

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

INGRID SCHIMIDT KAISER

**MANEJO DE *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) COM ENTOMOPATÓGENOS**

ALEGRE – ES

2016

INGRID SCHIMIDT KAISER

**MANEJO DE *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) COM ENTOMOPATÓGENOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, na área Fitossanidade (Entomologia).

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

ALEGRE – ES

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

K13m Kaiser, Ingrid Schimidt, 1991-
Manejo de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) com entomopatógenos / Ingrid Schimidt Kaiser. – 2016.
56 f. : il.

Orientador: Dirceu Pratissoli.
Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Lagarta rosca. 2. Controle biológico. 3. Manejo Integrado de pragas. I. Pratissoli, Dirceu. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 63

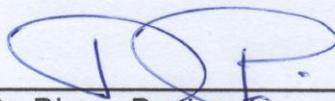
INGRID SCHIMIDT KAISER

**MANEJO DE *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
COM ENTOMOPATÓGENOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, para obtenção do título de mestre em Produção Vegetal, na área de concentração de Fitossanidade (Entomologia).

Aprovada em 1º de julho de 2016.

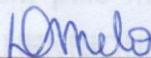
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Dirceu Pratisson
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Hugo Bolsoni Zago
Universidade Federal do Espírito Santo



Dra. Débora Ferreira Melo Fragoso
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICO

Aos meus pais, ADENAUER e EMÍLIA, e o meu irmão, ATOS, pelo amor e que de maneira incondicional sempre me apoiaram, me ajudaram e torceram pelo meu sucesso e ao meu namorado, JOSÉ HENRIQUE, pelo amor, apoio e incentivo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, autor da vida, por todas as bênçãos a mim derramadas, assim como os obstáculos que me fizeram crescer.

Aos meus pais, Adenauer e Emília, meu irmão, Atos, e meu sobrinho, Henrique, por todo amor, carinho, incentivo, esforços sem medida para me ajudar chegar até aqui e compreensão nos momentos que não pude estar junto fisicamente. Vocês fazem parte dessa vitória!

Ao meu amor, José Henrique, por toda paciência, amor, carinho, incentivo e companhia e ajuda em todos os momentos desta jornada.

Aos meus familiares que torceram pelo meu sucesso e de alguma forma me ajudaram até aqui. Ao meu primo Eduardo pelas suas caronas e tornando meus momentos mais alegres NO Alegre.

Ao Professor Dirceu, pela orientação desde a graduação, confiança, atenção e ensinamentos compartilhados.

Ao Professor Hugo Zago pela coorientação e sugestões.

À Débora Fragoso pela amizade, sugestões e por toda sua dedicação ao laboratório.

Aos estagiários, Breno e Sabrina, que me auxiliaram na condução dos experimentos e manutenção da *Agrotis*.

À família Nudemafi: Priscila, Lorena, Laura, Débora Fragoso, Ana Clara, Breno, Sabrina, Luis, Aixelhe, José Romário, Adamastor, Julielson, Rafael, Christian, Romário (Lambari), Leonardo, Carlos Magno, Camila's, Fernando, Anderson, Luana, Victor e aqueles que já foram embora por tornarem meus momentos mais leves e alegres. Ao Léo pelas coletas, Aixelhe nos experimentos de nematoides, todas 'as mãozinhas' na manutenção e a todos que me ajudaram nos momentos que precisei.

Lorena, minha irmãzinha de coração, por sua amizade, auxílio nos experimentos e compartilhar momentos de alegria e tristeza.

Aos professores Adilson e Patrícia e seus alunos pela prontidão em me ajudar e extrair dos óleos essenciais.

Aos representantes da banca examinadora, Hugo Zago e Débora Fragoso, pela prontidão, disponibilidade e sugestões.

Ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade dada à minha formação profissional.

Ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças pela oportunidade de realização dos experimentos e utilização das dependências e materiais.

À empresa KOPPERT Biological Systems pelos nematoides cedidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro para as pesquisas.

A todos que, direto ou indiretamente, contribuíram de alguma forma neste trabalho.

O meu muitíssimo obrigado!

O coração do homem traça o seu caminho, mas o SENHOR lhe dirige os passos.

Provérbios 16:9

Grandes coisas fez o SENHOR por nós, e por isso estamos alegres.

Salmos 126:3

BIOGRAFIA

Ingrid Schimidt Kaiser, nascida no município de Ipanema, Estado de Minas Gerais, no dia 05 de agosto de 1991, criada na cidade de São José do Mantimento, no mesmo estado. Caçula da família composta de dois filhos de Adenauer Kaizer e Emília Kaiser Saar Schimidt. Iniciou seus estudos na Escola Municipal Nilson Teixeira Pinto e conclui o ensino médio na Escola Estadual Orozimbo Gomes de Moraes em 2008. Aos 18 anos ingressou na Universidade Federal do Espírito Santo no dia 05 de agosto de 2009, na cidade de Alegre, com o propósito de se tornar Agrônoma. Durante a graduação, fez parte da equipe do NUDEMAFI, no setor de Entomologia, estagiando e participando do programa de iniciação científica, onde teve a oportunidade de crescer pessoal e profissionalmente. Em 2014 obteve o título de Bacharel em Agronomia e ingressou no Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, sob a orientação do Prof. Dr. Dirceu Pratissoli. Em 1º de julho de 2016, defendeu sua dissertação, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, Área de Concentração em Fitossanidade (Entomologia).

RESUMO

A lagarta rosca, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga encontrada em todo mundo, que ataca diversas culturas e plantas invasoras. É considerada de difícil controle devido ao seu hábito noturno e ficar enterrada abaixo do solo ou abaixo dos restos culturais durante o dia. Desta forma, devem ser estudados métodos de manejo que auxiliem no controle dessa praga e que reduzam a aplicação de agrotóxicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar métodos alternativos de manejo da praga com entomopatógenos, por meio de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) e Nematoides Entomopatogênicos (NEPs) *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) e *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae). Pode se observar que as lagartas de foram suscetíveis aos produtos de Bt, Agree[®] e Dipel[®], e o Agree[®] teve maior efeito sobre as lagartas de 48-72 horas comparado ao Dipel[®]. Não houve diferença entre as CL₅₀ e CL₉₀ entre os produtos e o Agree[®] apresentou maior inclinação da curva resposta (concentração x mortalidade). As espécies de NEPs foram eficientes no controle de *A. ipsilon*, e permaneceram patogênicos no solo por oito dias após a aplicação. A principal forma de manejo tem sido o tratamento de sementes, ou a aplicação direta com inseticidas, sendo que estes métodos podem ocasionar uma série de problemas ao meio ambiente e ao homem. Desta forma, devem ser estudados métodos alternativos de manejo de *A. ipsilon*.

Palavras-chave: Lagarta rosca. Controle biológico. Manejo integrado de Pragas.

ABSTRACT

The black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), is a pest found throughout the world, which attacks various crops and weeds. It is considered to be difficult to control because of its nocturnal habit and also is buried under the soil or under other crops during the day. Therefore, management methods should be studied to assist in the control of this pest and to reduce pesticides use. The objective of this study was to evaluate alternative pest management methods with entomopathogenic through products made of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) and entomopathogenic nematodes (EPNs) *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) and *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae). It can be seen that these black cutworms were susceptible to Bt products, Bt, Agree[®] and Dipel[®], and Agree[®] had the greatest effect on the cutworms of 48-72 hours compared to Dipel[®]. There was no difference between CL50 and CL90 with the other products and Agree[®] showed the steepest response curve (concentration x mortality). The species of EPNs were efficient in the control of *A. ipsilon* and remained pathogenic in the soil eight days after the application. The main management form has been the seed treatment, or direct application, and these methods can cause a number of problems to the environment and to humans. Hence, alternative management methods of *A. ipsilon* should be studied.

Keywords: Black cutworm. Biological control. Integrated Pest Management.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo da análise de variância em relação à mortalidade de diferentes idades lagartas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) sob produtos a base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner).....35

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade por bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner em diferentes idades de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae).....36

Tabela 3. Inclinação da curva e estimativa da CL₅₀ e da CL₉₀ de inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner em lagartas de 0-24 horas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae).....39

Tabela 4. Resumo da análise de variância em relação à mortalidade de lagartas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) inoculadas em diferentes tempos sob nematoides entomopatogênicos.....51

Tabela 5. Porcentagem de mortalidade de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) por nematoides entomopatogênicos.....52

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	13
1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 <i>Agrotis ipsilon</i>	15
2.2 INJÚRIA	17
2.3 MÉTODOS DE MANEJO	18
2.3.1 Controle cultural	18
2.3.2 Controle químico	18
2.3.3 Controle biológico	19
2.3.3.1 Parasitoides.....	19
2.3.3.2 Entomopatógenos	20
2.3.4 Plantas inseticidas	21
3. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	28
RESUMO	28
ABSTRACT	29
1. INTRODUÇÃO	30
2. MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE <i>Agrotis ipsilon</i>	32
2.2 SUSCETIBILIDADE DE <i>Agrotis ipsilon</i> AO <i>Bacillus thuringiensis</i>	33
2.3 ANÁLISE DE PROBIT.....	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.1 SUSCETIBILIDADE DE <i>Agrotis ipsilon</i> AO <i>Bacillus thuringiensis</i>	35
3.2 ANÁLISE DE PROBIT	38
4. CONCLUSÃO	40

5. REFERÊNCIAS	41
CAPITULO III	44
RESUMO.....	44
ABSTRACT.....	45
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	48
2.1 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE <i>Agrotis ipsilon</i>.....	48
2.2 PERSISTÊNCIA DE <i>Steinernema carpocapsae</i> E <i>Steinernema feltiae</i> NO SOLO E EFEITO EM <i>Agrotis ipsilon</i>.....	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4. CONCLUSÃO	53
5. REFERÊNCIAS	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS	56

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Agrotis*, pertencente à família Noctuidae, descrito pela primeira vez por Ochsenheimer em 1816, é diverso e amplamente distribuído pelo mundo, formado por 320 espécies, com 56 espécies descritas na América do Sul (POOLE, 1989; KLEIN-KOCH; WATERHOUSE, 2000; SAM BLAS; GENTIL, 2011).

A espécie *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) é principal praga referida deste gênero, que popularmente é conhecida como “lagarta-rosca”. Recebe este nome vulgar devido ao fato de ficar enrolada durante o dia no solo ou quando tocadas. Em outros países recebe o nome de *Black Cutworm* (lagarta preta cortadeira) devido ao corte de plântulas (CAPINERA, 2006; EBSSA; KOOPPENHÖFER, 2012; MELO, 2013).

É considerada de difícil controle pelo fato de possuir hábito noturno, o que dificulta a visualização no campo, onde durante o dia ficam enterradas ou abaixo dos restos culturais, próximas das plantas que atacam (LINK; PEDROLO, 1987; PRATISSOLI; SANTOS JUNIOR, 2015).

As informações de manejo desta praga no Brasil são escassas, sendo que o controle é feito principalmente com inseticidas sintéticos. De maneira geral, os produtos utilizados são de alta toxicidade e sua utilização é de modo curativo com jato de pulverização dirigido na base da planta. Também é adotado o uso de iscas contendo atrativo em conjunto com um inseticida, além do tratamento de sementes ou de mudas com piretróides (MELO, 2013).

O grande problema ao manejo dessa praga está relacionado na aplicação incorreta de inseticidas, além da utilização de produtos não específicos para a praga em questão. O que acarreta em prejuízos, como a contaminação do meio ambiente e do homem, eliminação de organismos não alvo e seleção de insetos resistentes.

Neste sentido há uma busca por alternativas para a produção de alimentos com menos resíduos de agrotóxicos, menor custo de produção, menor agressão ao meio ambiente e ao homem. Assim, o presente estudo tem por objetivo avaliar métodos alternativos de manejo da praga com entomopatógenos, por meio de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) e Nematoides Entomopatogênicos (NEPs) *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) e *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae), visando o manejo de *A. ipsilon*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Agrotis ipsilon*

A lagarta rosca é de origem incerta embora encontrada em todos os continentes. É uma praga polífaga e já foi observada atacando em média 15 famílias botânicas entre plantas cultivadas e invasoras. Entre as cultivadas, destacam-se milho, batata, feijão, brócolis, repolho, cenoura, espinafre, berinjela, alface, fumo, soja, tomate, nabo, bem como muitas outras culturas (BOUGHTON; LEWIS; BONNING, 2001).

Os adultos são mariposas de hábito noturno e vivem em torno de 13 dias ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$). As asas anteriores variam de pardo a marrom com algumas manchas escuras em forma de punhal em direção à borda exterior, com envergadura média de 35 mm. As asas posteriores são semitransparentes (Figura 1A) (COOK et al., 2003, MOREIRA; ARAGÃO, 2009; PRATISSOLI; SANTOS JUNIOR, 2015).

As fêmeas ovipositam em média 1800 ovos e podem chegar a um total de 3.124 ovos, mostrando elevada capacidade reprodutiva da praga (BENTO et al., 2007). As posturas são feitas de maneira isolada ou em grupos na parte aérea da planta, próximo das plantas hospedeiras ou no solo (CAPINERA, 2006; PRATISSOLI; SANTOS JUNIOR, 2015).

Os ovos são esféricos, com nervuras que irradiam do ápice, brancos no início do desenvolvimento embrionário e tornam-se marrons próximo à eclosão das lagartas. Levam em torno de três dias para eclosão ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$) (Figura 1B) (CAPINERA, 2006; BENTO et al., 2007; GIANNASI, 2014).

As lagartas, por sua vez, são robustas de coloração de cinza ao marrom-escuro, possuem manchas pretas com padrão homogêneo em todo o comprimento do corpo e atingem cerca de 45 mm no último ínstar (Figura 1 C). A fase de desenvolvimento larval dura em média de 25 dias ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$) com seis instares em dieta artificial, porém podem existir variações entre o 5º e 9º ínstar

de acordo com a fonte alimentar. Na fase larval, as lagartas vivem no solo durante o dia enterradas ou sob os restos culturais, próximo das plantas que atacam e no período da noite se alimentam das plantas (BENTO et al., 2007; WHITWORTH, 2011; MELO, 2013; GIANNASI, 2014; PRATISSOLI; SANTOS JUNIOR, 2015).



Figura 1. Ciclo de vida de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae). A) Adulto; B) Ovo; C) Lagarta e dano; D) Pupa. (Fontes: DREILING; CRUZ; HANTSBARGER; MERLE et al).

A fase pupal perdura de 12 a 15 dias e ocorre no solo a uma profundidade de 3 a 7 cm, ocorrendo variações em função do tipo do solo, teor umidade e temperatura (Figura 1D) (LINK; PEDROLO, 1987; CAPINERA, 2015).

A duração ovo-adulto é cerca de 41 dias, podendo ter variações de acordo com a fonte alimentar e o ambiente (Figura 1) (BENTO et al., 2007)

2.2 INJÚRIA

Os danos causados pelas lagartas de *A. ipsilon* é a raspagem do tecido de folhas jovens no início do desenvolvimento das lagartas (primeiros ínstaes) e posteriormente seccionam as plântulas rente ao solo na região do colo, ocasionando a morte (RICHETTI, 2012; MELO, 2013; LINK; PEDROLO, 1987;).

Em cultivos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), soja (*Glucine max* L.) e milho (*Zea mays* L.) as lagartas nos primeiros ínstaes se alimentam do limbo foliar e quando atingem o terceiro ou quarto ínstar seccionam a base das plântulas, cortando-as rente ao solo. Em plantas de girassol (*Helianthus annuus* L.) atacam as raízes as plantas novas e cortam o caule próximo ao solo (SALVADORI et al., 2007, ROSA et al., 2014).

Entre as solanáceas que o inseto ataca, a batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das principais por causar grandes perdas, pois além de seccionar as plântulas, as altas populações do inseto causam perdas direto no produto a ser comercializado, ou seja, os tubérculos no solo. No cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) o ataque tem pequena relevância, devido as frequentes e altas dosagens de inseticidas aplicados na cultura (SILVA et al., 2013).

Em viveiros florestais tem causado grandes problemas, principalmente na cultura de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) quando as mudas ainda apresentam caules tenros, em que uma única lagarta pode cortar dezenas delas em uma noite (ANJOS et al., 1986; SANTOS et al., 2008)

Além destas culturas, a lagarta rosca foi relatada atacando cultivos de abobrinha, agrião, aipo, algodão, alho-poró, beterraba, cebola, cenoura, chicória, espinafre, morango, mostarda, nabo, pastagens, pepino, pimenta, rabanete e salsa, que demonstra seu potencial polífago (VIEIRA, 2013).

O grande prejuízo causado ao ataque da praga é devido ocasionar elevada redução do *stand* e o perfilhamento das plantas atacadas, sendo assim, necessário o replantio destas áreas.

2.3 MÉTODOS DE MANEJO

O manejo dessa praga pode ser realizado através do controle cultural, químico, biológico por meio de parasitoides e/ou entomopatógenos e ainda o uso de plantas inseticidas (VIANA et al., 2003; BENTO; PARRA, 2004; SOUZA, 2005; PRATER et al., 2006; EBSSA; KOPPENHOFER, 2012; MORAES; FOERSTER, 2012; HARRISON, 2014)

2.3.1 Controle cultural

Uma das maneiras para se manter *A. ipsilon* abaixo do nível de dano econômico é a manutenção da área a ser cultivada, eliminando plantas daninhas e restos culturais que podem ser hospedeiros da praga. Recomenda-se ainda o revolvimento do solo com aração e gradagem para expor as lagartas e pupas encontradas no solo aos raios solares que são prejudiciais ao inseto e torná-las suscetíveis a predadores (VIANA et al., 2001; VIANA et al., 2003, CAPINERA, 2015).

Porém, para isso faz-se necessário um planejamento que antecipe o plantio, uma vez que, a partir do momento que o plantio é realizado torna-se inviável o revolvimento do solo.

2.3.2 Controle químico

Um dos principais problemas da baixa eficiência do uso do controle químico de *A. ipsilon* é devido a seu hábito noturno e subterrâneo, se escondendo durante o dia dificultando o alcance dos inseticidas.

O controle químico pode ser feito por meio de inseticidas sistêmicos no tratamento de sementes em locais que possuam histórico de incidência da praga e por meio de pulverizações realizadas com alto volume de calda dirigido no colo da planta e de preferência ao entardecer devido a maior atividade do inseto (SOUZA, 2005).

No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento recomenda o uso de inseticidas do grupo organofosforado, piretroides, metilcarbamato e tiocarbamato para determinadas culturas, não abrangendo todas as culturas que são atacadas pela praga, além disso, estes inseticidas são altamente tóxicos e com baixa seletividade a organismos não alvo (AROFIT, 2016).

Apesar de existir produtos recomendados para *A. ipsilon*, há escassos trabalhos que relatem sua eficiência e uso destes à campo.

2.3.3 Controle biológico

2.3.3.1 Parasitoides

Entre alguns organismos que podem ser citados no controle biológico, pode-se mencionar o uso de parasitoides oófgos, no qual as espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são liberados de forma inundativa em campo auxiliando no manejo de diferentes lepidópteros praga (PARRA, 1997; PRATISSOLI et al, 2008 ANDRADE et al., 2011).

Estes parasitoides são estudados abundantemente e utilizados em todo o mundo pela eficiência e facilidade de criação em laboratório (BRITO, 2009; ANDRADE et al. 2011). No parasitismo de ovos de *A. ipsilon* as espécies *T. pretisoum* e *T. atopovirilia* se destacam com 87,2 e 84,4% respectivamente, demonstrando alto potencial de uso no manejo da praga (BENTO; PARRA, 2004).

2.3.3.2 Entomopatógenos

Os microrganismos utilizados no controle biológico como nematoides entomopatogênicos, bactérias, fungos e vírus são vantajosos devido à várias características, como especificidade e a seletividade, alta capacidade de multiplicação e dispersão no ambiente, podem ser empregados em associação com inseticidas seletivos, podem ser produzidos em meios artificiais em grandes quantidades, além da redução da contaminação ambiental e toxicidade ao homem e outros organismos não alvo (ALVES, 1998).

Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae), são uma alternativa para o controle de pragas que vivem no solo sem efeitos negativos sobre inimigos naturais e sem contaminação do meio ambiente e do homem (EBSSA; KOPPENHÖFER, 2012).

Os NEPs são parasitas de insetos e estabelecem uma relação simbiótica com bactérias, que é o agente patogênico. Quando penetram no interior da hemocele do inseto, as células bacterianas são liberadas na hemolinfa onde produzem toxinas que matam o hospedeiro dentro de 48 horas (BATHON, 1996; VOSS et al., 2011; EBSSA; KOPPENHÖFER, 2012). Em lagartas de *A. ipsilon* tem demonstrado alta eficiência no controle, sendo assim, uma alternativa viável para seu manejo (EBSSA; KOPPENHÖFER, 2012; GIANASI, 2014; YAN et al., 2014; IBRAHIM et al., 2015)

Dentre o mercado de bioinseticidas a base de microrganismos o mais utilizados são produtos a base da bactéria, como o *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) que vem sendo utilizada a mais de 70 anos no controle de insetos e representam 53% de todos os bioinseticidas vendidos mundialmente (ALVES, 1998; BRAVO et al., 2011; CPL BUSINESS CONSULTANTS, 2010). São organismos capazes de sintetizar proteínas inseticidas conhecidas como Cry, Vip e Cyt que matam diferentes ordens de insetos (BRAVO et al., 2011).

As proteínas inseticidas podem ser tóxicas a diferentes insetos-praga da ordem Coleoptera, Diptera, Hymenoptera e Lepidoptera, sendo mais usado no controle de Lepidoptera. Na literatura há vários representantes da ordem Lepidoptera, família Noctuidae, como *Helicoverpa armigera* (Hübner),

Helicoverpa zea (Boddie), *Heliothis virescens* (Fabricius), *Mamestra brassicae* (Linnaeus), *Spodoptera frugiperda* (Smith), *Spodoptera littoralis*, *A. ipsilon*, *Agrotis segmentum* (Denis; Schiffermüller), que são suscetíveis às proteínas de Bt (LAMBERT et al., 1996; KLOSS, 2011; GEORGE; CRICKMORE, 2012; MORAES; FOERSTER, 2012; HAMADOU-CHARFI et al., 2015).

A ação dessas proteínas nos insetos se dá por dois passos, em que o primeiro é a ligação inicial de toxinas com um receptor específico no intestino médio e em seguida pela ruptura da membrana através da integração da proteína com a membrana apicais das microvilosidades, onde ocorrem alterações na permeabilidade levando o inseto a um choque osmótico e paralisia e a sua morte devido à inanição e septicemia (ALVES, 1998; BRAVO et al., 2011).

Estudos com diferentes estirpes de *B. thuringiensis* em lagartas de *A. ipsilon*, observa-se que seis causaram 100% de mortalidade e três causaram mortalidade de 75% nos bioensaios seletivos demonstrando o potencial de se usar no controle na praga (MENEZES et al., 2011).

Além destes, outros agentes são relatados no controle biológico de *A. ipsilon* como possíveis ferramentas no manejo, sendo alternativas promissoras, como uso de fungos entomopatogênicos, *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, encontrados naturalmente em solo e causam a morte das lagartas devido às toxinas que estes fungos liberam nos insetos (GABARTY et al., 2014). E ainda o uso de vírus patogênicos conhecidos como baculovírus *Agrotis ipsilon multiple nucleopolyhedrovirus* (AgipMNPV) que são de ação específica, alta virulência e com capacidade de se replicar no hospedeiro (MOSCARDI 1999; PRATER et al., 2006; HARRISON, 2014; WENNMANN; JEHLE, 2014).

2.3.4 Plantas inseticidas

As plantas podem produzir uma variedade de metabólitos secundários, e que alguns destes metabólitos interferem no crescimento, desenvolvimento e na

sobrevivência dos insetos (MEKHLIF, 2009; JUNG et al., 2013; CARVALHO et al., 2014; SHARABY; EL-NOJIBAN, 2015). Diante disso, o uso de óleos essenciais pode ser adotado no manejo integrado de pragas, podendo atuar por contato, ingestão, fumigação, ovicida e repelência. Estes podem ser obtidos por diferentes órgãos da planta e são constituídos por misturas complexas de compostos orgânicos voláteis produzidos como metabólitos secundários nas plantas, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides, ésteres e outras substâncias de baixo peso molecular (SOUZA, 2005; BRITO et al., 2006).

Estudos com óleos essenciais no controle de *A. ipsilon*, demonstram a eficiência do uso de tais produtos, como o óleo de neem, azevém, anis, canela, nim e parafina, com redução de danos causados pelas lagartas em testes de casa de vegetação, sendo o óleo de neem causou até 100% de mortalidade (LEE; POTTER, 2013)

Além disso, trabalhos com efeitos subletais verifica-se deformações em pupas e adultos, redução no peso das lagartas, na eclosão dos ovos e na fertilidade das fêmeas em insetos da mesma espécie (SHADIA et al., 2007; JEYASANKAR, 2012; LEE; POTTER, 2013; EL-NOJIBAN, 2015).

Dessa forma, o uso de produtos botânicos ressurgem como uma opção no manejo de pragas, e que associado com outros métodos de controle pode reduzir o uso de inseticidas sintéticos que causam problemas aos organismos não alvo e ao meio ambiente.

3. REFERÊNCIAS

- AGROFIT – Disponível em: <http://www.embrapa.br/links/agrofit> Acesso em: 25 mai. 2016.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.
- ANDRADE G. S.; PRATISSOLI D.; DALVI L. P.; DESNEUX N.; GONÇALVES H. J. Performance of four *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as biocontrol agents of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) under various temperature regimes. **Journal Pest Science**. n. 2, Vol. 84, p.313–320, 2011
- ANJOS, M.; LUDWIG, A.; SANTOS, G. P.; MOREIRA, J. F. Eficiência de três produtos químicos e de um processo mecânico no controle de lagartas-rosca em mudas de *Eucalyptus grandis* Hill ex-Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 5, n. 2, p. 218-223, 1981.
- BATHON H. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. **Biocontrol Sci Tech**, v.6, p. 421–434, 1996.
- BENTO, F. M. M.; MAGRO, S. R.; FORTES, P.; ZÉRIO, N. G.; PARRA, J. R. P. Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Agrotis ipsilon* em dieta artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p.1369-1372, 2007.
- BENTO, F. M. M.; PARRA, J. R. P. Seleção de linhagens de *Trichogramma* spp. para controle de *Agrotis ipsilon*. **XX Congresso Brasileiro de Entomologia - Setembro/2004 - Gramado/RS – Brasil**
- BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S., SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect biochemistry and molecular biology** n.7, v.41, p.423-431, 2011.
- BRITO, A. R. S. **Extratos de *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2009. 71 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, 2009.
- CAPINERA, J. L. 2015. **Common name: black cutworm, Scientific name: *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)**. Disponível em: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/black_cutworm.htm.> Acesso em: 30 jan. 2016.
- CAPINERA, J.L. 2006. **Black Cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)**. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN70300.pdf>> Acesso em: 30 jan. 2016.
- CARVALHO, S. S.; VENDRAMIM, J. D.; DE SÁ, I. C. G.; DO PRADO RIBEIRO, L.; FORIM, M. R. Efeito inseticida sistêmico de nanoformulações à base de nim sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em tomateiro. **Bragantia**, n. 3 v. 74, p. 298-306, 2015
- COOK. K.A.; RATCLIFFE, S.T.; GRAY, M.E.; STEFFEY, K.L. **Black Cutworm (*Agrotis ipsilon* Hufnagel)**. University of Illinois, Department of Crop Sciences,

2003. Disponível em:

<http://ipm.illinois.edu/vegetables/insects/black_cutworm.pdf> Acesso em : 15 fev. 2016.

CPL BUSINESS CONSULTANTS. **The 2010 worldwide biopesticides market summary**. Walingford: CAB International Centre, 2010. v. 1, p. 1-39.

CRUZ, I. Ovo de *Agrotis ipsilon*. Disponível em:

<<http://panorama.cnpms.embrapa.br>> Acesso em 08 fev. 2016.

DREILING, M. **Black cutworm (*Agrotis ipsilon*) (Hufnagel)**. Disponível em: <<http://www.ipmimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5461221>> Acesso em 08 fev. 2016.

EBSSA, L.; KOOPPENHÖFER, A. Entomopathogenic nematodes for the management of *Agrotis ipsilon*: effect of instar, nematode species and nematode production method. **Pest Management Science**. n. 6, v. 68 , p. 947-957, 2012.

GABARTY, A.; SALEM, H. M.; FOU DA, M. A.; ABAS, A. A.; IBRAHIM, A. A. Pathogenicity induced by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in *Agrotis ipsilon* (Hufn.). **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 7, n.1, p. 95-100, 2014.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI F., 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. 920p.

GEORGE Z.; CRICKMORE N. **Bacillus thuringiensis applications in agriculture**. *Bacillus thuringiensis* Biotechnology. Springer Netherlands. p. 19-39. 2012

GIANNASI, A. de O. **Aspectos biológicos de *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hufnagel, 1767) e testes com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) visando o seu controle**. 2014. 67 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2014.

HAMADOU-CHARFI, D.B.; SAUER A. J.; ABDELKEFI-MESRATI, A.; TOUNSI, S.; JAOUA S.; STEPHAN S. Susceptibility of *Agrotis segetum* (noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* and Analysis of Midgut Proteinases. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**. v. 45, n. 5, p. 411-420, 2015.

HANTSBARGER, W. M. **Black cutworm (*Agrotis ipsilon*) (Hufnagel)**.

Disponível em:

<<http://www.ipmimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5361045>> Acesso em 08 fev. 2016

HARRISON, R. L. Concentration-and time-response characteristics of plaque isolates of *Agrotis ipsilon multiple nucleopolyhedrovirus* derived from a field isolate. **Journal of invertebrate pathology** v. 112, n. p. 159-161, 2013.

IBRAHIM, S. A. M.; TAHA, M.A.; SALEM, H. H. A.; FARGHALY, D. S. Changes in enzyme activities in *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera, Noctuidae) as a response to entomopathogenic nematode infection. **International Journal of Advanced Research**. v. 3, n. 5, p.111-118, 2015.

- JEYASANKAR, Alagarmalai. Antifeedant, insecticidal and growth inhibitory activities of selected plant oils on black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel)(Lepidoptera: Noctuidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v.2, p. S347-S351, 2012.
- JUNG, P. H., SILVEIRA, A. C., NIERI, E. M., POTRICH, M., SILVA, E. R. L., & REFATTI, M. Atividade inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 191-196, 2013.
- KLEIN-KOCH, C.; WATERHOUSE, D. F. The distribution and importance of arthropods associated with agriculture and forestry in Chile. **Australian Centre for International Agricultural Research**, n.68, p. 234, 2000.
- KLOSS, T. G. **Bacillus thuringiensis e Trichogramma spp. no manejo de populações de Helicoverpa zea (BODDIE, 1850)**. 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2011.
- LAMBERT, B.; BUYSSE, L.; DECOCK, C.; JANSENS, S.; PIENS, C.; SAEY, B.; PEFEROEN, M. A *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein with a high activity against members of the family Noctuidae. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n.1, p.80-86, 1996.
- LEE, D. W.; POTTER, D. A. Effect of Essential Oils and Paraffin Oil on Black Cutworm, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **Weed & Turfgrass Science**. v. 2.n. 1, p. 62-69, 2013.
- LINK, D.; PEDROLO, S.S. Aspectos biológicos de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) em Santa Maria - RS. **Revista de Ciências Rurais**, v.17, p. 309-317, 1987.
- MEKHLIF, A. F. Effect of *Melia azedarach* L. and *Ailanthus altissima* Swingle Extracts on the Larva Alimentary Tract and Growth of Black Cutworm, *Agrotis ipsilon* Hufn. (Lepidoptera: Noctuidae). **Rafidain journal of science**, v. 20, n..2, p. 8-18, 2009.
- MELO, M. Ataque noturno. **Cultivar HF**. Ano XIV, n. 163, p. 8-9. 2013
- MENEZES, R. S.; DUMAS, V. F.; MARTINS, É. S.; PRAÇA, L. B.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* tóxicas a *Agrotis ipsilon*. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 8, v. 2, p.1-13, 2011.
- MERLE, S.; CARNER, G. R.; OOI, P. A. C. **Black cutworm (Agrotis ipsilon) (Hufnagel)**. Disponível em: <<http://www.ipmimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5368060>> Acesso em 08 fev. 2016.
- MORAES, C. P; FOERSTER, L. A.; Toxicity and residual control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) with *Bacillus thuringiensis* Berliner and insecticides. **Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1335-1340, 2012.
- MOREIRA, H. J. C; ARAGÃO, F. D. **Manual de Pragas do Milho**. FMC. 2009. 132 p.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. **Annual Review Entomology**. v. 44, p. 257-289, 1999.

- PARRA, J.R.P. Técnica de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba, FEALQ, p.121-150, 1997.
- POOLE, R.W. *Lepidopterorum Catalogus* (new series). Fascicle 118. Noctuidae. Part 1-3. E. J. Brill / **Flora & Fauna Publications**, Leiden, New York, Kobenhavn, Köln, 1314 pp. 1989.
- PRATER, C. A., REDMOND, C. T., BARNEY, W., BONNING, B. C., & POTTER, D. A. Microbial control of black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) in turfgrass using *Agrotis ipsilon* multiple nucleopolyhedrovirus. **Journal of economic entomology**, v. 99, n. 4, p.1129-1137, 2006.
- PRATISSOLI D; POLANCZYK RA; HOLTZ AM; DALVI LP; SILVA AF; SILVA LN. 2008. Selection of *Trichogramma* species for controlling the Diamondback moth. **Horticultura Brasileira**, v.26, n.2, p.259-261, 2008.
- PRATISSOLI, D.; SANTOS JUNIOR, H. J. G. Lagarta rosca. In: PRATISSOLI, D. **Pragas emergentes no Estado do Espírito Santo**. 1ed. Alegre – ES: UNICOPY, 2015, Cap. 19, p. 134 – 140.
- RICHETTI, A. **Viabilidade econômica da cultura do milho safrinha, em Mat Grosso do Sul**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2012. 11p. (Comunicado Técnico 182).
- ROSA, A. P. S. A. da; MARTINS, J. F. da S.; NAVA, D. E.; BOTTON, M.; GARCIA, M. S.; FREITAS, T. F. S. de. Diagnóstico da situação das pragas de solo no estado do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE PRAGAS DE SOLO, 2013, RONDONÓPOLIS. **ANAIIS DA XIII REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO**. RONDONÓPOLIS : FUNDAÇÃO MT, 2013.
- SALVADORI, J.R.; PEREIRA, P.R.; SILVA, M.T.B.; OLIVEIRA, J.V.; BOTTON, M.; NAVA, E.; COSTA, E.C. In: 10ª REUNIÃO SUL-BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO. Dourados, 2007. **Anais e Ata**. Dourados Embrapa Agropecuária Oeste, 2007. p. 46-52.
- SAN BLAS, G.; GENTIL, M. O. Descripción de una nueva especie del género *Agrotis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 70, n. 1-2, p. 93-97, 2011.
- SANTOS, R. L. G.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; PIRES, E. M. Pragas de eucalipto. **Informe Agropecuário**, v. 29, p. 71-85, 2008.
- SCHMIDT, D. J.; REESE, J.C. the effects of physiological stress on black cutworm (*Agrotis ipsilon*) larval growth and food utilization. **Journal of Insect Physiology**. v. 34, n. 1, p. 5-10, 1988.
- SHADIA, E.; EL-AZIZ, A.; OMER, E. A.; SABRA, A. S. Chemical composition of *Ocimum americanum* essential oil and its biological effects against *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 3, n. 6, p. 740-747, 2007.
- SHARABY, A.; EL-NOJIBAN, A. Evaluation of some plant essential oils against the black cutworm *Agrotis ipsilon*. **Global Journal of Advanced Research**. v. 2, n.4, p. 701-711, 2015.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L.S.; FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; BRANCO, M.C.; MEDEIROS, M.A.; MAROUELLI, W.; SILVA, W.L.C.; LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C.; NASCIMENTO, W.M.; PEREIRAI, W. **Cultivo de tomate para industrialização**. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial/autores.htm>, Acesso em: 13 abr. 2016.

SOUZA, J. C. **Principais aspectos sobre as pragas do milho em plantios direto e convencional**. Circular técnica da Epamig, 180: 2005

VIANA, P. A.; CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; FERREIRA, B. S. C. Manejo de pragas em agroecossistemas sob plantio direto. **Informe Agropecuário**, v.22, n.20B, p. 63-72, 2001.

VIANA, P. A; CRUZ, I.; WAQUIL, J. M. Manejo de Pragas na Cultura do Milho Irrigado. In: RESENDE, M.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; COUTO, L. (Org.). **A Cultura do Milho Irrigado**. 1ed. Brasília - DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003, v. Cap. 6, p. 127-156.

VIEIRA, M.M. Pragas agrícolas, ornamentais e florestais para as quais se admite o uso de produtos fitofarmacêuticos em Portugal. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Entomologia**, v. 227, p. 213-256, 2013.

VOSS, M.; ANDALÓ, V.; NEGRISOLI JÚNIOR, A. S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. **Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização de nematoides entomopatogênicos**. 2011. Documento 199 – Embrapa. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do119.pdf>. Acesso em 16 fev. 2016.

WENNMANN, JÖRG T., AND JOHANNES A. JEHLE. Detection and quantitation of *Agrotis baculovirus* in mixed infections. **Journal of virological methods**, v. 197, p. 39-46, 2014.

WHITWORTH, R. J. 2011. **Black Cutworms**. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service. Disponível em: <<http://www.bookstore.ksre.ksu.edu/pubs/mf2954.pdf> > Acesso em : 02 de .maio de 2016.

YAN, X.; WANG, X.; HAN, R.; QIU, X. Utilisation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., for the control of *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera, Noctuidae) in China. **Nematology**, v.16, p.31-40, 2014.

CAPÍTULO II

BIOINSETICIDAS À BASE De *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) NO MANEJO DE *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO

A lagarta rosca, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga cosmopolita e polífaga, que ataca diversas culturas e plantas invasoras. É considerada de difícil controle devido ao seu hábito noturno e ficar enterrada ou abaixo de restos culturais. Uma das alternativas de manejo é o controle biológico com o uso de bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), sendo uma opção viável no controle da praga. Deste modo, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência de bioinseticidas, Agree[®] e Dipel[®] à base de *B. thuringiensis* sobre *A. ipsilon*. Para execução dos experimentos, foram utilizadas bandejas com microtubos de acrílico contendo ¼ de dieta artificial. Em cada microtubo foi pipetado 50 µL de cada produto na concentração 1×10^8 esporos·mL⁻¹ e inoculado 50 lagarta em cada tratamento, para diferentes idades, acondicionadas individualmente. Foi avaliado a mortalidade durante sete dias e para a idade que proporcionou acima de 90% de mortalidade, foi submetida estimativa da concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀). Os dois produtos avaliados promoveram a mortalidade das lagartas de *A. ipsilon*. A ação de eficiência, na idade de 48-72, do Agree[®] foi maior que do Dipel[®]. Os valores de CL₅₀ e CL₉₀ foi de $9,8 \times 10^5$ e $7,4 \times 10^6$ esporos mL⁻¹ para Agree[®] e $1,3 \times 10^6$ e $1,4 \times 10^7$ esporos mL⁻¹ para o Dipel[®], respectivamente, e não houve diferença (através do intervalo de confiança) entre os valores de CL₅₀ e da CL₉₀ dos produtos. Os resultados encontrados demonstram que os dois produtos comerciais à base de *B. thuringiensis* são alternativas viáveis para o manejo de *A. ipsilon*.

Palavras-chave: Controle microbiano. Lagarta rosca. Manejo Integrado de Pragas

**BIOPESTICIDES MADE OF *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) IN THE
MANAGEMENT OF *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

ABSTRACT

The black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), is a cosmopolitan and polyphagous pest, that attacks various crops and weeds. It is considered to be difficult to control because of its nocturnal habit and also is buried under the soil or under other crops. One of the alternative management, is the biological control with the use of biopesticides made of *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), being a feasible option to control the pest. Therefore, the objective of this study was to evaluate the efficiency of biopesticides, Agree[®] and Dipel[®] made of *B. thuringiensis* on *A. ipsilon*. For the experiments, trays were used with acrylic micro tubes containing ¼ of artificial diet. In each micro tubes were added 50 µL of each product in a concentration of $1 \times 10^8 \text{ mL}^{-1}$ spores and inoculated 50 black cutworms in each treatment, for different ages, individually wrapped. The mortality was evaluated for seven days and for the age that provided above 90% of mortality, and it was submitted an estimate of lethal concentration (CL₅₀ and CL₉₀). The two evaluated products promoted mortality of the *A. ipsilon* cutworms. The efficiency action in the age of 48-72 in Agree[®] was greater than Dipel. The values of CL₅₀ and CL₉₀ was 9.8×10^5 and $7.4 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ spores for Agree[®] and 1.3×10^6 and $1.4 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ spores for Dipel[®], respectively, and there was not difference (through the confidence interval) between the values of CL₅₀ and CL₉₀ in the products. The results showed that the two commercial products made of *B. thuringiensis* are feasible alternatives for the management of *A. ipsilon*.

Keywords: Microbial control. Black cutworm. Integrated Pest Management.

1. INTRODUÇÃO

A lagarta rosca, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga encontrada em todo mundo atacando mais de 30 culturas importantes, tais como, milho, batata, feijão, brócolis, repolho, cenoura, espinafre, berinjela, alface, batata, tomate, nabo, entre outras (BOUGHTON; LEWIS; BONNING, 2001).

No início do desenvolvimento, as lagartas raspam o tecido de folhas jovens e com o seu desenvolvimento começam a seccionar plântulas rente ao solo (região do colo), o que pode ocasionar a morte destas (LINK; PEDROLO, 1987; GALLO et al, 2002; RICHETTI, 2012; MELO, 2013).

A lagarta rosca é considerada de difícil controle pelo fato de ser um inseto de hábito noturno, o que dificulta a visualização no campo durante o dia, além disso, tem como hábito ficar enterrada ou abaixo de restos culturais, próximas das plantas que atacam na maior parte do dia (LINK; COSTA, 1984; LI; CHEN; CHEN, 2002; LI; FAN; ZHANG, 2008).

Dentre as alternativas de controle dessa praga é o controle biológico, em que os agentes bióticos regulam a população da praga, sendo um componente que assume uma importância cada vez maior dentro da estratégia do manejo integrado de pragas, devido à busca por uma agricultura sustentável e que venha agredir menos o ambiente e a saúde humana (PARRA et al., 2002).

Entre os agentes biológicos utilizados, a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) controla diversos insetos, sendo mais eficientes na ordem Lepidoptera. Além disso, é de grande importância principalmente por não apresentar toxidez a mamíferos e não afetar as culturas (IBRAHIM et al., 2010; SANAHUJA et al., 2011; CANCELA, 2013)

Entretanto, a utilização de produtos à base de *B. thuringiensis* é menos difundida no Brasil comparada em países desenvolvidos, e existem poucas empresas que produzem e comercializam formulações à base desta bactéria, além desses produtos serem recomendados para um número limitado de pragas (ANGELO; VILA-BÔAS; CASTRO-GÓMEZ, 2010).

Portanto, é necessário uma maior divulgação dos produtos bioinseticidas presentes no mercado, através de novos estudos que permitam a recomendação para mais pragas e incentivos para a utilização destes produtos em programas de manejo integrado de insetos.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo avaliar a suscetibilidade de *A. ipsilon* aos formulados comerciais Agree® (*B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91) e Dipel WP® (*B. thuringiensis* var. *Kurstaki* linhagem HD-1), buscando como uma alternativa de controle que vise sua utilização no manejo integrado de pragas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os experimentos foram desenvolvidos nas dependências do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI), sediado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE UFES) em Alegre, Espírito Santo.

2.1 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE *Agrotis ipsilon*

Para a realização dos experimentos uma criação massal foi estabelecida no NUDEMAFI, através de insetos cedidos do Núcleo de Estudos em Manejo Integrado de Pragas Agrícolas (AGRIMIP) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus Botucatu, São Paulo.

A multiplicação dos insetos foi realizada em sala climatizada, com temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Onde os adultos foram mantidos em gaiola de PVC (25 cm de diâmetro x 25 cm de altura), revestidas internamente com folha de papel branco, sendo a extremidade superior fechada com papel toalha e a inferior com um placa quadrada de isopor (25 cm de lado x 3 cm de espessura), revestida com papel branco.

Como substrato alimentar para os adultos, foi oferecido uma solução de mel a 10% (m/v) a cada dois dias, por meio de algodão embebido na solução em um frasco de vidro (5 mL). O papel toalha e o papel interno contendo as posturas foram trocados a cada dois dias e acondicionados em potes plásticos de 1 L.

Após a eclosão, as lagartas foram transferidas com auxílio de um pincel de cerdas finas para potes de 50 mL, contendo dieta artificial de Greene et al. (1976) adaptada e sugerida por Giannasi (2014), onde permaneciam entre o 6^o a 8^o dia, e posteriormente foram individualizadas em gerbox redondo (3 cm de

diâmetro) contendo um pedaço da dieta mencionada anteriormente, onde foram mantidas até a fase de pupa.

As pupas coletadas foram transferidas para gaiolas de acrílico até a emergência dos adultos, e após a emergência destes, foram colocados nas gaiolas de tubo PVC nas condições anteriormente citadas.

2.2 SUSCETIBILIDADE DE *Agrotis ipsilon* AO *Bacillus thuringiensis*

Para os ensaios de suscetibilidade foram utilizados os bioinseticidas comerciais a base de *B. thuringiensis* Agree[®] (*B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91, Bio Controle Métodos de Controle de Pragas Ltda, lote 002-15-8.600) e Dipel WP[®] (*B. thuringiensis* var. *Kurstaki* linhagem HD-1, Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda, lote 026-13-4106).

O dois produtos foram diluídos em água destilada estéril, e a concentração foi ajustada para $1,0 \times 10^8$ esporos mL⁻¹ com o auxílio da câmara de Neubauer[®] e microscópio óptico.

No experimento foram utilizadas bandejas confeccionadas com microtubos de acrílico (3,0 cm x 2,0 cm de diâmetro), em que foi adicionado $\frac{1}{4}$ da mesma dieta empregada na multiplicação de *A. ipsilon*. Posteriormente, foi pipetado uma alíquota de 50µL da solução contendo $1,0 \times 10^8$ esporos mL⁻¹ sobre as dietas e após a evaporação foram inoculadas lagartas de diferentes idades 0-24, 48-72, 96-120, 144-169- e 192-216 horas acondicionadas individualmente nos microtubos de acrílico.

As idades foram determinadas a partir de pré-testes realizados anteriormente. Para cada tratamento foram utilizadas 50 lagartas, em que cada grupo de 10 correspondia a uma repetição, perfazendo cinco repetições com 10 lagartas cada. O mesmo procedimento foi feito para a testemunha, porém foi utilizado água destilada estéril sobre a dieta.

O experimento foi mantido em câmara climatizada (25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h) e avaliado diariamente durante sete dias, utilizando para as análises a porcentagem da soma total da mortalidade.

Foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x5 ((Produtos + Testemunha) x Idades). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para verificar o efeito das idades da lagarta de *A. ipsilon* sobre a mortalidade, os dados foram submetidos a análise de regressão. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R (TEAM, 2015).

2.3 ANÁLISE DE PROBIT

Para a idade que proporcionou acima de 90% de mortalidade, foi submetida estimativa da concentração letal necessária para matar 50 e 90% (CL_{50} e CL_{90}), sendo as condições experimentais foram as mesmas do experimento anterior. Para cada produto foi utilizado 10 concentrações espaçadas equidistantes por meio de escala logarítmica, estabelecidas em ensaios preliminares. Para a testemunha foi utilizado água destilada estéril. O experimento foi repetido duas vezes no tempo.

O experimento foi mantido em câmara climatizada (25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h), e avaliado diariamente durante sete dias, utilizando para as análises estatísticas a soma da mortalidade. As concentrações letais foram estimadas usando a análise de Probit, com a utilização do programa Polo-PC (Análise de Probit), conforme HADDAD; MORAES; PARRA (1995).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SUSCETIBILIDADE DE *Agrotis ipsilon* AO *Bacillus thuringiensis*

Os dados da análise de variância revelaram efeito significativo dos fatores produtos testados e as diferentes idades a 1% de probabilidade para a mortalidade das lagartas (Tabela1), procedendo-se assim o desdobramento da interação.

Tabela 1. Resumo da análise de variância em relação à mortalidade de diferentes idades lagartas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) sob produtos a base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner).

Fonte de Variação	GL ¹	QM ²	p-value ³
Produtos	2	11951,50	0,00
Idades	4	11327,30	0,00
Produtos*Idade	8	2994,20	0,00
CV ⁴ : 31,99%			

¹ GL: Grau de liberdade; ² QM: Quadrado médio; ³ p-value: Nível de significância (<0,01); ⁴ CV: Coeficiente de Variação.

A idade das lagartas influencia na mortalidade causada pelos produtos (Figura 2). Na primeira idade testada, 0-24 horas, a mortalidade atingiu próximo a 100% para Agree[®] e Dipel[®]. De maneira similar, em outros trabalhos foi verificado que as lagartas de estádios iniciais são mais suscetíveis ao *B. thuringiensis* quando comparadas às lagartas de idades mais avançadas das espécies de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae), *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), *Spodoptera albula* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Duponchelia fovealis* (Zeller) (Lepidoptera: Crambidae (MORAES; FOERSTER, 2012; LIMA et al, 2010, SALOMÃO, 2014; GONÇALVES, 2015).

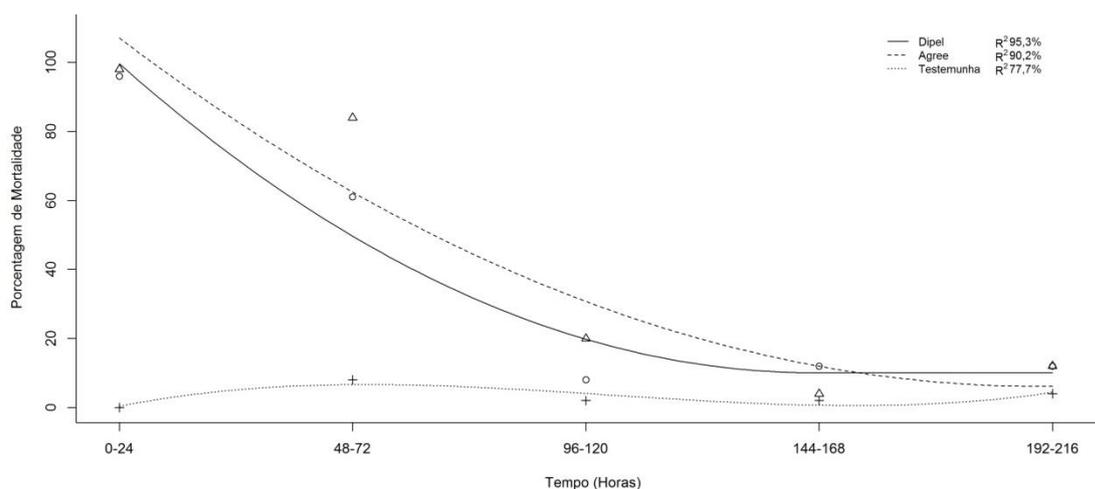


Figura 2. Suscetibilidade de lagartas de diferentes idades de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) à bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner.

A suscetibilidade foi inversamente proporcional em relação à idade das lagartas, em que na medida em que avançou a idade, a suscetibilidade foi decrescendo. Para ambos os produtos avaliados a mortalidade foi inferior a 15% a partir de 144 horas.

Para porcentagem de mortalidade dos tratamentos dentro dos níveis da idade das lagartas, pode-se perceber que na idade 0-24 horas não obteve diferença significativa ($p < 0,01$) (Tabela 2) entre os produtos Agree® e Dipel®, ocasionado 98,00 e 95,78% de mortalidade, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados avaliando-se produtos comerciais à base de *B. thuringiensis* em lagartas *P. xylostella* (MORAES; FOERSTER, 2012).

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade por bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) em diferentes idades de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae)

Tratamento	Idade das lagartas (Horas)					
	0-24	48-72	96-120	144-168	192-216	
Testemunha	0,00 Ab	8,00 Ac	2,00 Ab	2,00 Aa	4,00 Aa	
Dipel®	95,78 Aa	61,11 Bb	8,22 Cab	12,00 Ca	12,00 Ca	
Agree®	98,00 Aa	84,00 Aa	20,22 Ba	4,00 BCa	12,00 Ca	

Médias seguidas por letras maiúsculas nas linhas e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente a 1% de probabilidade pelo teste Tukey.

Nota-se que além da 1ª idade testada ser mais suscetível ao produto, o produto pode influenciar na mortalidade. Uma vez que na idade 48-72 horas o produto Agree® diferiu do Dipel®, denotando a maior eficiência do Agree® que apresentou 84% de mortalidade em lagartas de *A. ipsilon*. E além disso, não obteve diferença significativa entre as idades 0-24 e 48-72 para o produto Agree® o que demonstra eficiência de tal produto para estas idades.

Nas duas últimas idades avaliadas não se observou diferença significativa ($p < 0,01$) entre os produtos e a testemunha, demonstrando que os produtos não são eficientes em tais idades.

A baixa mortalidade encontrada nas idades avançadas no presente trabalho pode estar relacionada a algum mecanismo no sistema imunitário que permita ser menos suscetível a Bt (EL-AZIZ; AWAD, 2010; BINNING et al, 2014, WANG; HU; WU, 2015).

Este mecanismo de defesa pode ser atribuído a hábitos, alterações fisiológicas e bioquímicas, que podem alterar significativamente a capacidade de ligação das toxinas de *B. thuringiensis* nas membranas apicais das células do intestino médio (ABDULLAH et al, 2009; WANG; HU; WU, 2015).

Resultados observados por Lima et al. (2010) e Moraes; Foerster (2012), em que lagartas de 1º instar de *S. frugiperda* e *P. xylostella*, respectivamente, apresentaram maior suscetibilidade comparadas à lagartas de 3º instar em produtos comerciais à base de *B. thuringiensis*, assim como o trabalho de Kloss (2011), que lagartas de 1º instar de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) foram suscetíveis para alguns isolados e produtos comerciais a base de *B. thuringiensis* em que ocorreram 100% de mortalidade, sendo semelhantes ao resultado encontrado.

Estudos demonstram estirpes de Bt é promissor no controle de lagartas de *A. ipsilon*, corroborando com o presente estudo (MENEZES et al., 2010). Ao se avaliar diferentes formulações de produtos comerciais à base de Bt, verificou que alguns produtos causaram entre 20% e 100% de mortalidade das lagartas de *S. albula* (GONÇALVES, 2015). E a baixa taxa de mortalidade, pode estar relacionada ao conteúdo dos inertes presentes que podem influenciar na

eficiência do produto, pois os produtos testados possuíam as mesmas toxinas Cry (MOHAN; GUJAR, 2001).

Denota-se assim, a importância de trabalhos que determinem o nível de suscetibilidade de um inseto a um determinado agente patogênico ou da virulência de um patógeno, através de bioensaios laboratoriais e assim determinar a suscetibilidade entre as diferentes idades do inseto e inferir o melhor momento de controle (ALVES, 1998; OLIVEIRA, SOSA-GÓMEZ, 2015).

Deste modo, pode-se recomendar para as lagartas de 0-24 horas serem usados quaisquer produtos testados, e o Agree[®] teve maior efeito sobre as lagartas de 48-72 horas comparado ao Dipel[®].

3.2 ANÁLISE DE PROBIT

As idades que proporcionaram mortalidade superior a 90% (Figura 1), foram submetidas à bioensaios para estimativa da concentração letal (CL₅₀ e CL₉₀), no qual foi selecionada a idade de 0-24 horas para os dois produtos estudados.

Na estimativa da CL₅₀ e CL₉₀, com o aumento das concentrações dos esporos proporcionou um aumento no número da mortalidade dos insetos, estabelecendo-se assim, uma relação crescente entre a concentração de esporos versus o número de lagartas mortas.

Os dados se adequaram ao modelo de Probit, apresentando um χ^2 não significativo (χ^2 significativo, $p > 0,05$) (Tabela 2). A curva resposta entre concentração e mortalidade para o Agree[®], apresenta maior inclinação comparada ao Dipel[®] (1,46 e 1,27, respectivamente), demonstrando que pequenas variações da concentração do produto promovem grandes variações na mortalidade, onde a população de insetos responderam de forma mais homogênea ao Agree[®] que ao Dipel[®] (ATKINS; GREYWOOD; MACDONALD, 1973).

Tabela 3. Inclinação da curva e estimativa da CL₅₀ e da CL₉₀ de inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner em lagartas de 0-24 horas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae)

Produto ¹	N ²	GL ³	Slop.±EP ⁴	CL ₅₀ ⁵ (IC ⁶ 95%)	CL ₉₀ ⁵ (IC ⁶ 95%)	χ ²⁽⁷⁾
Agree [®]	556	5	1,46 ± 0,14	9,8x10 ⁵ (6,3x10 ⁵ -1,4x10 ⁶)	7,4x10 ⁶ (4,7x10 ⁶ -1,4x10 ⁷)	5,7
Dipel [®]	667	6	1,27 ± 0,11	1,3x10 ⁶ (9,9x10 ⁵ -1,8x10 ⁶)	1,4x10 ⁷ (9,8x10 ⁶ -2,2x10 ⁷)	3,9

¹ Produto: Produtos à base de Bt; ² N: número de observações; ³ GL: graus de liberdade; ⁴ Slop.±EP: Inclinação da curva ± erro padrão; ⁵ CL: Concentração letal (esporos mL⁻¹); ⁶ IC: Intervalo de confiança (p<0,05); ⁷ χ²: Qui-quadrado.

A concentração letal necessária para ocasionar 50% e 90% de mortalidade da população de *A. ipsilon* foi de 9,8x10⁵ e 7,4x10⁶ esporos mL⁻¹ para Agree[®] e 1,3x10⁶ e 1,4x10⁷ esporos mL⁻¹ para o Dipel[®]. Apesar de não haver diferença, pelo intervalo de confiança, entre os valores de CL₅₀ e da CL₉₀ dos produtos, a razão entre o Dipel[®] e o Agree[®] foi de 1,33 e 1,89 para a CL₅₀ e CL₉₀.

Valores similares foram encontrados para outras pragas por Santos et al. (2009) e Salomão (2014), testando isolados e produtos comerciais à base de *B. thuringiensis*, respectivamente.

Desta forma, outros testes podem ser realizados para a escolha do mais adequado, como por exemplo, seletividade a inimigos naturais, atuação dos produtos a campo exposto às condições ambientais e viabilidade econômica do produto.

Os resultados encontrados demonstram que os dois produtos comerciais à base de *B. thuringiensis* são alternativas viáveis para o controle de *A. ipsilon*.

4. CONCLUSÃO

- Os dois produtos avaliados promoveram a mortalidade das lagartas de *A. ipsilon*.
- A ação de eficiência do Agree[®] foi maior que do Dipel[®].
- Não houve diferença entre a CL₅₀ e CL₉₀ dos produtos avaliados.

5. REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, M. A. F.; MOUSSA, S.; TAYLOR, M. D.; ADANG, M. J. *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) cadherin fragments function as synergists for Cry1A and Cry1C *Bacillus thuringiensis* toxins against noctuid moths *Helicoverpa zea*, *Agrotis ipsilon* and *Spodoptera exigua*. **Pest Management Science**, v. 65, n. 10, p. 1097-1103, 2009.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.
- ANGELO, E.; VILAS-BOAS, G.; CASTRO-GOMÉZ, R. *Bacillus thuringiensis*: Características gerais e fermentação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 945-958, 2010.
- ATKINS, E.L.; GREYWOOD, E.A.; MACDONALD, R.L. **Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees**: laboratory studies. Davis: University of California, 1973. 36p. (Technical bulletin, M-16).
- BINNING, R. R.; COATS, J.; KONG, X.; HELLMICH, R. L. Susceptibility to Bt proteins is not required for *Agrotis ipsilon* aversion to Bt maize. **Pest management science**, v. 71, n. 4, p. 601-606, 2015.
- BOUGHTON A. J.; LEWIS L. C.; BONNING B. C. Potential of *Agrotis ipsilon* *Nucleopolyhedrovirus* for Suppression of the Black Cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) and Effect of an Optical Brightener on Virus Efficacy. **Journal Economy Entomology**, v. 94, n.5, p. 1045-1052, 2001.
- CANCELA, K. C. Conceitos, Terminologia, Descrição e Caracterização de Agente. 2013. Disponível em: <http://www.floresta.ufpr.br/alias/lpf/public_html/contbio01.html>. Acesso em: 08 jun. 2016.
- EL-AZIZ, N. M.; AWAD, H. H. Immune Response in *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera; Noctuidae) induced by *Bacillus thuringiensis* and Dimilin. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 20, n. 1, 2010.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de.; 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
- GIANNASI, A. O. **Aspectos biológicos de *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hufnagel, 1767) e testes com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) visando o seu controle**. 2014. 80 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2014.
- GONÇALVES, K. C. **Mortalidade e efeitos subletais de *Bacillus thuringiensis* Berliner em *Spodoptera albula* (Walker, 1857)**. 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola)) – Programa de Pós Graduação Agronomia (Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2015.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economy Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

HADDAD, M. L.; MORAES, R. C. B.; PARRA, J. R. P. 1995. MOBAE, **Modelos bioestatísticos aplicados à entomologia**. Manual. ESALQ/USP. 44p.

IBRAHIM, M. A.; GRIKO, N.; JUNKER, M.; BULLA, L. A. *Bacillus thuringiensis*: a genomics and proteomics perspective. **Bioengineered bugs**, v. 1, n. 1, p. 31-50, 2010.

KLOSS, T. G. ***Bacillus thuringiensis* e *Trichogramma* spp. no manejo de populações de *Helicoverpa zea* (BODDIE, 1850)**. 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2011.

LI F.; CHEN J.C.; CHEN J. H. Effects of Bt on respiration of the larvae of *Agrotis ypsilon* (Rottemberg). **Natural Enemies of Insects**, v. 24, p. 15–19, 2002.

LI Q.; FAN Y.; ZHANG G.A. Investigation of damage by the black cutworm, *Agrotis ypsilon* (Rottemberg) and its control with insecticide in corn fields of Northwest of Qian. **Bulletin of Anhui Agriculture Science**, v. 14, p. 172–173, 2008.

LIMA, M. P. L.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; MARQUES, E. J.; CORREIA, A. A. Bioatividade de formulações de NIM (*Azadirachta indica* A. Juss, 1797) e de *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1381-1389, 2010.

LINK, D.; COSTA, E. C. Comportamento larval da lagarta-roscas, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767), **Revista Centro de Ciências Rurais**, v.14, p. 191-199, 1984.

LINK, D.; PEDROLO, S. S. Aspectos biológicos de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) em Santa Maria - RS. **Revista de Ciências Rurais**, v. 17, p. 309-317, 1987.

MELO, M. Ataque noturno. **Cultivar HF**. Ano XIV, n. 163, p. 8-9. 2013

MENEZES, R. S.; DUMAS, V. F.; MARTINS, É. S.; PRAÇA, L. B.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* tóxicas a *Agrotis ipsilon*. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 8, n.2, p. 1-13, 2011.

MOHAN, M.; GUJAR, J.T. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains and commercial formulations to the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L). **Crop Protection**, v. 30, p.306-311, 2001.

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

OLIVEIRA, C. A. G.; SOSA-GÓMEZ, D. Suscetibilidade de lagartas *Helicoverpa armigera* a uma formulação comercial de *Bacillus thuringiensis*. **X Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**, Documentos, Londrina, v. 10, n. 359, p. 67-71, 2015. Disponível em:

<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/128147/1/Doc-359-X-JA.CCpdf.pdf#page=68>. Acesso em 10 mai. 2016.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole. 2002.

RICHETTI, A. **Viabilidade econômica da cultura do milho safrinha, em Matogrosso do Sul**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2012. 11p. (Comunicado Técnico 182).

SALOMÃO, K. P. O. S. **Extratos vegetais e *Bacillus thuringiensis* visando o manejo de *Duponchelia fovealis* zeller (Lepidoptera: Crambidae)**. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014.

SANAHUJA, G., BANAKAR, R., TWYMAN, R. M., CAPELL, T., & CHRISTOU, P. *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant biotechnology journal**, v. 9, n. 3, p. 283-300, 2011.

SANTOS JUNIOR, H. J. G.; MARQUES, E. J.; POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; RONDELIII, V. M. Suscetibilidade de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 635-641, 2009.

TEAM, R. C. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 28 mai. 2016

WANG, Y. HU, Z.; WU, H. Different Effects of *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry1Ab on Midgut Cell Transmembrane Potential of *Mythimna separata* and *Agrotis ipsilon* Larvae. **Toxins**, v. 7, n. 12, p. 5448-5458, 2015.

CAPITULO III

PERSISTÊNCIA DE *Steinernema carpocapsae* (WEISER) (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE) E *Steinernema feltiae* (FILIPJEV) (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE) NO SOLO SOB *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO

As lagartas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) possuem o hábito de ficar enterradas ou abaixo dos restos culturais, próximas das plantas alvo. Mediante este hábito, uma das formas de controlar a praga é o uso de Nematoides Entomopatogênicos (NEPs) (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae), tendo como característica vantajosa a não ação sobre inimigos naturais, não contaminação do meio ambiente e do homem e serem persistentes no solo por determinado período de tempo, o que assegura o controle sobre as pragas mesmo por dias após sua aplicação no solo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a persistência da patogenicidade de duas espécies de NEPs, *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) e *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae), aplicados no solo sobre lagartas de *A. ipsilon*. Foi avaliado duas espécies de NEPs na concentração de 150 JIs cm⁻² (para testemunha foi utilizado água destilada) em vasos de 2,5 L preenchidos com solo. Foi inoculado cinco lagartas por vaso em 0, 2, 4, 6, e 8 dias após a aplicação dos tratamentos e avaliado a mortalidade durante cinco dias. Não houve diferença da mortalidade entre os dias de inoculação, em que obteve-se acima de 90% mortalidade para ambas as espécies.

Palavras-chave: Juvenis infectivos. Insecta. Controle biológico.

PERSISTENCE OF *Steinernema carpocapsae* (WEISER) (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE) AND *Steinernema feltiae* (FILIPJEV) (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE) IN SOIL UNDER *Agrotis ipsilon* (HUFNAGEL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT

The black cutworms, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), have the habit to stay buried or under crops, close to the target plant. Through this habit, one of the ways to control the pest is using entomopathogenic nematodes (EPNs) (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae), which have an advantageous characteristic of not acting upon natural enemies, do not contaminate the environment and humans, and are persistent in the soil for a certain period of time, that ensures the pest control even after days of its use in soil. The objective of this study was to evaluate the pathogenicity persistence of two EPNs species, *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) and *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae), applied to the soil on top of the *A. ipsilon* cutworms. Two EPNs species were tested in a concentration of 150 JIs cm⁻² (distilled water was used for control) in pots filled with 2.5 L of soil. Five black cutworms were inoculated per pot 0, 2, 4, 6 and 8 days after applying the treatments and evaluated the mortality during five days. There was no difference in the mortality between inoculation days, which was obtained above 90% of mortality for both species.

Keywords: Infective juveniles. Insecta. Biological control.

1. INTRODUÇÃO

A lagarta rosca, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma praga de hábito noturno, que durante o dia as lagartas ficam enterradas ou abaixo dos restos culturais, próximas das plantas alvo (LINK; PEDROLO, 1987; MELO, 2013). Mediante esse hábito torna-se difícil a implementação de sistemas de manejo de pragas.

Devido ao hábito da lagarta de *A. ipsilon* de viver no solo, o uso de Nematoides Entomopatogênicos (NEPs) (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) pode ser eficiente em um sistema de manejo. Estes têm como uma característica vantajosa de não causarem efeitos negativos sobre inimigos naturais e não contaminar o meio ambiente e o homem (EBSSA; KOPPENHÖFER, 2012).

Os NEPs são parasitas de insetos e estabelecem uma relação simbiótica com bactérias, que é o agente patogênico. Os nematoides ao penetrarem no interior da hemocele do inseto, liberam as células bacterianas na hemolinfa onde produzem toxinas, capazes de matar o hospedeiro dentro de 48 horas (BATHON, 1996; VOSS et al., 2011; EBSSA; KOPPENHÖFER, 2012). Sua alimentação ocorre através dos nutrientes liberados na digestão dos tecidos do inseto e das próprias bactérias que proliferam no cadáver do inseto. Quando eles consomem por completo, saem a procura de novos hospedeiros (ALMENARA et al., 2010).

Esses agentes de controle biológico se destacam ainda, pelo potencial de persistência no solo por determinado período de tempo, o que assegura o controle sobre as pragas mesmo por dias após sua aplicação no solo, o que garante essa persistência, ao juvenil infectante (JI), é devido a presença de duas cutículas superpostas, serem tolerantes a diferentes produtos fitossanitários e fertilizantes (KAYA; GAUGLER, 1993; GREWAL et al., 2001; KOPPENHÖFER; GREWAL, 2005)

Apesar de sua grande potencialidade, pesquisas com esse agente de controle biológico são escassas, além de estudos que evidenciem a persistência dos NEPs no solo para auxiliar no manejo de pragas. Desse modo, o objetivo do

presente trabalho é avaliar a persistência da patogenicidade das espécies de NEPs, *Steinernema carpocapsae* (Weiser) (Rhabditida: Steinernematidae) e *Steinernema feltiae* (Filipjev) (Rhabditida: Steinernematidae), aplicados no solo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os experimentos foram desenvolvidos nas dependências do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI), sediado no Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE UFES) em Alegre, Espírito Santo.

2.1 OBTENÇÃO E MULTIPLICAÇÃO DE *Agrotis ipsilon*

Para a realização dos experimentos uma criação massal foi estabelecida no NUDEMAFI, através de insetos cedidos do Núcleo de Estudos em Manejo Integrado de Pragas Agrícolas (AGRIMIP) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), campus Botucatu, São Paulo.

A multiplicação dos insetos foi realizada em sala climatizada, com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Onde os adultos foram mantidos em gaiola de PVC (25 cm de diâmetro x 25 cm de altura), revestidas internamente com folha de papel branco, sendo a extremidade superior fechada com papel toalha e a inferior com um placa quadrada de isopor (25 cm de lado x 3 cm de espessura), revestida com papel branco.

Como substrato alimentar para os adultos, foi oferecido uma solução de mel a 10% (m/v) a cada dois dias, por meio de algodão embebido na solução em um frasco de vidro (5 mL). O papel toalha e o papel interno contendo as posturas foram trocados a cada dois dias e acondicionados em potes plásticos de 1 L.

Após a eclosão, as lagartas foram transferidas com auxílio de um pincel de cerdas finas para potes de 50 mL, contendo dieta artificial de Greene et al. (1976) adaptada e sugerida por Giannasi (2014), onde permaneciam entre o 6º a 8º dia, e posteriormente foram individualizadas em gerbox redondo (3 cm de

diâmetro) contendo um pedaço da dieta mencionada anteriormente, onde foram mantidas até a fase de pupa.

As pupas coletadas foram transferidas para gaiolas de acrílico até a emergência dos adultos, e após a emergência destes, foram colocados nas gaiolas de tubo PVC nas condições anteriormente citadas.

2.2 PERSISTÊNCIA DE *Steinernema carpocapsae* E *Steinernema feltiae* NO SOLO E EFEITO EM *Agrotis ipsilon*

Os experimentos de persistência dos NEPs em solo e o efeito sobre a mortalidade foi realizado em condições de temperatura de $21,5 \pm 4,7$ °C.

Foram avaliadas espécies de NEPs, *S. feltiae* e *S. carpocapsae*, cedidos pela empresa KOPPERT Biological Systems. A determinação da concentração de nematoides foi baseada nos resultados obtidos por Giannasi (2014), com *S. carpocapsa* sobre *A. ipsilon* em casa de vegetação.

A concentração ajustada foi de 150 Jls cm⁻², para ambas as espécies e aplicado com uma pipeta no volume de 5 mL por vaso. Na testemunha foi utilizada a mesma metodologia, porém foi aplicado somente água destilada. Cada tratamento utilizou 10 vasos (repetições) de 2,5 L, preenchidos com solo na proporção 3:1:1,5 (solo:esterco:areia), umedecidos com água destilada durante o experimento.

Após a aplicação das concentrações foram liberadas cinco lagartas entre 3^o e 4^o ínstar, colocadas individualmente em eppendorf com 10 furos para permitir a entrada dos NEPs.

Para avaliar a persistência da patogenicidade foram inoculadas no solo as lagartas em 0, 2, 4, 6, e 8 dias após a aplicação dos tratamentos e retiradas do solo, após 48 horas de exposição. Posteriormente foram transferidas para gerbox quadrado (11x 11 x 3,5 cm) contendo dieta artificial, para a verificação

da suscetibilidade das lagartas aos nematoides durante cinco dias, sendo verificado o número de lagartas mortas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcelas subdividida no tempo 3X5 ((produtos + testemunha) X inoculações).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias do fator produto comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R (TEAM, 2015).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da análise de variância não revelaram efeito significativo dos fatores produtos testados e ao tempo de inoculação a 1% de probabilidade para a mortalidade das lagartas (Tabela 4). Observou que dentre os tratamentos (nematoides) houve diferença significativa.

Tabela 4. Resumo da análise de variância em relação à mortalidade de lagartas de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) inoculadas em diferentes tempos sob nematoides entomopatogênicos.

Fonte de Variação	GL ¹	QM ²	p-value ³
Tratamento	2	153280	0,00
Erro a	27	33	
Inoculação	4	91	0.07614
Tratamento*Inoculação	8	74	0.08811
Erro b	108	42	
Total	149		
CV ⁴ parcela: 8,91%			
CV subparcela: 9,96%			

¹ GL: Grau de liberdade; ² QM: Quadrado médio; ³ p-value: Nível de significância (<0,01); CV: Coeficiente de Variação.

A persistência e a eficácia de agentes biológicos no ambiente garante o sucesso do seu emprego em programas de controle biológico (ALVES, 1988). No presente estudo, pode se observar que os NEPs foram persistentes por oito dias (período total de avaliação) de inoculação das lagartas, demonstrando que as espécies estudadas foram eficientes no controle, onde a mortalidade foi acima de 90% em todo o experimento (Tabela 5). Assim como estudos com *S. carpocapsae* e *S. feltiae* em campos de golfe, demonstraram que os JI aplicados sobre o solo podem persistir e matar lagartas de *A. ipsilon* até 47 dias após a aplicação (EBSSA; KOPPENHÖFER, 2011).

Tabela 5. Porcentagem de mortalidade de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) por nematoides entomopatogênicos

Tratamentos	Dias de inoculação				
	1	2	3	4	5
<i>Steinernema carpocapsae</i>	94,0 a	100,0 a	100,0 a	94,0 a	96,0 a
<i>Steinernema feltiae</i>	94,0 a	100,0 a	98,0 a	100,0 a	92,0 a
Testemunha	2,0 b	0,0 b	0,0 b	2,5 b	0,0 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

De modo diferente, Leite et al., (2007) ao avaliar a persistência de NEPss em substratos orgânicos, perceberam que 15 dias após a aplicação não foi virulento a *Bradysia mabiusi* (Lane) (Diptera: Sciaridae). Já Wilsom Gaugler (2004) relataram que a mortalidade de *Galleria mellonella* decresceu drasticamente a partir do 5º dia de avaliação.

Entre os fatores que influenciam a persistência dos nematoides no solo, destaca-se a temperatura, umidade, textura do solo, radiação ultravioleta e presença de hospedeiro (SHAPIRO-ILAN et al., 2006). A temperatura ideal para sobrevivência dos nematoides no solo e que levem a melhores resultados é entre 15°C a 28°C (GREWAL; SELVAN; GAUGLE; 1994; AKHURST; SMITH, 2002), e temperatura obtida no presente trabalho ficou dentro deste intervalo.

A umidade do solo também pode ter influenciado na patogenicidade dos nematoides, uma vez que o solo foi mantido úmido durante o experimento, proporcionando assim condições para os nematoides se locomoverem e se manterem viáveis (GRANT; VILLANI, 2003; ROHDE et al., 2010).

Estudos demonstram que os NEPs tem potencial de manejo em *A. ipsilon*, causando mortalidades superiores a 90% em lagartas (SEAL; JHA; LIU, 2010; EBSSA; KOPPENHÖFER, 2011; EBSSA; KOPPENHÖFER, 2012; GIANASI, 2014).

Com os dados obtidos é possível enfatizar que as duas espécies estudadas, *S. carpocapse* e *S. feltiae*, apresentam uma alta patogenicidade para *A. ipsilon*, permitindo dizer que apresentam eficiência no manejo dessa praga e que por oito dias, após a aplicação, essa patogenicidade persiste no solo. Contudo, mais estudos devem ser realizados para verificar por quanto tempo estas espécies podem permanecer ativas no solo.

4. CONCLUSÃO

- Os nematoides entomopatogênicos, *S. carpocapse* e *S. feltiae*, são patogênicos às lagartas de *A. ipsilon*.
- Os nematoides entomopatogênicos, *S. carpocapse* e *S. feltiae*, permaneceram patogênicos no solo por oito dias após a aplicação.

5. REFERÊNCIAS

- AKHURST, R. J.; SMITH, K. Regulation and safety. In: Gaugler, R. (ed). **Entomopathogenic Nematology**. New Jersey: Rutgers University, p. 311-332, 2002
- ALMENARA, D. P.; DE CAMARGO NEVES, M. R.; KAMITANI, F. L.; WINTER, C. E. Nematoides entomopatogênicos: as duas faces de uma simbiose. **Revista da Biologia**, v.6, p. 1-6, 2010.
- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998.
- BATHON H. Impact of entomopathogenic nematodes on non-target hosts. **Biocontrol Sci Tech**, v.6, p. 421–434, 1996.
- EBSSA, L.; KOPPENHÖFER, A. M. Efficacy and persistence of entomopathogenic nematodes for black cutworm control in turfgrass. **Biocontrol science and technology**, v. 21, n.7, p. 779-796, 2011.
- EBSSA, L.; KOPPENHÖFER, A. M. Entomopathogenic nematodes for the management of *Agrotis ipsilon*: effect of instar, nematode species and nematode production method. **Pest management science**, v. 68, n. 6, p. 947-957, 2012.
- GIANNASI, A. de O. **Aspectos biológicos de *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hufnagel, 1767) e testes com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) visando o seu controle**. 2014. 67 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, 2014.
- GRANT, J. A.; VILLANI, M. G. Effects of soil rehydration on the virulence of entomopathogenic nematodes. **Environmental Entomology**, v. 32, p. 983-991, 2003
- GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economy Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.
- GREWAL P. S.; SELVAN S.; GAUGLER R. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, breeding and reproduction. **Journal of Thermal Biology**, v. 19, n.4, p. 245-253, 1994.
- GREWAL, P.S.; DE NARDO, E.A.B.; AGUILLERA, M.M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, v.30, n.2, p.191- 205, 2001.
- KAYA, H. K., GAUGLER, R. Entomopathogenic Nematodes. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 181- 206, 1993.
- KOPPENHÖFER, A. M.; GREWAL, P.S. Compatibility and interaction with agrochemicals and biocontrol agents. In: GREWAL, P.S.; EHLERS, R.U.; SHAPIRO, D.I. **Nematodes as biocontrol agents**. CABI: Publishing Cambridge, 2005. p.364-381.

- LEITE, L. G.; TAVARES, F. M.; BUSSÓLA, R. A.; AMORIM, D. S.; AMBRÓS, C. M.; HAKAKAVA, R. (2007). Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nemata: Rhabditida) contra larvas da mosca-dos-fungos *Bradysia mabiusi* (Lane, 1959) e persistência de *Heterorhabditis indica* Poinar et al. 1992 em substratos orgânicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, 74, 337-342.
- LINK, D.; PEDROLO, S. S. Aspectos biológicos de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) em Santa Maria - RS. **Revista de Ciências Rurais**, v. 17, p. 309-317, 1987.
- MELO, M. Ataque noturno. **Cultivar HF**. Ano XIV, n. 163, p. 8-9. 2013.
- ROHDE, C.; MOINO JR., A.; SILVA, M. A. T.; CARVALHO, F. D.; FERREIRA, C. S. Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n.4, p. 608-611, 2010.
- SEAL, D. R.; JHA, V. K.; LIU, T. X. Potential of various strains of Entomopathogenic Nematodes in combination with Insecticides for suppression of Black Cutworm, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Plant Protection Sciences**, v. 18, n. 2, p.293-300, 2010.
- SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 124-133, 2006
- TEAM, R. C. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 28 de maio de 2016
- VOSS, M.; ANDALÓ, V.; NEGRISOLI JÚNIOR, A. S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. **Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização de nematoides entomopatogênicos**. 2011. Documento 199 – Embrapa. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do119.pdf>. Acesso em 16 fev. 2016.
- WILSON, M.; GAUGLER, R. Factors limiting short-term persistence of entomopathogenic nematodes. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, n. 4, p. 250-253, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A lagarta rosca, *A. ipsilon*, causa grandes perdas em diversas culturas e reduzem o *stand* destas, tornado-se assim, de grande importância estudos que forneçam novas ferramentas a serem utilizadas no manejo integrado de praga, uma vez que há um uso indiscriminado de insetidas no controle desta praga.

O presente trabalho verificou-se, em nível de laboratório, que os bioinseticidas Agree[®] e Dipel[®] foram promissores em lagartas de 0-24 horas e o Agree[®] teve maior efeito sobre as lagartas de 48-72 horas comparado ao Dipel[®].

As duas espécies de nematoides entomopatogênicos estudadas, *S. carpocapse* e *S. feltiae*, apresentam uma alta patogenicidade e eficiência para *A. ipsilon*, e permanecem patogênicos por oito dias, após a aplicação.

Os resultados encontrados demonstram que os dois bioinseticidas e os nematoides entomopatogênicos são alternativas viáveis para o manejo de *A. ipsilon*.