Cannon, and K. F. A. Walters. 2008.** Further compatibility tests of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* with conventional insecticide products for control of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* on poinsettia plants. *Insect Sci.* 15: 355-360.

- De Bortoli, S. A., A. M. Vacari, R. M. Goulart, R. F. Santos, H. X. L. Volpe, and A. S. Ferraudo. 2011.** Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas para diferentes brassicáceas. *Hortic. Bras.* 29: 187-192.
- Endersby, N. M.; P. M. Ridland, and A. A. Hoffmann. 2008.** The effects of local selection versus dispersal on insecticide resistance patterns: longitudinal evidence from diamondback moth (*Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)) in Australia evolving resistance to pyrethroids. *B. Entomol. Res.* 98: 145-157.
- Ferronato, E. M. O. 1984.** Abundância de larvas e pupas de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em *Brassica oleraceae* L. var. *acephala* D. C., mortalidade causada por parasitoides e biologia de *Tetrastichus sokolowskii* Kurdjmov, 1912 (Hymenoptera: Eulophidae). M.S. Thesis, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Filgueira, F. A. R. 2007.** Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. UFV, Viçosa, Brasil.
- Gassen, M. H., A. Batista Filho, L. O. Zappelini, and I. M. Wenzel. 2008.** Efeito de agrotóxicos utilizados na cultura da goiaba sobre o fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Arq. Inst. Biol.* 75: 327-342.
- Godonou, I., B. James, C. Atcha-Ahowe, S. Vodouhe, C. Kooyaman, A. Ahanchede, and S. Korie. 2009.** Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* 28: 220-224.
- Gopalakrishnan, C. 1989.** Susceptibility of cabbage diamondback moth *Plutella xylostella* L. to the entomofungal pathogen *Verticillium lecanii* (Zimmerm) Viegas. *Curr. Sci.* 58: 1256-1257.

Grzywacz, D., A. Rossbach, A. Rauf, D. Russell, R. Srinivasan, and A. M. Shelton. 2010.

Current control methods for diamondback moth and prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetables brassicas in Asia and Africa. *Crop Prot.* 29: 68-79.

Hernández, M. M., E. Martínez-Villar, C. Peace, I. Pérez-Moreno, and V. Marco. 2012.

Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with flufenoxuron and azadirachtin against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 58: 395-405.

Honda, K. I., Y. Miyahara, and K. Kegasawa. 1992. Seasonal abundance and the

possibility of spring immigration of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Yponomeutidae), in Morioka City, northern Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 27: 517–525.

Huang, Z.; S. Ali, S-X. Ren, and J-H. Wu. 2010. Effect of *Isaria fumosorosea* on mortality

and fecundity of *Bemisia tabaci* and *Plutella xylostella*. *Insect Sci.* 17: 140-148.

Jun, M. A. 2000. Laboratory susceptibility of *Plutella xylostella* to *Metarhizium anisopliae*

and *Nomuraea rileyi*. *Entomologia Sinica* 7: 53-57.

Khalil, S. K., M. A. Shah, and M. Naeem. 1985. Laboratory studies on the compatibility of

the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* with certain pesticides. *Agriculture, Ecosystems and Environment.* 13: 329-334.

Khan, S., L. Guo, H. X. Shi, M. Mijit, and D. Qiu. 2012. Bioassay and enzymatic

comparison of six entomopathogenic fungal isolates for virulence or toxicity against green peach aphids *Myzus persicae*. *Afr. J. Biotech.* 11: 14193-14203.

Maketon, M., P. Orosz-Coghlan, and J. Jaengarun. 2008. Field evaluation of *Isaria*

fumosorosea in controlling the diamondback moth (*Plutella xylostella*) in chinese kale. *Phytoparasitica* 36: 260-263.

- Mapa. 2013.** Agrofit: sistema de agrotóxicos fitossanitários.
http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons.
- Marchioro, C. A., and L. A. Foerster. 2014.** Preference-performance linkage in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, and implications for its management. *J. Insect Sci.* 14: 1-14.
- Marques, R. P., A. C. Monteiro, and G. T. Pereira. 2004.** Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações de óleo de Nim (*Azadirachta indica*). *Ciênc. Rural* 34: 1675-1680.
- Melo, P. E., M. Castelo Branco, and N. R. Madeira. 1994.** Avaliação de genótipos de repolho para a resistência a traça das crucíferas. *Hortic. Bras.* 12: 19-24.
- Méndez, A. 2012.** Potencialidad de aislamientos autóctonos de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson para el control de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) y *Plutella xylostella* (L.). *Revista de Protección Vegetal* 27: 67-67.
- Minitab. 2007.** Meet Minitab, version 15th ed. Minitab Inc., EUA.
- Monnerat, R. G., S. C. M. Leal-Bertioli, D. J. Bertioli, T. M. Butt, and D. Bordat. 2004.** Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Hortic. Bras.* 22: 607-609.
- Niassy, S., N. K. Maniania, S. Subramanian, M. L. Gitonga, R. Maranga, A. B. Obonyo, and E. S. Ekesi. 2012.** Compatibility of *Metarhizium anisopliae* isolate ICIPE 69 with agrochemicals used in French bean production. *Int. J. Pest Manage.* 58: 131-137.
- Ohsawa, K. 2001.** Efficacy of plant extracts for reducing larval populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) and cabbage

webworm, *Crocidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), and evaluation of cabbage damage. *Appl. Entomol. Zool.* 36: 143-149.

Oliveira, A. C., H. A. A. Siqueira, J. V. Oliveira, J. E. Silva, and M. Michereff Filho.

2011. Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. *Sci. Agr.* 68: 154-159.

Oliveira, C. N., P. M. O. J. Neves, and L. S. Kawazoe. **2003.** Compatibility between the

entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and insecticides used in coffee plantations.

Scientia Agricola. 60: 663-667.

Ooi, P. A. C, and W. Kalderman. **1979.** The biology of three common pests of cabbages in

Cameron Highlands, Malaysia. *Malaysian Agricultural Journal* 52: 85-101.

Ribeiro, L. P., E. Blume, P. C. Bogorni, S. T. B. Dequech, S. C. Brand, and E. Junges.

2014. Compatibility of *Beauveria bassiana* commercial isolate with botanical insecticides utilized in organic crops in southern Brazil. *Biological Agriculture & Horticulture.* 28: 223-240.

Rocha, R. B., E. A. S. F. Melo, O. O. Santos, and M. A. L. Bittencourt. **2012.**

Compatibilidade e efeito de produtos comerciais à base de nim e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Metamasius hemipterus* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Magistra.* 24: 39-51.

Sarfraz, M., and B. A. Keddie. **2005.** Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella*

xylostella (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Appl. Entomol.* 129: 149-157.

Sarfraz, M., L. M. Dossall, and B. A. Keddie. **2006.** Diamondback moth-host plant

interactions: implications for pest management. *Crop Prot.* 25: 625-639.

SAS Institute. **2002.** User's guide: statistics, version 9.1. SAS Institute Inc. Cary, NC.

- Sayed, A. H., M. N. R. Attique, and A. Khaliq. 2005.** Stability of field selected resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. *J. Appl. Entomol.* 129: 542-547.
- Schumacher, V., and H-M. Poehling. 2012.** *In vitro* effect of pesticides on the germination, vegetative growth, and conidial production of two strains of *Metarhizium anisopliae*. *Fungal Biology* 116: 121-132.
- Shelton, A. M., J. T. Anoaloro, and J. Barnaro. 1982.** Effects of cabbage looper, imported cabbage worm and diamond back moth on fresh market and processing cabbage. *J. Econ. Entomol.* 75: 742-745.
- Silva, I. D. S., G. H. S. Nunes, E. A. L. A. Lima, N. D. Alves, and F. M. C. Feijó. 2006.** Avaliação do fungo *Beauveria bassiana*, associado a mosquicida com método de controle biológico de dípteros de interesse médico veterinário sob condições de laboratório. *Agropecuária Científica no Semi-Árido* 2: 24:28.
- Silva, V. C. A., R. Barros, E. J. Marques, and J. B. Torres. 2003.** Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotrop. Entomol.* 32: 653-658.
- Thuler, R. T., S. A. De Bortoli, and J. C. Barbosa. 2007.** Eficácia de inseticidas químicos e produtos vegetais visando ao controle de *Plutella xylostella*. *Científica* 35: 166-174.
- Tian, L., M-G Feng. 2006.** Evaluation of the time-concentration-mortality responses of *Plutella xylostella* larvae to the interaction of *Beauveria bassiana* with a nereistoxin analogue insecticide. *Pest Manag. Sci.* 62: 69-76.
- Ulmer, B., C. Gillot, D. Woods, and M. Erlandson. 2002.** Diamondmoth back, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. *Crop Prot.* 21: 327-331.

Wenzel, I. M., A. Batista Filho, M. H. Gassen, and A. M. B. Almeida. 2008.

Compatibilidade de *Lecanicillium lecanii* (Hyphomycetes), em condições de laboratório e estufa, aos agrotóxicos utilizados na cultura do crisântemo. Arq. Inst. Biol. 75: 157-166.

Xu, D., S. Ali, and Z. Huang. 2011. Insecticidal activity influence of 20-Hydroxyecdysone

on the pathogenicity of *Isaria fumosorosea* against *Plutella xylostella*. Biol. Control 56: 239-244.

Zhao, J. Z., H. L. Collins, Y. X. Li, R. F. L. Mau, G. D. Thompson, M. Hertlein, J. T.

Andaloro, R. Boykin, and A. M. Shelton. 2006. Monitoring diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. J. Econ. Entomol. 99: 176-181.

Tabela 1. Isolados de fungos entomopatogênicos utilizados nos bioensaios

Entomopatôgeno	Isolado	Origem
<i>B. bassiana</i>	IBCB01	Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental do Instituto Biológico, Campinas (SP)
	IBCB17	
	IBCB18	
	IBCB33	
	IBCB35	
	IBCB63	
	IBCB66	
	IBCB87	
	JAB01	
	JAB09	
JAB48		
JAB63		
<i>L. muscarium</i>	ARSEF5128	
<i>I. fumosorosea</i>	ARSEF7050	United States Department of Agriculture (USDA) - Collection of Entomopathogenic Fungal Cultures, Ithaca (USA)
<i>I. sinclairii</i>	ARSEF6925	
	ARSEF7973	
<i>M. rileyi</i>	LCMAP101	Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes Pragas (FCAV/UNESP), Jaboticabal (SP)

Tabela 2. Estimativa da concentração letal média (CL₅₀) de isolados dos fungos entomopatogênicos mais virulentos a lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella*

Tratamentos	n	Slope ± EP	CL ₅₀ (IC _{95%}) × 10 ⁴ conídios/mL	χ ² ⁽¹⁾
<i>Beauveria bassiana</i>				
IBCB01	500	0,37 ± 0,04	2,504 (1,442 - 3,923)	5,26
IBCB18	500	0,31 ± 0,03	6,775 (3,975 - 10,756)	13,31
IBCB66	500	0,36 ± 0,03	2,887 (1,667 - 4,548)	7,20
IBCB87	500	0,25 ± 0,02	3,796 (1,249 - 4,822)	8,79
<i>Isaria sinclairii</i>				
ARSEF7973	500	0,27 ± 0,03	4,600 (2,436 - 7,774)	28,89
<i>Metarhizium rileyi</i>				
LCMAP101	500	0,34 ± 0,03	2,506 (1,377 - 4,057)	5,07

⁽¹⁾Qui-Quadrado ($P > 0,05$).

Tabela 3. Estimativa do tempo letal médio (TL₅₀) (h) de isolados dos fungos entomopatogênicos mais virulentos a lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella*

Tratamentos	n	Slope ± EP	TL ₅₀ (IC ₉₅ %)	χ^2 ⁽¹⁾
<i>Beauveria bassiana</i>				
IBCB01	100	0,03 ± 0,001	69,56 (64,72 - 74,21)	23,05
IBCB18	100	0,02 ± 0,002	63,48 (58,16 - 68,41)	10,85
IBCB66	100	0,02 ± 0,001	101,66 (96,77 - 106,62)	15,43
IBCB87	100	0,02 ± 0,001	84,82 (78,07 - 91,24)	15,56
<i>Isaria sinclairii</i>				
ARSEF7973	100	0,02 ± 0,001	112,13 (105,93 - 118,69)	14,22
<i>Metarhizium rileyi</i>				
LCMAP101	100	0,07 ± 0,01	52,22 (49,52 - 54,88)	4,64

⁽¹⁾Qui-Quadrado ($P > 0,05$).

Tabela 4. Crescimento vegetativo (cm²) (\pm EP) dos isolados de fungos entomopatogênicos mais virulentos a *Plutella xylostella* quando em contato com inseticidas registrados para o controle de pragas da cultura do repolho

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>				<i>Isaria sinclairii</i>	<i>Metarhizium rileyi</i>
	IBCB01	IBCB18	IBCB66	IBCB87	ARSEF7973	LCMAP101
Controle	38,65 \pm 0,52a	37,32 \pm 0,50a	34,57 \pm 0,63a	34,67 \pm 0,58a	26,98 \pm 0,66a	29,20 \pm 0,62a
azadiractina	34,63 \pm 0,43a	29,24 \pm 0,82c	30,27 \pm 0,85b	24,43 \pm 1,02b	25,23 \pm 0,81a	26,32 \pm 1,13ab
tiametoxam	35,73 \pm 0,91a	33,28 \pm 0,61b	31,73 \pm 0,75ab	31,56 \pm 0,82a	24,90 \pm 0,95a	26,38 \pm 0,94ab
deltametrina	23,04 \pm 2,45b	21,83 \pm 0,67d	21,83 \pm 1,35c	12,39 \pm 0,79cd	16,08 \pm 0,79b	23,84 \pm 0,92b
acefato	18,47 \pm 1,04b	16,68 \pm 0,81e	18,97 \pm 1,16cd	15,69 \pm 0,84c	13,64 \pm 0,92bc	14,56 \pm 0,81c
metomil	13,28 \pm 0,91c	10,95 \pm 0,66f	16,13 \pm 1,13d	9,13 \pm 0,96d	11,37 \pm 0,94c	11,20 \pm 0,69c
<i>F</i>	71,15	218,55	56,49	153,86	63,53	70,46
<i>df</i>	5, 54	5, 54	5, 54	5, 54	5, 54	5, 54
<i>P</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 5. Número de conídios produzidos (\pm EP) pelos isolados de fungos entomopatogênicos mais virulentos a *Plutella xylostella* quando em contato com inseticidas registrados para o controle de pragas da cultura do repolho

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i> ($\times 10^8$ conídios)				<i>Isaria sinclairii</i> ($\times 10^8$ conídios)	<i>Metarhizium</i> <i>rileyi</i> ($\times 10^8$ conídios)
	IBCB01	IBCB18	IBCB66	IBCB87	ARSEF7973	LCMAP101
Controle	1,06 \pm 0,07a	1,15 \pm 0,06a	1,08 \pm 0,05a	1,16 \pm 0,06a	1,71 \pm 0,12a	1,16 \pm 0,07a
azadiractina	0,81 \pm 0,07bc	0,76 \pm 0,06b	0,82 \pm 0,04bc	0,77 \pm 0,04b	0,82 \pm 0,06bc	0,89 \pm 0,03bc
tiametoxam	1,03 \pm 0,06ab	1,00 \pm 0,04a	1,03 \pm 0,05ab	0,98 \pm 0,04a	1,12 \pm 0,06ab	1,00 \pm 0,06ab
deltametrina	0,55 \pm 0,04d	0,67 \pm 0,04b	0,66 \pm 0,06cd	0,69 \pm 0,05b	0,35 \pm 0,05bc	0,78 \pm 0,05c
acefato	0,64 \pm 0,04cd	0,66 \pm 0,05b	0,55 \pm 0,07de	0,62 \pm 0,04b	0,45 \pm 0,09bc	0,69 \pm 0,04c
metomil	0,22 \pm 0,05e	0,29 \pm 0,04c	0,40 \pm 0,06e	0,25 \pm 0,04c	0,16 \pm 0,03c	0,19 \pm 0,03d
<i>F</i>	33,28	36,14	22,21	48,47	6,93	48,59
<i>df</i>	5, 54	5, 54	5, 54	5, 54	5, 54	5, 54
<i>P</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 6. Viabilidade dos conídios (%) (\pm EP) dos isolados de fungos entomopatogênicos mais virulentos a *Plutella xylostella* quando em contato com inseticidas registrados para o controle de pragas da cultura do repolho

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>				<i>Isaria sinclairii</i>	<i>Metarhizium rileyi</i>
	IBCB01	IBCB18	IBCB66	IBCB87	ARSEF7973	LCMAP101
Controle	93,80 \pm 1,24a	94,80 \pm 1,07a	90,60 \pm 0,93a	93,00 \pm 1,38a	92,80 \pm 1,16a	91,80 \pm 0,66a
azadiractina	84,80 \pm 1,93a	83,20 \pm 2,22a	75,20 \pm 2,78a	88,80 \pm 2,01a	79,00 \pm 1,58a	83,40 \pm 2,01a
tiametoxam	90,80 \pm 1,66a	90,80 \pm 1,16a	87,40 \pm 1,44a	87,80 \pm 1,24a	88,20 \pm 0,86a	89,00 \pm 1,22a
deltametrina	59,60 \pm 3,11b	54,20 \pm 4,89b	47,20 \pm 3,06b	56,40 \pm 5,28b	51,80 \pm 6,62b	43,40 \pm 3,04b
acefato	34,40 \pm 5,21c	41,40 \pm 4,72bc	50,60 \pm 6,92c	38,20 \pm 5,31c	34,60 \pm 6,56bc	29,20 \pm 2,71c
metomil	32,60 \pm 5,19c	27,00 \pm 3,85c	26,00 \pm 4,92c	22,00 \pm 2,72d	17,40 \pm 3,92c	26,60 \pm 4,68c
<i>F</i>	67,28	70,19	42,73	76,23	53,43	127,87
<i>df</i>	5, 24	5, 24	5, 24	5, 24	5, 24	5, 24
<i>P</i>	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 7. Classificação de compatibilidade entre os isolados de fungos entomopatogênicos mais virulentos a *Plutella xylostella* e os inseticidas registrados para o controle de pragas da cultura do repolho

Tratamentos	<i>Beauveria bassiana</i>						<i>Isaria sinclairii</i>		<i>Metarhizium rileyi</i>			
	IBCB01		IBCB18		IBCB66		IBCB87		ARSEF7973		LCMAP101	
	IB	CL	IB	CL	IB	CL	IB	CL	IB	CL	IB	CL
azadiractina	84,35	C	74,72	C	82,86	C	70,96	C	73,85	C	84,54	C
tiametoxam	93,71	C	87,62	C	91,67	C	87,99	C	66,34	C	91,37	C
deltametrina	59,41	MT	61,62	MT	64,70	MT	51,15	MT	37,18	T	78,91	C
acefato	54,38	MT	51,10	MT	52,41	MT	49,89	MT	33,08	T	55,77	MT
metomil	28,51	T	28,77	T	42,92	MT	25,46	T	21,31	T	28,65	T

IB = Índice Biológico; CL = Classificação de Compatibilidade

C = Compatível; MT = Moderadamente Tóxico; T = Tóxico

Fig. 1. Mortalidade corrigida de lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella* submetidas a tratamentos com fungos entomopatogênicos. Valores seguidos de mesma letra não diferem significativamente entre si ($P < 0,05$). A barra de erros representa o erro padrão (\pm EP).

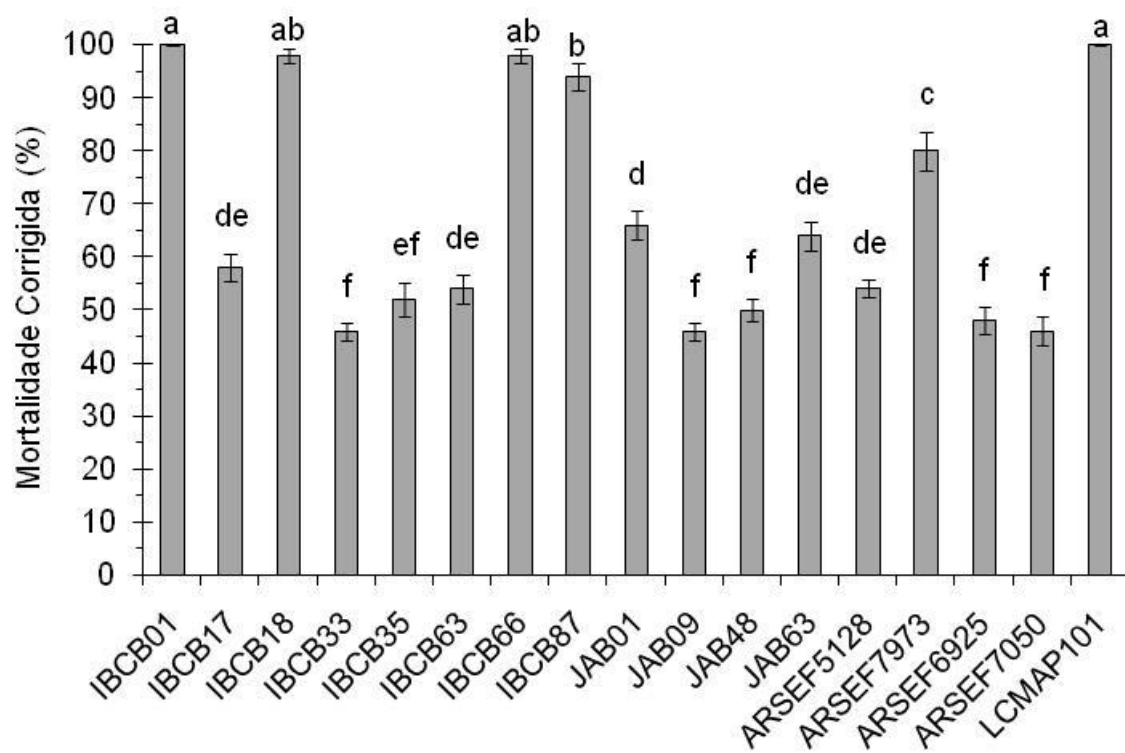


Fig. 1.

CAPÍTULO 4 – Considerações Finais

Dentro do cenário agrícola nacional, caracterizado como o principal consumidor mundial de agrotóxicos, pesquisas que fomentem estratégias diferenciadas àquelas voltadas ao controle químico tradicional apresentam extrema valia para com a ciência, mas também com o meio ambiente e aos aspectos voltados ao ser humano, principalmente à saúde. Assim, resultados positivos, porém iniciais, como os observados neste trabalho, fortificam uma ideologia cada vez mais consolidada dentro das questões voltadas a sustentabilidade e ao equilíbrio de um agroecossistema, evidenciando que é possível produzir alimentos de forma saudável, sem agredir de forma abusiva o meio ambiente e todos os componentes que estão ao seu entorno.

A utilização da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* tem sido representada atualmente como uma importante ferramenta no controle de pragas agrícolas, conjuntamente com o emprego de formulados de fungos entomopatogênicos, sendo comercializado por um número cada vez maior de empresas que observaram a real necessidade de novas estratégias de controle de pragas. Assim, testes laboratoriais são primordiais para uma seleção inicial de isolados com potencial de controle, seguindo posteriormente para testes semi-campo e finalmente a campo. O objetivo desta pesquisa foi justamente iniciar os primeiros testes de seleção e também analisar a ação de ingredientes ativos de inseticidas nos melhores isolados de *B. thuringiensis* e dos fungos entomopatogênicos, buscando uma alternativa viável e eficaz quanto ao emprego satisfatório dos métodos de controle biológico e químico, haja vista da mentalidade do produtor quanto à necessidade do uso dos inseticidas em suas lavouras.

Na presente pesquisa, em condições laboratoriais, os isolados de *B. thuringiensis* HD-1, HD-4, HD-11, HD-73 e T-07 foram os mais eficientes no controle de lagartas de segundo instar de *P. xylostella*, sendo que HD-1 e HD-4 não apresentaram interação negativa com o ingrediente ativo tiametoxam, sendo positiva com o isolado T-07. Os isolados IBCB01, IBCB18, IBCB66 e IBCB87 de *B. bassiana*, LCMAP101 de *M. rileyi* e ARSEF7973 de *I. sinclairii* foram responsáveis por

ocasionar elevada mortalidade para *P. xylostella*, sendo os ingredientes ativos tiametoxam e azadiractina compatíveis com estes entomopatogênicos.

Aliada a estas informações, novas pesquisas são necessárias dentro desta área, buscando analisar a ação destes entomopatógenos em condição de semi-campo e campo, para, finalmente, selecionar aqueles micro-organismos que possibilitem pesquisas iniciais quanto à formulação de produtos biológicos, contribuindo com o manejo integrado de pragas.