

USO DE NOVAS CEPAS DE *BACILLUS* SP. NO CONTROLE DA *SPODOPTERA FRUGIPERDA* EM DIETA ARTIFICIAL

Marcilio Henrique Brandão

Graduando do curso de Agronomia (UNIPAM).

E-mail: marciliobrandao@unipam.edu.br

Maria Clara Dornelas

Graduanda do curso de Agronomia (UNIPAM).

E-mail: mariaclaradornelacardoso@gmail.com

Mariana Castro Viana

Mestranda em Produção Vegetal pela Universidade Federal de Viçosa (UFV/Rio Paranaíba).

E-mail: marianavc@unipam.edu.br

Walter Vieira da Cunha

Professor orientador (UNIPAM).

E-mail: walter@unipam.edu.br

RESUMO: A lagarta do cartucho é uma das principais pragas que atacam as lavouras brasileiras e possui um difícil controle, porque os produtos utilizados se tornaram ineficientes. Então, o objetivo do trabalho foi selecionar novos isolados de *Bacillus* sp. para o controle *S. frugiperda*. O experimento foi conduzido no laboratório de Genética e Biotecnologia do Centro Universitário de Patos de Minas/MG. Foram utilizadas lagartas neonatas provenientes de criação massal. As cepas *Bacillus* sp. utilizadas são pertencentes ao laboratório. As cepas não foram identificadas quanto à espécie. O delineamento escolhido foi inteiramente ao acaso, com setes tratamentos e 3 repetições, sendo dez largadas por repetição. O tratamento um era o controle, o dois, produto biológico a base de Bt., o três, quatro, cinco e seis eram cepas do laboratório e o tratamento sete foi utilizado um produto químico a base de clofenapir. Foram aplicados 20µl de cada produto em cada lagarta. Observou-se que apenas o tratamento sete obteve diferença estatística dos demais, conseguindo atingir uma mortalidade de 100%.

PALAVRAS-CHAVE: Cepas. Inseticida. Biológico.

ABSTRACT: Fall armyworm is one of the main pests that attack Brazilian crops, and it has a difficult control due to the inefficiency of products used. The objective of the work was to select new isolates of *Bacillus* sp. for *S. frugiperda* control. The experiment was conducted in the Genetics and Biotechnology Laboratory of the University Center of Patos de Minas. Mass rearing neonate worms were used. *Bacillus* sp. strains used belong to the laboratory. The strains were not identified at species level. The design was entirely randomized, with seven treatments and three replicates, with ten starts per replicate. Treatment one was control, two was a biological product based on Bt.,

treatments three, four, five and six are laboratory strains, a chemical based on clofenapir was used in the seventh treatment. 20µl of each product were applied to each worm. It was observed that just treatment seven obtained statistical difference from the others, achieving a mortality rate of 100%.

KEYWORDS: Strains. Insecticide. Biological.

INTRODUÇÃO

A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada uma das principais pragas que atacam as lavouras do Brasil. Por ser uma praga polífaga, ela ataca mais de 50 culturas comerciais, como algodão, arroz, milho, milho, sorgo e soja (OMOTO *et al.*, 2013). O prejuízo causado pela lagarta pode chegar até 50%, (SILVA; FORESTI, 2016).

Essa praga ataca todo o ciclo da cultura, desde a emergência até o pendoamento e, no caso da cultura do milho, acontece uma perda significativa. As lagartas recém-eclodidas atacam as folhas, raspando-as superficialmente, deixando-as desprotegidas, o que facilita o ataque de outras pragas ou patógenos. Após o ataque da folha, a lagarta se aloja no cartucho da planta, destruindo, causando danos extremos, que aumentam no período de seca (CRUZ; VIANA; WAQUIL, 2002).

Além da queda na produção, causando outros prejuízos para o produtor, a lagarta é responsável pelo aumento do custo de produção, devido ao aumento do número de aplicações de inseticidas para o manejo da praga, inseticidas que, muitas vezes, são químicos. Na cultura do milho, o custo operacional pode ser de aproximadamente 15%, segundo Siloto (2002). Segundo Sarmiento *et al.* (2002), a utilização de inseticidas químicos deve ser de uma forma racional, devido aos riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Problemas importantes causados por inseticidas são a eliminação dos inimigos naturais da lagarta do cartucho e a seleção de biótipos resistentes aos mecanismos de ação (OMOTO *et al.*, 2013).

A lagarta do cartucho é uma praga de difícil controle, devido a seu ciclo de vida precoce e a sua alta capacidade de reprodução. Uma fêmea faz uma postura de aproximadamente 300 ovos em uma folha. A fácil dispersão e uma condição ambiental favorável em todas as regiões do Brasil favorecem sua sobrevivência. O manejo inadequado da cultura é um problema que favorece a praga, devido ao cultivo sucessivo de um mesmo material, possibilitando a sobrevivência da população da lagarta. Um problema é o de seleção de indivíduos resistentes, seja ele pelos inseticidas, pelo material vegetação, por produtos biológicos ou por inimigos naturais. Outro fator que favorece a sobrevivência da *S. frugiperda* é sua alta gama de hospedeiro, podendo ser culturas comerciais e plantas daninhas, chamados hospedeiros alternativos (OMOTO *et al.*, 2013). Segundo Omoto *et al.* (2013), existem números variados desses hospedeiros alternativos, como acelga (*Beta vulgaris* Linn), alcachofra (*Cynara scolymus* L.), e culturas como citrus (*Citrus* spp), alho (*Allium cepa* L.) e cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

Um método muito utilizado e eficiente de manejo da praga é o uso de plantas resistentes ao inseto, que possui vantagens ambientais e econômicas (SILOTO, 2002).

Outras vantagens do uso de plantas geneticamente modificadas são a redução da perda causada pela praga, segundo Beltz, Hammond e Fuchs (2000), uma queda no uso de inseticidas evitando gastos (ROMEIS; MEISSLE; BIGLER, 2006) e, segundo Gould (1998), é um método bastante seletivo, que afeta só praga, não afetando inimigos naturais. O uso de plantas transgênicas já não apresenta um controle efetivo, devido à alta pressão de seleção e ao desrespeito ao plantio das áreas de refúgio (OMOTO *et al.*, 2013). São colocadas dezenas de materiais melhorados geneticamente por instituições e empresas produtoras de sementes (SILOTO, 2002). Mas, para que isso ocorra, é preciso anos de pesquisa para que esse material chegue ao mercado, pois um programa de melhoramento genético de planta exige um planejamento minucioso e várias etapas para ser concluído.

Uma alternativa que vem sendo muito utilizada é o controle biológico, conforme Valicente (2003). Controle biológico consiste em utilização de inimigos naturais, como predadores, parasitas e parasitoides (SALLES, 1995). A lagarta do cartucho é susceptível ao ataque de inimigos naturais, motivo pelo qual eles devem ser preservados (SARMENTO *et al.*, 2002).

Entre esses inimigos naturais destaca-se a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner, 1911 (Eubacteriales: Bacillaceae). Conforme Valicente (2010), é uma bactéria Gram positiva que ocorre em diferentes ambientes naturais, como solo, água, poeira, insetos e material vegetal. Essa bactéria sintetiza uma substância proteica em forma de cristal, durante sua fase estacionária vegetativa, dentro do compartimento da célula-mãe. Esse é um mecanismo de resposta sobre uma situação desfavorável, que é uma forma de produzir resistência, que consiste na produção do esporo. A esporulação é dada devido à falta de nutriente (ERRINGTON, 1993).

É muito utilizado o Bt por ser uma forma de controle seguro aos humanos e meio ambiente (CAMPANINI *et al.*, 2012). É um patógeno para insetos, sendo seguro para mamíferos, pois esse cristal reage em ambiente básico, característica do sistema dos insetos. Os mamíferos possuem o estômago ácido, não tendo nenhuma reação com a toxina. Outro fator importante é que cada gene da bactéria produz um cristal específico, que são chamados Cry. São cinco os principais Cry que controlam pragas (VALICENTE, 2010).

Há vários estudos que comprovam que a tecnologia Bt é eficiente no controle de *S. frugiperda* (BECHELENI; SALES; CAMPOLINO, 2017; GALZER; AZEVEDO FILHO, 2016; OMOTO *et al.*, 2013; VALICENTE, 2003; DEQUECH *et al.*, 2007; POLANCZYK, 2004; LOGUERCIO; CARNEIRO; CARNEIRO, 2002; VALICENTE *et al.*, 2000; KNOWLES, 1994; HÖFTE; WHITELEY, 1989). Entretanto, o uso excessivo de produtos à base de Bt sem o uso de áreas de refúgio ocasiona seleção de lagartas resistentes, tornando importante a contínua busca por novas cepas de Bt que apresentem toxinas novas e/ou mais letais.

Dessa forma, o objetivo do trabalho foi selecionar, em laboratório, novos isolados de *Bacillus* sp. que apresentem potencial para uso no manejo de *S. frugiperda*.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de Genética e Biotecnologia

(GENEB) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), durante o período setembro a outubro de 2018.

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas no ensaio foram obtidas através de ovos oriundos de criação massal mantida no próprio GENEB, criadas de acordo com a metodologia de Parra *et. al.* (2002). Foram utilizadas apenas lagartas neonatas no experimento.

As cepas de *Bacillus* sp. utilizadas no bioensaio são pertencentes ao acervo do GENEB e não foram identificadas a nível de espécie. As bactérias foram fermentadas em erlemeyers em meio de cultura Luria Bertani (LB) (triptona 10 g.L⁻¹, extrato de levedura 5 g.L⁻¹, cloreto de sódio 5 g.L⁻¹) agitada em mesa horizontal, na velocidade de 106 rotação por minuto (RPM), com temperatura de 27 °C, durante 72 horas.

O bioensaio foi montado em copos plásticos com tampas e foi utilizada dieta artificial para *S. frugiperda* preparada de acordo com Parra *et al.* (2002). Foram utilizados sete tratamentos, sendo quatro cepas de *Bacillus* sp., um tratamento controle, onde utilizou água destilada e dois inseticidas registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo estes utilizados no controle da lagarta na região (Tabela 1). Os tratamentos foram distribuídos em alíquotas de 100 µL na superfície da dieta artificial, com auxílio de pipeta automática. Após a evaporação do excesso de umidade, lagartas de primeiro ínstar foram distribuídas individualmente.

Tabela 1. Tratamentos realizados no bioensaio, Patos de Minas, MG

Tratamentos	Descrição
T1	Controle
T2	<i>B. thuringiensis</i> subs. <i>kurstaki</i> (Thuricide)
T3	Cepa 987
T4	Cepa 988
T5	Cepa 995
T6	Cepa 997
T7	Clorfenapir (Pirate)

Fonte: Dados do trabalho (2018)

O material foi acondicionado em sala de crescimento com temperatura de 27 C° e 12 horas de fotofase. A mortalidade das lagartas foi avaliada durante 20 dias após a montagem do experimento. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições de 10 lagartas, totalizando 30 lagartas por tratamento. A porcentagem de mortalidade de larvas foi corrigida pela fórmula de Abbott (1925). Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Levene e Shapiro-Wilks, para testar a normalidade e a homogeneidade das variâncias, respectivamente. Posteriormente realizou-se a análise de variância e as médias foram comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total das quatro cepas testadas, nenhuma obteve resultado satisfatório, juntamente com o produto biológico registrado pelo MAPA, que não se diferenciaram do tratamento controle. O tratamento que leva o inseticida químico Clorfenapir (Pirate) obteve um melhor resultado sobre os demais, sendo o único diferente

estatisticamente (Tabela 2).

Tabela 2. Mortalidade de lagartas neonatas de *S. frugiperda* após 20 dias de aplicação dos tratamentos, Patos de Minas, MG

Tratamentos	Nº de lagartas mortas	Mortalidade(%)
Controle	1,00 b	10,0
<i>B. thuringiensis</i> subs. <i>kurstaki</i>	1,67 b	7,4
Cepa 987	0,67 b	0
Cepa 988	0,67 b	0
Cepa 995	1,33 b	3,6
Cepa 997	1,00 b	0
Clorfenapir	10,0 a	100,0

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Dados do trabalho (2018)

Em um trabalho de eficácia de inseticidas para o controle de *Spodoptera frugiperda*, Vivan, Rodrigues e Barreira (2017) observaram que o produto a base de Clorfenapir (Pirate) obteve um resultado satisfatório no controle dessa praga. Grigolli (2017) obteve resultados satisfatórios com o mesmo produto ao comparar diferentes inseticidas químicos, onde o Pirate se sobressaiu dos demais com médias superiores.

Pelo desconhecimento sobre a espécie do *Bacillus*, não dá para afirmar que essas cepas são da espécie *Bacillus thuringiensis*. Assim, podem ser de uma espécie que não possui essa característica de produção de toxinas para o controle de *S. frugiperda*. A espécie de *B. thuringiensis* é dividida em várias subespécies, dessas a maioria sendo ativas contra a ordem dos Lepidóptera. As espécies do gênero *Spodoptera* possuem uma baixa suscetibilidade a grande parte das delta-endotoxinas, segundo Valicente (2010). Isso mostra que as cepas podem ser Bt, mas que não possuem ação letal na espécie *Spodoptera frugiperda*.

As cepas não obtiveram controle diferente da testemunha, devido ao fato de serem cepas que não produzem toxinas para a neutralização da lagarta. Um fato que pode ter ocorrido é que as cepas não produziram os cristais letais para lepidópteras. Segundo Valicente (2010), cada cristal produzido a partir da bactéria tem funções inseticidas específicas, para cada ordem de inseto, mostrando que essas cepas de Bt podem ser danosas a outra ordem. Mendes *et al.* (2009) compararam 100 cepas de *B. thuringiensis* de amostra de solos tiradas do Alto Paranaíba, onde apenas cinco obtiveram uma boa eficiência no controle de *Spodoptera frugiperda*.

Uma alternativa para que explique o fato da bactéria não ter controlado o inseto é que não houve produção de cristal protéico, que são tóxicos às lepidópteras. Segundo Valicente (2005), esse cristal é produzido na fase vegetativa estacionária da bactéria, essa proteína é acumulada dentro do compartimento da célula-mãe, quando essa bactéria é submetida a uma condição de estresse, como forma de resistência. Errington (1993) explicou que a esporulação é dada pela falta de nutrientes no meio de cultivo, que possui uma duração de 8 horas, induzindo uma sequência de mudanças fisiológicas e morfológicas. Como no meio produzido no trabalho as condições eram bem favoráveis ao microrganismo, não aconteceu a produção do cristal.

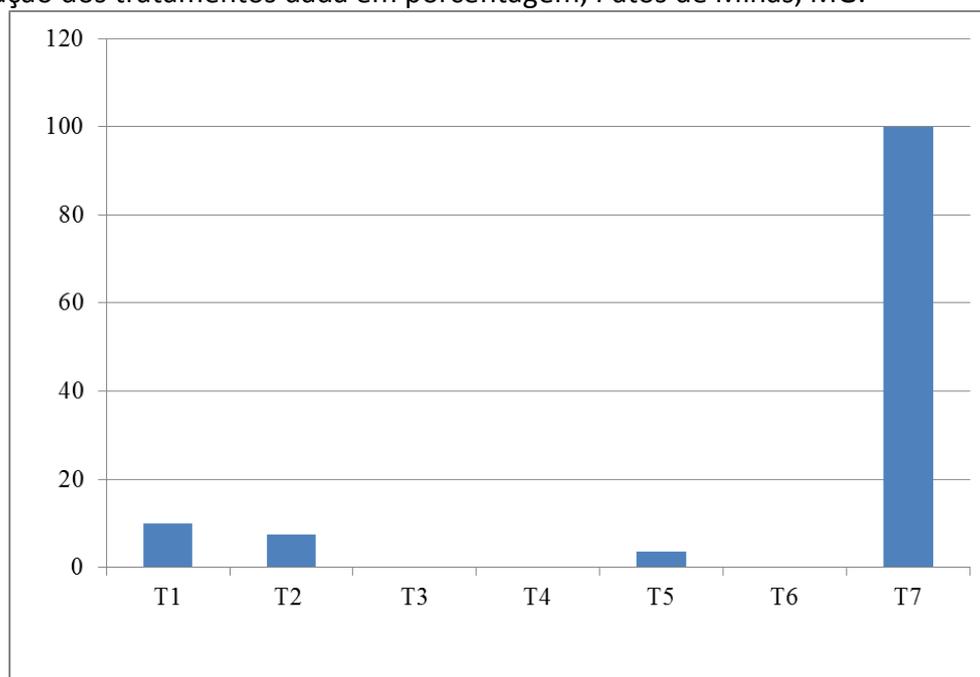
Beltrão e Silva-Filha (2007), trabalhando com *Bacillus thuringiensis* no controle

de díptera, salientaram que uso do cristal proteico (Cry) isolado tem uma eficiência muito baixa ou, às vezes, não funciona. Esse fato mostra que o cristal, se foi produzido, não fez efeito no controle da *S. frugiperda*.

Em um estudo sobre herança da resistência de *Spodoptera frugiperda*, Valicente (2003) mostrou que há vários indivíduos de diferentes linhagens, com diferentes casos de resistência. A resistência se dá devido ao fato que um gene recessivo do indivíduo sobrepõe sobre os demais, característica essa que pode ser expressa de diversas formas, seja ela fisiológica ou morfológica. Como essa resistência está no Ácido desoxirribonucleico (DNA), ela pode ou não ser passada para próxima geração. Segundo Yu (1993) e Tan e McCaffery (1999), essa herança não apresenta um padrão nas lepidópteras, devido à existência de diferentes mecanismos de resistência nas linhagens. As larvas trabalhadas nos ensaios são de mesma origem materna, sendo assim podem ter herdado algum mecanismo de resistência aos produtos tratados.

No tratamento dois obteve o resultado semelhante ao da testemunha (Gráfico 1). Um dos fatores que influenciou baixa eficácia do produto a base de *Bacillus thuringiensis* va. Kurtakis sobre a lagarta do cartucho foi o fato dessa espécie ser de alta resistência a essa subespécie Bt. Isso foi explicado por Navon (1993), que trabalhou com controle de lepidópteras com produtos à base de *Bacillus thuringiensis*.

Gráfico 1 . Mortalidade corrigida de lagartas neonatas de *S. frugiperda* após 20 dias de aplicação dos tratamentos dada em porcentagem, Patos de Minas, MG.



Fonte: Dados do trabalho (2018)

Os produtos que têm um período alto de prateleira perdem sua eficiência. O fato é que deve ter ocorrido contaminação na hora de preparar do produto. Por ser um biológico, ele pode ter perdido sua eficiência, por estar em contato com um indivíduo antagonista.

CONCLUSÃO

As cepas testadas de *Bacillus* não obtiveram resultado diferente da testemunha no controle da *S. frugiperda*. O produto comercial Pirate obteve um resultado satisfatório no controle da praga.

REFERÊNCIAS

- BECHELENI, F. R. C.; SALES, M. L.; CAMPOLINO M. L. **Aplicação biotecnológica da bactéria *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da Lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda***. Disponível em: journal.faculdadecienciasdavida.com.br/index.php/RBCV/article/download/295/70/+&cd=6&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br. Acesso em: 16 out. 2018.
- BELTRÃO, H.B.M.; SILVA-FILHA, M.H.N.L. Interaction of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis Cry toxins with binding sites from *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae midgut. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 266, n. 2, p. 163-169, 2007.
- BETZ, F. S.; HAMMOND, B. G.; FUCHS, R. L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Duluth, v. 32, p. 156-173, 2000.
- CAMPANINI, E. B.; DAVOLOS C. C.; ALVES E. C.; LEMOS MV. Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains that contain Dipteran-specific cry genes from Ilha Bela (São Paulo, Brazil) soil samples. **Brazilian Journal of Biology**, Jaboticabal, v. 72, p. 243-247, 2012.
- CRUZ I.; VIANA P. A.; WAQUIL J. M. Cultivo do milho pragas da fase vegetativa e reprodutiva. **Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento**. Sete lagoas - MG, v. 1., n. 1, 2002.
- DEQUECH, S. T. B.; FIUZA, L. M.; SILVA, R. F. P.; ZUMBA, R. C. Histopatologia de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae) infectadas por *Bacillus thuringiensis* aizawai e com ovos de *Campoletis flavicincta* (Hym., Ichneumonidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 273-276, jan./fev., 2007.
- ERRINGTON, J. V. *Bacillus subtilis* sporulation: regulation of gene expression and control of morphogenesis. **Microbiol. Ver.**, v. 57, p. 1-33, 1993.
- GALZER E. C. W.; AZEVEDO FILHO W. S. Utilização do *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, Caxias do Sul, v. 1, n. 1, 2016.
- GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 43, n. 1, p. 701-726, 1998.

GRIGOLLI, J. F. J. Manejo e Controle da Lagarta Do-Cartucho *Spodoptera* spp. na Cultura Do Milho. **Tecnologia e Produção: Milho Safrinha**, Maracaju, p. 120-124, 2017.

HÖFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 53, p. 242-255, 1989.

KNOWLES, B. H. Mechanisms of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal dendotoxins. **Advances in Insect Physiology**, v. 24, n. 2, p. 275-308, 1994.

LOGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, N. P.; CANEIRO A. A. Milho Bt: alternativa tecnológica no controle de insetos-pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 24, p. 46-52, jan./fev. 2002.

MENDES L. S.; CARVALHO L. A.; NAKAO A. M.; OLIVEIRA T. G. M.; CUNHA W. V. Seleção de cepas de *Bacillus thuringiensis*, na região do Alto Paranaíba, para controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*). **Perquirere**, Patos de Minas, v. 6, p. 09-16, out. 2009.

NAVON, A. Control of lepidopteran pests with *Bacillus thuringiensis*. In: ENTWISTLE, P.F. et al. (Eds). **Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice**. Chichester: John Wiley & Sons, 1993. p. 125-146.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; FARIAS, J. R. Manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas e plantas Bt. **ESALQ/USP**, Piracicaba - SP, jun. 2013.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: (Ed.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16.

POLANCZYK, R. A. **Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. Piracicaba, jan. 2004, 144p.

ROMEIS, J; MEISSLE, M.; BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. **Nature Biotechnology**, New York, v.24, n.1, p.63-71, 2006.

SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas Sul-Americana**. Pelotas: EMBRAPA/CPACT, 1995. p. 58.

SARMENTO, R. A.; AGUIAR, R. W. S.; AGUIAR, R. A. S. S.; VIEIRA, S. M. J.; OLIVEIRA, H. G.; HOLTZ, A. M. Revisão da biologia ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera- Noctuidae) em milho no Brasil. **Biosci.**, v. 18, n. 2, p. 41-48, dez. 2002.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia da *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho.** Piracicaba, 2002.

SILVA, P. R.; FORESTI, J. **Sustentabilidade do Milho ao ataque da Lagarta do cartucho.** Blog Agronegócio em foco 2016. 2016. Disponível em: <http://www.pioneersementes.com.br/blog/125/suscetibilidade-do-milho-ao-ataque-da-lagarta-do-cartucho>. Acesso em: 15 jan. 2019.

TAN, J. G.; McCAFFERY A. R. Expression and inheritance of nerve insensitivity resistance in larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. **Pestic. Sci.**, v. 55, p. 617-625, 1999.

VALICENTE, F. H. **As aplicações do *Bacillus thuringiensis* no controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*.** Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA). 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/309913753_AS_APLICA_COES_DO_Bacillus_thuringiensis_NO_CONTROLE_DA_LAGARTA_DO_CARTUCHO_Spodoptera_frugiperda. Acesso em: 17 out. 2018.

VALICENTE, F. H. *Bacillus thuringiensis*: uso de isolados tropicais no controle da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda*. In: **Livro de Resumos**. 8o Siconbiol. Águas de São Pedro, 2003. p. 60

VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R.; VASCONCELOS, M.J.V.; FIGUEIREDO, J.E.F. DE; PAIVA, E. Identificação através de PCR dos genes cryI de cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner eficientes contra a lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Brasil, v. 29, n. 1, p. 47-153, 2000.

VALICENTE, F.H.; ZANASI, R.F. Uso de Meios Alternativos para Produção de Bioinseticida à Base de *Bacillus thuringiensis*. **Circular técnica**, Embrapa, 4p., 2005.

VIVAN, L. M., RODRIGUES, L. A., BARREIRA, M. Eficácia de inseticidas para o controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, noctuidae) no milho safrinha. **XIV Seminário Nacional de Milho Safrinha**, Cuiabá, 2017.

YU, S. J. Inheritance of insecticide resistance and microsomal oxidases in the diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 86, issue 3, p. 680-683, jun. 1993.