



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS ÁGRARIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

THAIS PAZ PINHEIRO ANDRÉ

**MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
EXPOSTA AO ALGODÃO *Bt* E À MISTURAS COMPATÍVEIS DE PRODUTOS
FITOSSANITÁRIOS**

FORTALEZA

2023

THAIS PAZ PINHEIRO ANDRÉ

MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
EXPOSTA AO ALGODÃO *Bt* E À MISTURAS COMPATÍVEIS DE PRODUTOS
FITOSSANITÁRIOS

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em
Agronomia/Fitotecnia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito
parcial à obtenção do título de *Magister
Scientiae* em Agronomia/Fitotecnia.
Área de concentração: Entomologia
Agrícola

Orientador: Prof. Patrik Luiz Pastori, *D.
Sc.*

Coorientadora: Marianne Gonçalves
Barbosa, *D. Sc.*

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A573m André, Thais Paz Pinheiro.

Mortalidade de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) exposta ao algodão Bt e à misturas compatíveis de produtos fitossanitários / Thais Paz Pinheiro André. – 2023.
53 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Patrik Luiz Pastori.

Coorientação: Prof. Dr. Marianne Gonçalves Barbosa.

1. Lagarta-do-cartucho. 2. Plantas transgênicas. 3. Controle químico. I. Título.

CDD 630

THAIS PAZ PINHEIRO ANDRÉ

MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)
EXPOSTA AO ALGODÃO *Bt* E À MISTURAS COMPATÍVEIS DE PRODUTOS
FITOSSANITÁRIOS

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em
Agronomia/Fitotecnia da Universidade
Federal do Ceará, como requisito
parcial à obtenção do título de *Magister
Scientiae* em Agronomia/Fitotecnia.
Área de concentração: Entomologia
Agrícola

Aprovada em: 22/09/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Patrik Luiz Pastori, *D. Sc.* (Orientador)
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD)

Marianne Gonçalves Barbosa, *D. Sc.* (Coorientadora)
Research Development Specialist - BASF

Elaine Facco Celin, *D. Sc.*
Engenheira Agrônoma - Autônoma

Fernando Augusto da Silveira, *D. Sc.*
Ekoa Life Sciences

À minha filha Yasmin Pinheiro, à
pessoa mais especial da minha vida,
essa conquista tem um significado
maior por tê-la comigo, nada é tão
grande quanto o meu amor por você.

AGRADECIMENTOS

Primeiro à Deus, por me dar forças sempre que eu pensei que não conseguiria, por me mostrar que nada é impossível quando se tem fé e gratidão e mais ainda, por me proporcionar viver tantos momentos de alegrias e conquistas ao lado da minha família e amigos.

Agradeço à minha mãe Sueli Paz, ao meu Pai Carlos Cezar e ao meu irmão Weibson Pinheiro por tanto incentivo, confiança e esforço para que eu conseguisse alçar voos mais altos.

À meu esposo Sandro Albuquerque, a pessoa que sempre acreditou que eu seria capaz chegar onde eu quisesse, e que não mede esforços para isso acontecer. Sabemos o quanto lutamos para que pudéssemos chegar até aqui na minha vida acadêmica, e ainda vamos continuar em busca de mais desafios para superar, te amo.

À minha princesa, Yasmin Pinheiro, o meu maior tesouro nessa vida, a pessoa que me mostrou o real significado de amor. Deus não poderia me mandar algo melhor que você, a criança mais linda por dentro e por fora, aquela que renova minhas energias com um sorriso e que me faz enfrentar tudo o que for necessário para lhe permitir um futuro melhor. Por quanto vida eu tiver você será a minha maior motivação.

À todos meus familiares tias(os), primas(os), gostaria de ressaltar a importância da Victória Melo na minha vida, muito mais que prima é um irmã, amo incondicionalmente, avós e avôs, à minha sogra Neucila André e meu sogro José Pereira. É muito bom compartilhar a vida com vocês, fica tudo mais leve e mais alegre.

À todos(as) os integrantes do Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA - UFC), Valentine Almeida, Gabriel Barros, Karine Mesquita, Raimundo Henrique, Adson Ávila e em especial a Debora Pontes e a Karolina Rafrana, que ao longo desses dois anos nos aproximamos cada vez mais. Vocês nem imaginam o quanto tê-los(as) ao meu lado foi essencial para que eu chegasse ao fim dessa etapa, grata por tudo, pela ajuda nos experimentos, mas principalmente pela amizade.

À Dr^a. Marianne Gonçalves, que sem dúvidas é um dos presentes mais especiais que a UFC me deu. É a pessoa que sempre esta disposta a me ajudar,

que sempre torce por mim. É aquela que fica mais de duas horas em ligação e a gente nem percebe o tempo passar, e ainda tenho o privilégio de tê-la como a minha Co-orientadora. A amizade que eu vou levar para vida, além de compartilhar uma série de conhecimentos entomológicos ela me ensinou muito mais sobre amizade, persistência, empatia e humildade.

À Cintia Raianny, por toda amizade que construímos ao longo desses anos. É muito bom ver o quão longe estamos chegando juntas, daqui a pouco nosso trio terá o tão sonhado título de Mestre.

À Thaís Mota, que também é muito presente na minha vida. Entre nós eu percebo que existe aquela torcida sincera uma pela outra, é uma pessoa muito importante para mim.

Ao prof. Patrik Luiz Pastori, que além de orientador se tornamos amigos. É aquele que me acalma quando eu me sinto insegura nas apresentações/avaliações. Aquele que faz tudo que for possível para que eu tenha boas oportunidades na minha formação profissional. É aquele aconselha, brinca, conversa e mostra sempre o melhor caminho. Acertei muito quando escolhi para ser meu orientador, me identifico com o profissionalismo e sou muito grata por todo apoio e paciência.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), e ao Programa de Pós-Graduação Agronomia/Fitotecnia (PPGAF). O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

E aos participantes da banca examinadora, Dr^a. Marianne Gonçalves, Dr^a. Elaine Facco Celin, Dr. Fernando Silveira e ao prof. Patrik Pastori por todas as contribuições no trabalho.

RESUMO

Os desafios para controlar *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) vem se intensificando pela adaptabilidade desta praga, a ampla gama de hospedeiros que ataca e a capacidade de desenvolver resistência à ingredientes ativos e às plantas com a tecnologia *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Nesse contexto, o objetivo foi avaliar a mortalidade de *S. frugiperda* em cultivares de algodão *Bt*, testar a compatibilidade de misturas de produtos fitossanitários e avaliar a mortalidade de lagartas submetidas a essas misturas. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA), da Universidade Federal do Ceará (UFC), em parceria com produtores de áreas comerciais de algodão no Estado do Mato Grosso, sendo dividido em três bioensaios. No primeiro, foram utilizadas folhas de três cultivares de algodão (duas *Bt* e uma suscetível). Foram utilizadas lagartas de 1° e de 3° instares, que se alimentaram das partes vegetativas e reprodutivas e permaneceram em sala climatizada (25 ± 2 °C, UR $75 \pm 10\%$ e fotofase 12 h) sendo a mortalidade avaliada a 72, 96 e 120 horas após o fornecimento do alimento. Os ensaios foram implantados em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), sendo 10 repetições (três lagartas cada) quando utilizadas partes vegetativas/folhas e quatro repetições (cinco lagartas cada) para o teste com estruturas reprodutivas/botões florais. No segundo bioensaio foi avaliada a compatibilidade de quatro misturas (cinco repetições por tratamento) de produtos fitossanitários envolvendo, inseticidas, acaricidas e fungicidas, e a testemunha (água destilada + adjuvante). Na avaliação foram atribuídas notas de 1 a 5 de acordo com o grau de estabilidade das misturas. No último bioensaio, foi avaliada a eficiência das misturas compatíveis e a ação dos produtos isolados. Os tratamentos foram distribuídos superficialmente em dieta artificial e expostos às lagartas de 2° e 4° instares. O ensaio foi implantado em DIC com 10 repetições (cinco lagartas cada). A mortalidade foi avaliada a 24, 48 e 72 horas após a exposição das lagartas. Não houve diferença significativa quando comparada a mortalidade das lagartas entre as duas cultivares de algodão *Bt* testadas, mas houve diferença entre instares em cada tratamento, sendo que, lagartas de 1° apresentaram mortalidade superior às de 3° instar, exceto na testemunha. Todas as misturas foram compatíveis fisicamente e eficientes (efeitos sinérgicos e aditivos), causando mortalidade acima de 90% de lagartas de 2° e 4° instares. Portanto verificou-se maior suscetibilidade de lagartas de instares iniciais ao algodão *Bt* e viabilidade de

aplicação das misturas testadas tendo como alvo a *S. frugiperda*.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho; plantas transgênicas; controle químico.

ABSTRACT

The challenges in controlling *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) have intensified due to the adaptability of this pest, its wide range of host plants, and its ability to develop resistance to active ingredients and to plants with the *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) technology. In this context, the aim of this study was to evaluate the mortality of *S. frugiperda* on *Bt* cotton cultivars, test the compatibility of mixtures of phytosanitary products, and evaluate the mortality of larvae exposed to these mixtures. The experiments were conducted at the applied entomology laboratory (Laboratório de Entomologia Aplicada - LEA) of the Universidade Federal do Ceará (UFC) in partnership with commercial cotton producers in the state of Mato Grosso, and were divided into three bioassays. The first bioassay used leaves from three cotton cultivars (two *Bt* and one susceptible). 1st and 3rd instar larvae were fed on vegetative and reproductive parts within a climate-controlled room (25 ± 2 °C, RH $75 \pm 10\%$, and 12-h photoperiod); mortality was evaluated at 72, 96, and 120 h after feeding. The trials were set up in a completely randomized design (CRD), with 10 replications (three larvae each) when using vegetative/leaf parts, and four replications (five larvae each) for the test with reproductive/flower bud structures. In the second bioassay, the compatibility of four mixtures of phytosanitary products (five replications per treatment) was evaluated, involving insecticides, acaricides, and fungicides, along with a control treatment (distilled water + adjuvant). Scores from 1 to 5 were attributed in the evaluation, according to the degree of stability of the mixtures. In the final bioassay, the efficiency of compatible mixtures and the action of individual products were evaluated. The treatments were distributed on the surface of an artificial diet, and provided to 2nd and 4th instar larvae. The trial was set up in a CRD with 10 replications (five larvae each). Larval mortality was evaluated at 24, 48, and 72 hours after exposure. No significant difference in larval mortality was found when comparing the two *Bt* cotton cultivars tested, but differences were found between instars in each treatment. 1st instar larvae exhibited higher mortality than 3rd instar larvae, except in the control. All the mixtures were physically compatible and effective (synergistic and additive effects), causing over 90% mortality in 2nd and 4th instar larvae. Therefore, results showed higher susceptibility of early instar larvae to *Bt* cotton, and the mixtures tested targeting *S. frugiperda* were found to be viable.

Keywords: fall armyworm; genetically modified plants; insecticides.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Mortalidade de lagartas de 1° e 3° ínstar de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) quando expostas às estruturas vegetativas e reprodutivas de cultivares de algodão Bt e cultivar suscetível/controle.....	21
Tabela 2 - Classes e ingredientes ativos dos produtos fitossanitários utilizados em misturas para avaliação da compatibilidade física	28
Tabela 3 - Produtos utilizados no experimento de compatibilidade, dose máxima recomendada e o menor volume de calda	29
Tabela 4 - Grau de estabilidade das misturas de produtos fitossanitários	30
Tabela 5 - Mortalidade acumulada (%) de lagartas de 2° e 4° instares de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) quando expostas aos produtos isolados e em misturas	32
Tabela 6 - Estimativa de Colby (1967) para a combinação dos inseticidas aplicados visando causar mortalidade de lagartas de 2° e de 4° ínstars de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2	CAPÍTULO I: MORTALIDADE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM ALGODÃO <i>Bt</i> (<i>Cry1Ab</i> + <i>Cry2Ae</i> E <i>Cry1Ac</i> + <i>Cry2Ab2</i>).....	15
2.1	Introdução.....	17
2.2	Material e métodos.....	18
2.2.1	<i>Local de realização dos bioensaios</i>	18
2.2.2	<i>Bioensaio 1 - Eficiência de cultivares de algodão Bt</i>	19
2.2.3	<i>Delineamento experimental, tratamentos e parâmetro avaliado</i>	19
2.2.4	<i>Análise estatística</i>	20
2.3	Resultados.....	20
2.4	Discussão.....	21
2.5	Conclusão.....	23
3	CAPÍTULO II: CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) UTILIZANDO MISTURAS DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS.....	24
3.1	Introdução.....	26
3.2	Material e métodos.....	28
3.2.1	<i>Local de realização dos bioensaios</i>	28
3.2.2	<i>Bioensaio de compatibilidade de mistura de produtos fitossanitários</i>	28
3.2.3	<i>Bioensaio de eficiência de misturas de produtos fitossanitários sobre S. frugiperda</i>	30
3.2.4	<i>Delineamento experimental, tratamentos e parâmetros avaliados</i>	30
3.2.5	<i>Análise estatística</i>	31
3.3	Resultados.....	31
3.3.1	<i>Bioensaio compatibilidade de misturas de produtos fitossanitários</i>	31
3.3.2	<i>Bioensaio eficiência de misturas de produtos fitossanitários sobre S. frugiperda</i>	32
3.4	Discussão.....	34
3.4.1	<i>Bioensaio compatibilidade de misturas de produtos fitossanitários</i>	34
3.4.2	<i>Bioensaio eficiência de misturas de produtos fitossanitários sobre S. frugiperda</i>	36

3.5	Conclusão	40
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
	REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO GERAL

A lagarta-do-cartucho ou lagarta-militar, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga nativa das Américas e considerada entre as mais importantes pragas agrícolas (LUGINBILL, 1928; SPARK, 1979; BARROS *et al.*, 2010). Sua presença foi identificada em diversas partes do mundo e, mais recentemente, em 2016, houve o primeiro relato da invasão no continente Africano (GEORGEN *et al.*, 2016), e logo depois em 2018, detectou-se a presença da praga no continente Asiático (GANIGER *et al.*, 2018).

Os diversos relatos em diferentes espécies de plantas caracterizam a polifagia do inseto-praga, o que afeta consideravelmente o desenvolvimento de plantas hospedeiras (MONTEZANO *et al.*, 2018). Mesmo apresentando maior preferência por plantas da família Poaceae, ganha destaque também como praga de importantes culturas como algodão e soja no Cerrado brasileiro, principalmente quando são cultivadas após o milho, cultura a qual se mostrou como um dos melhores hospedeiros para a lagarta-do-cartucho, favorecendo o desenvolvimento da praga (BARROS *et al.*, 2010).

Características como ausência de diapausa, tempo de geração relativamente reduzido, alta fecundidade, capacidade de se alimentar de diversos hospedeiros, desenvolvimento de resistência as táticas de controle, além de apresentar capacidade de migrar a longas distâncias, supõem-se como responsáveis por causar danos severos e invasivos (WAN *et al.*, 2021). Devido a todas essas características, *S. frugiperda* é considerada séria ameaça à segurança alimentar e nutricional e aos meios de subsistência dos agricultores (HUESING *et al.*, 2018; RAMANUJAM; POORNESHA; SHYLESHA, 2020). Assim, a realização do monitoramento e o reconhecimento da praga são essenciais para promover medidas de prevenção e, caso a praga alcance a cultura, a adoção de medidas de controle se fazem necessárias (WAN *et al.*, 2021).

O manejo da lagarta-do-cartucho tem sido realizado intensivamente com aplicações de inseticidas, favorecendo o aumento de indivíduos nas populações com resistência às suas principais classes de inseticidas (YU; NGUYEN; ABO-ELGHAR, 2003). Considerando o ano de 2023, a comercialização de ingredientes ativos permitidos no Brasil pertencia aos diversos grupos químicos, sendo esses, benzoilureia, metilcarbamato de oxima, antranilamida, piretroide, semicarbazone,

organofosforado, oxadiazina, diamida de ácido ftálico, acetato insaturado, neonicotinoide, metilcarbamato de benzofuranila, análogo de pirazol, spinosinas e avermectina (AGROFIT, 2023). Porém, a utilização excessiva e errônea dos inseticidas químicos é preocupante e, existem relatos de mais de 200 casos da ocorrência de populações de *S. frugiperda* resistentes à 45 princípios ativos (MOTA-SANCHEZ; WISE, 2023). Visando minimizar este problema, o Comitê de Ação de Resistência a Inseticidas (IRAC-BR), cita algumas recomendações de práticas para evitar e/ou retardar o aumento da frequência de resistência dos insetos, e a realização da rotação de princípios ativos com modo de ação/sítio de ação distintos está inclusa (IRAC, 2018). Além, da adoção da prática de combinação/mistura de produtos fitossanitários (AHMAD; SALEEM; SAYYED, 2009; WU *et al.*, 2023).

As misturas de produtos fitossanitários apresentam vantagens como: redução de custos, do número de entradas na área com maquinário, do investimento em combustível e volume de água necessária para as aplicações, dos impactos no solo e do emprego de mão-de-obra e tempo de exposição do aplicador aos produtos (GAZZIERO, 2015). A realização de misturas com agroquímicos é uma prática comum em muitas fazendas, mas faltam informações técnicas que auxiliem nesse procedimento, principalmente envolvendo a escolha dos produtos a serem misturados (ASSUNÇÃO *et al.*, 2019). Do ponto de vista legislativo, a prática foi liberada a partir da publicação da Instrução Normativa nº 40/SDA-MAPA, de 11 de outubro de 2018 (MAPA, 2018).

Além dos inseticidas, o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas rapidamente ganhou importância (FERRY *et al.*, 2006; ANGELO, VILAS-BÔAS; CASTRO-GÓMEZ, 2010). Por proporcionar redução da população de insetos pragas presentes no campo (HUTCHISON *et al.*, 2010; ROMEIS *et al.*, 2019), redução no número de aplicações de produtos químicos (WU *et al.*, 2008), melhoria na qualidade dos grãos (FOLCHER *et al.*, 2010), entre outros aspectos positivos. No entanto, a utilização constante das plantas portando a tecnologia *Bt*, assim como aconteceu com os inseticidas, também permitiu avanço no desenvolvimento de populações resistentes, uma vez que é gerada constante pressão de seleção sobre os indivíduos pela exposição às toxinas (BARCELOS & ANGELINI, 2018). Outro aspecto importante relacionado ao tema, refere-se à real capacidade da planta fornecer doses da toxina suficientes para causar a morte dos insetos em todas as partes da planta (BAHAR *et al.*, 2019).

Com isso, informações mais detalhadas das táticas utilizadas no controle de pragas são fundamentais para que se alcance resultados satisfatórios à longo prazo, e aperfeiçoar as práticas que já são implantadas em campo pode ser alternativas viáveis aos produtores. Neste trabalho, abordamos táticas utilizadas em fazendas da Região do Mato Grosso (MT), trabalhando com misturas de produtos aplicados em campo. Essa região apresenta grandes áreas plantadas de algodão, na safra de safra 2022/23, atingiu-se a área de 1.642,20 hectares, com uma produção de pluma equivalente a 2.979,90 toneladas (ABRAPA, 2023), contribuindo diretamente com economia do país.

Considerando que essas ferramentas de controle são constantemente adotadas no campo, em cultivos de algodão, e que geram impacto negativo no controle de pragas quando aplicados sucessivamente e sem planejamento prévio de estratégias afim de garantir a eficiência da ferramenta a longo prazo, o objetivo foi avaliar a toxicidade de cultivares de algodão *Bt* e misturas de produtos fitossaniários compatíveis aplicados em cultivos de algodão sobre *S. frugiperda*.

2 CAPÍTULO I: MORTALIDADE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM ALGODÃO *Bt* (*Cry1Ab* + *Cry2Ae* E *Cry1Ac* + *Cry2Ab2*)

RESUMO

O algodoeiro, *Gossypium* spp., é uma planta suscetível ao ataque de diversas pragas, dentre elas, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), considerada uma praga com alta capacidade destrutiva. Dentre as táticas de controle adotadas, a utilização de plantas transgênicas portando a tecnologia *Bt*, *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae) vem em crescente ascensão por apresentar eficiência contra lepidópteros. Diante disso, o objetivo foi avaliar a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* de 1° e 3° instares alimentadas com folhas e botões florais de duas cultivares de algodão *Bt* (*Cry1Ab*+*Cry2Ae* e *Cry1Ac*+*Cry2Ab2*). Os bioensaios foram realizados em salas de manipulação experimental em uma fazenda produtora de algodão no Mato Grosso (MT) em parceria com o Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA-UFC). Partes do terço superior das plantas foram coletadas em campo e transportadas até o laboratório, onde foram higienizadas e fornecidas às lagartas. As folhas foram expostas à lagartas de 1° e 3° instares (10 repetições de três lagartas cada) e os botões florais somente às lagartas de 3° instar (4 repetições de cinco lagartas cada), ambas mantidas em sala climatizada (25 ± 2 °C, UR 75 ± 10% e fotofase 12:12 h). Os ensaios foram realizados em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). A mortalidade foi analisada 72, 96 e 120 horas após o fornecimento das partes vegetais. Não houve diferença significativa na mortalidade das lagartas de 1° e 3° instares entre as cultivares *Bt* quando fornecidas as partes vegetativas. Observou-se redução de 46% na mortalidade de lagartas de 3° instar quando comparadas ao 1° instar expostas às folhas em ambas as cultivares. Lagartas de 3° instar alimentadas com folhas de diferentes cultivares *Bt* e estruturas reprodutivas da planta não diferiram quanto a mortalidade. Assim, as cultivares de algodão *Bt* avaliadas se mostraram eficientes para causarem mortalidade de lagartas de 1° instar de *S. frugiperda*, porém existe a necessidade da adoção de ferramentas complementares para controlar lagartas de instares mais avançados.

Palavras chaves: Lepidópteros-praga; *Bacillus thuringiensis*; plantas *Bt*.

ABSTRACT

The cotton plant, *Gossypium* spp., is susceptible to attack from several pests, including *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), considered a highly destructive pest. Among the control tactics adopted, the use of transgenic plants containing the *Bt*, *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae), technology has grown, as it has been effective against Lepidoptera. Thus, the aim was to evaluate the mortality of 1st and 3rd instar larvae of *S. frugiperda* fed with leaves and flower buds from two *Bt* cotton cultivars (*Cry1Ab+Cry2Ae* and *Cry1Ac+Cry2Ab2*). The bioassays were conducted in experimental handling rooms on a cotton production farm in Mato Grosso (MT), Brazil, in partnership with the applied entomology laboratory (Laboratório de Entomologia Aplicada - LEA-UFC). Parts of the upper third of the plants were collected in the field and transported to the laboratory, where they were sanitized and provided to the larvae. The leaves were exposed to 1st and 3rd instar larvae (10 replications of three larvae each), while the flower buds only to 3rd instar larvae (4 replications of five larvae each), and all were kept in a climate-controlled room (25 ± 2 °C, UR $75 \pm 10\%$, and 12:12 h photoperiod). The trials were conducted in a completely randomized design (CRD). Mortality was analyzed at 72, 96, and 120 hours after supplying the plant parts. There was no significant difference in the mortality of 1st and 3rd instar larvae between the *Bt* cultivars when the vegetative parts were provided. A 46% reduction was observed in the mortality of 3rd instar larvae compared to the 1st instar larvae exposed to the leaves in both cultivars. 3rd instar larvae fed with leaves of different *Bt* cultivars and reproductive structures of the plant showed no difference in mortality. Thus, the *Bt* cotton cultivars evaluated proved to be effective in causing mortality of 1st instar larvae of *S. frugiperda*. However, complementary tools need to be adopted to control larvae at more advanced instars.

Keywords: pest Lepidoptera; *Bacillus thuringiensis*, *Bt* plants.

2.1 Introdução

O algodão se destaca no mercado interno e externo como a mais importante fibra cultivada do mundo. O aumento da demanda mundial por produtos naturais desencadeou elevação no consumo do produto (SEVERINO *et al.*, 2019). No Brasil, o cultivo de algodão é realizado com emprego de alta tecnologia que faz parte do sucesso na produtividade elevada, gerando importância social, por meio da grande geração de empregos (PUJA *et al.*, 2021).

Entre as pragas que atacam o algodoeiro comprometendo sua produtividade está a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) pois a cultura apresenta grande quantidade de estruturas vegetativas e especialmente de floração e de frutificação dos 40 aos 120 dias após a emergência, favorecendo seu desenvolvimento e multiplicação (BARROS *et al.*, 2010).

Em relação ao tipo de ataque sabe-se que lagartas neonatas apresentam maior seleção do alimento, onde inicialmente atacam as folhas menos fibrosas (KOGAN & COPE, 1974), considerando a cultura do algodão, essas folhas ficam na porção superior da planta (MIRANDA, 2006). Lagartas de 1º e 2º instares, iniciam o ataque com raspagens das folhas e ao se desenvolverem, a partir do 3º ínstar, as lagartas se alimentam de brácteas e de botões florais (MIRANDA & SUASSUNA, 2004).

O uso de plantas transgênicas portando genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (plantas *Bt*) se tornou, desde 1996, uma ferramenta muito utilizada dentro do manejo de pragas agrícolas, por ser eficiente em várias culturas importantes e afetar diversos artrópodes-praga, incluindo *S. frugiperda* (HUTCHISON *et al.*, 2010; GOULD *et al.*, 2016; DVELY *et al.*, 2018).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria que vive no solo e tem capacidade de esporular e produzir cristais (HOFTE & WHITELEY, 1989). Esses cristais são constituídos por proteínas denominadas *Cry* ou delta-endotoxinas, as quais são codificadas por genes *Cry* (SCHNEPF *et al.*, 1998; CRICKMORE *et al.*, 1998). As proteínas são sintetizadas na forma de protoxinas (HOFTE & WHITELEY, 1989; SCHNEPF *et al.*, 1998; GALZER & FILHO, 2016) e necessitam de ativação, em uma série de etapas, para então promover os efeitos entomopatogênicos esperados (CAPALBO *et al.*, 2005). Após a ingestão das proteínas pelo inseto, os cristais, em

pH alcalino no trato digestivo, solubilizam-se liberando as protoxinas, que são clivadas por enzimas, proteases presentes no próprio inseto, ativando assim as toxinas. Após a ativação, estas ligam-se aos receptores específicos nas células intestinais, permitindo sua inserção na membrana formando poros e levando o inseto à morte (JURAT-FUENTES; CRICKMORE, 2017; BRAVO; GILLB; SOBERON, 2007; SCHNEPF *et al.*, 1998).

Inicialmente houve redução do número de aplicações de inseticidas para as pragas, bem como do custo gerado pelas aplicações (SANTANA, 2016) mas, em condições de altas infestações de algumas pragas em campo, como por exemplo, *S. frugiperda*, foram observadas falhas na eficiência do controle de algumas variedades *Bt* (SANTANA, 2016). Isso pode estar relacionado a expressão da proteína *Cry* podendo variar com a idade e a estrutura da planta, condições ambientais temperaturas elevadas, encharcamentos, longos períodos de seca, altos níveis de gás carbônico e baixos níveis de nitrogênio no solo (GREENPLATE, 1999; DONG & LI, 2006), além de estruturas vegetativas (folhas) e reprodutivas (flor, botão floral e maçãs) (SIVASUPRAMANIAN *et al.*, 2008). Essas falhas na eficiência da tecnologia podem permitir que, mesmo em cultivos com plantas *Bt*, a *S. frugiperda* ocorra ao longo do ciclo da cultura, passando a exigir a adoção de medidas de controle.

As variações na expressão das proteínas em plantas transgênicas e os mecanismos envolvidos nesse processo são fatores importantes a serem considerados para que seja possível aplicar estratégias de manejo eficientes visando retardar o desenvolvimento de resistência dos insetos e efetivamente controlar as pragas-alvo (BAKHSH *et al.*, 2012). Dessa forma, o objetivo foi avaliar a mortalidade de lagartas de 1° e 3° ínstaes de *S. frugiperda* diante da exposição à estruturas vegetativas e de lagartas de 3° ínstar expostas à estruturas reprodutivas de duas cultivares expressando as proteínas *Cry1Ab + Cry2Ae* e *Cry1Ac + Cry2Ab2*.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Local de realização dos bioensaios

Os experimentos foram realizados em salas de manipulação experimental de uma fazenda produtora de algodão no Estado do Mato Grosso em parceria com o Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA) da Universidade Federal do Ceará

(UFC). As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas foram provenientes de coletas realizadas no campo e o bioensaio realizado com a progênie imediata da população coletada (TABASHNIK, RENSBURG, CARRIERE, 2009).

2.2.2 Bioensaio 1 - Eficiência de cultivares de algodão Bt

Foram utilizadas três cultivares de algodão, contendo *Cry1Ab + Cry2Ae*, *Cry1Ac + Cry2Ab2* e convencional susceptível, respectivamente. As folhas e os botões florais provenientes dessas cultivares foram coletados em campo de plantas com 50 dias após a emergência, na ausência anterior de aplicação de inseticidas, fungicidas, acaricidas, e outros produtos fitossanitários, e retiradas do terço superior das plantas (HORIKOSH *et al.*, 2016), acondicionados em recipientes térmicos e transportados até a sala de manipulação experimental.

As folhas e os botões florais foram lavados em água corrente e posteriormente mantidos em temperatura ambiente para secagem. Transcorrido o período de secagem, as amostras foram colocadas individualmente em recipientes plásticos (5,0 cm de diâmetro) forrados com papel filtro. As lagartas de 1º e 3º instares foram expostas às folhas e botões florais, e lagartas de 3º instar foram expostas apenas aos botões florais, por até 120 h. Os recipientes plásticos foram mantidos em salas climatizadas sob condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR 75% e fotofase 12:12 h) e, 48 horas após a exposição das lagartas às estruturas vegetais, novas folhas e botões florais frescos foram utilizadas em substituição às anteriormente ofertadas.

2.2.3 Delineamento experimental, tratamentos e parâmetro avaliado

Os ensaios foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo 10 repetições (Cada repetição formada pelo conjunto de três lagartas) no teste de exposição das estruturas vegetativas/folhas às lagartas de 1º e 3º instares, e quatro repetições (Cinco lagartas cada) no teste de exposição das estruturas reprodutivas/botões florais às lagartas de 3º instar.

Foi avaliada a mortalidade das lagartas para ambos os testes após 72, 96 e 120 horas da exposição. Os indivíduos foram considerados mortos quando não apresentaram movimento aparente quando tocados com um pincel de cerdas

macias e finas.

2.2.4 Análise estatística

A mortalidade das lagartas de 1^o e 3^o instares de *S. frugiperda* quando alimentadas com estruturas vegetativas e reprodutivas de cultivares de algodão *Bt* e suscetível, foram avaliadas pelo teste F da análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey, ambos com nível de 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R versão 4.1.0 (www.r-project.org).

2.3 Resultados

Não foi constatada diferença significativa para a mortalidade de lagartas de 1^o ínstar de *S. frugiperda* expostas às folhas das duas cultivares resistentes, com taxa de mortalidade superior a 80% (Tabela 1). Também não foi constatada diferença na mortalidade de lagartas de 3^o ínstar, porém a taxa de mortalidade geral foi inferior, ficando em torno de 38% (Tabela 1). Ambos os resultados diferiram do controle (plantas não *Bt*) (Tabela 1).

Tabela 1 - Mortalidade de lagartas de 1° e 3° ínstar de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) quando expostas às estruturas vegetativas e reprodutivas de cultivares de algodão *Bt* e cultivar suscetível/controle

Cultivares de algodão	Estruturas vegetativas	
	Mortalidade das lagartas (%)	
	1° ínstar	3° ínstar
Testemunha (plantas não <i>Bt</i>)	8,3 ± 5,1 Ba	5,0 ± 5,0 Ba
<i>Cry1Ab</i> + <i>Cry2Ae</i>	85,8 ± 6,1Aa	37,5 ± 6,3 Ab
<i>Cry1Ac</i> + <i>Cry2Ab2</i>	83,3 ± 6,8 Aa	38,8 ± 5,2 Ab
Estruturas vegetativas e reprodutivas		
	3° ínstar/Veget.	3° ínstar/Reprod.
Testemunha (plantas não <i>Bt</i>)	5,0 ± 5,0 Ba	10,0 ± 5,8 Aa
<i>Cry1Ab</i> + <i>Cry2Ae</i>	37,5 ± 6,3 Aa	23,8 ± 10,3 Aa
<i>Cry1Ac</i> + <i>Cry2Ab2</i>	38,8 ± 5,2 Aa	21,7 ± 10,4 Aa

Médias seguidas por mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Considerando a comparação entre os instares das lagartas de *S. frugiperda*, detectou-se diferença significativa sendo que lagartas de 1° ínstar apresentaram maiores taxas de mortalidade (Tabela 1). A redução na mortalidade observada entre os íntares foi próximo a 46,0% quando as lagartas foram expostas as mesmas cultivares.

A mortalidade das lagartas de 3° ínstar, quando alimentadas com partes vegetativas/folhas e reprodutivas/botões florais, não apresentou diferença significativa entre as cultivares *Bt* (Tabela 1) e entre as cultivares e a testemunha quando utilizadas as estruturas reprodutivas/botões florais (Tabela 1).

2.4 Discussão

No caso da cultura do algodão, a incorporação da capacidade da planta em expressar uma ou mais toxinas da bactéria *B. thuringiensis* é considerada considerável avanço para o controle de pragas (SANTOS; TORRES, 2010; MARTINS *et al.*, 2014). Além das tecnologias testadas, as quais expressam as proteínas, *Cry2Ab2* + *Cry1Ac* e *Cry1Ab* + *Cry2Ae*, existem outras disponíveis no mercado para o controle de insetos, que expressam outras proteínas como *Cry1Ac* e *Cry1Ac* + *Cry1F* (MARTINS *et al.*, 2014), mas, para que se obtenha viabilidade na utilização das plantas *Bt*, é fundamental que a planta tenha capacidade de produzir a toxina em um nível letal aos insetos, ou seja, suficiente para causar a morte (DONG & LI, 2006; CHEN *et al.*, 2012; AHMAD *et al.*, 2019).

A alta taxa de mortalidade (Superior a 80%) das lagartas neonatas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de algodoeiro com 50 dias observada nesta pesquisa confirma a eficiência dessas cultivares para o controle dessa praga em seu estágio inicial. As duas cultivares *Bt* utilizadas apresentam piramidação de genes, expressando as proteínas *Cry1Ab + Cry2Ae* e *Cry1Ac + Cry2Ab2*. A piramidação de genes é uma das táticas de manejo que contribuem para redução da frequência de insetos resistentes na população, uma vez que, por meio da expressão de duas ou mais proteínas *Bt* na mesma planta, cada proteína, isoladamente e/ou em conjunto, cause mortalidade da praga-alvo, aumentando a eficiência do controle (OMOTO & BERNARDI, 2015).

A expressão das toxinas nas plantas pode variar em diferentes graus, e esse fato pode está relacionada à diferentes fatores, entre esses, condições ambientais, como, temperaturas elevadas, umidade do solo, encharcamento, longos períodos de seca, altos níveis de gás carbônico e baixos níveis de nitrogênio no solo, além das partes das plantas e do estágio de desenvolvimento da cultura (GREENPLATE, 1999; DONG & LI, 2006; SIVASUPRAMANIAN *et al.*, 2008; SANTOS; TORRES, 2010). Os resultados de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* obtidos possibilitam inferir que as condições ambientais onde as plantas permaneceram até o momento da coleta, permitiram a expressão das proteínas em níveis satisfatórios.

A mortalidade das lagartas de 3º instar foi inferior à observada para lagartas de 1º instar. Essa diferença na suscetibilidade das lagartas em diferentes instares larvais das espécies de *Spodoptera* spp. já foi observada em outros estudos. Estágios larvais mais jovens (1º e 2º instares) de *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) foram mais sensíveis à toxina, enquanto lagartas de 3º instar até a fase de pupa, não apresentaram diferença na mortalidade entre insetos criados com milho *Bt* que expressa a proteína *Cry1Ab* e no tratamento controle (DUTTON; ROMEIS; BIGLER, 2005), corroborando com constatação da redução na mortalidade das lagartas com avanço dos instares. A maior suscetibilidade de lagartas em instares iniciais às toxinas *Bt* pode estar associada às alterações na atividade específica das proteases da solução intestinal que apresenta mudanças durante os diferentes instares (MELO *et al.*, 2016). Observou-se que *Cry1C* quando incubada em sucos intestinais de lagartas de instares avançados de *S. littoralis* (3º a 5º) promove alta atividade proteolítica, ocasionando degradação completa da

proteína, ao contrário do que ocorreu em 1º e 2º instar onde a degradação das toxinas foi menos impactada (KELLER *et al.*, 1996).

Danos às estruturas, como brácteas e botões florais, em plantas *Bt* começam a ser observados quando o ataque é realizado por lagartas de *S. frugiperda* a partir do 3º instar (MIRANDA & SUASSUNA, 2004). Fato que foi corroborado no presente estudo pelos índices de mortalidade observados nas lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* quando expostas às folhas e botões florais de cultivares de algodão *Bt*. O nível de *Cry1A(c)* δ -endotoxina reduz em diferentes partes da planta de algodão *Bt* ao longo da estação de crescimento (ADAMCZYK *et al.*, 2001). A variação de cada tipo de proteína *Cry* nas plantas se diferencia, uma vez que verificou-se que não existir diferenças para a toxina *Cry1Ac* entre as partes das plantas de algodão Bollgard II[®], mas diferenças entre as expressões de *Cry2Ab* em partes distintas das plantas na mesma cultivar, sendo as maiores expressões em pecíolos e flores, e as menores em capulhos (BAHAR *et al.*, 2019). Isso ressalta a importância do acompanhamento profissional ao longo do desenvolvimento da cultura, de forma que, caso necessário seja possível adotar, em tempo útil, táticas complementares nos cultivos de plantas transgênicas.

2.5 Conclusão

Houve redução da mortalidade com o desenvolvimento larval de *S. frugiperda* quando alimentadas com variedades de algodão *Bt* *Cry1Ab+Cry2Ae* e *Cry1Ac+Cry2Ab2*. No entanto, as variedades podem ser utilizadas dentro dos programas de manejo apresentando alta eficiência no controle de lagartas neonatas.

3 CAPÍTULO II: CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) UTILIZANDO MISTURAS DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS

RESUMO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tem capacidade de causar perdas econômicas em diferentes cultivos agrícolas. No campo, visando economia e praticidade, é comum a realização de aplicações usando misturas de produtos químicos. Diante disso, o objetivo foi verificar a compatibilidade de algumas misturas de produtos fitossanitários envolvendo fungicidas, acaricidas e inseticidas, e avaliar a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* submetidas a essas misturas. No teste de compatibilidade, foram analisadas as combinações: Metomil + Acetamiprido + Bifentrina; Propiconazol + Difenconazol + Clorotalonil + Metomil; Hidróxido de Fentina + Mancozeb + Diafentiurom + Espinetoram; e Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina + Clorotalonil + Espinetoram + Acetamiprido + Diafentiurom. Nesta avaliação foram atribuídas notas de 1 a 5 de acordo com o grau de estabilidade considerando cinco repetições por tratamento. Para o bioensaio de mortalidade, lagartas de 2º e 4º ínstaes foram expostas às misturas e aos produtos isoladamente. As lagartas foram expostas utilizando a técnica com tratamento superficial em dieta artificial, por até 72 horas. O ensaio foi implantado em DIC com 10 repetições (Cinco lagartas cada). A avaliação da mortalidade foi realizada 24, 48 e 72 horas após a exposição das lagartas à dieta tratada. Os resultados mostraram que, todas as misturas foram compatíveis fisicamente. A mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* ocasionada pelos produtos isolados foi considerável apenas quando expostas aos inseticidas: Metomil, Diafentiurom, Espinetoram, Bifentrina e ao fungicida com Hidróxido de Fentina. Observou-se mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* (nos dois ínstaes) superior a 90% quando analisadas as misturas, mostrando-se viáveis para utilização.

Palavras-chave: Controle químico; compatibilidade de misturas; lagarta-do-cartucho.

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), can cause economic losses in different agricultural crops. In the field, it is common to apply mixtures of chemical products for practical and economic purposes. Thus, the aim of this study was to assess the compatibility of some mixtures of phytosanitary products, including fungicides, acaricides, and insecticides, and to evaluate the mortality of *S. frugiperda* larvae to these mixtures. The following combinations were analyzed in the compatibility test: Methomyl + Acetamiprid + Bifenthrin; Propiconazole + Difenconazole + Chlorothalonil + Methomyl; Fentin Hydroxide + Mancozeb + Diafenthiuron + Spinetoram; and Bixafen/Prothioconazole/Trifloxystrobin + Chlorothalonil + Spinetoram + Acetamiprid + Diafenthiuron. In this evaluation, scores from 1 to 5 were assigned according to the degree of stability, considering five replications per treatment. For the mortality bioassay, 2nd and 4th instar larvae were exposed to the mixtures and to the individual products. The larvae were exposed using the technique of surface treatment on an artificial diet for up to 72 hours. The trial was set up in a completely randomized design (CRD) with 10 replications (five larvae each). Mortality was evaluated at 24, 48, and 72 hours after exposure of the larvae to the treated diet. The results showed that all the mixtures were physically compatible. Mortality of the *S. frugiperda* larvae due to individual products was significant only when they were exposed to the insecticides Methomyl, Diafenthiuron, Spinetoram, and Bifenthrin and to the fungicide with Fentin Hydroxide. Mortality of the *S. frugiperda* larvae (in the two instars) was over 90% when they were exposed to the mixtures, showing the mixtures were viable for use.

Keywords: chemical control; compatibility of mixtures; fall armyworm.

3.1 Introdução

Os problemas fitossanitários ocorrem simultaneamente no campo, dificultando o manejo por não existirem produtos com espectro de ação capaz de controlar todos os alvos ao mesmo tempo (SILVA, 2021). A cultura do algodão (*Gossypium* spp.) é susceptível ao ataque de diversas pragas, afetando todas as partes da planta, das raízes até os capulhos, causando consideráveis danos. Esses danos influenciam negativamente a produtividade e as características fisiológicas, não permitindo muitas vezes, que seja alcançado o máximo rendimento produtivo (MIRANDA & SUASSUNA, 2004; SANTOS *et al.*, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2019; PUIA *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022).

O algodoeiro apresenta grande quantidade de estruturas de floração e de frutificação dos 40 aos 120 dias após a emergência, e isso favorece o desenvolvimento e a multiplicação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), praga polífaga e com capacidade de causar sérios prejuízos (BARROS *et al.*, 2010). Nessa cultura, o ataque dessas lagartas ocorre primeiramente nas folhas e, em seguida, as lagartas se direcionam para as partes reprodutivas (ALI *et al.*, 1990; BARROS *et al.*, 2010).

A utilização de inseticidas químicos é uma das principais táticas utilizadas (FÜHR, 2023), mas, as pragas, como é o caso da *S. frugiperda*, desenvolvem mecanismos que lhes conferem resistência às moléculas de produtos químicos quando utilizados excessivamente e de forma inadequada (DIEZ-RODRIGUES & OMOTO, 2001; HUANG *et al.*, 2014; CARVALHO *et al.*, 2013; SANTOS-AMAYA *et al.*, 2015).

A mistura em tanque é uma estratégia empregada, a fim de aumentar o espectro de ação da aplicação, além de reduzir o número e, conseqüentemente, os custos de aplicação (PETTER *et al.*, 2013; GAZZIERO, 2015). Considerando o ponto de vista econômico essa prática é de extrema importância (DELLA VECHIA, 2017). A mistura em tanque é uma prática de associação de agroquímicos e/ou adubos foliares junto com água no equipamento que realizará a pulverização e deve ser preparada no momento da aplicação (GAZZIERO *et al.*, 2021). Portanto, ao realizar misturas desses produtos é preciso levar em consideração o comportamento de resposta, podendo ser observados efeitos aditivos, sinérgicos ou antagônicos (AZEVEDO, 2015).

O efeito aditivo, ocorre quando a resposta da aplicação não se diferencia da aplicação isolada de cada um dos produtos, já o efeito sinérgico, é observado quando a mistura apresenta maior eficiência do que quando comparada a aplicação isolada de cada um dos produtos e, o efeito antagônico é observado quando os produtos interagem de forma negativa apresentando resultados inferiores do que quando comparados a aplicação isolada de cada um dos mesmos (QUEIROZ; MARTINS; CUNHA, 2008). Algumas combinações entre os produtos fitossanitários podem trazer desvantagens devido à fatores desconhecidos causados por questões relacionadas a incompatibilidade físico-química dos produtos, ocasionando perda de eficácia das moléculas fitossanitárias (DELLA VECHIA, 2017; GANDINI *et al.*, 2020).

No Brasil, a prática da mistura em tanque dos produtos fitossanitários foi regulamentada a partir publicação da Instrução Normativa nº 40/SDA-MAPA, de 11 de outubro de 2018, desde que realizada com apoio de profissionais competentes, no caso, Engenheiros Agrônomos e/ou Florestais, cada qual em respectiva área de atuação (MAPA, 2018). O acompanhamento é necessário porque vários critérios, dentre estes os riscos de ocorrência de incompatibilidades, devem ser levados em consideração quando se realiza o preparo e a aplicação das misturas.

A incompatibilidade acontece quando há interação física e/ou química com efeito imprevisível entre as substâncias misturadas, interferindo na eficiência do tratamento a partir da aplicação do produto formado após a interação (LEAL *et al.*, 2016). A incompatibilidade física pode ser observada por meio de características físicas da mistura, em que os produtos são imiscíveis formando uma calda de concentração heterogênea, com cristais, flocos ou aglomerados, além da possível separação de fases (DELLA VECHIA, 2017). O conhecimento prévio dos produtos e das interações quando misturados em tanque é a chave para que seja possível realizar uma aplicação que reduza os danos fitossanitários à cultura e promova a eficiência dos produtos aplicados (PETTER *et al.*, 2013) e será a compatibilidade da calda um fator determinante para saber se produtos podem ser misturados em tanques de pulverização (SANTOS, 2021).

Sendo assim, o objetivo foi avaliar a mortalidade de lagartas de 2º e 4º instares de *S. frugiperda* quando aplicadas misturas de agroquímicos utilizados em cultivos de algodão.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Local de realização dos bioensaios

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia Aplicada (LEA), Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, Ceará, Brasil. As lagartas utilizadas nos ensaios foram provenientes da criação mantida no LEA, com 14 gerações no laboratório, e mantidas em sala climatizada ($25 \pm 3^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12 h).

3.2.2 Bioensaio de compatibilidade de mistura de produtos fitossanitários

As misturas foram selecionadas apartir de aplicações realizadas em fazendas produtoras de algodão no Estado do Mato Grosso, sendo considerado também, as certificações dos registros dos produtos em algodoeiro, inclusive, as doses recomendadas, no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT).

Os tratamentos foram compostos por quatro misturas de produtos fitossanitários envolvendo inseticidas, acaricidas e fungicidas e, a testemunha composta por água mais adjuvante (Tabela 2).

Tabela 2 - Classes e ingredientes ativos dos produtos fitossanitários utilizados em misturas para avaliação da compatibilidade física

Tratamento	Classe dos produtos	Misturas (Ingrediente ativo)
Testemunha	Água + Espalhante adesivo/surfactante	Água + Triton
Mistura 1	Inseticida + Inseticida + Inseticida/acaricida	Metomil + Acetamiprido + Bifentrina
Mistura 2	Fungicida + Fungicida + Fungicida + Inseticida	Propiconazol + Difenconazol + Clorotalonil + Metomil
Mistura 3	Fungicida + Fungicida + Fungicida/acaricida + Inseticida/Acaricida + Inseticida	Hidróxido de Fentina + Mancozeb + Diafentiurom + Espinetoram
Mistura 4	Fungicida + Fungicida + Inseticida + Inseticida + Inseticida/Acaricida	Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina + Clorotalonil + Espinetoram + Acetamiprido + Diafentiurom

As caldas foram preparadas em béqueres de 100 mL com a adição de água destilada, adjuvante e os produtos fitossanitários, os quais foram utilizados na dose máxima recomendada pelo fabricante e no menor volume de calda por hectare

(Tabela 3). Os produtos foram adicionados no recipiente de acordo com as recomendações, considerando o tipo de formulação, e depois homogeneizados com bastões de vidro. Os produtos líquidos foram medidos utilizando pipeta automática e os sólidos foram pesados em balança semi analítica WebLabor 210G 0,001 S203. Em todos os tratamentos, o pH foi aferido antes da realização da mistura e após a finalização (PETTER *et al.*, 2012), utilizando fita indicadora de pH.

Tabela 3 - Produtos utilizados no experimento de compatibilidade, dose máxima recomendada e o menor volume de calda

Produto	Dose máxima	Volume de calda (L/ha)
Metomil	1,5 L/ha	100 L de calda/ha
Propiconazol	600 ml/ha	100 L de calda/ha
Acetamiprido	100 g/ha	200 L de calda/ha
Bifentrina	600 mL/ha	100 L de calda/ha
Difenoconazol	0,3 L/ha	200 L de calda/ha
Clorotalonil	2 L/ha	100 L de calda/ha
Hidróxido de fentina	0,7 L/ha	200 L de calda/ha
Mancozeb	2,5 kg/ha	200 L de calda/ha
Diafentiuron	600 mL/ha	150 L de calda /ha
Espinetoram	150 mL/ha	100 L de calda/ha
Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina	0,5 L/ha	70 L de calda/ha

Fonte: Bulas dos produtos disponíveis no AGROFIT.

Para a realização das avaliações foi considerada a metodologia proposta por Petter *et al.* (2012), que define os seguintes intervalos de tempo: No início da mistura 0-30 segundos e, aos 1, 5, 10 e 30 minutos após a finalização. As observações dos possíveis efeitos, visualizados a olho nu, como a separação de fases, seja por precipitação ou floculação, ou homogeneidade, foram contabilizadas e descritas incluindo todas as interações físicas. As notas foram atribuídas seguindo a escala de 1 a 5 referindo-se ao grau de estabilidade das misturas no decorrer das observações (Tabela 4).

Tabela 4 - Grau de estabilidade das misturas de produtos fitossanitários

Grau de estabilidade	Efeito da Interação
1	Separação imediata
2	Separação depois de 1 minuto
3	Separação depois de 5 minutos
4	Separação depois de 10 minutos
5	Estabilidade perfeita

Fonte: Adaptado do Centro Brasileiro de Bioaeronáutica (CBB) e de PETTER *et al.* (2012).

3.2.3 Bioensaio de eficiência de misturas de produtos fitossanitários sobre *S. frugiperda*

Lagartas de 2° e 4° instares de *S. frugiperda* foram expostas às misturas dos produtos fitossanitários (Tabela 2) e aos produtos de forma isolada (Tabela 3). Utilizou-se ínstares de desenvolvimento mais avançados visando identificar a capacidade de sobrevivência dessas lagartas, conseqüentemente, menos suscetíveis do que os ínstares iniciais. A testemunha foi representada pela mistura de água com adjuvante. As dosagens foram medidas com o auxílio de pipetas automáticas para produtos líquidos e balança analítica para produtos sólidos.

O ensaio foi realizado em recipientes plásticos (3,5 cm de altura x 1,5 cm de diâmetro) contendo um volume de aproximadamente 2,0 mL de dieta artificial por tubo, nos tratamentos 30 µL foram aplicados sobre a dieta (adaptado de SCHMIDT, 2002; MURARO *et al.*, 2022). Em seguida as dietas permaneceram intactas durante 2 horas para permitir a secagem superficial do produto fitossanitário. Transcorrido o período de secagem, foram inoculadas lagartas de 2° ou de 4° instar utilizando a população mantida em laboratório, com auxílio de um pincel de cerdas finas, permitindo a ingestão da dieta por um período de até 72 horas, em condições controladas de 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de UR e fotofase 14h.

3.2.4 Delineamento experimental, tratamentos e parâmetros avaliados

Os ensaios foram implantados em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com dois fatores (ínstar e produtos) em esquema fatorial (2 x 16), 2° e 4° instares, 16 tratamentos, representados pelos produtos fitossanitários em mistura ou isolados mais a testemunha, com 10 repetições, sendo cada repetição constituída por cinco lagartas.

A avaliação da mortalidade foi realizada em intervalos de 24, 48 e 72 horas após a exposição das lagartas aos produtos fitossanitários adicionados à dieta. Foram considerados mortos aqueles indivíduos sem movimento notório após serem tocados com um pincel de cerdas finas na parte posterior do abdômen.

3.2.5 Análise estatística

Os dados de mortalidade foram corrigidos utilizando a fórmula de Abbott (1925), sendo: [%Mc= (%Mo - %Mt) x 100], onde: Mc= Mortalidade corrigida; Mo= Mortalidade observada e, Mt= Mortalidade na testemunha. Os resultados de mortalidade total obtidos com 72 h foram submetidos à análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores da mortalidade calculada (Mc%) nos tempos avaliados, foram utilizados para avaliar os efeitos de aditividade, sinergismo e antagonismo entre as combinações dos tratamentos, usando a equação proposta por Colby (1967).

$$E = X + Y + Z - \frac{[(X*Y) + (X*Z) + (Y*Z)]}{100} + \frac{X*Y*Z}{10000}$$

Onde:

E: Resultado esperado para combinação;

X: Valor observado da percentagem de eficiência do produto A;

Y: Valor observado da percentagem de eficiência do produto B;

Z: Valor observado da percentagem de eficiência do produto C.

Assim, considera-se que se o valor observado for superior ao esperado caracteriza ação sinérgica entre os produtos em mistura. Caso, o valor observado seja inferior ao esperado, retrata a ocorrência do antagonismo na mistura entre os produtos e se os valores observados e esperados forem iguais, a combinação é considerada aditiva.

3.3 Resultados

3.3.1 Bioensaio compatibilidade de misturas de produtos fitossanitários

Em todas as misturas analisadas, a estabilidade se manteve perfeita durante os 30 minutos de avaliação com a presença do adjuvante Triton. Não foi observado nenhum tipo de heterogeneidade, como separação de fases ou formação de cristais, apresentando, portanto, a característica de boa compatibilidade física, recebendo nota 5 de estabilidade de calda em todos os tratamentos. O pH se manteve em 6,0 antes do preparo das caldas e após a finalização das avaliações.

3.3.2 Bioensaio eficiência de misturas de produtos fitossanitários sobre *S. frugiperda*

Foi constatada diferença significativa entre os fatores ínstar e tratamentos utilizados (produtos isolados e/ou em misturas) quando lagartas de 2º e 4º instares foram expostas aos produtos (Tabela 5).

Tabela 5 - Mortalidade acumulada (%) de lagartas de 2º e 4º instares de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) quando expostas aos produtos isolados e em misturas

Produtos	Mortalidade* (%)	
	2º ínstar	4º ínstar
Testemunha	0,0 ± 0,0 Aa	0,0 ± 0,0 Aa
Acetamiprido	0,0 ± 0,0 Aa	0,0 ± 0,0 Aa
Difenoconazol	0,0 ± 0,0 Aa	0,0 ± 0,0 Aa
Propiconazol	0,0 ± 0,0 Aa	0,0 ± 0,0 Aa
Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina	2,0 ± 2,0 Aa	0,0 ± 0,0 Aa
Mancozeb	8,0 ± 4,4 Bb	0,0 ± 0,0 Aa
Clorotalonil	16,0 ± 4,8 Cb	0,0 ± 0,0 Aa
Hidróxido de Fentina	66,0 ± 6,0 Db	38,0 ± 6,2 Ba
Diafentiuram	98,0 ± 2,0 Eb	90,0 ± 3,3 Ca
Metomil	100,0 ± 0,0 Eb	86,0 ± 7,8 Ca
Bifentrina	100,0 ± 0,0 Ea	100,0 ± 0,0 Da
Espinetoram	100,0 ± 0,0 Ea	100,0 ± 0,0 Da
Mistura 1	100,0 ± 0,0 Ea	100,0 ± 0,0 Da
Mistura 2	100,0 ± 0,0 Ea	94,0 ± 3,5 Ca
Mistura 3	100,0 ± 0,0 Ea	100,0 ± 0,0 Da
Mistura 4	100,0 ± 0,0 Ea	98,0 ± 4,6 Da

*Médias seguidas de mesma letra, maiúscula nas colunas e minúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Mistura 1 (Metomil + Acetamiprido + Bifentrina); Mistura 2 Propiconazol + Difenoconazol + Clorotalonil + Metomil); Mistura 3 (Hidróxido de Fentina + Mancozeb + Diafentiuron + Espinetoram); Mistura 4 (Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina + Clorotalonil + Espinetoram + Acetamiprido + Diafentiuron).

A mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* de 2º e 4º instares variou de 0 à 100% quando expostas aos produtos fitossanitários de forma isolada ou em mistura sob condições de laboratório apresentando diferença significativa entre os tratamentos, sendo que, os inseticidas isolados constituídos por Bifentrina, Metomil, Espinetoram e Diafentiuron apresentaram melhores resultados (Tabela 5). Entre os instares avaliados, observou-se que a mortalidade das lagartas de 2º ínstar foi significativamente maior que lagartas de 4º ínstar (Tabela 5).

Alguns fungicidas, em taxas inferiores aos inseticidas, exceto o

acetamiprido, causaram mortalidade nas lagartas como no caso de Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina, Mancozeb, Clorotalonil e Hidróxido de Fentina (Tabela 5).

Verificou-se variações nas interações entre as misturas nos tempos avaliados de 24, 48 e 72 horas após a aplicação, e em ínstares diferentes. A mistura 1 (Metomil + Acetamiprido + Bifentrina) causou mortalidade de 100,0% das lagartas de 2º instar a partir de 24 horas com valores esperados e observados semelhantes, caracterizando assim o efeito de aditividade (Tabela 6), mas para lagartas de 4º instar à partir de 24 horas, o efeito observado foi sinérgico, com valor esperado inferior ao observado, porém a mistura também ocasionou 100,0% de mortalidade das lagartas (Tabela 6).

Tabela 6 - Estimativa de Colby (1967) para a combinação dos inseticidas aplicados visando causar mortalidade de lagartas de 2º e de 4º ínstares de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório

Ínstar	Combinações de produtos	Horas após exposição					
		24 h		48 h		72 h	
		CO% ¹	CE% ²	CO%	CE%	CO%	CE%
2º	Mistura 1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	Mistura 2	72,0	100,0	86,0	100,0	100,0	100,0
	Mistura 3	88,0	80,0	98,0	78,0	100,0	100,0
	Mistura 4	94,0	100,0	100,0	39,0	100,0	82,0
4º	Mistura 1	100,0	99,2	100,0	100,0	100,0	100,0
	Mistura 2	68,0	58,0	88,0	76,0	94,0	86,0
	Mistura 3	60,0	63,2	92,0	86,8	100,0	65,8
	Mistura 4	26,0	76,2	76,0	52,0	98,0	22,6

¹Controle observado; ²Controle Esperado, seguindo estimativa de Colby (1967). Mistura 1 (Metomil + Acetamiprido + Bifentrina); Mistura 2 Propiconazol + Difenconazol + Clorotalonil + Metomil); Mistura 3 (Hidróxido de Fentina + Mancozeb + Diafentiuron + Espinetoram); Mistura 4 (Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina + Clotalonil + Espinetoram + Acetamiprido + Diafentiuron).

Para a mistura 2 (Propiconazol + Difenconazol + Clorotalonil + Metomil), nos tempos de 24 e 48 horas e considerando as lagartas de 2º instar, os valores observados foram inferiores aos valores esperados apresentando assim efeito antagônico, ou seja, a mortalidade ocorrida foi menor do que a esperada (Tabela 6). Em 72 horas a mortalidade observada foi de 100,0%, observando-se aumento equivalente à 28,0%, conferindo o efeito de aditividade (Tabela 6). O comportamento da mistura não se repetiu em lagartas de 4º instar, obtendo-se a mortalidade

observada superior à esperada e, portanto, conferindo efeito sinérgico (Tabela 6). Observou-se acréscimos na taxa de mortalidade equivalente à 26,0% entre 24 e 72 horas, alcançando 94,0% (Tabela 6).

Na mistura 3 (Hidróxido de Fentina + Mancozeb + Diafentiurom + Espinetoram), considerando as lagartas de 2º instar, os efeitos foram sinérgicos em 24 e 48 horas, e em 72 horas ocorreu 100,0% de mortalidade, representando efeito aditivo (Tabela 6). No 4º instar, a mortalidade observada foi inferior ao que era esperado em 24 horas, representando efeito antagônico, mas tornou-se sinérgico nos dois tempos seguintes de avaliação, proporcionando mortalidade de 100,0% das lagartas (Tabela 6).

Já para mistura 4 (Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina + Clotalonil + Espinetoram + Acetamiprido + Diafentiurom), a taxa de mortalidade não atingiu o valor esperado no período de 24 horas e apresentou efeito antagônico, mas nos períodos de 48 e 72 horas observou-se aumento considerável no valor observado caracterizando-se o efeito sinérgico (Tabela 6). A mortalidade total das lagartas de 2º instar ocorreu em 48 horas, e em 4º instar, mesmo com 72 horas, a taxa de mortalidade foi menor, porém superior a 95,0% (Tabela 6).

3.4 Discussão

3.4.1 Bioensaio compatibilidade de misturas de produtos fitossanitários

É comum entre produtores a realização de misturas de produtos fitossanitários no tanque de pulverização, na expectativa de aumentar a eficiência operacional, econômica e atingir uma quantidade maior de alvos biológicos (SPADONI, 2019; DELLA VECHIA *et al.*, 2018; GAZZIERO, 2015; GUIMARÃES, 2014). A estabilidade das caldas está primeiramente associada a compatibilidade físico-químicas dos produtos, referindo-se geralmente aos ingredientes inertes, os quais constituem os produtos e suas interações químicas normalmente estão relacionadas às moléculas dos defensivos (PETTER *et al.*, 2013).

A compatibilidade física observadas nas misturas, envolvendo produtos de diferentes formulações, como Metomil (SL) + Acetamiprido (SP) + Bifentrina (EC); Propiconazol (EC) + Difenconazol (EC) + Clotalonil (SC) + Metomil (SL); Hidróxido de fentina (SC) + Mancozeb (WP) + Diafentiurom (SC) + Espinetoram

(SC); Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina (SC) + Clorotalonil (SC)+ Espinetoram (SC) + Acetamiprido (SP) + Diafentiurom (SC), com a presença do adjuvante Triton[®], pode ter sido favorecida por medidas adotadas como obedecer a sequência em que os produtos são adicionados nos recipientes no momento da mistura, sendo obedecida a recomendação de inicialmente adicionar formulações sólidas, WG (granulados dispersíveis), SP (Pó solúvel em água), WP (pós molháveis) e na seqüência, SC (suspensão concentrada), SL (concentrado solúvel) e EC (concentrado emulsionável) (ABNT, 2014; GAZZIERO *et al.*, 2021; EPAGRO, 2023).

A compatibilidade das formulações é um aspecto importante dentro desse procedimento de misturas pois a formulação dos produtos poderá interferir na solubilidade e estabilidade das caldas, conseqüentemente influenciará na eficácia das misturas (AZEVEDO, 2015; DECARO JÚNIOR, 2019; TAVARES, 2022).

A qualidade da água é outro fator importante, pois essa tem a capacidade de proporcionar dispersão homogênea dos produtos fitossanitários, além de influenciar na solubilidade dos produtos (AZEVEDO, 2015). A observação das características físicas e químicas da água é um dos procedimentos importantes ao planejar as misturas com produtos fitossanitários (QUEIROZ *et al.*, 2008) e, dentre os aspectos a serem analisados na água, está o pH (QUEIROZ *et al.*, 2008; PETTER *et al.*, 2013; SILVA, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2021). O pH também é um parâmetro utilizado como indicativo de compatibilidade ou incompatibilidade de mistura entre produtos (COSTA *et al.*, 2020; CUNHA & MARTINS, 2022) sendo que geralmente os produtos fitossanitários (especialmente inseticidas e fungicidas) apresentam melhor desempenho quando o pH está entre 6 e 6,5 (KISSMANN, 1998; AZEVEDO, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2021).

Os adjuvantes são substâncias que podem ser adicionados na preparação da calda a ser aplicada com o objetivo de aumentar a eficiência da solução (KISSMANN, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2008). As empresas fabricantes de defensivos agrícolas podem incluir os adjuvantes durante o processo de formulação dos produtos ou esses podem ser adicionadas no momento do preparo da calda (THEISEN; RUEDEIL, 2004). Portanto, o uso do adjuvante Triton[®], que apresenta características para auxiliar a redução de espuma e de deriva, podem também ter contribuído para que as misturas apresentassem estabilidade.

A incompatibilidade física observada em diversas misturas testadas, como a mistura entre fungicidas e inseticidas, como Nativo[®] + Imidagold[®], onde houve a

formação de precipitados (PAZINI *et al.*, 2013), entre herbicidas, Primóleo® e Proof® em mistura com Roundup Transorb®, em diferentes doses e imediatamente após o preparo das caldas observaram sedimentação e formação de grumos (COSTA *et al.*, 2020), e de herbicidas com inseticidas, como glyphosate + clorpirifós também houve a formação de precipitação um minuto após o preparo da calda (PETTER *et al.*, 2012), isso ressalta a necessidade do desenvolvimento de pesquisas para viabilizar as misturas nos tanques e a aplicação em campo.

3.4.2 Bioensaio eficiência de misturas de produtos fitossanitários sobre *S. frugiperda*

A prática de realizar misturas entre produtos fitossanitários pode apresentar diferentes tipos de interações que podem ou não influenciar no controle, causando efeitos desconhecidos quanto à toxicologia (GAZZIERO & SOUZA, 1993; TREZZI, 2005).

Os fungicidas, quando aplicados isoladamente, como Difenoconazol e Propiconazol não causaram mortalidade nas lagartas de *S. frugiperda*, já os produtos: Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina, Mancozeb e Clorotalonil causaram mortalidade, na faixa de 2 a 16%, sendo observada somente em lagartas de 2º ínstar, estágio mais suscetível a morte por produtos formulados. A mortalidade das lagartas pode estar associada à presença de ingredientes inertes contidos nos produtos, os quais podem apresentar atividade química, biológica e toxicológica ativa, com capacidade de afetar organismos não-alvo (BOLOGNESI, 2003; COX & SURGAN, 2007), ou pode estar associado também, a ação das moléculas dos ingredientes ativos desses produtos ligado a uma maior suscetibilidade de lagartas de segundo ínstar.

A taxa de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, relativamente alta (60,0%), causada pelo fungicida de contato constituído por Hidróxido de Fentina foi considerado inesperado visto que Hidróxido de Fentina é recomendado na cultura do algodão para o controle do fungo *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912). Apesar de inesperado, uma análise mais detalhada indica que esse fungicida do grupo químico organoestânico tem mecanismo de ação na fosforilação oxidativa, ATP sintase (FRAC-BR, 2020) e, no mercado, existem inseticidas que são do mesmo grupo químico organoestânico (IRAC-BR, 2018) assim, é provável que o fungicida tenha

atuado na respiração celular, como inibidor de ATP sintetase mitocondrial, causando mortalidade das lagartas.

O inseticida composto por Acetamiprido não causou mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*, resultado já previsto, por essa praga não estar inclusa na lista de insetos alvos. O Acetamiprido é aplicado, na cultura do algodão, somente para o pulgão-do-algodeiro *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae).

Os demais inseticidas avaliados, causaram mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*, superior a 90%, mesmo o Diafentiuron que não tem recomendação de bula para essa praga na cultura do algodão. Esse inseticida inclusive não é recomendado para o controle de *S. frugiperda* em nenhuma cultura, mas consta a recomendação na bula para outros Lepidoptera, como *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), demonstrando assim, a ação inseticida em insetos pertencentes a essa Ordem. O uso de Metomil como ingrediente ativo no controle de *S. frugiperda* já é recomendado para outras culturas, como milho e soja, porém, com doses diferenciadas da utilizada neste trabalho.

Todas as misturas causaram mortalidade acumulada de 100,0% das lagartas de 2º ínstar, mas, em 4º ínstar a mistura 2 diferiu quando comparada aos resultados das misturas, alcançando resultado inferior, com 94,0% de mortalidade. A eficiência em causar mortalidade dos inseticidas é influenciada por fatores como a fase de desenvolvimento da praga suscetível (WATANABE *et al.*, 2016).

A eficiência de produtos químicos quando aplicados em lagartas de diferentes ínstares é tema que vem sendo pesquisado, verificando-se que o comportamento da mortalidade dos insetos também varia de acordo com o produto utilizado. Assim, a ação dos inseticidas Clorpirifós-etil, Metidatiom, Fosmet, Triclorfom, Tebufenozide, Fenitrotiom e Carbaril foi eficiente no controle de lagartas recém-emergidas de *Bonagota cranaodes* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae), mas apenas Clorpirifós-etil, Triclorfom e Tebufenozide causaram mortalidade significativa em lagartas de 4º e 5º ínstares da mesma praga (BOTTON *et al.*, 2000). No caso do teste de Metoxifenoza e Lufenuron em lagartas de 2º, 3º e 5º ínstares de *S. frugiperda*, observou-se que o 2º e 3º ínstar foram mais susceptíveis aos inseticidas (WATANABE *et al.*, 2016).

A fórmula proposta por Colby (1967) permite analisar a eficiência de cada produto aplicado isoladamente e, a partir disso, foi calculado um valor de eficiência teórico que serve de parâmetro para comparar os resultados dos tratamentos

(BETINELLI *et al.*, 2023). Assim, observou-se variação na capacidade de causar mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* considerando os intervalos de tempo de avaliação entre os tratamentos. A mistura 1 (Metomil + Acetamiprido + Bifentrina) foi a única testada que causou mortalidade em 100,0% das lagartas de 2º e 4º ínstaes, com 24 horas e, vale ressaltar que, nessa combinação, o ingrediente ativo (IA) Bifentrina, foi o único com recomendação na bula para *S. frugiperda* na cultura do algodão. O ingrediente ativo Metomil e o Acetamiprido tem recomendação para outros insetos-alvo nessa cultura, dentre eles, a lagarta-das-maçãs, *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e o pulgão-do-algodoeiro, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Entretanto, deve-se destacar que, a capacidade do Metomil em causar mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* e que na mistura com Bifentrina pode ter ocorrido uma potencialização dos efeitos, visto que, os produtos quando misturados, sofrem uma série de interações, químicas, físicas e biológicas (AZEVEDO, 2015).

Na mistura 2, a alta taxa de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* (Superior a 90,0%) às 72 horas demonstram a viabilidade da mistura quando o alvo é a lagarta-do-cartucho. Essa combinação foi composta por três fungicidas e um inseticida (Metomil) que, como já mencionado, não tem recomendação para *S. frugiperda* nessa cultura. Considerando a eficiência na mortalidade das lagartas é possível fomentar a expansão de recomendação para essa praga na cultura do algodoeiro, por meio de outras pesquisas com esta finalidade, abrangendo por exemplo, questões relacionadas a toxicidade na planta, seletividade, eficiência no controle em todos os alvos dos produtos que estão sendo misturados.

A mortalidade de 100,0% das lagartas de *S. frugiperda* só ocorreu na avaliação de 72 horas após aplicação da mistura 3 (Hidróxido de fentina + Mancozeb + Diafentiuron + Espineteram). Nesse caso, a combinação foi composta por um fungicida, um fungicida/acaricida, um inseticida/acaricida e um inseticida. O inseticida/acaricida em questão, não tem *S. frugiperda* entre seus alvos na cultura do algodão, mas tem a recomendação para insetos da Ordem Lepidotera, sendo então utilizada como parâmetro para a dosagem na mistura. No caso de Espineteram, que tem *S. frugiperda* entre os alvos, sendo então um produto de maior interesse na mistura. O Diafentiuron, também utilizado nessa combinação, não é um produto recomendado para *S. frugiperda*, mas apresentou capacidade de causar mortalidade

das lagartas de 2º e 4º ínstaes quando aplicado de forma isolada, podendo então ter favorecido o resultado.

A composição de misturas de agroquímicos a serem aplicadas em campo utilizando produtos que atuam sobre a praga-alvo com mecanismo de ação distintos, é de extrema importância do ponto de vista do manejo de resistência de insetos. Isso porque, o manejo, quando realizado por meio de ataque múltiplo, com a utilização de dois ou mais produtos químicos com mecanismos de ação diferentes, permite que a frequência de resistência a um produto individualmente seja reduzida (GEORGHIOU, 1983; ROUSH, 1989). No caso das misturas 1, 3 e 4 avaliadas, existem pelo menos dois inseticidas com modo de ação diferente e com capacidade de causar mortalidade em *S. frugiperda*. O Espinetoram é classificado como moduladores alóstericos de receptores nicotínicos da acetilcolina, já o Metomil faz parte dos inibidores da acetilcolinesterase. O Diafentiroun é um inibidor da ATP sintetase mitocondrial e a Bifentrina é moduladora dos canais de sódio (IRAC, 2018).

Por fim, na mistura 4 (Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina + Clotalonil + Espinetoram + Acetamiprido + Diafentiuron), tem-se a combinação de dois fungicidas, sendo Bixafem/Protioconazol/Trifloxistrobina uma formulação comercial composta de três diferentes ingredientes ativos, ampliando o espectro de ação do produto, e mais três inseticidas que, a exceção do Acetamiprido, apresentaram efeitos consideráveis para causar mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*.

De forma geral, lagartas de 2º ínstar morreram após 24 horas da aplicação dos produtos em mistura, com resultados superiores ao que ocorreu em lagartas de 4º ínstar. Esses dados evidenciaram a rápida ação das combinações em lagartas em ínstaes iniciais, viabilizando a aplicação dessas misturas principalmente no início do ataque da praga.

Diversas misturas foram e continuam sendo analisadas por existir ampla gama de opções de combinações. Pode-se citar a mistura de Metaflumizona, Clorantraniliprole e Indoxacarb que resultou em efeito sinérgico, ou seja, observou-se aumento na porcentagem da mortalidade de *S. frugiperda*. Entretanto, Metaflumizona quando misturada ao Benzoato de Emamectina e Lufenuron resultou em antagonismo (WU *et al.*, 2023). Acefato + Bifentrina + Acetamiprido em diferentes doses tiveram efeito sinérgico em todas as doses testadas no percevejo-marrom, *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) (BETINELLI *et al.*, 2023). Porém, a combinação de Espirodiclofeno com diferentes inseticidas sobre *Brevipalpus yothersi*

Baker (Acari: Tenuipalpidae) resultou em efeito antagônico, afetando o controle do ácaro-praga (DELLA VECHIA; FERREIRA; ANDRADE, 2018). Portanto, os resultados obtidos são importantes para o Manejo Integrado de Pragas (MIP). É fato que existem alguns testes que podem ser realizados em campo como o “teste da garrafa”, o qual é realizado como uma forma de mistura prévia dos produtos, respeitando as dosagens e a sequência de adição (ANDEF, 2010) e demonstrar a compatibilidade física da mistura, mas sem demonstrar o efeito na praga-alvo.

A busca por opções de recomendações de misturas viáveis deve ser constante e realizada de forma responsável, uma vez que, os insetos estão em constante evolução, desenvolvendo resistência às tecnologias utilizadas em campo. Os resultados encontrados neste trabalho são, promissores e importantes no planejamento das estratégias de controle a serem trabalhadas no campo com alvo em *S. frugiperda*.

3.5 Conclusão

Todas as misturas testadas foram compatíveis fisicamente e mostraram-se eficientes para causar mortalidade (Acima de 90,0%) de lagartas de 2º e 4º instares de *S. frugiperda*.

CONCLUSÕES FINAIS

Houve redução da mortalidade com o desenvolvimento larval de *S. frugiperda* quando alimentadas com variedades de algodão *Bt Cry1Ab+Cry2Ae* e *Cry1Ac+Cry2Ab2*. No entanto, a tecnologia pode ser utilizada dentro dos programas de manejo apresentando eficiência no controle de lagartas neonatas.

Todas as misturas testadas foram compatíveis fisicamente e mostraram-se eficientes para causar mortalidade (Acima de 90%) de lagartas de 2^o e 4^o ínstaes de *S. frugiperda*.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de estratégias de controle para os artrópodes-praga é um desafio constante, visto que, com o passar do tempo, os insetos vão desenvolvendo mecanismos de resistência contra as ferramentas de controle utilizadas em campo, sejam essas ferramentas baseadas em tecnologias genéticas ou aplicação de produtos fitossanitários, exigindo que os profissionais responsáveis pelo manejo adotem ferramentas de forma adequada e conjunta, como pressupõe o Manejo Integrado de Pragas (MIP).

A utilização de plantas transgênicas é visto pelos produtores e pelos profissionais da área agrícola como grande avanço na agricultura, mas já foram relatados inúmeros casos de resistência de pragas-alvo em algumas culturas geneticamente modificadas, isso demonstra a necessidade da adoção de ferramentas que possam se integrar e se complementar no campo.

As misturas de produtos fitossanitários é outra ferramenta que apresenta resultados satisfatórios aos produtores quando realizada da forma correta, principalmente relacionada a questões financeiras, mas é uma ferramenta em que diversos fatores podem influenciar negativamente, exigindo assim, mais informações técnicas sobre o preparo dessas misturas e possíveis produtos a serem utilizados, evitando por vez, casos de incompatibilidade.

A pesquisa científica é necessária e de extrema importância, possibilitando a população informações mais incisivas sobre os mais diversos assuntos, a agricultura é uma área muito ampla de se realizar pesquisas, isso gera uma demanda alta de dados, conseqüentemente é necessário um maior investimento nas instituições capacitadas para desenvolvimento desses trabalhos.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.

ABRAPA - Associação Brasileira dos Produtores de Algodão. 2023. Disponível em: <https://www.abrapa.com.br/Paginas/dados/area-producao-produtividade-brasil.aspx>. Acesso em 04 jul. 2023.

ADAMCZYK, J. J; HARDEE, D. D.; ADAMS, L. C.; SUMERFORD, D. V. Correlating differences in larval survival and development of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to differential expression of Cry1A (c) δ -endotoxin in various plant parts among commercial cultivars of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton. **Journal of Economic Entomology**, v. 94, n. 1, p. 284-290, 2001.

AGROFIT - Sistemas de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 02 jun. 2023.

AHMAD, M.; SALEEM, M. A.; SAYYED, A. H. Efficacy of insecticide mixtures against pyrethroid-and organophosphate-resistant populations of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science: Formerly Pesticide Science**, v. 65, n. 3, p. 266-274, 2009.

AHMAD, S.; CHEEMA, H. M. N.; KHAN, A. A.; KHAN, R. S. A.; AHMAD, J. N. Resistance status of *Helicoverpa armigera* against *Bt* cotton in against *Bt* cotton in Pakistan. **Transgenic Research**, v. 28, n. 2, p. 199-212, 2019.

ALI A.; LUTTRELL, R. G. Survival of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) immatures on cotton. **Florida Entomologist**, v. 73, n.3, p. 459-465, 1990.

ANDEF. **Manual Tecnologia da Aplicação de Produtos fitossanitários**. 2010. Disponível em: <http://www.lpv.esalq.usp.br/sites/default/files/Leitura%20-%20Manual%20Tecnologia%20de%20Aplicacao.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ANGELO, E. A.; VILAS-BÔAS, G. T.; GÓMEZ, R. J. H. *Bacillus thuringiensis*: Características gerais e fermentação. **Semana: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 945-958, 2010.

Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT. **NBR 13875:2014**. Agrotóxicos e afins - Avaliação de compatibilidade físicoquímica. Rio de Janeiro, 12 p., 2014.

ASSUNÇÃO, H. H. T.; CAMPOS, S. F. B.; SOUSA, L. A.; LEMES, E. M.; ZANDONADI, C. H. S.; DA CUNHA, J. P. A. R. Adjuvants plus phytosanitary products and the effects on the physical-chemical properties of the spray liquids. **Bioscience Journal**, v. 35, n. 6, p. 1878-1885, 2019.

AZEVEDO, L. A. S. Mistura em tanque de produtos fitossanitários: Teoria e Prática. Rio de Janeiro: **IMOS**, 2015.

BAHAR, M. H.; STANLEY, J.; BACKHOUSE, D.; MENSAH, R.; DEL, A. S. GREGG, P. Survival of *Helicoverpa armigera* larvae on and *Bt* toxin expression in various parts of transgenic *Bt* cotton (Bollgard II) plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 167, n. 5, p. 415-423, 2019.

BAKSH, A.; RAO, A. Q.; SHAHID, A. A.; HUSNAIN, T. Spatio temporal expression pattern of an insecticidal gene (*cry2A*) in transgenic cotton lines. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 4, n. 4, p. 115, 2012.

BARCELOS, P. H. S.; ANGELINI, M. R. Controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) em diferentes tecnologias Bts (*Bacillus thuringiensis*) na cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 1, p. 35-40, 2018.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R.; OLIVEIRA, M. D. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 137, n. 3, p. 237-245, 2010.

BETINELLI, P. A.; CÔRREA, F. R.; DA SILVA, N. F.; CAVALCANTE, W. S. S.; RIBEIRO, D. F.; RODRIGUES, E. Sinergismo na combinação de (Acefato+ bifentrina+ acetamiprido) no controle do percevejo-marrom. **Brazilian Journal of Science**, v. 2, n. 3, p. 67-74, 2023.

BOLOGNESI, C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. **Mutation Research**, v. 543, n.3, p.251-272, 2003.

BOTTON, M.; NAKANO, O.; KOVALESKI, A. Controle químico da lagarta-enroladeira (*Bonagota cranaodes* Meyrick) na cultura da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 2139-2144, 2000.

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

CAMPOS, C. M. **Suscetibilidade de populações de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) ao Dipel em condições de laboratório e campo**. 2017. Dissertação (Mestrado em Olericultura) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, 62f., 2017.

CAPALBO, D. M. F.; VILAS-BÔAS, G. T.; ARANTES, O. M. N.; SUZUKI, M. T. *Bacillus thuringiensis*. **EMBRAPA**, n. 35, 2005.

CARVALHO, R.A.; OMOTO, C.; FIELD, L.M.; WILLIAMSON, M.S.; BASS, C. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e62268, 2013.

CHEN, Y.; WEN, Y.; CHEN, Y.; COTHREN, J. T.; ZHANG, X.; WANG, Y.; PAYNE, W. A.; CHEN, D. Effects of extreme air temperature and humidity on the insecticidal expression level of *Bt* cotton. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11, n. 11, p. 1836-1844, 2012.

COLBY, S. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. **Weeds**, v. 15, n. 1, p. 20-22, 1967.

COSTA, L. L.; DE MELO SANTOS, T. C.; ALMEIDA, D. P.; DA COSTA FERREIRA, M.; LEÃO-ARAÚJO, E. F.; TIMOSSI, P. C. Compatibilidade físico-química de diferentes doses e misturas de herbicidas. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 19, n. 3, p. 713-1-8, 2020.

COX, C.; SURGAN, M. Unidentified Inert Ingredients in Pesticides: Implications for Human and Environmental Health. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 12; p. 1803-1806, 2007. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/epdf/10.1289/ehp.9374>. Acesso em: 31 jul. 2023.

CRICKMORE, N.; ZEIGLER, D. R.; FEITELSON, J.; SCHNEPF, E.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; DEAN, D. H. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 807-813, 1998.

CUNHA, L. P.; MARTINS, K. V. Avaliação de compatibilidade de herbicida. **Perquirere**, v. 19, n. 2, p. 16-35, 2022.

DECARO JÚNIOR, S. T. **Dinâmica da calda fitossanitária no reservatório do pulverizador. Tecnologia de aplicação de caldas fitossanitárias**: Cap. 3. Jaboticabal-SP: Funep, v. 1, p. 38-56, 2019.

DELLA VECHIA, J. F. **Interação entre produtos fitossanitários no manejo de *Brevipalpus yothersi* e *Diaphorina citri* na cultura dos citros**. 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia Agrícola) - Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 104f., 2017.

DELLA VECHIA, J. F.; FERREIRA, M. C.; ANDRADE, D. J. Interaction of spirodiclofen with insecticides for the control of *Brevipalpus yothersi* in citrus. **Pest Management Science**, v. 74, n. 11, p. 2438-2443, 2018.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, n.2, p. 311-316, 2001.

DIVELY, G.P.; VENUGOPAL, P.D.; BEAN, D.; WHALEN, J.; HOLMSTROM, K.; KUHAR, T.P.; DOUGHTY, H.B.; PATTON, T.; CISSEL, W.; HUTCHISON, W.D. A Regional pest suppression associated with widespread *Bt* maize adoption benefits vegetable growers. **Proceedings of the National Academy of Science**, Sci USA, v. 115, n. 13, p. 3320-3325, 2018. doi: 10.1073/pnas.1720692115

DONG, H. Z.; LI, W. J. Variability of endotoxin expression in *Bt* transgenic cotton. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 193, n. 1, p. 21-29, 2006.

DUTTON, A.; ROMEIS, J.; BIGLER, F. Effects of *Bt* maize expressing Cry1Ab and *Bt* spray on *Spodoptera littoralis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 114, n. 3, p. 161-169, 2005.

EPAGRO. Ordem de mistura de produtos. Disponível em: <https://epagro.pt/informacao/info-tecnica/ordem-de-mistura-de-produtos/>. Acesso em 06 jul. 2014.

FERRY, N.; EDWARDS, M. G.; GATEHOUSE, J.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. A. M. R.; GATEHOUSE, A. M. R. Transgenic plants for insect pest control: a forward-looking scientific perspective. **Transgenic Research**, v. 15, n. 1, p. 13-19, 2006.

FOLCHER, L.; DELOS, M.; MARENGUE, E.; JARRY, M.; WEISSENBERGER, A.; EYCHENNE, N.; REGNAULT-ROGER, C. Lower mycotoxin levels in *Bt* maize grain. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 30, n. 4, p. 711-719, 2010. doi:10.1051/agro/2010005

FRAC-BRASIL. Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas. Classificação dos fungicidas. 2020. Disponível em: www.frac.info. Acesso em: 24 out. 2023.

FÜHR, F. M. **Caracterização da resistência de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) a chlorantraniliprole e avaliação de mistura com *Bacillus thuringiensis* (Eubacteriales: Bacillaceae) como estratégia de manejo da resistência**. Dissertação (Mestrado em Ciências/Entomologia) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 80f., 2023.

GALZER, E.; FILHO, W. S. A. Utilização do *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, v. 1, n. 1, p. 13-16, 2016.

GANDINI, E. M. M.; COSTA, E. S. P.; SANTOS, J. B.; SOARES, M. A.; BARROSO, G. M.; CORRÊA, J. M.; CARVALHO, A. G.; ZANUNCIO, J. C. Compatibility of pesticides and/or fertilizers in tank mixtures. **Journal of Cleaner Production**, v. 268, n. 1, p. 122-152, 2020.

GANIGER, P. C.; YESHWANTH, H. M.; MURALIMOHAN, K.; VINAY, N.; KUMAR, A. R. V.; CHANDRASHEKARA, K. J. C. S. Occurrence of the new invasive pest, fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in the maize fields of Karnataka, India. **Current Science**, v. 115, n. 4, p. 621-623, 2018.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, n.1, p. 83-92, 2015.

GAZZIERO, D.L.P., SOUZA, I. F. de. Manejo integrado de plantas daninhas. In: Arantes, N. E. et al. (ed.). **Cultura da soja nos cerrados**. Potafos, Piracicaba, Brasil. 83-208p. 1993.

GAZZIERO, D.L.P.; OLIVEIRA, R. B.; OVEJERO, R. F. L.; BARBOSA, H. N.; PRECIPITO, L. M. B. Manual técnico para subsidiar a mistura em tanque de agrotóxicos e afins. **EMBRAPA SOJA**, Londrina/PR, p. 24, n. 437, 2021.

GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. Management of resistance in arthropods. **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum Press, p. 769-792, 1983.

GOERGEN, G.; KUMAR, P. L.; SANKUNG, S. B.; TOGOLA, A.; TAMÒ, M. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS One**, v. 11, n. 10, p. e0165632, 2016.

GOULD, F.; AMASINO, R.M.; BROSSARD, D.; BUELL, C.R.; DIXON, R.A.; FALCK-ZEPEDA, J.B.; et al. Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects. **National Academies Press**, Washington DC, National Academies of Sciences Engineering and Medicine, 2016.

GREENPLATE, J. T. Quantification of *Bacillus thuringiensis* insect control protein Cry1Ac over time in Bollgard cotton fruit and terminals. **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 6, p. 1377-1383, 1999.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 29, 2014, Gramado. Palestra, 2014.

HOFTE, H.; WHITELEY, H. R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, v. 53, n. 2, p. 242-255, 1989.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J. B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S. A. A.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to *Bt* maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 34864, 2016.

HUANG, F.; QURESHI, J. A.; MEAGHER JR., R. L.; REISIG, D. D.; HEAD, G. P.; ANDOW, D. A.; NI, X.; KERNS, D.; BUNTIN, D.G.; NIU, Y.; YANG, F.; DANGAL, V. Cry1F resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda*: single gene versus pyramided *Bt* maize. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e112958, 2014.

HUESING, J. E.; PRASANNA, B. M.; MCGRATH, D.; CHINWADA, P.; JEPSON, P.; CAPINERA, J. L. Integrated pest management of fall armyworm in Africa: an introduction. **Fall Armyworm in Africa: A Guide for Integrated Pest Management. Mexico: CDMX/CIMMYT**, p. 1-10, 2018.

HUTCHISON, W. D.; BURKNESS, E. C.; MITCHELL, P.D.; MOON, R. D.; LESLIE, T. W.; FLEISCHER, S. J.; ABRAHAMSON, M.; HAMILTON, K. L.; STEFFEY, K. L.; GRAY, M. E.; HELLMICH, R. L.; KASTER, L. V.; HUNT, T. E.; WRIGHT, R. J.; PECINOVSKY, K.; RABAEY, T. L.; FLOOD, B. R.; RAUN, E. S. Area wide suppression of European corn borer with *Bt* maize reaps savings to non-*Bt* maize growers. **Science**, v. 330, n. 6001, p. 222-225, 2010.

IRAC-BR. Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Inseticidas. A importância de rotacionar inseticidas com diferentes modos de ação. 2022. Disponível em: <https://www.irac-br.org/single-post/a-import%C3%A2ncia-de-rotacionar-inseticidas-com-diferentes-modos-de-a%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 10 mar. 2023.

IRAC-BR. Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Inseticidas. Classificação do Modo de Ação de Inseticidas. Versão 9.1 (dezembro/2018). Disponível em: https://www.irac.br.org/_files/ugd/6c1e70_9eac5256fcef4eda9f40e8e1cde44a70.pdf. Acesso em 10 mar. 2023.

JURAT-FUENTES, J. L.; CRICKMORE, N. Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 142, p. 5-10, 2017. DOI: 10.1016/j.jip.2016.07.018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.07.018>.

KELLER, M.; SNEH, B.; STRIZHOV, N.; PRUDOVSKY, E.; REGEV, A.; KONCZ, C.; SCHELL, J.; ZIL-BERSTEIN, A. Digestion of delta-endotoxin by gut proteases may explain reduced sensitivity of advanced instar larvae of *Spodoptera littoralis* to Cry1C. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, n. 3, p. 365-373, 1996.

KISSMANN, K. G. Adjuvantes para caldas de produtos fitossanitários. In GUEDES, J. V. C.; DORNELLES, S. B. (Org). **Tecnologia e segurança na aplicação de agrotóxicos: novas tecnologias**. Santa Maria: Departamento de Defesa Fitossanitária; Sociedade de Agronomia de Santa Maria, p. 39-51, 1998.

KOGAN, M.; COPE, D. Feeding and nutrition associated with soybeans. **Annals of Entomology Society of America**, v.67, n. 1, p.66-72, 1974.

LEAL, K. D. B.; LEOPOLDINO, R. W. D.; MARTINS, R. R.; VERÍSSIMO, L. M. Potencial de incompatibilidade de medicamentos intravenosos em uma unidade pediátrica. **Einstein**, v. 14, n. 2, p. 185-189, 2016.

LUGINBILL, P. The Fall Armyworm. **USDA Technical Bulletin**, v. 34, p. 1-91, 1928.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 40, DE 11 DE OUTUBRO DE 2018, Brasília, DF: Mapa, 2018. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201812/07172824-instrucao-normativa-n-40-de-11-de-outubro-de-2018-regras-complementares-a-receita-agronomica-1.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2023.

MARTINS, É.; QUEIROZ, P.; SOARES, C. M.; MONNERAT, R. Algodão *Bt* e refúgio: orientações para manejo da resistência. Publicação periódica de difusão científica e tecnológica editada pelo **Instituto Mato-grossense do Algodão (IMAmt)**, 2014.

MELO, E. P. de; CESSA, R. M. A.; DEGRANDE, P. E.; SANTANA, D. R. S. Sobrevivência e desenvolvimento de lagartas de *Spodoptera frugiperda* e *Chrysodeixis includens* alimentadas com folhas de algodoeiro geneticamente modificado. **Revista Agrogeoambiental**, v. 8, n. 3, p. 79-88, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.18406/2316-1817v8n32016865>

MIRANDA, J. E. Distribuição vertical de lagartas de *Spodoptera frugiperda* no algodoeiro. Comunicado Técnico 277. Campina Grande: **Embrapa Algodão**, 4p, 2006. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/18365/1/COMTEC277.pdf>. Acesso em: 16 ago. 2023.

MIRANDA, J.E.; SUASSUNA, N.D. Guia de identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro. Campina Grande: **Embrapa Algodão**. p. 48, n. 76, 2004.

MONTEZANO, D. G.; SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROQUE-SPECHT, V. F.; SOUSA-SILVA, J. C.; PAULA-MORAES, S. V.; PETERSON, J. A.; HUNT, T. E. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n. 2, p. 286-300, 2018.

MOTA-SANCHEZ, D.; WISE, J. C. **Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD)**. IRAC, 2023. Disponível em: <https://www.pesticideresistance.org/search.php>.

MURARO, D. S.; SALMERON, E.; CRUZ, J. V.; AMARAL, F. S.; GUIDOLIN, A. S.; NASCIMENTO, A. R. B.; MALAQUIAS, J.B.; BERNARDI, O.; OMOTO, C. Evidence of field-evolved resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to Emamectin Benzoate in Brazil. **Crop Protection**, v. 162, p. 106071, 2022.

OMOTO, C.; BERNARDI, O. Estratégias de manejo podem prolongar vida útil das tecnologias de milho *Bt*. **Visão agrícola**, v. 13, p. 107-109, 2015.

PAZINI, J. B.; BOTTA, R. A.; BOCK, D. F.; GIACOMELI, R.; FIPKE, G. M.; SCHAEGLER, CE; SILVA, F. F.; RAMÃO, C. J. Compatibilidade física de misturas de agrotóxicos. In: **VIII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado**, Santa Maria: Gráfica e Editora Pallotti. p. 497-500. 2013.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; DE ALMEIDA, F. A.; NETO, F. A.; PACHECO, L. P. Incompatibilidade física de misturas entre inseticidas e fungicidas. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n.2, p. 129-138, 2013.

PETTER, F. A.; SEGATE, D.; PACHECO, L. P.; ALMEIDA, F. A.; ALCÂNTARA NETO, F. Incompatibilidade física de misturas entre herbicidas e inseticidas. **Planta Daninha**, v. 30, n.2, p. 449-457, 2012.

PUIA, J. D.; MARTINS, B. R.; BORSATO, L. C.; VIGO, S. C. Comportamento diferencial de genótipos de algodoeiro à *Cercospora gossypina*. **Nativa**, v. 9, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.31413/nativa.v9i2.10834>.

QUEIROZ, A. A.; MARTINS, J. A. S.; CUNHA, J. P. A. R. Adjuvantes e qualidade da água na aplicação de agrotóxicos. **Bioscience Journal**, v. 24, n. 4, p. 8-19, 2008.

RAMANUJAM B.; POORNESHA B.; SHYLESHA A. N. Effect of entomopathogenic fungi against invasive pest *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 30, n. 100, p. 1-5, 2020.

RIBEIRO, R. P. M.; COSTA, L. L.; LEÃO-ARAÚJO, É. F.; OLIVEIRA, A. Compatibilidade físico-química de caldas fungicidas e adjuvantes: a review. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 5, p. 1-11, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.36560/14520211339>.

RODRIGUES, S. M. M.; PITTA, R. M.; SANTOS, N. C. Effect of the larval density of *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA, NOCTUIDAE) on cotton yield. **Nativa**, v. 7, n. 5, p. 490-493, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.31413/nativa.v7i5.6940>.

ROMEIS, J.; NARANJO, S. E.; MEISSLE, M.; SHELTON, A. M. Genetically engineered crops help support conservation biological control. **Biological Control**, v.130, p. 136-154, 2019.

ROUSH, R. T. Designing resistance management programs: How can you choose?. **Pesticide Science**, v.26, n.3, p. 423-441, 1989.

SANTANA, D. R. S. **Desempenho do algodão Bt no controle de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e a competição interespecífica destes lepidópteros**. 2016. Dissertação (Mestrado em em Agronomia / Produção Vegetal) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 60f., 2016.

SANTOS, P. S. Interações físico-químicas na mistura entre agroquímicos em tanque de pulverização para a cultura do milho: uma revisão de literatura. 2021. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Agrônômica) - Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, SE, 2021.

SANTOS, R. L.; TORRES, J. B. Produção da Proteína Cry1Ac em algodão transgênico e controle de lagartas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 5, n. 4, p. 509-517, 2010.

SANTOS, R. O.; DEGRANDE, P. E.; AZAMBUJA, R.; SOUZA, E. P.; LEAL, M. F. Biologia de fases imaturas de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro Bt e não-Bt. In: Congresso Brasileiro do Algodão, Foz do Iguaçu. 2015.

SANTOS-AMAYA, O. F.; RODRIGUES, J. V. C.; SOUZA, T. C.; TAVARES, C. S.; CAMPOS, S. O.; GUEDES, R. N. C.; PEREIRA, E. J. G. Resistance to dual-gene Bt maize in *Spodoptera frugiperda*: Selection, inheritance and cross-resistance to other transgenic events. **Scientific Reports**, v. 5, n.1, p. 1-10, 2015. <https://doi.org/10.1038/srep18243>.

SCHMIDT, F. B. **Linha básica de suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a lufenuron na cultura do milho**. 2002. 63p. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R.; DEAN, D. H. *Bacillus thuringiensis* and its

pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 62, n. 3, p. 775–806, 1998.

SEVERINO, L. S.; RODRIGUES, S. M. M.; CHITARRA, L. G.; FILHO, J. L.; CONTINI, E.; MOTA, M.; MARRA, R.; ARAUJO, A. Série desafios do agronegócio brasileiro. Produto: Algodão - parte 01: caracterização e desafios tecnológicos. **EMBRAPA**, 2019. Disponível: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1109655/1/SerieDesafiosAgronegocioBrasileiroNT3Algodao.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2023.

SILVA, G. S. **Misturas de produtos fitossanitários recomendados para a cultura da soja e do milho: Interação e fitotoxicidade**. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola e Ambiental) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 227 f., 2021.

SILVA, J. V. B.; Gomes, R. D. S. S.; Carvalho, T. K. N.; LACERDA, A. V.; Rodrigues, R. M.; Medeiros, J. G. F. Controle de patógenos em sementes de algodão com o uso de *Trichoderma harzianum*. **Nativa**, v. 10, n. 2, p. 204-210, 2022. DOI: <https://doi.org/10.31413/nativa.v10i2.13563>

SIVASUPRAMANIAM, S.; MOAR, W.J.; RUSCHKE, L.G.; OSBORN, J.A.; JIANG, C.; SEBAUGH, J.L.; BROWN, G.R.; SHAPPLEY, Z.W.; OPPENHUIZEN, M.E.; MULLINS, J.W.; GREENPLATE, J.T. Toxicity and characterization of cotton expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry2Ab2 proteins for control of lepidopteran pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 2, p. 546-554, 2008.

SPADONI, A. B. D. **Propriedades físico-químicas e primórdios da perda de estabilidade de calda inseticida em misturas com fungicidas e adjuvantes**. 2019. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Entomologia Agrícola) - Universidade Estadual Paulista - UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Jaboticabal, 68f., 2019.

SPARKS, A. N. Fall Armyworm Symposium: A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, v. 62, n. 2, p. 82-87, 1979.

TABASHNIK, B. E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to *Bt* crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v. 31, n. 6, p. 510-521, 2013.

TABASHNIK, B. E.; RENSBURG, V. J. B. J.; CARRIÈRE, Y. Field-evolved insect resistance to *Bt* crops: Definition, theory, and data. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 6, p. 2011-2025, 2009.

TAVARES, R. M. **Misturas de produtos em tanque influenciam o desempenho das aplicações fitossanitárias?**. 2022. 133f. Tese (Doutorado em Agronomia/Produção Vegetal), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.

THEISEN, G.; RUEDELL, J. Tecnologia de aplicação de herbicidas: teoria e prática. Passo Fundo: **Aldeia Norte Editora**. 2004. 90 p.

TREZZI, M. M.; FELLIPI, C.L.; NUNES, A.L.; CARNIELETO, C.E.; FERREIRA, A.R.J. Eficácia de controle de plantas daninhas e toxicidade ao milho da mistura de Foramsulfuron e Iodosulfuron isoladamente ou em associação com Atrazine e/ou Clorpirifós. 2005. **Planta Daninha**, v. 23, n.4, p. 653-659, 2005.

WAN, J.; CONG, H.; CHANG-YOU, L.; HONG-XU, Z.; YONG-LIN, R.; ZAI-YUAN, L.; LONGSHENG, X.; BIN, Z.; XI, Q.; BO, L.; CONG-HUI, L.; YU, X.; WAN-XUE, L.; WANG WEN-KAI, W.; WAN-QIANG, Q.; MCKIRDY, S.; FANG-HAO, W. Biology, invasion and management of the agricultural invader: Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, n. 3, p. 646-663, 2021.

WATANABE, S.; NETO, J. L.; MARIA, S. L.; ROLIM, G.; SIQUEIRA, H. Toxicidade de metoxifenoza e lufenuron para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Agrarian Academy**, v. 3, n. 06, p. 79 - 85, 2016.

WU, K. M.; LU, Y. H.; FENG, H. Q.; JIANG, Y. Y.; ZHAO, J. Z. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with *Bt* toxin-containing cotton. **Science**, v. 321, n. 5896, p. 1676-1678, 2008.

WU, Y. J.; WANG, B. J.; WANG, M. R.; PENG, Y. C.; CAO, H. Q.; SHENG, C. W. Control efficacy and joint toxicity of metaflumizone mixed with chlorantraniliprole or indoxacarb against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Pest Management Science**, v. 79, n. 3, p. 1094-1101, 2023.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, n. 1, p. 1-11, 2003.