



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* COMO PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO VEGETAL E NO CONTROLE DE PRAGAS EM
DIFERENTES CULTURAS**

LUIZA ARLETE VAZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2014



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* COMO PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO VEGETAL E NO CONTROLE DE PRAGAS EM
DIFERENTES CULTURAS**

LUIZA ARLETE VAZ

ORIENTADORA: ROSE GOMES MONNERAT

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO 74/2014

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2014

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ESTIRPES DE *Bacillus thuringiensis* COMO PROMOTORAS DE
CRESCIMENTO VEGETAL E NO CONTROLE DE PRAGAS EM
DIFERENTES CULTURAS**

LUIZA ARLETE VAZ

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.**

APROVADA POR:

**Rose Gomes Monnerat, Ph.D. Pesquisadora Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia (Orientadora) CPF 512.803.701-86
e-mail: rose.monnerat@embrapa.br**

**Maria Lucrécia Gerosa Ramos, Ph.D. Professora Associada UnB - FAV
(Examinador interno) CPF 002.094.438-12
e-mail: lucrecia@unb.br**

**Lílian Botelho Praça, Ph.D. Assistente A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
(Examinador externo) CPF: 584.287.121-15
e-mail: lilian.praga@embrapa.br**

BRASÍLIA/DF, 13 de Junho de 2014.

FICHA CATALOGRÁFICA

Vaz, Luiza Arlete

Estirpes de *Bacillus thuringiensis* como promotoras de crescimento vegetal e no controle de pragas em diferentes culturas./ Luiza Arlete Vaz; orientação de Rose Monnerat. – Brasília, 2014.

93 p. : il.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

1. *Oriza sativa*. 2. Sementes. 3. Germinação de plantas. 4. Bactérias endofíticas.

I. Monnerat, R. G. II. PhD.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

VAZ, L. A. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* como promotoras de crescimento vegetal e no controle de pragas em diferentes culturas. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 93 p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Luiza Arlete Vaz

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Estirpes de *Bacillus thuringiensis* como promotoras de crescimento vegetal e no controle de pragas em diferentes culturas.

GRAU: Mestre

ANO: 2014

É concedida à Universidade de Brasília de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada à fonte.

Nome: Luiza Arlete Vaz

CPF: 922.321.671-00

Endereço: Condomínio Edifício Toscana, STN, Lote L, Bloco A, Apto. 110

CEP: 70. 770 - 100

Tel.: (61) 8180 0412

Email: luiza.arlete@hotmail.com

Dedico este trabalho a minha mãe Izaura de Carvalho Vaz (in memoriam) e a minha tia Natália Vaz, por sempre acreditarem na minha capacidade e por me darem força em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado Harkdan, pelo amor, carinho e companheirismo.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço a Deus, por me dar força e coragem ao longo dessa caminhada;

Ao meu pai e aos meus irmãos, Ana Maria e Silvio Vaz por estarem sempre presentes em minha vida;

Aos meus sobrinhos, Maria Fernanda e Pedro Augusto, pela alegria constante, e, também, a mais nova integrante da família, Elena;

Às minhas amigas Cida e Rosimeire, pela amizade, alegria e apoio em todos os momentos;

À Dra. Rose Monnerat pela orientação;

À Lilian Praça pela ajuda na estatística e na escrita da dissertação;

À Dra. Joseane Padilha, pela paciência e ajuda no “entendimento da complicada” estatística;

À Prof^a. Maria Lucrecia por aceitar o convite e participar da banca examinadora;

À amiga de mestrado Marina, pelas conversas descontraídas e pela ajuda prestada;

Ao funcionário do LBE e amigo Zezinho pela amizade e ajuda no laboratório;

À Lunalva Sallet pelos ensinamentos acerca dos procedimentos do laboratório;

À Flávia Santana pela ajuda na montagem do experimento;

A todos do LBE: Érica Martins, Paulo Queiroz, Bárbara, Marcelo Soares, Cristina, Carla Caixeta, Elias, Fernanda Bernardes, Neila, Marcelo Castro, Sandro, Marina;

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade;

Aos colegas e aos professores do PPGA, ao coordenador do curso de pós-graduação Prof. José Ricardo Peixoto e à secretária Rosana da UnB pela ajuda prestada;

A todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte do desenvolvimento deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!!!!!

SABER VIVER

[Cora Coralina]

Não sei... Se a vida é curta
Ou longa demais para nós,
Mas sei que nada do que vivemos
Tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas.

Muitas vezes basta ser:

Colo que acolhe,
Braço que envolve,
Palavra que conforta,
Silêncio que respeita,
Alegria que contagia,
Lágrima que corre,
Olhar que acaricia,
Desejo que sacia,
Amor que promove.

E isso não é coisa de outro mundo,
É o que dá sentido à vida.
É o que faz com que ela
Não seja nem curta,
Nem longa demais,
Mas que seja intensa,
Verdadeira, pura... Enquanto durar

SUMÁRIO

ÍNDICE.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	ix
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 Culturas.....	2
2.1.1 Algodão.....	2
2.1.2 Arroz.....	4
2.1.3 Milho.....	5
2.1.4 Repolho.....	7
2.1.5 Soja.....	8
2.2 Insetos-praga.....	10
2.2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i> (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).....	11
2.2.1.1 Biologia do inseto.....	11
2.2.1.2 Controle de <i>S. frugiperda</i>.....	12
2.2.2 <i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner (Lepidoptera: Noctuidae).....	13
2.2.2.1 Biologia de <i>A. gemmatalis</i>.....	14
2.2.2.2 Controle de <i>A. gemmatalis</i>.....	15
2.2.3 <i>Plutella xylostella</i> (L., 1758) (Lepidoptera, Plutellidae).....	16
2.2.3.1 Biologia de <i>P. xylostella</i>.....	17
2.2.3.2 Controle de <i>P. xylostella</i>.....	18
2.3 <i>Bacillus thuringiensis</i>	19
2.3.1 Toxinas Cry de <i>Bacillus thuringiensis</i> (δ-Endotoxinas).....	19
2.3.2 Mecanismo de ação de <i>B. thuringiensis</i>.....	20
2.4 Microrganismos endofíticos.....	21
3. HIPÓTESES.....	26
4 OBJETIVOS.....	26
4.1 Objetivo geral.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	26

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
CAPÍTULO ÚNICO	
1. INTRODUÇÃO.....	52
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	54
2.1 Material vegetal.....	54
2.2 Crescimento das estirpes de <i>B. thuringiensis</i>	54
2.3 Métodos de inoculação.....	55
2.3.1 Inoculação nas sementes.....	55
2.3.2 Inoculação na planta.....	55
2.4 Avaliação dos experimentos.....	56
2.5 Análise estatística	57
2.6 Avaliação da patogenicidade das plantas tratadas com <i>B. thuringiensis</i>	57
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
3.1. Efeito das estirpes de <i>B. thuringiensis</i> sob a germinação de plantas de algodão, arroz, milho, repolho e soja.....	59
3.2 Efeito das estirpes de <i>B. thuringiensis</i> sobre o desenvolvimento das plantas de algodão, arroz, milho, repolho e algodão.....	60
3.2.1 Algodão.....	60
3.2.2 Arroz.....	65
3.2.3 Milho.....	68
3.2.4 Repolho.....	72
3.2.5 Soja.....	76
3.3 Bioensaio.....	82
4. CONCLUSÃO.....	85
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Avaliação do Índice de Velocidade de Germinação das sementes de arroz, algodão, milho, repolho e soja tratada com as estirpes de *B. thuringiensis* aos seis dias de plantio.....60
- Tabela 2 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de algodão em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.....62
- Tabela 3 - Número de folhas de plantas de algodão em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.....63
- Tabela 4 - Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de algodão em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....64
- Tabela 5 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de arroz em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.....66
- Tabela 6 - Número de folhas de plantas de arroz em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.....67
- Tabela 7 - Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de arroz em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....68

Tabela 8 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de milho em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por semanas.....69

Tabela 9 - Número de folhas de plantas de milho em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.....71

Tabela 10 - Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de milho em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....72

Tabela 11 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de repolho em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.....74

Tabela 12 - Número de folhas de plantas de repolho em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.....75

Tabela 13 - Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de repolho em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....76

Tabela 14 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de soja em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.....78

Tabela 15 - Número de folhas de plantas de soja em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.....79

Tabela 16 - Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de soja em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....80

Tabela 17 - Mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de algodão em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....83

Tabela 18 - Mortalidade de lagartas de *P. xylostella* alimentadas com folhas de repolho em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....83

Tabela 19 - Mortalidade de lagartas de *A. gemmatalis* alimentadas com folhas de soja em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.....84

RESUMO

A produção agrícola pode ser influenciada por microrganismos endofíticos de diferentes maneiras, tanto pela produção de substâncias promotoras de crescimento vegetal, quanto pelo controle de pragas e doenças. Foram realizados ensaios de promoção de crescimento em casa de vegetação, utilizando as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*, tóxicas a insetos da Ordem Lepidóptera, cinco espécies vegetais (algodão, arroz, milho, repolho e soja) e dois métodos de inoculação (imersão de sementes e inoculação planta), utilizando uma concentração de 10^7 esporos.mL⁻¹. Inicialmente, foram avaliados os parâmetros: Índice de Velocidade de Germinação (IVG), altura de plantas e número de folhas. Após 45 dias, as plantas foram avaliadas quanto ao comprimento da raiz, peso seco da raiz e peso seco da parte aérea e, também, a mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*, *P. xylostella* e *A. gemmatalis* alimentadas com folhas das plantas utilizadas nos ensaios. Nos ensaios, foi possível observar que o método de inoculação mais eficiente na promoção de crescimento para todas as espécies testadas foi o imersão de sementes e com efeitos diferenciados em função da espécie de planta e da estirpe, com destaque para a estirpe S1905. Nos bioensaios com algodão, repolho e soja, em todos os tratamentos foi verificada uma baixa mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*, *P. xylostella* e *A. gemmatalis*, possivelmente isso ocorreu em função da baixa concentração da bactéria na planta, o que não foi suficiente para causar mortalidade das lagartas.

Palavras-chave: *Zea mays*, bactérias endofíticas, fitohormônio, controle biológico.

ABSTRACT

Agricultural production can be influenced by endophytic microorganisms in different ways, either by the production of plant growth promoting substances, as for the control of pests and diseases. Trials to promote growth in the greenhouse were performed using the S1450, S1905, S2122 and S2124 *B. thuringiensis* toxic to insects of the Order Lepidoptera strains, five plant species (cotton, rice, corn, cabbage and soybeans) and two inoculation methods (immersing seeds and plant inoculation) using a concentration of 10^7 esporos.mL⁻¹. Initially, the parameters were evaluated: Germination Speed Index (GSI), plant height and number of leaves. After 45 days, the plants were evaluated for root length, root dry weight and dry weight of shoots and also the mortality of *S. frugiperda*, *P. xylostella* and *A. gemmatalis* fed leaves of the plants used the tests. In trials, it was observed that the most efficient method of inoculation in promoting growth for all species tested was the soaking of seeds and adjusted according to the plant species and strain, especially the S1905 strain effects. In bioassays with cotton, cabbage and soybeans in all treatments was observed a low mortality of *S. frugiperda*, *P. xylostella* and *A. gemmatalis*, possibly this was due to the low concentration of bacteria in the plant, which was not enough to cause mortality of caterpillars.

Key words: *Zea mays*, endophytic bacteria, phytohormone, biological control

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como um dos líderes da agropecuária no mundo, com recordes de produção a cada ano. A produção da safra 2012/13, de 186,86 milhões de toneladas, deve receber um acréscimo 4,8% para a safra 2013/14. Esse resultado representa um incremento de 9,04 milhões de toneladas, devido, sobretudo, à cultura de soja, que apresenta crescimento na produção de 10,5% (8,53 milhões de toneladas), o algodão em pluma, com crescimento de 25,0% (327,8 mil toneladas) (CONAB, 2013).

Com a crescente demanda por alimentos e a preocupação com o meio ambiente, o interesse na utilização de microrganismos endofíticos nas práticas agrícolas aumentou significativamente nos últimos anos, destacando-se como a base para tecnologias sustentáveis no manejo de culturas agrícolas, promovendo a diminuição no uso de fertilizantes e inseticidas e, conseqüentemente, reduzindo o impacto no meio ambiente. Esses microrganismos podem ser utilizados tanto na promoção de crescimento vegetal como no controle biológico de pragas e doenças de plantas (PEIXOTO NETO, 2002).

Atualmente a utilização de agrotóxicos tem se intensificado e, anualmente, são utilizados no mundo, aproximadamente, 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos. O consumo anual de agrotóxicos no Brasil tem sido superior a 300 mil toneladas de produtos formulados, com destaque na utilização de inseticidas para o controle de insetos-praga. Expresso em quantidade de ingrediente-ativo, são consumidas anualmente cerca de 130 mil toneladas no país, representando um aumento no consumo de agrotóxicos de 700% nos últimos quarenta anos, enquanto a área agrícola aumentou 78% nesse período (GOMES & SPADOTTO, 2014).

As bactérias endofíticas têm sido associadas à promoção de crescimento de diversas espécies entre as quais tomate, alface, batata, milho, pepino, arroz, repolho e algodão (HALLMANN *et al.*, 1997; HALLMANN, 2001; PRAÇA, 2012; SANTANA, 2014).

A produção de fitormônios é um dos principais mecanismos de promoção do crescimento das plantas, mediada pelos microrganismos endofíticos. Algumas bactérias produzem ácido jasmônico, ácido abscísico e etileno, auxiliando espécies que crescem sob condições restritas, como seca e salinidade e, também, auxinas, citocininas e giberelinas (FORCHETTI *et al.*, 2007). Entre os fitormônios produzidos por *Bacillus* sp., destacam-se: ácido indol acético (KANG *et al.*, 2009), ácido indol butírico (MARTÍNEZ-MORALES *et al.*, 2003), giberelinas (GUTIÉRREZ-MAÑERO *et al.*, 2001), citocininas e compostos que imitam a ação dos jasmonatos (PING, 2004).

Desde 2003, foram iniciados estudos no Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas da Embrapa com a finalidade de utilizar *B. thuringiensis* de forma sistêmica no controle de pragas (MONNERAT *et al.*, 2003). Dessa forma foi possível verificar a colonização dos tecidos das plantas de algodão e, que, ao inocular *B. thuringiensis* próximo às raízes dessas plantas de algodão, colonizou todos os tecidos, chegando aos insetos que se alimentaram das folhas de algodão (MONNERAT *et al.*, 2009).

Em 2012, este mesmo grupo selecionou estirpes de *B. thuringiensis* altamente tóxicas a lepidópteros e avaliou a capacidade dessas estirpes em promover o crescimento de plantas de repolho e, ao mesmo tempo, controlar *P. xylostella* sistemicamente. Nesse estudo, foram detectados células vegetativas, esporos e cristais em diferentes partes da planta de repolho, com maior colonização de *B. thuringiensis* nas raízes. Dessa forma, foi demonstrado que *B. thuringiensis* pode ser utilizado de forma sistêmica (PRAÇA *et al.*, 2012).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi estudar a capacidade de estirpes de *B. thuringiensis* em promover o crescimento vegetal de plantas de algodão, arroz, milho, repolho e soja e no controle os insetos *A. gemmatilis*, *P. xylostella* e *S. frugiperda* de forma endofítica, através de dois métodos de inoculação.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Culturas

2.1.1 Algodão

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das mais antigas espécies vegetais domesticadas e cultivadas, e, também uma das mais importantes, por ser considerada como a principal fibra têxtil utilizada no mundo (DIZORDI, 2006). O Brasil destaca-se, frente ao cenário internacional, como um dos grandes produtores e exportadores de algodão (FONTES *et al.*, 2006).

O algodoeiro é considerado uma das plantas com maior aproveitamento (SANTANA, 2005), pela ampla utilização de suas fibras e, também, do farelo e do óleo de algodão, ambos extraídos da semente (FONTES *et al.*, 2006).

Segundo o MAPA (2013), a cotonicultura foi uma das primeiras atividades agrícolas desenvolvidas no Brasil, sendo que o grande salto na produção ocorreu no século XIX, em decorrência da redução do fornecimento norte-americano de algodão às tecelagens inglesas durante a guerra civil.

Devido ao avanço da tecnologia e ao aumento da produtividade, o Brasil passou de maior importador mundial de algodão para o terceiro maior exportador do produto em 12 anos. Esse crescimento na produção foi possível devido às técnicas avançadas de plantio, aliadas à utilização de cultivares adaptadas ao tipo de solo e clima das regiões produtoras (MAPA, 2013).

O algodão produzido no Brasil é consumido, na sua maioria, pela indústria têxtil nacional, representando cerca de 70% da produção total da fibra (MAPA, 2013). A cotonicultura brasileira concentra-se no Cerrado, com condições favoráveis à produção, como o clima favorável, terras planas, que permitem mecanização total da lavoura, programas de incentivo à cultura e, sobretudo, ao uso intensivo de tecnologias modernas. Com isso, o Cerrado brasileiro detém as mais altas produtividades na cotonicultura brasileira (EMBRAPA, 2013).

No décimo segundo levantamento da safra 2012/13, a produção nacional de algodão em caroço foi de 3.271,9 mil toneladas, sendo que o Mato Grosso e a Bahia representam 96,3% da área cultivada e respondem por 96,5% de toda a pluma produzida no País, o que torna esses estados os maiores produtores nacionais (CONAB, 2013). Mato Grosso representa 52,4% do plantio brasileiro de algodão, com uma área de 464,4 mil hectares plantados, enquanto que a Bahia, possui uma área plantada de 373,5 mil hectares, ou 30,8% da lavoura brasileira de algodão (CONAB, 2013).

Houve redução na produção do algodão brasileiro de 1.393.739 hectares para 869.887 hectares em área plantada, com uma diminuição de 37% na atual safra em comparação com a safra de 2011/12. Um dos motivos foram os plantios de soja e milho, que ofereceram maiores rentabilidades. Além disso, ocorreram os ataques severos da praga *Helicoverpa armigera* (Lepidóptera: Noctuidae), identificada recentemente no Brasil, e que destruiu lavouras de algodão, principalmente na Bahia, o segundo maior produtor, assim como no Piauí, no Maranhão, em Mato Grosso, em Goiás, no Paraná, em São Paulo e em Minas Gerais (CONAB, 2013).

O algodoeiro é alvo de cerca de quatro a cinco espécies ou grupos de insetos-praga que exigem a adoção de medidas de controle para conter os surtos populacionais. Essas espécies são denominadas de pragas-chave do algodoeiro e podem variar de região para região. Algumas dessas espécies são caracterizadas como pragas-chave em mais de uma região de cultivo, como é o caso do bicudo-do-algodoeiro, *Anthrenus grandis*; do pulgão-do-algodoeiro, *Aphis gossypii*; do curuquerê-do-algodoeiro, *Alabama argillacea*; e do complexo de lagarta-das-maçãs, apresentado por quatro espécies: *Heliothis virescens*,

Helicoverpa zea e *Spodoptera frugiperda*, e *Pectinophora gossypiella* (BASTOS & TORRES, 2006).

2.1.2 Arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma planta da família *Poacea*, monocotiledônea da ordem *Poales* (KOCHIAN *et al.*, 2004). É originário do sudoeste da Ásia e, atualmente, é cultivado em todo o mundo (VIEIRA, 1999). Seu plantio remonta há mais de 7000 anos, representando uma das plantas cultivadas mais antigas do mundo (IZAWA & SHIMAMOTO, 1996). Caracteriza-se por ser um dos mais importantes cereais cultivados e mais consumidos do mundo, constituindo alimento diário para mais de 70 % da população mundial (KOCHIAN *et al.*, 2004).

Segundo a EMBRAPA CLIMA TEMPERADO (2013), o arroz destaca-se como um dos alimentos com melhor balanceamento nutricional, sendo capaz de suprir 20% da energia e 15% da proteína diária de um adulto, além de conter vitaminas, sais minerais, fósforo, cálcio e ferro. É uma cultura que se adapta a diferentes condições de solo e clima, desempenha um importante papel econômico e social, além de apresentar um alto potencial para combater a fome.

O cultivo de arroz no Brasil é realizado por dois ecossistemas básicos: sistema de terras altas e o de arroz irrigado. O arroz de terras altas se caracteriza por ser dependente da precipitação pluvial ou pela irrigação, além de ser pouco exigente em insumos e tolerante a solos ácidos. É uma cultura que destacou-se como pioneira durante o processo de ocupação agrícola dos Cerrados, em meados da década de 60. A região Centro-Oeste é a maior produtora de arroz em terras altas no país. Já o sistema irrigado, ou também denominado cultivo de várzeas, é caracterizado pelo cultivo submerso; o plantio irrigado é comum na região sul, representando cerca de 40% da área destinada à orizicultura no Brasil. (EMBRAPA ARROZ e FEIJÃO, 2010).

Na safra de 2012/13, a produção nacional de arroz foi estimada em 11.746,6 mil toneladas, sendo que o Rio Grande do Sul se destaca como o maior estado produtor do Brasil com uma área plantada de 1.066,6 mil hectares, representando 44,6% da área nacional, respondendo ainda por 67 % da produção brasileira (CONAB, 2013).

No período entre 1º de março e 30 de setembro de 2013, o Brasil exportou 592,9 mil toneladas de arroz em casca e importou 674,5 mil toneladas. Com esse resultado, estima-se que para o período safra 2012/13 – a balança comercial do arroz encerre com um déficit de

100 mil toneladas, sendo as exportações estimadas em 900 mil toneladas e as importações em 1.000 mil toneladas (CONAB, 2013).

Alguns insetos-praga podem atacar a cultura do arroz de terras altas, sendo as principais: cupim-rizófagos, *Procornitermes* spp; percevejo-castanho, *Scaptocoris castanea*; percevejo-do-colmo, *Tibraca limbativentris* Stal; percevejo-das-panículas, *Oebalus poecilus*; cigarrinha-das-pastagens, *Deois flavopicta*; pulgão-da-raiz, *Rhopalosiphum rufiabdominale*; lagarta-dos-arrozais, *Spodoptera frugiperda*; lagarta-dos-capinzais, *Mocis latipes*; lagarta-dos-cereais, *Pseudaletia adultera* e *P. sequax*; broca-do-colo, *Elasmopalpus lignosellus*; broca-do-colmo, *Diatraea saccharalis*; pulga-da-folha, *Chaetocnema* sp.; cascudo-preto (bicho-bolo), *Euethiola humilis*; formigas cortadeiras, *Acromyrmex* spp. e *Atta* spp (EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, 2014).

2.1.3 Milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea, monocotiledônea, pertencente à família Poaceae, ordem Poales (LIMA, 2007). É uma planta C4 altamente eficiente no aproveitamento da luz solar (BORGES, 2006). Tem como provável região de origem a América Central ou o México, tendo sido cultivado há cerca de 8 ou 10 mil anos, e tem como descendente o teosinte, gramínea com várias espigas sem sabugo, que pode cruzar naturalmente com o milho e produzir descendentes férteis (GALINAT, 1995). É uma das culturas mais importantes no mundo em função de sua produtividade, composição química e valor nutritivo (FANCELLI & DOURADO NETO, 2000).

A cultura do milho encontra-se amplamente disseminada no Brasil, sendo destinada tanto para o consumo humano, quanto para a alimentação de animais (EMBRAPA, 2002). Isto se deve tanto à sua multiplicidade de usos na propriedade rural quanto à tradição de cultivo desse cereal pelos agricultores brasileiros (MAGALHÃES *et al.*, 2003).

Além de ocupar uma área cultivada considerável no território brasileiro, gerando empregos no setor agrícola, o milho é importante tanto na utilização direta na alimentação humana e de animais, quanto na indústria para a produção de cola, amido, óleo, álcool, flocos alimentícios, bebidas e de muitos outros produtos importantes em nosso cotidiano. A cultura também se destaca na produção de etanol, em especial nos EUA e Canadá, a partir do milho em grãos, o que valoriza o mercado internacional desta “commodity”, levando os produtores a investirem em melhores tecnologias visando ao aumento da produtividade (WOHLENBERG, 2006). Recentes estudos vêm ganhando força e recebendo considerável atenção no cenário

dos recursos renováveis em relação à utilização do amido do milho na produção de amido termoplástico (RÓZ, 2003). De acordo com Souza e Braga (2004), merece destaque a importância do milho para a produção animal que consome 80% de todo o milho produzido no país na forma de ração, destinado às atividades de criação de aves e suínos.

O milho caracteriza-se como um alimento energético rico em carboidratos, principalmente o amido, que corresponde, em média, a 72% do grão, porém estão presentes no grão, os lipídios (óleo) e as fibras alimentares que constituem 4,5% e 2,0% dos grãos, respectivamente. Algumas vitaminas também são encontradas no milho, com destaque para a B1, a B2, a vitamina e o ácido pantotênico, além de fósforo e potássio. No entanto, o milho não constitui fonte essencial desses nutrientes, sendo a composição de alguns desses componentes é baixa. Os teores de proteínas chegam, em média, a 9,5% (PAES, 2013).

O milho é plantado em duas épocas distintas. Os plantios de verão, ou primeira safra, são realizados durante o período chuvoso, que varia entre o final de agosto, na região Sul, até os meses de outubro/novembro, no Sudeste e Centro-Oeste (no Nordeste este período ocorre no início do ano). Já os plantios de segunda safra, ou de inverno ou, ainda, "safrinha" se referem ao milho de sequeiro, plantado quase sempre depois da soja precoce, predominantemente na região Centro-Oeste e nos estados do Paraná e São Paulo. Inicialmente, os plantios de safrinha surgiram como um cultivo marginal feito pelos agricultores, e, atualmente tornou-se um cultivo maior que o da primeira safra. Um dos fatores que influenciaram o aumento do cultivo na segunda safra foi a maior demanda da soja no mercado internacional, que fez com que o milho perdesse áreas de cultivo de verão, e aumentasse a produção no inverno (EMBRAPA, 2013).

Na primeira safra de 2012/13, foi observada uma redução de 8,6% na área plantada, com uma diminuição da área de plantio de 7.558,5 mil hectares da primeira safra de 2011/2012, para 6.906,8 mil hectares na safra de 2012/2013. A produção nacional de milho, na primeira safra, foi estimada em 35.164,8 mil toneladas, em comparação com a safra de 2011/12, com uma produção de 33.867,1 mil toneladas, apresentando um acréscimo de 3,8%. O plantio de milho na segunda safra obteve um recorde, atingindo 81.344,4 mil toneladas, representando uma evolução de 11,5% em relação à produção obtida na segunda safra 2011/2012, atingindo um percentual de de produção de 74% no Mato Grosso, 78% no Mato Grosso do Sul, 94% em Goiás, 82% em Minas Gerais, 50% em São Paulo e 75% no Paraná (CONAB, 2013).

Dentre as várias espécies de insetos-praga que ocorrem na cultura do milho destacam-se as pragas iniciais que atacam a raiz, como as larvas de *Diabrotica speciosa*; os corós

Dyscinetus dubius, *Stenocrates* sp., *Liogenys* ssp.; o coró-da-pastagem, *Diloboderus abderus* e os percevejos castanhos, *Scaptocoris castanea* e *Atarsocoris brachiariae*. As pragas que atacam a parte aérea têm como destaque: tripses, *Frankliniella williamsi*; percevejos como os de barriga-verde, *D. melacanthus* e *Dichelops furcatus*; percevejo-verde, *Nezara viridula*; a lagarta elasmopalmus, *Elasmopalpus lignosellus*; lagarta rosca, *Agrotis ipsilon* e a cigarrinha-do-milho, *Dalbulus maidis*. Já na fase vegetativa e reprodutiva do milho, destacam-se a lagarta da espiga, *Helicoverpa zea*; o curuquerê-dos-capinzais, *Mocis latipes*; pulgão-do-milho, *Rhopalosiphum maidis*; pulgão-verde-dos-cereais, *Schizaphis graminum* e o pulgão-da-aveia, *Rhopalosiphum padi* (GASSEN, 1996; CRUZ, 2008). Dentre essas pragas, a lagarta-do-cartucho-milho, *Spodoptera frugiperda*, é considerada a principal praga da cultura do milho no Brasil, causando danos na planta desde a emergência até o pendoamento e espigamento (CRUZ, 1995).

2.1.4 Repolho

O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) é uma hortaliça herbácea, folhosa (FILGUEIRA, 2000; LÉDO *et al.*, 2000), com ciclo bianual, apresenta folhas arredondadas e cerosas, as quais superpostas e embricadas, formam uma cabeça compacta (VIDIGAL *et al.*, 2007). De origem europeia e asiática, é a hortaliça de uso mais antigo no mundo, desde 2000 a. C. (LANA & TAVARES, 2010).

No Brasil, é a espécie que possui maior importância econômica da família Brassicaceae (VIDIGAL *et al.*, 2007), que se caracteriza por ser um alimento de excelente qualidade, com altos teores de β -caroteno, cálcio e de vitamina C (FERREIRA *et al.*, 2002), sais minerais e aminoácidos que contém enxofre, metionina, cisteína, glucosinolatos, possuindo propriedades antioxidantes de grande utilidade na medicina (SANTOS *et al.*, 2008).

Através dos fitomelhoristas, foram criados cultivares que permitem o plantio em condições termoclimáticas brasileiras diversificadas, com híbridos que apresentam grande flexibilidade na escolha da época de plantio e da região produtora, com o cultivo sendo praticado em todas as estações do ano, em diversas regiões, com destaque para os híbridos Fuyutoyo, Astrus e Saturno (FILGUEIRA, 2008). Tem como destaque a produção de repolho de coloração verde-clara ou verde-azulada, globular achatados, com o interior branco, mas a produção de cultivares roxo vem aumentando e alcançando preços elevados, com destaque para os híbridos Red Jewl e Red Dynasty (FILGUEIRA, 2008).

A produção de repolho no Brasil está concentrada nas regiões Sul e Sudeste, destacando-se com uma produtividade média de 40 t/ha (VIDIGAL *et al.*, 2007), com maiores concentrações de cultivos em cinturões verdes próximos de capitais e nas regiões serranas, sendo cultivada tanto pela agricultura familiar quanto por grandes produtores de hortaliças (ARAGÃO *et al.*, 2005).

De acordo com Freitas (2010), os insetos que mais se destacam na cultura do repolho são os seguintes: os pulgões *Myzus persicae* e *Brevicoryne brassicae*; a mosca branca, *Bemisia tabaci*; a lagarta-rosca, *Agrotis ipsilon*; a broca-da-couve, *Hellula phidilealis*; o curuquerê, *Ascia monuste orseis*; a lagarta-medede-palmo, *Trichoplusia ni*. Entre os insetos que causam um maior número de prejuízos na cultura do repolho, merece destaque a traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*) pela magnitude e frequência com que ocorrem e pelos danos causados.

2.1.5 Soja

A soja *Glycine max* (L.) Merrill é uma leguminosa, pertencente à família Fabaceae e se caracteriza por ser uma planta herbácea (BORÉM, 1999), constituindo uma importante oleaginosa cultivada no mundo. Tem como origem o continente asiático, sobretudo a região do rio Yangtse, na China, sendo considerada sagrada pelos chineses. A introdução da soja no Brasil deu-se por volta de 1882, e foi o professor Gustavo Dutra, da Escola de Agronomia da Bahia, o responsável pelos primeiros estudos com a cultura no país. Cerca de dez anos depois, o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), no Estado de São Paulo, também iniciou estudos para obtenção de cultivares aptos à região. Naquela época, porém, o interesse pela cultura não era pelo grão em si, mas sim pela planta, que era utilizada como cultura forrageira e na rotação de culturas, sendo que os grãos eram utilizados na alimentação de animais (Embrapa Soja, 2013).

Hoje a soja resulta da evolução de sucessivos processos de melhoramento de genótipos ancestrais. O processo de melhoramento iniciou-se naturalmente entre espécies selvagens, com a posterior domesticação dessas, e, a partir daí, o melhoramento genético foi direcionado para a obtenção das características agronômicas desejáveis (CISOJA, 2013). Os avanços científicos e a disponibilização de tecnologias procuram cada vez mais aumentar a produtividade da soja no Brasil através da produção de cultivares adaptadas às diferentes regiões do país, de pesquisas desenvolvidas relacionadas ao manejo de solos, como adubação e calagem, do manejo de pragas e doenças, além da identificação e solução em relação aos

fatores responsáveis por perdas no processo de colheita e transporte e permitem que a soja continue a elevar sua participação no PIB nacional e nas exportações (VENCATO *et al.*, 2010).

O aumento na produção de soja pode ser atribuído a diversos fatores, entre os quais podemos citar: o elevado teor de proteínas (em torno de 40%) de excelente qualidade, tanto para o consumo animal quanto humano; alto teor de óleo (ao redor de 20%), que pode ser usado para diversos fins, especialmente associado à alimentação humana e à produção de biocombustíveis; como é uma *commodity* padronizada e uniforme, pode ser produzida e negociada por produtores de diversos países; por ser oleaginosa apresenta alta liquidez e demanda e; que com o aumento da oferta de tecnologias de produção, foi permitido ampliar significativamente a área e a produtividade dessa importante oleaginosa (HIRAKURI & LAZZAROTTO, 2010).

A descoberta de substâncias de valor medicinal na composição dos grãos de soja, fez com que o interesse pelo seu cultivo e utilização aumentasse. Entre os principais benefícios da soja para a saúde humana, destacam-se: a) elevados teores de ácidos graxos insaturados, o que é importante para prevenir altos índices de colesterol; b) presença de lecitina, que favorece o sistema imunológico; c) isoflavonas, saponinas e inibidores de protease (principalmente genótipos resistentes a insetos) que apresentam efeitos anticancerígenos; d) fibras com prováveis efeitos fisiológicos no controle de diabetes; e) redução de riscos de osteoporose (VELLO & TSUITSUMI, 2000).

A cultura da soja desenvolveu-se bastante nas últimas três décadas, chegando a um aumento médio de 49% da área plantada em grãos do país; esse aumento na produtividade se deu devido, principalmente, aos avanços tecnológicos, ao manejo adequado e eficiência dos produtores (MAPA, 2013).

A área plantada no Brasil com soja, na safra de 2012/2013, foi de 27.721,6 mil hectares, com uma produção de 81.456,7 milhões de toneladas. A região Centro-oeste se destacou com 46% da área plantada com soja, atingindo 12,7 milhões de hectares. Apenas o estado do Mato Grosso, maior produtor nacional, plantou 28% do total cultivado no período, ou 7,8 milhões de hectares. Já a região Sul foi responsável por 35% da área cultivada com o grão na referida safra, somando 9,8 milhões de hectares. O Paraná e o Rio Grande do Sul aparecem como o segundo e terceiro maiores produtores nacionais, com 4,7 milhões e 4,6 milhões de hectares, respectivamente. As regiões Norte e Nordeste obtiveram o maior crescimento em área instalada, com 24,6% e 14%, a mais de aumento sobre a safra 2011/12. O destaque fica com a região batizada de Mapitoba, que se refere às sílabas iniciais dos quatro

estados que possuem os maiores espaços cultivados com o grão nas novas fronteiras agrícolas. Juntos, os estados do Maranhão, do Piauí, do Tocantins e da Bahia somaram quase três milhões de hectares na safra 2012/13 (CONAB, 2013).

A produção mundial de soja na safra 2012/2013 gira em torno de 286,83 milhões de toneladas. Nos Estados Unidos, a estimativa de produção alcançou 89,51 milhões de toneladas de soja, superando a produção da oleaginosa no Brasil. Já a safra da Argentina, nesse mesmo período, foi de 54,5 milhões de toneladas (USDA, 2014).

A cultura da soja está sujeita ao ataque de insetos-praga durante todo o seu ciclo. Vários insetos-praga podem atacar a cultura no início do estágio vegetativo, tais como o bicudo-da-soja (*Sternechus subsignatus*), a lagarta elasm (*Elasmopalpus lignosellus*), os corós (Scarabaeoidea) e os percevejos-castanhos-da-raiz (*Scaptocoris castanea* e *Atarsocoris brachiariae*). Durante a fase vegetativa e de floração, a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*), a lagarta falsa-medideira (*Pseudoplusia includens*) e vários outros desfolhadores atacam as plantas, causando danos. Já na fase reprodutiva, ocorre o ataque de percevejos sugadores de vagens e sementes (*Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* e *Euschistus heros*), onde causam danos que compreende desde a formação das vagens, até o final do enchimento dos grãos. Outras pragas podem causar danos, sendo consideradas pragas esporádicas, cujos aumentos populacionais estão relacionados às alterações climáticas, ou pelos sistemas de produção específicos de cada região (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000).

2.2 Insetos-praga

Existem algumas espécies de insetos que são considerados pragas-chave em milho, algodão, arroz, soja e repolho. Dentre estes, podemos destacar como de importância agrícola: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae).

2.2.1 *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

Spodoptera frugiperda, também chamada de lagarta-do-cartucho, é uma espécie originária das zonas tropicais e subtropicais das Américas (METCALF, 1987), podendo também ser encontrada nas zonas temperadas do continente norte-americano durante os períodos de primavera e verão (SANTOS *et al.*, 2004).

Caracteriza-se por ser uma espécie polífaga (LUGINBILL, 1928), caracterizada por se alimentar de mais de 80 espécies de plantas, tais como algodão, milho e soja (POGUE, 2002). É também uma importante praga de plantas da família Poaceae (gramíneas) (CAPINERA, 2008), tais como milho, arroz, trigo, etc. (BUSATO *et al.*, 2002), além de causar perdas significativas em solanáceas cultivadas (BASTOS & TORRES, 2004).

Segundo Grützmacher *et al.* (2000), na cultura do milho, as lagartas em seus estádios iniciais, consomem somente parte das folhas, mantendo a epiderme intacta, provocando apenas uma leve raspagem nas folhas e, assim, reduzindo a área foliar e diminuindo a fotossíntese; já as lagartas maiores perfuram as folhas e se desenvolvem no cartucho do milho, podendo atacar a espiga. Podem provocar a queda de espigas, gerando danos diretos girando em torno de 35% no rendimento de grãos (CRUZ, 1995). Na cultura do algodão, as lagartas de *S. frugiperda* alimentam-se de folhas, de botões florais e, principalmente, de maçãs em formação (LUTTRELL & MINK, 1999). Causa severos ataques e reduz significativamente a produção (PEREIRA, 2007), provocando perdas de até 30% na cultura do algodoeiro (MIRANDA & FERREIRA, 2005).

Na cultura do arroz, a lagarta danifica plantas novas, corta colmos rentes ao solo, desfolham plantas mais desenvolvidas e causa danos a flores e panículas. (PEREIRA, 2007), sendo que os danos não são significativos em arroz de terras altas, diferentemente do que acontece com o arroz irrigado, onde os danos causados são expressivos; o período crítico de ataque da praga está compreendido entre a emergência das plantas e a inundação da lavoura (MARTINS *et al.*, 2004). Já no milheto, o hábito alimentar da lagarta é similar ao observado no milho; na soja, inicialmente, as lagartas alimentam-se das folhas, e ataca as vagens na fase inicial de formação (BARROS *et al.*, 2010).

2.2.1.1 Biologia do inseto

O inseto adulto *S. frugiperda* mede, aproximadamente, 30 a 35 mm de envergadura. O macho tem as asas anteriores marrom-acinzentadas, enquanto que a fêmea tem a asa anterior marrom-acinzentada, com mancha orbicular e reniforme delineadas em branco. Já a asa posterior é esbranquiçada e hialina nos dois sexos. A espécie apresenta dimorfismo sexual nas asas anteriores (CRUZ, 1995). Em uma temperatura média de 25 °C, o ciclo reprodutivo do inseto pode ser completado em menos de 30 dias, possibilitando várias gerações ao ano (CRUZ, 1995; CRUZ e MONTEIRO, 2004).

As fêmeas de *S. frugiperda* depositam, em média, grupos de 50 a 300 ovos em camadas sobrepostas e recobertas por escamas do próprio inseto, sendo que cada fêmea pode ovipositar de 1500 a 2000 ovos. Em plantas de milho, a mariposa oviposita na face superior das folhas, já no algodão, na face inferior das folhas. Inicialmente, os ovos, possuem coloração verde-clara e, após, 12 a 15 horas ficam com cor alaranjada, com período de incubação de aproximadamente três dias a 25 °C (CRUZ, 1995; GALLO *et al.*, 2002).

Após os ovos eclodirem, as lagartas iniciam sua alimentação raspando o limbo das folhas mais novas do milho, que se alimentam apenas de um lado da folha, característica típica dessa espécie. Nessa fase podem atacar todas as folhas centrais da planta, fazendo furos até destruí-las completamente. Em seguida, caminham para a região do cartucho do milho (GALLO *et al.*, 2002). Já no algodão, inicialmente as lagartas raspam a epiderme das brácteas, botões florais, flores e maçãs. A partir do terceiro instar se alimentam com maior voracidade, perfurando folhas, brácteas, flores e maçãs do algodoeiro. Depois de completamente desenvolvidas, raspam a base das maçãs, perfuram-nas e alimentam-se do conteúdo das mesmas, permanecendo nas maçãs até saírem para empuparem (SOARES & VIEIRA, 1998). No arroz, o ataque da lagarta à cultura inicia-se logo após a emergência das plantas, cortando-as rente ao solo (MARTINS *et al.*, 2004).

A lagarta passa por cinco, seis ou sete instares, dependendo da temperatura e da disponibilidade de alimento. A partir do segundo instar, se tornam canibais, sendo comum encontrar apenas uma lagarta desenvolvida por cartucho, mas pode-se encontrar lagartas em diferentes instares em um mesmo cartucho. A fase larval tem duração média de 12 a 30 dias, dependendo da temperatura do ambiente. No final da fase larval a lagarta medirá aproximadamente 50 mm de comprimento, apresentando corpo cilíndrico, com coloração inicial clara, depois passando para pardo-escuro a esverdeada até quase preta, apresentando um “Y” invertido característico na parte frontal da cabeça (GALLO *et al.*, 2002).

Após a fase larval, a lagarta passa por um período de pré-pupa onde não se alimenta e fica no solo, esse período pode durar de um a cinco dias, dependendo da temperatura. Em seguida, a lagarta pode se transformar em pupa no próprio solo, dentro do cartucho, no pendão ou até mesmo nas espigas de milho, entre a palha (CRUZ, 1995).

2.2.1.2 Controle de *S. frugiperda*

A dificuldade de controle e manejo de *S. frugiperda*, figura na grande oferta de hospedeiros ao longo do ano, e, principalmente, na sucessão de culturas, como milho ou soja

no verão, ou milho ou sorgo na "safrinha"; além disso, o plantio de milho irrigado com pivô central no inverno, como ocorre na região Centro-Oeste, aumenta a disponibilidade de hospedeiros nesse período (BARROS *et al*, 2010). As lagartas de *S. frugiperda* movimentam-se entre os cultivos e estas são favorecidas pelo plantio de culturas de diferentes fenologias próximas umas das outras, como no caso da soja, do milho e do algodão que são cultivados no verão, além de plantas de cobertura na entressafra, como o milheto (NAGOSHI, 2009). O uso inadequado e excessivo de controle químico, a falta de conhecimentos básicos para o manejo, como dinâmica populacional, planos de amostragens e nível de controle faz com que aumente a ocorrência da praga (BARROS *et al.*, 2010).

Como *S. frugiperda* pode atacar em qualquer época do ano, a frequência e a intensidade de uso de inseticidas têm aumentado bastante nos últimos anos e fracassos no controle de *S. frugiperda* com inseticidas tradicionais (piretróides e organofosforados) têm sido periodicamente relatados (DIÉZ-RODRÍGUES & OMOTO, 2001). Como resultado do uso intensivo desses inseticidas, uma série de impactos negativos pode ocorrer, tais como: contaminação do meio ambiente, alimentos com resíduos de pesticidas, aumento dos custos de produção, seleção de populações de insetos resistentes, eliminação de inimigos naturais presentes na área, entre outros. Assim, a adoção de alternativas eficientes e de baixo impacto ambiental é fundamental para o sucesso do controle de pragas (ROEL & VENDRAMIM, 2006).

Existe um grande número de inseticidas registrados para o controle de *S. frugiperda* que podem ser aplicados via pulverização, e em alguns casos, através da água de irrigação (insetigação), com destaque, principalmente para os organofosforados e piretróides. No controle biológico o predador *Doru luteipes* e os parasitóides *Trichogramma spp.*, *Telenomus sp.*, *Chelonus insularis* e *Campoletis flavicincta*, são importantes agentes de controle dessa praga. No controle microbiano se destacam os fungos *Nomuraea rileyii*, *Botrytis rileyi*, *Beauveria globulifera*; *Baculovirus spodoptera* e *Bacillus thuringiensis*. (CRUZ, 1995; CRUZ, 2008)

2.2.2 *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), também conhecida como “lagarta-da-soja”, é uma das principais pragas desfolhadoras e, no Brasil, encontra-se distribuída em todas as regiões do país onde a soja é cultivada. Em condições normais, essa praga ocorre nas lavouras a partir de novembro, nas regiões ao Norte do Paraná, e a partir de

dezembro a janeiro em todo o Sul do País. (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2010). Quando não manejadas corretamente, essas lagartas podem provocar até 100% de desfolha, que, dependendo do estágio de desenvolvimento da planta, ocasionam reduções significativas na produtividade da lavoura que podem chegar à perda total (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000).

A lagarta-da-soja é uma espécie de ocorrência tropical e subtropical, sendo encontrada somente nos continentes americanos, desde as regiões Norte e Central da Argentina até o Sudeste e Estados do Golfo do México nos Estados Unidos (SINCLAIR *et al.*, 1997; PRAÇA *et al.*, 2006), sendo considerada a principal praga desfolhadora da soja nos EUA, México, Colômbia, Venezuela, Brasil e Argentina (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000). De acordo com Milano *et al.* (2008), a dinâmica populacional e a bioecologia deste inseto podem variar de acordo com as regiões onde ocorrem, principalmente em relação à temperatura e nutrição dos insetos.

Se a planta de soja for atacada durante o período vegetativo e de florescimento, ainda pode ter a capacidade de se recuperar da injúria (SOZA-GÓMEZ *et al.*, 1993). Mas, se o ataque da lagarta ocorrer no estágio de surgimento de vagens pode causar grandes danos econômicos, pois nessa fase a planta de soja é mais sensível ao desfolhamento, onde ocorre o deslocamento de carboidratos das folhas para formação das vagens e desenvolvimento dos grãos (GAZZONI & MOSCARDI, 1998).

A ocorrência da lagarta-da-soja em plantas hospedeiras é ampla, podendo ser encontrada em plantas cultivadas e silvestres. Essa espécie tem preferência alimentar por leguminosas, mas também já foi encontrada, em alguns casos, em algodoeiro, quiabo, trigo, girassol, begônia e arroz, entre outras (ARMSTRONG *et al.*, 1990; GREGORY JUNIOR *et al.*, 1991; PANIZZI *et al.*, 2004).

2.2.2.1 Biologia de *A. gemmatalis*

O inseto adulto possui coloração cinza ou marrom-escuro, apresentando envergadura de asas de 30 a 38 mm. Apresenta uma linha diagonal marrom-canela ao longo das asas, unindo as pontas do primeiro par de asas (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2010). Tanto o acasalamento, quanto a oviposição, ocorrem à noite (HOFFMANN-CAMPO *et al.* 2000).

Os ovos são depositados de forma isolada, nas folhas ou nas hastes das plantas (HOFFMANN-CAMPO *et al.* 2000; PRAÇA *et al.*, 2006), com maior concentração nos terços médio e inferior das plantas (HOFFMANN-CAMPO *et al.* 2000). Os ovos apresentam

coloração verde clara assim que depositados nas plantas, e, posteriormente, marrom escuro, próximo à eclosão das larvas. O período de incubação é de, aproximadamente, três dias e cada fêmea tem capacidade para ovipositar até 1000 ovos; cerca de 80% são depositados nos primeiros oito a dez dias de vida. A longevidade das fêmeas é de, aproximadamente, 20 dias (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2010).

As lagartas de *A. gemmatalis* podem ter de cinco a sete instares larvais, sendo seis instares larvais o mais comum. Dependendo da temperatura, da planta hospedeira e da qualidade do alimento, a duração de cada instar pode variar (FUGI *et al.*, 2005; MILANO, 2008).

Nos dois primeiros instares, as lagartas, medem, em média 3 e 9 mm, respectivamente; apresentam os dois primeiros pares de pernas vestigiais abdominais e mais um par anal, podendo apresentar coloração verde. Nesse período locomovem-se medindo palmos, podendo ser confundidas com as lagartas falsas-medideiras (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000). As lagartas nessa fase raspam o parênquima foliar e somente a partir do terceiro instar, as mesmas conseguem perfurar as folhas. A fase larval tem a duração de 12 a 15 dias e as lagartas podem consumir cerca de 80 a 150 cm² de área foliar (BUENO *et al.*, 2011). A maior capacidade de desfolha ocorre do quarto ao sexto instar, quando as lagartas atingem grande potencial de injúria na soja (BUENO *et al.*, 2011).

Após o último instar larval, a lagarta entra na fase de pré-pupa. Inicialmente, a lagarta em pré-pupa se encolhe, apresentando dorso de cor rosada, para de se alimentar (PRAÇA *et al.*, 2006). Após isso, a lagarta em pré-pupa migra para a parte inferior da planta e constrói uma câmara pupal sob folhas secas na superfície do solo ou, mais frequentemente, até dois centímetros de profundidade (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000). Dessas pupas irão emergir as mariposas, que acasalam na primeira noite após a emergência, iniciando a oviposição três a quatro dias depois, sendo que o pico de postura ocorre ao redor do quinto dia de vida do adulto (MAGRINI *et al.*, 1999).

2.2.2.2 Controle de *A. gemmatalis*

De acordo com os níveis de ação do Manejo Integrado Pragas da soja, *A. gemmatalis* deve ser controlada, quando forem encontradas, em média, 40 lagartas grandes (igual ou superior a 1,5cm) por pano-de-batida ou, quando a desfolha atingir 30%, antes da floração, e 15%, quando surgem as primeiras flores (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000).

No controle de *A. gemmatalis*, merece destaque a utilização do *Baculovirus anticarsia* (vírus múltiplo de poliedrose nuclear de *A. gemmatalis* - AgMNPV) na cultura da soja (SOSA-GOMES *et al.*, 2010). O produto formulado é encontrado na forma de pó molhável e, após sua aplicação, a lagarta é infectada pela ingestão dos poliedros presentes nas folhas (GAZZONI & YORINIORI, 1995). Esse programa iniciou-se em 1982/83, com a participação da assistência técnica oficial e de cooperativas, com a coordenação da Embrapa Soja em Londrina, criada em 1975 (SOSA-GÓMES *et al.*, 2010). Outro produto eficiente disponível para o controle da lagarta-da-soja, é *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner), cujas formulações podem ser encontradas na forma de pó molhável e suspensão concentrada; como sua persistência no campo é curta, é necessário realizar novas aplicações. O produto mais conhecido no mercado com esse princípio ativo é o Dipel (PRAÇA *et al.*, 2006).

No controle químico de lagarta-da-soja nas condições brasileiras, destacam-se os inseticidas reguladores de crescimento, pela sua eficiência e seletividade a inimigos naturais (SILVA *et al.*, 2003), onde são utilizados, principalmente, inseticidas fosforados, benzoiluréia, piretróides ou ainda carbamatos (AGROFIT, 2013). Por sua vez, os inseticidas pertencentes ao grupo químico dos piretróides e organofosforados se caracterizam por apresentar amplo espectro de ação, custo reduzido, podendo ainda ser utilizados em populações de pragas em estádios mais avançados de desenvolvimento. Porém, quando aplicados na fase inicial podem favorecer surtos ou ressurgência de insetos-praga devido ao desequilíbrio de predadores e parasitóides (SOSA-GÓMEZ, 1993). Os inseticidas a serem usados devem ser escolhidos levando-se em consideração a sua toxicidade, custo por hectare e o efeito sobre os inimigos naturais (BOTELHO *et al.*, 1999).

2.2.3 *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Yponomeutidae)

Também chamada de traça-das-crucíferas, tem como provável origem a região do Mediterrâneo (FILGUEIRA, 2003). No Brasil, ocorreu a primeira vez no estado da Bahia (BONDAR, 1928) e, hoje, encontra-se disseminada onde há cultivo das brássicas, ocorrendo em todas as épocas do ano (CASTELLO BRANCO & GUIRARÃES, 1990), sendo considerada uma praga cosmopolita (CHENG *et al.*, 2008) e principal praga das brássicas na Ásia e América (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997). Essa praga tem preferência por plantas de repolho, mas pode atacar também couve-flor e couve comum (SILVA *et al.*, 1993).

Pode ocorrer em todo o Brasil e, dependendo da região e época de plantio, pode diminuir drasticamente o valor comercial da cultura (MELO *et al.* 1994). A maior ocorrência de *P. xylostella* ocorre nos meses de menor precipitação, entre julho a setembro, sendo que o período crítico de ataque da praga, em repolho, ocorre na formação da cabeça, aproximadamente entre quatro e sete semanas após o transplante (CZEPAK *et al.*, 2005), sendo atacado desde a formação da cabeça até a colheita, com um nível de dano próximo a 20% de plantas infestadas (VACARI *et al.*, 2008).

É considerada a praga mais importante das crucíferas, causando danos e perdas, que depreciam o produto, interferem no crescimento e até mesmo provocam a morte ou perda total em plantas comerciais de repolho (*B. oleracea* var. *capitata*) (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997), inutilizando-as para o consumo (BIOCONTROLE, 2013). A fase larval é responsável pelos danos que atingem a cultura, onde, logo após a eclosão do ovo, as lagartas passam a alimentar-se das folhas, caule e brotos vegetativos de plantas de repolho (MEDEIROS *et al.*, 2005).

2.2.3.1 Biologia de *P. xylostella*

P. xylostella é um microlepidóptero de coloração parda quando adulto (VACARI *et al.*, 2008), possui hábito noturno e durante o dia se esconde nas folhagens. Os machos quando estão com as asas fechadas apresentam uma mancha clara com forma de diamante esculpido na face dorsal, sendo denominados de “Diamondback moth” (MAU e KESSING, 2007).

As fêmeas podem ovipositar cerca de 350 ovos durante o seu ciclo de vida, são muito férteis; seu ciclo de desenvolvimento, desde a fase de ovo até a fase adulta, é influenciado pela temperatura ambiente, onde a 15 °C o ciclo dura 34 dias e, a 35 °C, 12 dias, ocorrendo de 14 a 30 gerações por ano (CASTELO BRANCO *et al.*, 2001; MAU e KESSING, 2007).

A oviposição é realizada tanto na face abaxial quanto na face adaxial das folhas, geralmente acompanhando as nervuras das folhas, na maioria das vezes isoladas ou em grupo de dois ou três (SILVA *et al.*, 1993; CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997). Os ovos possuem tamanho menor que um mm e forma oval; inicialmente são de coloração amarelada, tornando-se pretos, próximo à eclosão (MAU e KESSING, 2007).

Apresenta quatro instares larvais; no início do período larval, as larvas são de coloração esbranquiçada, ao longo do seu desenvolvimento adquire coloração verde-clara com a cabeça parda (CASTELO BRANCO *et al.*, 2001). O tamanho máximo das larvas é de 10 mm de comprimento e, ao serem tocadas, reagem movendo-se aos saltos. Após eclodirem,

as lagartas de primeiro instar “minam” as folhas, onde se alimentam do parênquima foliar. A partir do segundo instar, as mesmas abandonam as “minas” e, até o terceiro estágio, se alimentam das folhas do tecido foliar, exceto da epiderme superior, onde as folhas ficam com aparência rendilhada. Já as lagartas de quarto instar se alimentam de todas as partes da folha (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997).

Já no final do quarto instar, as larvas constroem um pequeno casulo de seda, onde empupam; inicialmente as pupas são verde-claras e, próximo a emergência dos adultos, verde-escuras. São formadas normalmente na face abaxial das folhas ou em lugares protegidos da planta de repolho (MEDEIROS *et al.*, 2003).

Por ser uma praga de ciclo curto, *P. xylostella* pode produzir grande número de gerações anuais, o que torna difícil o seu controle na maioria das regiões produtoras, o que é uma ameaça a essas hortaliças. Ataques severos causados, principalmente durante os períodos mais secos do ano, podem ocasionar perdas totais nos campos de produção (MEDEIROS *et al.*, 2003). Os danos causados podem acarretar depreciação do produto, atraso no crescimento da planta ou mesmo sua morte (VACARI *et al.*, 2008).

2.2.3.2 Controle de *P. xylostella*

O controle químico é o método mais empregado no controle da traça-das-crucíferas desde o início do século XX em culturas de brássicas (FREITAS LUZ *et al.*, 2002), principalmente por sua eficácia e facilidade de aplicação (TIBA, 2008) e a cada nova década, ocorre a introdução de novos produtos para o seu controle (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997).

A utilização de agrotóxicos de forma contínua e em larga escala no controle da traça-das-crucíferas traz riscos ao ambiente e ao homem, em função da presença de resíduos nos alimentos, resistência de pragas a inseticidas, problemas toxicológicos e desequilíbrio ecológico; além disso, pode ocorrer a eliminação dos inimigos naturais da área (MONNERAT *et al.*, 2002; CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997).

Diversos inseticidas têm sido utilizados intensivamente durante o ciclo da cultura, com até 16 aplicações em determinadas regiões. Além dos problemas gerados à saúde do agricultor e ao meio ambiente, a pressão seletiva pelo uso excessivo e frequente desses produtos facilita o aparecimento de populações dessa praga, resistente a diversos compostos químicos, inclusive a inseticidas piretróides e fosforados (BRANDÃO FILHO *et al.*, 2010).

Como alternativa ao controle químico, encontram-se as seguintes estratégias: rotação de cultura, armadilhas luminosas, reguladores de crescimento de insetos, inimigos naturais, como parasitóides, predadores e microrganismos entomopatogênicos, com destaque para *B. thuringiensis* (CASTELO BRANCO & MEDEIROS, 2001; PARRA *et al.*, 2002), cultivares resistentes e feromônios (CASTELO BRANCO, 1999, IMENES *et al.*, 2002).

2.3 *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis é uma bactéria de ocorrência cosmopolita, Gram-positiva, esporulante, aeróbica ou anaeróbica facultativa, podendo ser encontrada no solo, colonizando plantas, água e insetos mortos (BRAVO *et al.*, 1998). Apresenta inclusões protéicas cristalinas, produzidas durante a fase de esporulação, sendo capazes de formar cristais com ação inseticida, razão pela qual são denominadas Cry (MONNERAT & BRAVO, 2000). As proteínas Cry ou δ -endotoxinas são codificadas pelos genes *cry*, podendo atingir insetos-praga pertencentes às Ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (GLARE & O' CALLAGHAM, 2000).

B. thuringiensis foi isolado, pela primeira vez, em 1901, a partir de larvas do bicho da seda (*Bombix mori*, Lepidoptera) pelo bacteriologista japonês Ishiwata, que a chamou de *Bacillus sotto*. Em 1911, Berliner isolou o bacilo da *Anagasta kuehniella* (lagarta-da-traça-da-farinha) e o denominou *B. thuringiensis*, em homenagem a província de Thuringia (Alemanha), onde foi encontrado o primeiro inseto infectado. Em 1915, este mesmo autor notou a presença de inclusões parasporais nas células de *B. thuringiensis*. Mas foi em 1953 que, Hannay, ao trabalhar com esta espécie, sugeriu pela primeira vez que a patogenicidade podia estar associada às inclusões cristalinas formados nas células durante a esporulação. No ano de 1968, Angus demonstrou que a hipótese de Hannay era válida (ANGUS, 1968; BERLINER, 1915; HANNAY, 1953; ISHIWATA, 1901).

2.3.1 Toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* (δ -Endotoxinas)

As toxinas Cry pertencem a uma classe de proteínas bacterianas conhecidas como toxinas formadoras de poros (TFP), que são solúveis em água, permitindo modificações conformacionais para permitir a inserção ou o translocamento destas proteínas na membrana celular do hospedeiro. Existem dois grupos de TFP: (1) α -hélice toxinas, no qual, a região de α -hélice forma um poro através da membrana e (2) β -barril toxinas, que se inserem na

membrana formando um β -barril composto de monômero de grampos de folhas β -pregueadas (PARKER & FEIL, 2005 citado por BRAVO *et al.*, 2007).

As proteínas Cry ou δ -endotoxinas são produzidas por *B. thuringiensis* durante a fase de esporulação, onde suas estirpes podem apresentar um único gene codificador ou até mesmo cinco genes diferentes, como é o caso das subespécies *aizawai* HD-137 e *israelensis* IPS-82. Estudos de cristalografia mostraram que o cristal é formado a partir do segundo estágio de esporulação e liberados no momento da lise de suas células, com massa molecular compreendida entre 30 e 142 kDa (MONNERAT & BRAVO, 2000). A maioria das estirpes de *B. thuringiensis* pode sintetizar mais de um tipo de cristal, cada cristal pode ser formado por diferentes proteínas Cry, podendo haver casos em que cinco toxinas são encontradas por estirpe (SERAFINI *et al.*, 2002). Os cristais podem ser bipiramidal, cubóide, rombóide, ovóide, esférico ou, ainda, sem forma definida, onde a forma do cristal é determinada pela composição e estrutura das δ -endotoxinas presentes (HABIB & ANDRADE, 1998). Essas proteínas são tóxicas para insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Diptera (BRAVO *et al.*, 2007).

As proteínas Cry vêm sendo utilizadas como inseticidas biológicos com sucesso há muitos anos (VALADARES-INGLIS *et al.*, 1998). São o principal componente inseticida das formulações atuais de *B. thuringiensis*, tem constituição glicoprotéica, com, normalmente, 20-30% do peso seco das células (BENINTENDE & MÁRQUEZ, 1996). Possuem alta especificidade a insetos alvos, são inócuos a humanos, vertebrados e plantas, e completamente degradados (BRAVO *et al.*, 2007).

2.3.2 Mecanismo de ação de *B. thuringiensis*

Os cristais ao serem ingeridos pelas larvas são solubilizados no intestino médio das mesmas. Em contato com o pH alcalino do intestino das larvas, os cristais liberam as protoxinas de *B. thuringiensis* (BOBROWSKI *et al.*, 2003; KNOWLES, 1994). As protoxinas são ativadas pelas proteases intestinais contidas no intestino das larvas dos insetos, liberando os polipeptídios tóxicos (BRAVO *et al.*, 2004; RABINOVITCH *et al.*, 2000). Em seguida, ligam-se a receptores específicos localizados nas microvilosidades apicais das membranas das células colunares do intestino dos insetos suscetíveis (BRAVO *et al.*, 2005; HOFFMANN *et al.*, 1988; RAVOAHANGIMALALA *et al.*, 1993). Essa ligação é bifásica, composta de um passo reversível e outro irreversível (HOFFMAN *et al.*, 1988; VAN RIE *et al.*, 1989). O primeiro passo envolve a interação entre a toxina e seu sítio de união (união reversível), que é

um requisito básico para que ocorra toxicidade, mas não suficiente (SCHENPF *et al.*, 1998); a partir daí ocorre a oligomerização da toxina e a inserção na membrana, o que leva a formação de poros, aumentando a permeabilidade da membrana. Com isso, ocorre alteração da permeabilidade da membrana e consequente destruição do epitélio intestinal (HARVEY, 1992; WOLFERSBERG, 1992). Os eventos anteriores levam a lise das células epiteliais do intestino, e consequente morte dos insetos por inanição e septicemia (BRAVO *et al.*, 2005; DE MAAGD *et al.*, 2001).

2.4 Microrganismos endofíticos

Os microrganismos endofíticos são aqueles que, por pelo menos uma fase de seu ciclo de vida, podem colonizar o interior de tecidos vegetais sem causar danos aparentes ou sem causar estruturas externas visíveis à planta hospedeira (AZEVEDO & ARAÚJO, 2007; CARROL, 1986).

Os microrganismos endofíticos foram mencionados, pela primeira vez, no início do século XIX por Bary, em 1866. Mas, foi somente no século XX, no final da década de 70, que os microrganismos endofíticos começaram a adquirir importância científica, quando foi verificado que eles apresentam interações simbióticas com o hospedeiro, protegendo as plantas do ataque de insetos, de doenças e de herbívoros (AZEVEDO *et al.*, 2002).

As bactérias têm se destacado entre os microrganismos endofíticos, por serem os principais e mais abundantes grupos de microrganismos que habitam as plantas e por serem capazes de colonizar os tecidos internos das plantas. Além disso, o ambiente interno da planta é importante por conferir a sobrevivência das bactérias, onde são menos afetadas pela temperatura, potencial osmótico e radiação ultravioleta (LODEWYCKX *et al.*, 2002).

Colombo (1978) foi o responsável pelo trabalho pioneiro com bactérias endofíticas, onde relatou a ocorrência de bactérias endofíticas no interior de talo, entre sífões e dentro de filamentos cenocíticos das algas *Halimeda tuna* e *Udolea peliolala*. Nesse trabalho, o autor sugeriu a ocorrência de um equilíbrio fisiológico entre a bactéria e o seu hospedeiro. Supôs, ainda, que pelo fato das bactérias se encontrarem próximas aos cloroplastos e às zonas mais jovens dos talos, haveria uma ligação com a atividade fotossintética da alga e sua provável dependência de oxigênio.

Mas foi a partir da década de 80 que os trabalhos se tornaram mais frequentes. Becking (1984) identificou características morfológicas dos nódulos de raízes de *Dryas* e *Rubus* (Rosaceae) através de micrografia eletrônica de transmissão, onde descreveu

estruturas semelhantes a esporos no endófito *Frankia*. A utilização de métodos e técnicas mais aperfeiçoadas de estudo e análise, Jacobs *et al.* (1985) enumeraram, localizaram e caracterizaram bactérias endofíticas de raízes de beterraba açucareira utilizando técnicas de imunologia e de microscopia eletrônica de varredura e, desta forma, observaram um aumento na população de bactérias nas regiões centrais e periféricas da raiz, e sugeriram que as regiões de maior ocorrência constituem uma rota de colonização das bactérias. Esses autores também relataram a ocorrência de um grande número de diferentes espécies de bactérias endofíticas: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium sp.*, e *Erwinia herbicola*.

As bactérias endofíticas possuem a capacidade de penetrar na planta hospedeira e colonizá-la de forma sistêmica, podendo colonizar o apoplasto (MAHAFFEE *et al.*, 1997), vasos condutores (HALLMANN *et al.*, 1997; MAHAFFEE *et al.*, 1997) e, ocasionalmente, o meio inter e intracelular (KLOPPER, 1996; QUADT-HALLMANN, 1996) de diferentes tecidos vegetais, como parênquima, epiderme, bainha do feixe vascular, xilema, floema, entre outros (ESPOSITO-POLESI, 2010). Como a colonização da planta é sistêmica, as bactérias endofíticas podem alterar as condições fisiológicas e morfológicas do hospedeiro, além disso, podem atuar sobre populações de outros microrganismos presentes no interior da planta (ANDREOTE *et al.*, 2006). Esses microrganismos podem ser isolados de flores, frutos, folhas, caules, raízes, e sementes de várias espécies vegetais (PICCOLO *et al.*, 2010).

De acordo com as estratégias de vida, os microrganismos endofíticos podem ser classificados em obrigatórios ou facultativos, onde os microrganismos obrigatórios são totalmente dependentes da planta hospedeira para seu crescimento e sobrevivência, (como no caso das bactérias encontradas na rizosfera das plantas). Já os facultativos, possuem uma fase de seu ciclo dentro da planta hospedeira e outra fora dela (HARDOIM *et al.*, 2008). De acordo com Melnick *et al.*, (2008), a associação endofítico-hospedeiro pode ser, na maioria das vezes, simbióticas ou mutualísticas, onde os endofíticos recebem nutrientes e proteção da planta hospedeira e, em contrapartida, a planta é beneficiada com o aumento do seu crescimento e desenvolvimento. Com isso, ocorre uma maior rapidez na formação de mudas, resistência a nematoides e a diversos patógenos, bem como tolerância a condições ambientais e nutricionais adversas (ALMEIDA *et al.*, 2005, BANDARA *et al.*, 2006, GUO *et al.*, 2008), associação com a planta hospedeira, fixação biológica de nitrogênio, mudanças nas condições fisiológicas da planta, produção de enzimas, drogas de interesse farmacológico, produção de reguladores de crescimento vegetal (LODEWYCKX *et al.*, 2002).

As bactérias endofíticas colonizam sistemicamente a planta, apresentando colonização específica por certos tipos de tecidos. O padrão de colonização das bactérias endofíticas pode estar relacionado com as interações com outras bactérias ou com os diferentes mecanismos de cada microrganismo, que lhes permite habitar vários nichos, representado pelos tecidos e, mais especificamente, pelos espaços intercelulares no interior de cada tecido (DI FIORI & DEL GALLO, 1995). Em 2004, Kuklinsky-Sobral e colaboradores, trabalhando com soja, concluíram que a densidade e a diversidade de bactérias endofíticas variam de acordo com a fase de desenvolvimento da planta, com o genótipo do hospedeiro, e com o tecido, apresentando colonização maior nas raízes e menor em folhas. Como a raiz é o sítio primário de entrada das bactérias endofíticas nas plantas, a colonização é maior no tecido radicular (LODEWYCKX *et al.*, 2002).

A utilização de microrganismos endofíticos como agentes de controle de doenças de plantas tem se destacado ultimamente (MELNICK *et al.*, 2011). Alguns endófitos como *Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans*, *Bacillus* sp., entre outros, apresentam ação fungicida contra fungos fitopatogênicos, onde essas bactérias tem a capacidade de produzir enzimas que degradam a parede celular, tais como proteases, celulasas e quitinases, ou substâncias como sideróforos (MELNICK *et al.*, 2011, ZHENG *et al.*, 2011). Já outros endófitos como *Methylobacterium* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* apresentam ação bactericida, produzindo antibióticos e enzimas que degradam a parede celular como pectinase, celulase e protease (PÉREZ-GARCÍA *et al.*, 2011; TEREFE *et al.*, 2009).

No controle de nematóides, estudos têm sido desenvolvidos com bactérias endofíticas e alcançado bons resultados. O controle de nematóides pode ser mediado pelo parasitismo, produção de antibióticos, toxinas e enzimas, interferência no processo de reconhecimento planta-hospedeiro e indução de resistência (SIDDIQUI & MAHMOOD, 1999; TIAN *et al.*, 2007). Plantas de tomate expressando o gene *cry5B* de *B. thuringiensis*, foram utilizados em ensaios com *Meloidogyne incognita*, onde houve o controle do nematóide e redução do número de galhas nas raízes das plantas após 45 dias da infestação (LI *et al.*, 2008). Vários trabalhos demonstram que *Bacillus firmus* e *Bacillus subtilis*, bactérias endofíticas que colonizam diversas espécies de plantas, são um potente bionemática no controle de *Meloidogyne incognita*, *Helicotylenchus* spp, *Tylenchorhynchus* spp, *Radopholus similis* e *Ditylenchus dipsaci* (ARAÚJO & MARCHESI, 2009).

A produção de fitormônios é um dos principais mecanismos de promoção no crescimento das plantas mediada pelos microrganismos endofíticos. Algumas bactérias

produzem ácido jasmônico, ácido abscísico e etileno, auxiliando espécies que crescem sob condições restritas, como seca e salinidade e, também, auxinas, citocininas e giberelinas (FORCHETTI *et al.*, 2007). Entre os fitormônios produzidos por *Bacillus* sp., se destacam: ácido indol acético (KANG *et al.*, 2009), ácido indol butírico (MARTÍNEZ-MORALES *et al.*, 2003), giberelinas (GUTIÉRREZ-MAÑERO *et al.*, 2001), citocininas e compostos que imitam a ação dos jasmonatos (PING, 2004). Os principais gêneros de bactérias endofíticas utilizadas na promoção de crescimento de plantas são: *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Curtobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas* e *Xanthomonas*, entre outros (PEIXOTO NETO *et al.*, 2002).

Outros mecanismos podem influenciar o crescimento das plantas como, por exemplo, a fixação biológica do nitrogênio. Algumas bactérias têm a capacidade de realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), onde o N₂ atmosférico, a partir da ação da enzima dinitrogenase, é reduzido a NH₃, e logo após, é convertido a amidas e/ou ureídios (SANTOS *et al.*, 2008), onde é absorvido pela planta. Essas bactérias são denominadas bactérias diazotróficas associativas e consideradas rizobactérias promotoras do crescimento vegetal (RPCV); e assumem papel importante na interação com raízes de plantas e ciclagem de nutrientes, entre outros. Além de promover o crescimento vegetal pela FBN bactérias, as bactérias dizotróficas podem auxiliar o crescimento radicular pela produção de fitohormônio, como o ácido indol acético, entre outros (MOREIRA *et al.*, 2010). Vários endofíticos que fixam nitrogênio em plantas já foram relatados, sendo os principais gêneros estudados: *Gluconacetobacter*, *Acetobacter*, *Azoarcus*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia* e *Methylobacterium* (BALACHANDAR *et al.*, 2006; GOVINDARAJAN *et al.*, 2007). A capacidade destas bactérias de fixar nitrogênio é de extrema importância, já que o nitrogênio é um dos nutrientes minerais mais críticos para a produção vegetal.

Outro nutriente que limita a planta e sua deficiência restringe o rendimento de produção é o fósforo. Como os solos tropicais e subtropicais são predominantemente ácidos e normalmente deficientes em fósforo (WANG, 2007), a solução mais comumente utilizada é o uso de fertilizantes químicos que possuem alto custo, utilizam energia fóssil para serem produzidos e poluem o ambiente, além disso, são rapidamente imobilizados, tornando-se indisponíveis às plantas (DIAS *et al.*, 2009). Assim, a utilização de microrganismos que solubilizam fosfato representa uma alternativa economicamente viável e ecologicamente correta, pois convertem o fósforo insolúvel nas formas solúveis. Dentre esses microrganismos solubilizadoras de fosfato, destacam-se as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas* e alguns fungos como *Aspergillus* e *Penicillium* (KHAN; WANG, 2007).

Desde 2003, foram iniciados estudos no Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas da Embrapa com a finalidade de utilizar *B. thuringiensis* de forma sistêmica no controle de pragas (MONNERAT *et al.*, 2003). Dessa forma foi possível verificar a colonização dos tecidos das plantas de algodão e, que, ao inocular *B. thuringiensis* próximo às raízes dessas plantas de algodão, colonizou todos os tecidos, chegando aos insetos que se alimentaram das folhas de algodão (MONNERAT *et al.*, 2009).

Em 2012, este mesmo grupo selecionou estirpes de *B. thuringiensis* altamente tóxicas a lepidópteros e avaliou a capacidade dessas estirpes em promover o crescimento de plantas de repolho e, ao mesmo tempo, controlar *P. xylostella*. Nesse estudo, foram detectados células vegetativas, esporos e cristais em diferentes partes da planta de repolho, com maior colonização de *B. thuringiensis* nas raízes. Dessa forma, foi demonstrado que *B. thuringiensis* pode ser utilizado de forma sistêmica (PRAÇA *et al.*, 2012).

No entanto, trabalhos com *B. thuringiensis* como endofítico e promotor de crescimento são raros. Como esta espécie de *Bacillus* é conhecida como um importante agente de controle biológico de pragas, e que pode atuar como microrganismo endofítico, a sua utilização abre uma nova perspectiva tanto no controle sistêmico de insetos-praga como na promoção do crescimento de plantas de interesse agrícola. Esta nova estratégia poderá reduzir algumas desvantagens na utilização de *B. thuringiensis* como sua sensibilidade aos raios ultravioletas e a lavagem pelas chuvas (PRAÇA, 2012).

Dentre os poucos trabalhos realizados nesta área, pode-se citar o desenvolvido por SANTANA (2014), no qual foram feitos testes iniciais para verificar a ação de Bt de forma endofítica sobre o crescimento vegetativo e no controle de *S. frugiperda* em plantas de algodão a partir da seleção de quatro estirpes de Bt (S1450, S1905, S2122 e S2124) por sua atividade tóxica sobre insetos da ordem Lepidoptera, três genótipos de algodão (BRS 8H, BRS Aroeira e BRS 286) e dois métodos de inoculação (via semente e via planta) em casa de vegetação.

Pesquisas sobre a interação entre *B. thuringiensis* endofítico, em diferentes espécies de plantas como algodão, arroz, milho, repolho e soja e insetos-praga devem ser e deve-se observar a permanência destes microrganismos no interior das plantas e seu efeito na promoção do crescimento, pois este assunto ainda é pouco conhecido.

A utilização dessa estratégia pode diminuir a utilização de adubos e inseticidas, o que diminui a contaminação de rios, do solo e do próprio homem, favorecendo, assim, a preservação do meio ambiente.

3 Hipóteses

- As estirpes S1450, S1905, S2122, S2124 de *B. thuringiensis* quando são inoculadas nas plantas de algodão, arroz, milho, repolho e soja são capazes de promover o seu crescimento e desenvolvimento;
- As espécies vegetais apresentam diferença quando inoculadas via imersão de sementes e inoculadas na planta;
- As estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* quando inoculadas nas plantas de algodão, arroz, milho, repolho e soja apresentam toxicidade sobre *S. frugiperda*, *A. gemmatalis* e *P. xylostella*, podendo promover o controle dessas pragas de forma endofítica.

4 Objetivos

4.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito das estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* como promotoras de crescimento de plantas de milho, arroz, algodão, repolho e soja e no controle de forma endofítica dos insetos-praga *S. frugiperda*, *A. gemmatalis* e *P. xylostella*.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar a germinação das sementes e o crescimento de plantas de arroz, milho, algodão, repolho e soja após tratamento de sementes ou inoculação pós-emergência com estirpes de *B. thuringiensis*;
- Comparar os dois métodos de inoculação: tratamento de sementes e inoculação pós-emergência de estirpes de *B. thuringiensis*;
- Identificar a estirpe mais promissora para o controle de *S. frugiperda*, *A. gemmatalis* e *P. xylostella* de forma endofítica.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). **Agrotóxicos para o controle de *Anticarsia gemmatalis***. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 24 de janeiro de 2014.

ALMEIDA, C. V., YARA, R.; ALMEIDA, M. Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada *in vivo* e *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40. p. 467-470, 2005.

ALVES, S. B.; MORAES, S. A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S.B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998.

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

ANDREOTE, F. D.; LACAVAL, P. T.; GAI, C.S.; ARAÚJO, W. L.; VANOVERBEEK, L. S.; VAN ELSAS, J. D.; AZEVEDO, J. L. Model plants for studying the interaction between *Methylobacterium mesophilicum* and *Xylella fastidiosa*. **Canadian Journal of Microbiology**. Ottawa, v. 52, p. 419-426, 2006.

ARAGÃO, F.A.S.; FEITOSA, F.A.A.; MORAES, C.A.P.; CORREA, M.C.M. Sistema de produção de repolho utilizando tnt como mulching e manta. Disponível em: http://www.cnpat.embrapa.br/sbsp/anais/Trab_Format_PDF/237.pdf. Acessado em: 18 de dezembro de 2013.

ARAÚJO, F. F. & MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p.1558-1561, 2009.

ARAÚJO, W.L.; MARCON, J.; MACCHERONI JR., W.; VAN ELSAS, J. D.; VAN VUURDE, J. W. L.; AZEVEDO, J.L. Diversity of endophytic bacterial populations and their interactions with *Xylella fastidiosa* in Citrus plants. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68 , p.4906-4914, 2002.

ARMSTRONG, A. M.; RUIZ, H.; PANTOJA, A. *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae): A new pest attacking pigeon pea in Puerto Rico. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 74, p. 93-94, 1990.

ASSUMPÇÃO, L. C.; LACAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.¹; AZEVEDO, J. L.; MANTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: Brasília/DF. Volume 44, Nº 5, 2009.

AZEVEDO, J. L.; ARAUJO, W. L. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: GANGULI, B. N.; DESHMUKH, S. K. (Ed.). **Fungi: multifaceted microbes**. Boca Raton: CRC Press, chap. 6, p.189-207, 2007.

AZEVEDO, J. L.; MACCHERONI JUNIOR, W.; ARAÚJO, W. L.; PEREIRA, J. O. Microorganismos endofíticos e seu papel em plantas tropicais. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, p. 235 – 268, 2002.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B., BUENO, A. F. Oviposição, Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 996-1001, 2010.

BALACHANDAR, D.; SANDHIYA, G.S.; SUGITHA, T.C.K.; KUMAR, K. Flavonoids and growth hormones influence endophytic colonization and in planta nitrogen fixation by a diazotrophic *Serratia* sp. in rice. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 22, p. 707-712, 2006.

BANDARA, W. M. M. S.; SENEVIRATNE, G.; KULASOORIYA, S. A. Interactions among endophytic bacteria and fungi: effects and potentials. **Journal of Bioscience**, v. 31, p. 645-650, 2006.

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, p. 237 –245. 2010.

BASTOS, C. S & TORRES, J. B. Os perigos às escondidas. **Revista Cultivar**. v. 60. p. 10 – 13, 2004.

BECKING, J.H. Identification of the endophyte of *Dryas* and *Rubus* (Rosaceae). **Plant and Soil**, v.78, p. 105-28, 1984.

BENINTENDE, G & MARQUEZ, A. Técnicas empleadas com bacterias entomopatógenas. In: LECUONA, R. E. (Ed.). **Microorganismos patógenos empleados em el control microbiano de insetos plaga**. Talleres Gráficos Mariano Mas, México, Buenos Aires, p. 151-157, 1996.

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; COMIRAN, F.; BERGONCI, J. I.; MÜLLER, A. G.; FRANÇA, S.; SANTOS, A. O.; RADIN, B.; BIANCHI, C. A. M.; PEREIRA, P. G. **Déficit hídrico e produtividade na cultura do milho**. Pesquisa Agropecuária Brasileira: Brasília (DF), 2006.

BERLINER, E. Eber die schlaffsucht der Mehlmottenraupe. (Ephesis kuehniella Zell.) undihren Erreger *Bacillus thuringiensis*, n. sp. Z. ang. **Entomology**, v. 2, p. 29-56, 1915.

BIOCONTROLE – **Métodos de controle de pragas**. Disponível em: <http://www.biocontrole.com.br/pragas/praga.php?id=plutella_xylostella> Acesso em: 16 de dezembro de 2013.

BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 843-850. 2003.

BONDAR, G. Aleyrodideos do Brasil. **Bol. Laboratory Pathology Vegetal**, v. 5, p. 1 – 37, 1928.

BORÉM, A. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. **Biociência & Desenvolvimento**, v.10, p. 101-107, 1999.

BORGES, I. D. **Marcha de absorção de nutrientes e acúmulo de matéria em cultivares de milho**. Minas Gerais: UFLA, Tese (Doutorado em Fitotecnia), 115 p. 2006.

BOTELHO, P. S. M.; SILVEIRA NETO, S.; MAGRINI, E. A. Fator chave para *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de soja, para o estado de São Paulo: **Scientia Agricola**, v. 56. Nº 4, 1999.

BRANDÃO FILHO, J. U. T.; SANTOS, H. S.; MARAUS, P. F.; SANTOS, H. S. Controle químico da traça das crucíferas (*Plutella xylostella*) na cultura do repolho. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, 2010.

BRAVO, A., GILL, S. S.; SOBERON, M. ***Bacillus thuringiensis* mechanisms and use**. In: GILBERT, L.I.; IATROU, K.; GILL, S.S. (eds.), *Comprehensive Molecular Insect Science*, v. 6, Elsevier, New York, NY, USA, p. 175-206. 2005.

BRAVO, A.; GILL, 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.

BRAVO, A.; GÓMEZ, I.; CONDE, J.; MUÑOZ-GARAY, C.; SÁNCHEZ, J.; ZHUANG, M.; GILL, S. S.; SOBERÓN, M. Oligomerization triggers differential binding of a pore-forming toxin to a different receptor leading to efficient interaction with membrane microdomains. **Biochemistry Biophysical Acta**, v. 1667, p. 38–46, 2004.

BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A.; ORTIZ, M.; LINA, L.; VILLA-LOBOS, F. J.; GUADALUPE, P.; NUNEZ-VALDEZ, M. E.; SOBERÓN, M.; QUINTERO, R. Characterization of Cry genes in Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied Environmental Microbiology**, 4965-4972. 1998.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larvae consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, v. 67, p. 170-174, 2011.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GILO, F. P.; MARTINS, A. F. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) originária de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, das culturas do milho e do arroz irrigado. **Neotropical Entomology**. v. 31. p. 525-529. 2002.

CAPINERA, J. L. Encyclopedia of entomology. 2 ed., v. 1-4. Springer: Dordrecht. **The Netherlands**. 4346 p, 2008.

CARVALHO, F. C. Q.; SILVA, J. R.; CARVALHO, L. N. J.; CARVALHO, R. S.; PAZ, C. D. Métodos de bacterização e promoção de crescimento em melancia com utilização de bactérias epifíticas. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 4. nº 2. 2009.

CARROL, G. C. The biology of endophytism in plants with particular reference to Woody perennials. In: FOKKEMA, N. J.; HEUVEL, J. VAN DEN. (Ed.). **Microbiology of Phyllosphere**. London: Cambridge University Press, p. 205-222. 1986.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H. Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Eds.). **Pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p. 85-89, 2001.

CASTELO BRANCO, M. Associação de armadilhas de feromônio e número de machos coletados para a redução do uso de inseticidas no controle da traça das crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 280, 1999.

CASTELO BRANCO, M., FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 9, p. 60-63, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 75-79, 1997.

CASTELO BRANCO, M.; GUIRARÃES, A. L. Controle da traça-das-crucíferas em repolho. **Revista Horticultura brasileira**: Brasília, v. 10, nº 1, p. 24 – 25, 1990.

CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A. Impacto de inseticidas sobre parasitóides de traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 7-13, 2001.

CHENG, L.; YU, G.; CHEN, Z.; LI, Z. Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to Nereistoxin Insecticides. **Agriculture Science Chinese**, v. 7, p. 847-852, 2008.

CISOJA. **Histórico da soja**. Disponível em: <http://www.cisoja.com.br/index.php?p=historico>. Acesso em: 12 de novembro de 2013.

COLOMBO, P. M. Occurrence of endophytic bacteria in Siphonous algae. *Phycologia*, v.17, p.148-151, 1978.

CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira de grãos**. Segundo Levantamento (Novembro 2013). Brasília: Conab, v. 1, nº 2, 71 p., 2013.

COSTA, J. N.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTANA, J. C. F. **Técnicas de colheita, processamento e armazenamento do algodão**. (Circular técnica, 87). Campina Grande: Embrapa Algodão. 14 p., 2005.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. (Circular técnica, 21). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 45 p., 1995.

CRUZ, I. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: EMBRAPA. 192 p., 2008.

CRUZ, I. & MONTEIRO, M. A. R. **Controle biológico da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum***. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (Comunicado Técnico 98), 4 p, 2004.

CZEPAK, C.; FERNANDES, P. M.; SANTANA, H. G.; TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, C. L. Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na

cultura do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 129-131, 2005.

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in Genetics**, v.17, n.4, p. 193-199, 2001.

DI FIORE, S.; DEL GALLO, M. Endophytic bacteria: their possible role in the host plants. In: FENDRIK, I.; DEL GALLO, M.; VANDERLEYDEN, J.; DE ZAMAROCZY, M. **Azospirillum VI and related microorganisms**. Berlin: Springer-Verlag, p.169-187, 1995.

DIAS, A. C. F.; COSTA, F. E. C.; ANDREOTE, F. D.; LACAVALA, P. T.; TEIXEIRA, M. A.; ASSUMPÇÃO, L. C.; ARAÚJO, W. L.; AZEVEDO, J. L.; MELO, I. S. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 25, p. 189-195, 2009.

DÍAZ, K.; VALIENTE, C.; MARTÍNEZ, M.; CASTILLO, M.; SANFUENTES, E. Rootpromoting rhizobacteria in *Eucalyptus globulus* cuttings. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 25, p. 867-873, 2009.

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

DIZORDI, C. **Desenvolvimento de meio de cultura semi-seletivo para detecção de *Xantomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.)**. Tese (Doutorado em Fitopatologia). ESALQ: Piracicaba, 96 p. 2006.

EMBRAPA ARROZ e FEIJÃO. **Arroz Socioeconomia - dados conjunturais**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/apps/socioeconomia/index.htm>>.

Acesso em: 11 de dezembro de 2013.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. Pragas de arroz de terras altas. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozTerrasAltas/pragas.htm>. Acesso em: 06 de maio de 2014.

EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. **Cultivo do Arroz Irrigado no Brasil: Importância Econômica, Agrícola e Alimentar do Arroz.** <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>. Acesso em: 02 de dezembro de 2013.

EMBRAPA SOJA. **História da soja.** Disponível em: http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?op_page=112&cod_pai=33. Acesso em: 11 de dezembro de 2013.

ESPOSITO-POLESI, N. P. Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v. 9, n. 4, p. 533-541, 2011.

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

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 360 p. 2000.

FAUST, R. M. & BULLA, A. L. JR. Bacterial and their toxins as insecticides. In: KURSTAKI, E., ed. *Microbiology and viral pest*. New York: Marcel Dekker, p. 75-206, 1982.

FERREIRA, W. R.; RANAL, M. A.; FILGUEIRA, F. A. R. Fertilizantes e espaçamento entre plantas na produtividade da couve da malásia. **Horticultura Brasileira: Brasília**. v. 20, n. 4, p.635-640, 2002.

FIGUEIREDO, M. L. C.; PENTEADO-DIAZ, A. M.; CRUZ, I. **Efeito do inseticida Match e sua interação com os inimigos naturais no controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) na cultura do milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA, V. 31, 6 p. 2005.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** Viçosa: UFV. 421 p. 2008.

FONTES, E. M. G.; RAMALHO, F. S.; UNDERWOOD, E.; BARROSO, P. A. V.; SIMON, M. F.; SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; BELTRÃO, N.; LUCENA, W. A.; FREIRE, E. C. Chapter 2: The Cotton Agricultural Context in Brazil. In: **Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Organisms Volume 2: Methodologies for Assessing *Bt* Cotton in Brazil.** Hilbeck, A.; Andow, D; Fontes, E. M. G. (eds.). CABI Publishing, Wallingford, UK. 400 p. 2006.

FORCHETTI, G.; MASCIARELLI, O.; ALEMANO, S.; ALVAREZ, D.; ABDALA G. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 76, p. 1145-1152, 2007.

FREITAS, L. de M. **Efeito de diferentes doses de nitrogênio, potássio e silício na incidência da traça-das-crucíferas em repolho.** (Dissertação de Mestrado) – Universidade de Brasília. Brasília, 2010.

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

FUGI, C. G. Q.; LOURENÇÃO, A. L.; PARRA, J. R. P. Biology of *Anticarsia gemmatilis* on soybean genotypes with different degrees of resistance to insects. **Scientia Agricola**, v. 62, p. 31-35. 2005.

GALINAT, W. C. The origin of maize: grain of humanity. New York: **New York Botanical Garden Journal**, v. 44, p.3-12, 1995.

GASSEN, D.N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo, RS, 127 p, 1996.

GLARE, T. R. & O'CALLAGHAM, M. *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. **Chichester**: John Wiley, 2000.

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

GAZZONI, D.L.; MOSCARDI, F. Effect of defoliation levels on recovery of leaf area, on yield and agronomic traits of soybeans. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: Brasília, DF, v.33, p.411-424, 1998.

GAZZONI, D. L.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; MOSCARDI, F.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J. de; CORSO, I. C. Insects. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tropical soybean: improvement and production**. Rome: FAO. (FAO Plant Production and Protection Series, 27). , p. 81-108. 1994.

GAZZONI, D. L.; YORINORI, J. T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: Embrapa – SPI, 128 p. 1995.

GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; MESQUITA, J. C. P. Isolamento, seleção de bactérias e efeito da utilização de *Bacillus* spp. na produção de mudas orgânicas de alface. **Horticultura Brasileira**: Brasília, DF., v. 21, n. 4, p. 699-703, 2003.

GOMES, M. A. F. & SPADOTTO, C. A. Agrotóxicos no Brasil. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agricultura_e_meio_ambiente/arvore/CONTAG01_40_210200792814.html. Acesso em: 15 de junho de 2014.

GOVINDARAJAN, M.; KWON, S. W.; WEON, H. Y. Isolation, molecular characterization and growth-promoting activities of endophytic sugarcane diazotroph *Klebsiella* sp. GR9. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 23, p. 997-1006, 2007.

GREGORY JUNIOR, B. M.; MACKENZIE, P. M.; NOBLE, R. E. *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico: A new host-plant and two new bird predators. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v. 75, p. 295-296, 1991.

GRÜTZMACHER, A. D.; NAKANO, O.; MARTINS, J. F. S.; LOECK, A. E.; GRÜTZMACHER, D. D. Consumo foliar de cultivares de arroz irrigado por *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 519-525. 2000.

GUO, B.; WANG, Y.; SUN, X.; TANG, K. Bioactive natural products from endophytes: a review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, Moscow, v. 44, p. 136-142, 2008.

GUTIÉRREZ-MAÑERO, F. J.; RAMOS-SOLANO, B.; PROBANZA, A.; MEHOUACHI, J.; TADEO, F.; TALON, M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 111, p. 206-211, 2001.

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

HALLMANN, J.; QUADT-HALLMANN, A.; MAHAFFEE, W. F.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 895-914, 1997.

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

HANSEN, B. M.; SALAMITOU, S. Virulence of *Bacillus thuringiensis*. In: **Entomopathogenic Bacteria: From Laboratory to Field Application** (CHARLES, J. *et al.*, eds), p. 41-64, Kluwer Academic Publishers, 2000.

HARDOIM, P.R.; OVERBEEK, L.S. van; ELSAS, J.D. van. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v.16, p. 463-471, 2008.

HARVEY, W. R. & NELSON, N. (Ed). V-ATPases. **Journal Experimental Biology**, v. 172, 1992.

HIRAKURI, M. & LAZZAROTTO, M. H. J. J. **Evolução e perspectiva de desempenho econômico associados com a produção de soja nos contextos mundial e brasileiro.** (Documentos 319). 3. ed. Londrina: Embrapa Soja. 69 p. 2011.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; HARBONE J. B.; MCAFFERY A. R. Pre-ingestive and postingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. **Entomology Experimental Application**, v. 98, p. 181-194, 2001.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado.** Londrina: Embrapa-CNPSo (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 30). 70 p, 2000.

HOFFMANN, C., VANDERBRUGGEN, H.; HÖFTE, J.; VAN RIE, J.; JANSENS, H.; VAN RIE, J.; MELLAERT, J. Specificity of *Bacillus thuringiensis* -endotoxins is correlated with the presence of high-affinity binding sites in the brush border membrane of target insect midguts. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 85, p. 7844-7848, 1988.

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

ISHIWATA, S. On a kind of severe flacherie (sotto disease). **Danihon Sanshi Kaiho**, v.114, p. 1-5, 1901.

IZAWA, T.; SHIMAMOTO, K. Becoming a model plant: the importance of rice to plant scienc. **Trends en plant Scienc**, p. 95 – 99, 1996.

KANG, S.M.; JOO, G.J.; HAMAYUN, M.; NA, C.I.; SHIN, D.H.; KIM, H.Y.; HONG, J.K.; LEE, I.J. Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of *Acinetobacter calcoaceticus* and its effect on plant growth. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 31, p. 277- 281, 2009.

KLOEPPLER, J. L. Host specificity in microbe – microbe interactions. **BioScience**, v. 10, p.406 – 409, 1996.

KHAN, M. S.; ZAIDI, A.; WANI, P. A. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, Les Ulis, v. 27, p. 29-43, 2007.

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

KOCHIAN, L. V.; HOEKENGA, O. A.; PIÑEROS, M. A. How do crop plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. **Annual Review of Plant Biology**, v.55, p.459-493, 2004.

KUKLINSKY-SOBRAL, J.; ARAÚJO, W. L.; MENDES, R.; GERALDI, I. O.; PIZZIRANI-KLEINER, APARECIDA, A.; AZEVEDO, J. L. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, n. 6, v. 12, p.1244–1251, 2004.

KUO, J., FOX, E., MACDONALD, S. **Sigmastat: statistical software for working scientists**. User's manual. Jandel ScientiWc, San Francisco, CA, 1992.

JACOBS, M. J.; BUGBEE, W. M.; GABRIELSON, D. A.. Enumeration, location, and characterization of endophytic bacteria within sugar beet roots. *Canadian Journal of Botany*, v.63, p. 1262-5, 1985.

JOHNSON, D. E. & McGAUGHEY, W. H. Contribution of *Bacillus thuringiensis* spores to toxicity of purified Cry proteins towards indianmeal moth larvae. **Current Microbiology**, v.33, p.54-59, 1996.

LANA, M. M. & TAVARES, S. A. **50 hortaliças: como comprar, conservar e cosumir**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. 216 p. 2010.

LÉDO, F. J. S.; SOUZA, J. A.; SILVA, M. R. Avaliação de cultivares e híbridos de repolho no Estado do Acre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, n.2, p.138-140, 2000.

LEVINSON, B. L.; KASYAN, K. J.; CHIU, S. S.; CURRIER, T. C.; GONZÁLEZ, J. M. Identification of β -Exotoxin Production, Plasmids Encoding β -Exotoxin, and a New Exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by Using High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Bacteriology**, v.172, n. 6, p. 3172-3179, 1990.

LI, T.; LIU, M. J.; ZHANG, X. T.; ZHANG, H. B.; SHA, T.; ZHAO, Z. W. Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila*. **Science of the Total Environment**, v. 409. p.1069-1074, 2011.

LOGUERCIO, L. L.; CARNEIRO, P. N.; CARNEIRO, A. A. Milho Bt. Alternativa biotecnológica para o controle biológico de insetos-praga. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 24, p. 46-52, 2002.

LODEWYCKX, C.; VANGRONSVELD J.; PORTEOUS, F.; MOORE, E. R. B.; TAGHAVI, S.; MEZGEAY, M.; LELIE, D. van der. Endophytic Bacteria and their potential applications. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 21, p. 583-606, 2002.

LUGINBILL, P. H. The fall armyworm. USDA. Washington, **Technical Bulletin, n. 34**. 73p, 1928.

LUTTREL, R. G. & MINK, J. S. Damage to cotton structures by the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **The Journal of Cotton Science**. v.3, p. 35-44, 1999.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (Comunicado Técnico 22), 23 p., 2003.

MAGRINI, E. A.; BOTELHO, P. S. M.; SILVEIRA NETO, S. Biologia de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 na cultura de soja, *Glycine max* (L.) Merril. **Scientia Agricola**, v. 56, p. 527-535, 1999.

MAHAFFEE, W. F.; BAUSKE, E. M.; VAN VUURDE, J. W.; VAN DER WOLF, J. M.; VAN DEN BRINK, M.; KLOPPER, J. W. Comparative analysis of antibiotic resistance, immunofluorescent colony staining, and a transgenic marker (bioluminescence) for monitoring the environmental fate of rhizobacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 63, p. 1617-1622, 1997.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultura do algodão**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/algodao>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2013.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultura do arroz**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2013.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultura do milho**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2013.

MARTÍNEZ-MORALES, L.; SOTO-URZUA, L.; BACA, B.; SANCHEZ-AHEDO, J. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 228, p.167-173, 2003.

MARTINS, J. F. S.; GRÜTZMACHER, A. D. & CUNHA, U. S. **Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado**. In: A. S. GOMES & A. M. M. JUNIOR (eds.). Arroz irrigado no Sul do Brasil. Embrapa informação tecnológica, Brasília. p. 635-672. 2004.

MAU, R. L.; KESSING, J. L. M. *Plutella xylostella*. Disponível em: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/plutella.htm>. Acesso 13 dezembro de 2013.

MEDEIROS, P. T.; FERREIRA, M. N.; MARTINS, E. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. **Pesquisa Agropecuária Brasília**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1145-1148, 2005.

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

MELO, P. C. T.; VILELA, N. J. 2007. **Importância da cadeia produtiva brasileira de hortaliças. Reunião Ordinária da Câmara Setorial da Cadeia Produtiva de Hortaliças.** MAPA: Brasília, DF. 11 p. Disponível em: <www.abhorticultura.com.br/downloads/cadeia_produtiva.pdf>. Acesso em: 20 setembro de 2012.

MELNICK, R. L.; SUÁREZ, C.; BAILEY, B. A.; BACKMAN, P. A. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases. **Biological Control**, v. 57. p.236-245, 2011.

MELNICK, R. L.; ZIDACK, N. K.; BAILEY, B. A.; MAXIMOVA, S. N.; GUILTINAN, M.; BACKMAN, P. A. Bacterial endophytes: *Bacillus* spp. from annual crops as potential biological control agents of black pod rot of cacao. **Biological Control**, Amsterdam, v. 46, p. 46-56, 2008.

METCALF, F. R. L. Changing role of insecticides in crop protection. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v. 25, p. 219 – 256, 1980.

MILANO, P.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; CÔNSOLI, F. L. Influência da temperatura na frequência de cópula de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 37, p. 528-535, 2008.

MIRANDA, J. E.; FERREIRA, A. C. B. Contra-ataque. **Caderno Técnico Cultivar**, Pelotas, p. 7-10, 2005.

MONNERAT, R. & BRAVO A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO IS, AZEVEDO JL, (eds). **Controle Biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 163 p., 2000.

MONNERAT, R.G.; KIRK, A.A.; BORDAT, D. Biology of *Diadegma* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), from Reunion Island. **Neotropical Entomology**, v. 3, n. 2, p. 271- 274, 2002.

MONNERAT, R. G.; SANTOS, R.; BARROS P.; BATISTA, A.; BERRY, C. **Isolamento e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* endofíticas de algodão**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 4 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Comunicado Técnico, 98), 2003.

MONNERAT, R. G.; SOARES, C. M. S.; GOMES, A. C. M.; JONES, G.; MARTINS, E.; PRAÇA, L.; BERRY, C. Translocation and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* bacteria living inside of plants. **Microbial Bioechnology**. v. 2. p. 1560-1562, 2009.

MOREIRA, F. M. S.; SILVA, K; NÓBREGA, R. S. A.; CARVALHO, F. Bactérias diazotróficas associativas: diversidade, ecologia e potencial de aplicações. **Comunicata Scientiae**. v.1, n. 2, p. 74-99, 2010.

NAGOSHI, R.N.; MEAGHER, R.L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, Miami, v.91. 4 p, 2008.

PAES, M. C. D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (Circular Técnica). 6 p., 2006.

PANIZZI, A. R.; OLIVEIRA, L. J.; SILVA, J. J. Survivorship, larval development and pupal weight of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on potential leguminous host plants. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 563-567, 2004.

PARKER, M. W., FEIL, S. C. Pore-forming protein toxins: from structure to function. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**. v. 88, p. 91-142, 2005.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. (Eds.) **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, p. 125-142, 2002.

PEIXOTO NETO, P. A. S.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Microrganismos endofíticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 29, p. 62-77, 2002.

PEREIRA, L. G. B. Dossiê Técnico: Táticas de Controle da Lagarta-do-Cartucho do Milho *Spodoptera frugiperda*. Belo Horizonte: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC). 28 p. 2007

PÉREZ-GARCÍA, A.; ROMERO, D; VICENTE, A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22. p.187-193, 2011.

PICCOLO, S.L.; FERRARO, V.; ALFONZO, A.; SETTANNI, L.; ERCOLINI, D.; BURRUANO, S.; MOSCHETTI, G. Presence of endophytic bacteria in *Vitis vinifera* leaves as detected by fluorescence in situ hybridization. **Annals of Microbiology**, Heidelberg, v. 60, p. 161-167, 2010.

PING, L.; BOLAND, W. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, p. 263-266, 2004.

POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**. V. 43, p. 1-202, 2002.

PRAÇA, L. B. **Interações entre estirpes de *Bacillus thuringiensis* e híbridos de repolho visando o controle de *Plutella xylostella* e a promoção do crescimento vegetal**. Universidade de Brasília (Tese de Doutorado), 141 p. 2012.

PRAÇA, L. B.; GOMES, A. C. M. M.; CABRAL, G.; MARTINS, E. S.; SUJII, E. R.; MONNERAT, R. G. Endophytic colonization by brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage seedlings grown *in vitro*. **Bt Research**, v. 3, n. 3 , p. 11-19, 2012.

PRAÇA, L. B.; SILVA NETO, S. P.; MONNERAT, R. G. *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae): **biologia, amostragem e métodos de controle**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. (Documentos, 196). 18 p. 2006.

PRATISSOLI, D. Disponível em: <http://200.252.165.4/agrofit/Probl_Fitossanitarios/PragaseDoencas/Index.htm> Acesso em: 7 de fevereiro de 2013.

BIOCONTROLE. *Plutella xylostella*. Disponível em: <http://www.biocontrole.com.br/?area=pragas&id=16>. Acesso em: 11 de novembro de 2013.

QUADT-HALLMANN, A.; HALLMANN, J.; KLOEPPER, J. W. Bacterial endophytes in cotton: location and interaction with other plant-associated bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 43, p. 577-582, 1997.

QUADT-HALLMANN, A.; KLOEPPER, J. W. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 1144-1154, 1996.

RABINOVITCH, L.; SILVA, C. M. B.; ALVES, R. S. de A. Controle biológico de vetores de doenças tropicais utilizando *Bacillus* entomopatogênicos. In: **Controle Biológico**, eds. Melo, I. S; Azevedo, J. L, Jaguariúna, SP, Embrapa Meio Ambiente, v. 2, p.17-90, 2000.

RAVOAHANGIMALALA, O.; CHARLES, J. F.; SCHOELLER-RACCAUD, Y. J. Immunological localization of *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* toxin in midgut cells of intoxicated *Anopheles gambiae* larvae (Diptera: Culicidae). **Research in Microbiology**, Montpellier, v. 44, p. 271-278, 1993.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1049-1054, 2006.

RÓZ, A. L. Da, O Futuro dos Plásticos: Biodegradáveis e Fotodegradáveis. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, Vol. 13, Nº 4, 2003.

SANTANA, F. S. C. ***Bacillus thuringiensis* como endofíticos em algodão: avaliação na promoção de crescimento e controle de *Spodoptera frugiperda***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (Dissertação de Mestrado). 99 p, 2014.

SANTOS, J. R.; NUNES, M. U. C.; SOUZA, R. A.; SOUZA, I. M.; TAVARES, F. A.; SOUZA, F. H. O. Desenvolvimento de mudas de repolho sob o efeito de fertilizantes de solubilidade lenta. VI Encontro nacional sobre substratos para plantas materiais regionais como substrato. Fortaleza, CE. 2008.

SANTOS, L. M dos; REDAELLI, L. R.; DIENFEBACH, L. M. G.; EFROM, C. F. S. Fertilidade e longevidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. **Ciência Rural**: Santa Maria, v. 32, p. 345 – 350, 2004.

SANTOS, L. A.; REIS, V. M. A formação do nódulo em leguminosas (**Documentos 251**). Embrapa Agrobiologia: Seropédica-RJ, 36 p, 2008.

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 Review**, v. 62, p. 775-806. 1998.

SERAFINI, L. A., BARROS, N. M., AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 433 p, 2002.

SIDDIQUI, Z.A. & MAHMOOD, I. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, v. 69. p.167-179, 1999.

SILVA, D.M. **Efeito de altas temperaturas sobre aspectos biológicos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e no potencial de infecção por *Bacillus thuringiensis* Berliner**. Dissertação (Mestrado em Entomologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 57 p. 2010.

SILVA, V. C. A.; BARROS, R.; MARQUES, E. J.; TORRES, J. B. Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 653-658, 2003.

SILVA, D. M. da; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; BUENO, A. de F.; BUENO, R. C. O. de F.; OLIVEIRA, M. C. N. de; MOSCARDI, F. Biological characteristics of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) for three consecutive generations under different temperatures: understanding the possible impact of global warming on a soybean pest. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 285-292, 2012.

SILVA, F. B.; OLIVEIRA, M. G. de A.; BATISTA, R. B.; PIRES, C. V.; XAVIER, L. P.; PIOVESAN, N. D.; OLIVEIRA, J. A. de; JOSÉ, I. C.; MOREIRA, M. A. Função fisiológica de lipoxigenases de folhas de soja submetidas ao ataque de lagarta (*Anticarsia gemmatalis* Hübner). **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.1, p. 67-74, 2002.

SINCLAIR, J. B.; KOGAN, M.; MCGLAMERY, M. D. **Guidelines for the integrated management of soybean pests**. Urbana-Champaign: National Soybean Research Laboratory Publication. 48 p. 1997.

SCHMIDT, F. G. V.; MONNERAT, R.; BORGES, M.; CARVALHO, R. **Metodologia de criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Circular Técnica 11), 2001.

SOARES, J. J.; ARAÚJO, L. H. A. Guerra à lagarta militar. **Cultivar**: Pelotas, v. 3, n. 8, p. 6-8, 2001.

SOARES, J. J.; VIEIRA, R. M. *Spodoptera frugiperda* ameaça à cotonicultura brasileira. Campina Grande: Embrapa Algodão. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 96), 1998.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO. (Documentos, 269), 2010. 90 p.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; DELPIN, K. E.; MOSCARDI, F.; NOZAKI, M. D. H. The impact of fungicides on *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson epizootics and on populations of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), on soybean. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 287-291, 2003.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; GAZZONI, D.L.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. Pragas da soja e seu controle. In: ARANTES, N. P.; SOUZA, P.I.M. (Ed.). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: Potafos, p. 299-331. 1993.

SOUZA, P. M.; BRAGA, M. J. **Aspectos econômicos da produção e comercialização do milho no Brasil**. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. (Eds). Tecnologia de produção do milho. 2ª. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v.1, p.13-53, 2004.

TEIXEIRA, M. A.; MELO, I. S. de; VIEIRA, R. F. COSTA, F. E. C.; HARAKAVA, R. Microrganismos endofíticos de mandioca de áreas comerciais e etnovariedades em três estados brasileiros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p. 43-49, 2007.

TEREFE, M.; TEFERA, T.; SAKHUJA, P. K. Effect of a formulation of *Bacillus firmus* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the growth of tomato plants in the greenhouse and nursery. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.100. p.94-99, 2009..

TIAN, B.; YANG, J.; ZHANG, K.Q. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. **FEMS Microbiology Ecology**, Oxford, v. 61, p. 197-213, 2007.

TIBA, L. M. **Efeito de alguns inseticidas sobre a mariposa *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera, Plutellidae) por meio de iscas esterilizantes**. ESALQ: Piracicaba. (Dissertação Mestrado) 58 p. 2008.

USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. 40 p, 2014.

VACARI, A. M.; VOLPE, H. X. L.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P.; BENVENGA, S. R.; CARVALHO, J. S.; THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A. Integração de métodos de

controle de pragas em hortaliças: experiência previa para uma aplicação segura. In: ARAUJO, E. S.; VACARI, A. M.; CARVALHO, J. S.; GOULART, R. M.; CAMPOS, A. P.; VOLPE, H. X. L. (Eds). **Tópicos em entomologia agrícola**. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, p. 84-99, 2008.

VALADARES-INGLIS, M. C. C.; SHILER, W.; DE-SOUZA, M. T. Engenharia genética de microrganismos agentes de controle biológico. In: **Controle biológico**. Eds. MELO, I.S; AZEVEDO, J. L. Jaguariúna, SP, Embrapa Meio Ambiente, v. 1, p. 201-230, 1998.

VAN RIE, J.; JANSENS, S.; HÖFTE, H.; DEGHEELE, D.; VAN MELLAERT, H. Specificity of *Bacillus thuringiensis* -endotoxin: importance of specific receptors on the brush border membrane of the mid-gut of target insects. **European Journal of Biochemistry**, v. 186, p. 239-247, 1989.

VELLO, N. A.; TSUTSUMI, C. Y. A soja na prevenção e tratamento de doenças crônicas. In: CONGRESSO DETECNOLOGIA E COMPETIVIDADE DA SOJA NO MERCADO GLOBAL, 2000, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Fundação MT, p.135-140. 2000.

VENCATO, A. Z. **Anuário Brasileiro da Soja 2010**. Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, 144 p, 2010.

VIEIRA, N. R. A. **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999.

VIDIGAL, S. M.; PEREIRA, P. R. G.; PEDROSA, M. W. Repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.). In: PAULA JÚNIOR, T. J.; VENZON, M. (Org.). **101 culturas: manual de tecnologias agrícolas**. Belo Horizonte: EPAMIG. p. 553-558. 2007.

WANG, G. H.; JIN, J.; XU, M. N.; PAN, X. W.; TANG, C. Inoculation with phosphate-solubilizing fungi diversifies the bacterial community in rhizospheres of maize and soybean. **Pedosphere**, Beijing, v. 17, n. 2, p. 191-199, 2007.

WOHLENBERG, E. Área e Produção devem encolher, mas o Mercado internacional é

promissor. In: AGRUANUAL 2007, Mercado & Perspectivas. 405 p. 2006.

WOLFERSBERG, M. G. V-ATPase-energized epithelia and biological insect control. **Journal Experimental Biology**. v. 172, p.377-386, 1992.

YU, C-G.; MULLINS, M.A.; WARREN, G.W.; KOZIEL, M.G.; ESTRUCH, J.J. 1997. The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip 3A lyses midgut epithelium cells of susceptible insect. **Applied and Environmental Microbiology**, V.63, P.532-536.

ZHENG, Y.; XUE, Q. Y.; XU, L. L.; XU, Q.; LU, S.; GU, C; GUO, J. H. A screening strategy of fungal biocontrol agents towards *Verticillium wilt* of cotton. **Biological Control**, v. 56. p.209-216, 2011.

CAPÍTULO ÚNICO

1 INTRODUÇÃO

Existem algumas espécies de insetos que são considerados pragas-chave em milho, algodão, arroz, soja e repolho. Dentre estes, podemos destacar como de importância agrícola: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae).

Segundo Grützmacher *et al.* (2000), *S. frugiperda*, na cultura do milho, as lagartas em seus estádios iniciais, consomem somente parte das folhas, podendo reduzir a área foliar e diminuindo a fotossíntese; já as lagartas maiores perfuram as folhas e se desenvolvem no cartucho do milho, podendo atacar a espiga. Podem provocar a queda de espigas, gerando danos diretos girando em torno de 35% no rendimento de grãos (CRUZ, 1995). Na cultura do algodão, as lagartas de *S. frugiperda* alimentam-se de folhas, de botões florais e, principalmente, de maçãs em formação (LUTTRELL & MINK, 1999). Causa severos ataques e reduz significativamente a produção (PEREIRA, 2007), provocando perdas de até 30% na cultura do algodoeiro (MIRANDA & FERREIRA, 2005). Na cultura do arroz, a lagarta danifica plantas novas, corta colmos rentes ao solo, desfolham plantas mais desenvolvidas e causa danos a flores e panículas. (PEREIRA, 2007).

Já *A. gemmatalis*, também conhecida como “lagarta-da-soja”, é uma das principais pragas desfolhadoras e, quando não manejadas corretamente, podem provocar até 100% de desfolha, que, dependendo do estágio de desenvolvimento da planta, ocasionam reduções significativas na produtividade da lavoura que podem chegar à perda total (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000).

P. xylostella é considerada a praga mais importante das crucíferas, causando danos e perdas, interferem no crescimento e até mesmo provocam a morte ou perda total em plantas comerciais de repolho (*B. oleracea* var. *capitata*) (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997), inutilizando-as para o consumo (BIOCONTROLE, 2013).

O controle químico é o método mais empregado no controle desses insetos-praga. Como resultado do uso intensivo de inseticidas, uma série de impactos negativos pode ocorrer, tais como: contaminação do meio ambiente, alimentos com resíduos de pesticidas, aumento dos custos de produção, seleção de populações de insetos resistentes, eliminação de inimigos naturais presentes na área, entre outros. Assim, a adoção de alternativas eficientes e de baixo impacto ambiental é fundamental para o sucesso do controle de pragas (ROEL & VENDRAMIM, 2006).

Assim, bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* surgem como alternativa de controle desses insetos-praga, que são produzidos e comercializados no mundo todo para o controle de lagartas desfolhadoras.

Estudos demonstraram que estirpes de *B. thuringiensis* foram capazes de colonizar de forma sistêmica plantas de algodão e de couve (MONNERAT *et al.*, 2003; PRAÇA *et al.*, 2012; SANTANA, 2014). Assim, esta forma de utilização de *B. thuringiensis* pode ser uma alternativa de controle, onde poderá minimizar algumas limitações apresentadas por esse agente de controle biológico como, por exemplo, a sensibilidade à radiação solar (BRAVO *et al.*, 2011).

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas (LBE), localizado na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram utilizadas as seguintes estirpes de *Bacillus thuringiensis*: S1905, S2122 e S2124, que são tóxicas a insetos da ordem Lepidoptera (PRAÇA *et al.*, 2012). A estirpe padrão S1450 (*B. thuringiensis* subespécie kurstaki, também chamada de HD-1) foi utilizada como padrão. Todas as estirpes utilizadas no experimento foram provenientes da Coleção de Bactérias de Invertebrados pertencente ao LBE.

2.1 Material vegetal

Sementes das cultivares de repolho híbrido Sekai, soja BRS 8480, milho BRS Sol da Manhã, algodão BRS Aroeira e arroz BRSGO Serra Dourada foram utilizados no experimento.

2.2 Cultivo das estirpes de *B. thuringiensis*

As estirpes preservadas em tiras de papel filtro foram cultivadas em meio Embrapa (MONNERAT *et al.*, 2007) em shaker (incubador rotativo Labline Instruments), por um período de 72 horas, a 200 rpm e 30° C, até sua completa esporulação, para formação do pré-inóculo. Após a observação de esporos e cristais, em microscópio de fases com aumento de 1000x, as estirpes foram inoculadas em Erlenmeyer com capacidade de dois litros, contendo 600 mL de meio Embrapa e colocadas no shaker por 16 horas. Após esse período, o conteúdo do Erlenmeyer, foi vertido em fermentador (Microferm Fermentor New Brunswick Scientific), e mantido por um período de 48 horas a uma temperatura em torno de 28 a 30 ° C e rotação de 400 rpm. Após esse período, foi observada a presença de esporos e cristais em microscópio.

As estirpes foram centrifugadas (Centrífuga Hettich Zentrifuger), por 30 minutos a 9500 rpm, e o “pellet” formado foi armazenado em freezer por 16 horas. As estirpes foram liofilizadas por 18 horas em liofilizador Labconco modelo Lyphlock 18 e armazenadas em geladeira entre 4 a 10 °C.

Após a liofilização das estirpes de *B. thuringiensis*, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de acordo com Alves e Moreira (1998), para a

quantificação do inóculo. A quantificação do inóculo foi feita utilizando-se 0,005 g de cada uma das estirpes de *B. thuringiensis* liofilizadas que foram diluídas em 500 µL de solução salina em eppendorf. Posteriormente, foi realizado choque térmico em placa aquecedora (Placa aquecedora VWR HBN 40) a 80 °C por doze minutos, e, em seguida, por cinco minutos no gelo. O conteúdo de cada eppendorf foi transferido para tubos de ensaio contendo 4,5 mL de solução salina (NaCl 0,8 %) e agitados em Vortex. A primeira diluição, 10⁻¹ (diluição mãe) foi agitada e 500 µL da mesma foram transferidos para novo tubo de ensaio com 4,5 mL, obtendo-se a diluição 10⁻², e assim por diante até a diluição 10⁻⁹. Uma alíquota de 10 µL de cada uma das diluições foi plaqueada em meio Embrapa sólido (MONNERAT *et al.*, 2007). As placas foram dispostas em bancadas no laboratório por 16 horas à temperatura ambiente e, após isso, foi realizada a contagem do número de colônias. A concentração de cada uma das estirpes de *B. thuringiensis* foi de 10⁷ esporos/mL.

2.3 Métodos de inoculação

2.3.1 Inoculação nas sementes

As sementes foram separadas em lotes contendo cada um 43 sementes de algodão, soja, arroz, milho ou repolho. As sementes de cada lote foram imersas em uma suspensão com cada uma das quatro estirpes de *B. thuringiensis*, a uma concentração de 10⁷ esporos/mL e uma quantidade de 10 mL de água destilada por placa. Em seguida, as sementes foram mantidas sob agitação em plataforma agitadora New Brunswick modelo Innova 2100 por um período de 15 minutos a 200 rpm.

Após o tratamento, as sementes de arroz, algodão, soja, repolho e milho foram plantadas em vasos de polipropileno com capacidade de cinco litros contendo substrato Plantmax[®], na quantidade de seis sementes por vaso, em substrato adubado com 30 g de NPK/vaso (10-10-10), em casa de vegetação. Aos 10 dias após o plantio, foi feito o desbaste, deixando-se três plantas por vaso. As plantas foram regadas com 200 mL de água por vaso, a um intervalo de dois dias, ou quando necessário.

2.3.2 Inoculação na planta

As sementes de algodão, arroz, milho, repolho e soja foram plantadas em vasos de cinco litros, contendo substrato Plantmax[®], com seis sementes por vaso em solo adubado com 30 g de NPK/vaso (10-10-10) em casa de vegetação. Os vasos foram dispostos na bancada da

casa de vegetação de forma inteiramente casualizada. Após dez dias do plantio, foi realizado o desbaste, onde foram deixadas três plantas por vaso. A inoculação nas plantas foi realizada onze dias após o plantio das sementes e foi utilizada uma dose única de cinco mL de suspensão bacteriana das estirpes S1450, S1905, S2122 ou S2124, com uma concentração de 10^7 esporos/mL, onde a inoculação foi realizada próxima ao pé da planta. Depois de 10 dias do plantio, foi realizado o desbaste, deixando-se três plantas por vaso. Para a testemunha, as sementes foram plantadas em substrato sem nenhum tipo de tratamento. As plantas foram regadas com 200 mL de água por vaso, a um intervalo de dois dias, ou quando necessário.

A casa de vegetação utilizada no experimento foi construída em policarbonato, com sistema de resfriamento, com temperaturas variando de 22 a 30 °C e umidade do ar entre 35 a 65%.

2.4 Avaliação dos experimentos

As plantas cujas sementes foram imersas nas soluções com *B. thuringiensis* foram avaliadas em relação à velocidade de germinação até o sexto dia, onde foi realizado o cálculo do Índice de velocidade de Germinação (IVG), segundo a metodologia proposta por MAGUIRE (1962):

$$IVE = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}$$

onde:

G_1, G_2 e G_n = número de plântulas na primeira, na segunda e na última contagem

N_1, N_2 e N_n = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem

Com relação aos outros parâmetros avaliados, todas as plantas dos dois métodos de inoculação foram analisadas semanalmente quanto à altura da parte aérea e quanto ao número de folhas. A altura foi medida entre a distância do colo até o ápice foliar da folha mais desenvolvida da planta. Aos 45 dias após o plantio, as plantas foram retiradas dos vasos e foi avaliado o comprimento da raiz. A altura da parte aérea e comprimento da raiz foram medidos com auxílio de uma régua graduada de 30 cm. As plantas de arroz, milho e soja quando atingiram uma altura maior que 40 cm, foram medidas com o auxílio de fita métrica.

Para obtenção do peso seco da parte aérea de todas as plantas, as mesmas foram colocadas dentro de envelopes, identificadas e, em seguida, levadas para estufa para secar por um período de 72 horas, a uma temperatura de 60 °C. As raízes foram lavadas em água corrente, retirado o excesso de água com papel toalha, embaladas e secas da mesma forma que a parte aérea. Em seguida, tanto a parte aérea como as raízes foram pesadas em balança Marte modelo AS500C.

2.5 Análise estatística

Para cada espécie estudada (algodão, arroz, milho, repolho e soja), o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos (testemunha, S1450, S1905, S2122 e S2124) e duas formas de inoculação (imersão de sementes e inoculação planta). A unidade experimental foi composta por um vaso com três plantas e cinco repetições por tratamento. Primeiramente foi determinada a média das três plantas por vaso. Depois, foi obtida a média total das repetições por tratamento.

Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Student-Newman-Keuls ou foi usada análise de variância não paramétrica (Kruskal-Wallis) e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Dunn com auxílio do programa SigmaStat (KURO *et al.*, 1992).

2.6 Avaliação da patogenicidade das plantas tratadas com *B. thuringiensis*

As lagartas utilizadas nos bioensaios foram obtidas da criação massal da Plataforma de criação de insetos da Embrapa.

- Bioensaios com *S. frugiperda*, *A. gemmatilis* e *P. xylostella*

O bioensaio foi realizado *in vitro*, ao final do experimento, e foi separado um vaso por espécie cultivada e por tratamento para retirada das folhas para alimentação das lagartas.

Bioensaio com *S. frugiperda*: foram utilizadas folhas de milho, arroz e algodão. Foi colocada uma folha de cada cultura por placa de Petri, totalizando 30 placas por tratamento e forradas com papel filtro umedecido em água destilada. Em seguida, foi colocada uma lagarta

de 2º instar por placa (por serem canibais). As leituras foram diárias e a avaliação final foi realizada ao sétimo dia.

Bioensaio com *A. gemmatilis*: foram colocadas duas folhas de soja por placa de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada. Foram utilizadas dez lagartas de 2º instar por placa, com três repetições por tratamento. As leituras foram diárias e a avaliação final foi realizada ao sétimo dia.

Bioensaio com *P. xylostella*: foi colocada uma folha de repolho por placa de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada. Foram utilizadas dez lagartas de 3º instar por placa, com três repetições por tratamento. As leituras foram diárias e a avaliação final foi realizada ao sétimo dia.

As placas foram fechadas e mantidas na sala de acondicionamento de bioensaios, a temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, e fotoperíodo de 14 horas de luz e 10 horas de escuro.

3. Resultados e Discussão

3.1 Efeito das estirpes de *B. thuringiensis* sob a germinação de plantas de algodão, arroz, milho, repolho e soja

Na germinação das sementes de algodão (ANOVA: $F = 3,970$; $P = 0,016$), todas as estirpes de *B. thuringiensis* influenciaram positivamente no aumento da velocidade de germinação (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos por Araújo (2008) que, ao inocular sementes de algodão em um formulado contendo farinha de ostras e *B. subtilis*, observou aumento em sua germinação.

Já na germinação de sementes de arroz (ANOVA: $F = 0,175$; $P = 0,948$), não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

Na germinação das sementes de milho (KRUSKAL-WALLIS: $H = 4,694$; $P < 0,001$), a estirpe S2122 (S) apresentou diferença estatística com relação à testemunha e foi semelhante as demais estirpes (Tabela 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo *et al.* (2010) quando inoculou bactérias diazotróficas em sementes das cultivares IR42 e Zebu Branco de arroz e verificou um aumento na velocidade de germinação das sementes.

Já em sementes de repolho (ANOVA: $F = 5,580$; $P = 0,003$), houve inibição da velocidade de germinação das sementes tratadas com todas as estirpes de *B. thuringiensis* em relação à testemunha (Tabela 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Perboni (2014), ao avaliar a germinação de sementes de canola microbiolizadas com *B. subtilis*.

Em relação à germinação das sementes de soja (ANOVA: $F = 1,037$; $P = 0,413$), não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1).

Os resultados diferenciados na germinação das sementes podem ser explicados pela influência da biossíntese de AIA, onde em baixas concentrações favorecem a germinação e, em altas concentrações, inibem a germinação (SCHLINDWEIN *et al.*, 2008). Outra hipótese seria a biossíntese de AIA a partir do triptofano, que é o principal precursor de auxina durante a germinação e no desenvolvimento inicial das plântulas (BIALEK & COHEN, 1992).

As fases iniciais do desenvolvimento de uma planta são consideradas primordiais, pois durante a germinação das sementes e o estabelecimento da plântula podem ocorrer as maiores taxas de mortalidade. Com isso, em condições de estresse por luz, nutrientes e água, plântulas vigorosas se sobressaem, tendo influência no estabelecimento da população e na produção de grãos (FAROOQ *et al.*, 2006). Assim, a qualidade fisiológica das sementes e o vigor das plântulas são fatores decisivos no sucesso produtivo de uma determinada cultura agrícola.

Portanto, estudos sobre o efeito de microorganismos endofíticos na germinação de plantas são de grande importância para a agricultura moderna, estes organismos podem influenciar no aumento do stand das culturas e conseqüentemente na produtividade.

Tabela 1 - Avaliação do Índice de Velocidade de Germinação das sementes de arroz, algodão, milho, repolho e soja imersas em solução com as estirpes de *B. thuringiensis* aos seis dias após o plantio.

Tratamentos	Algodão	Arroz	Milho	Repolho	Soja
Testemunha	1,1 ± 0,3b	1,2 ± 0,1a	1,1 ± 0,1b	2,0 ± 0,5a	1,6 ± 0,2a
S1450 (S)	1,9 ± 0,4a	1,1 ± 0,2a	1,3 ± 0,3ab	1,3 ± 0,4b	1,6 ± 0,4a
S1905 (S)	2,2 ± 0,5a	1,2 ± 0,2a	1,3 ± 0,3ab	1 ± 0,2b	1,4 ± 0,2a
S2122 (S)	1,6 ± 0,4a	1,2 ± 0,2a	1,7 ± 0,3a	1,2 ± 0,3b	1,1 ± 0,3a
S2124 (S)	1,8 ± 0,4a	1,3 ± 0,07a	1,4 ± 0,3ab	1,1 ± 0,3b	1,4 ± 0,3a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

3.2 Efeito das estirpes de *B. thuringiensis* sobre o desenvolvimento das plantas de algodão, arroz, milho, repolho e algodão

3.2.1 Algodão

Em relação à altura de plantas de algodão, na primeira semana de medição da parte aérea, não houve diferença estatística entre os tratamentos e a testemunha (Kruskal-Wallis: $H = 31,81$; $P \leq 0,001$) (Tabela 2).

Já na segunda semana, as estirpes S1905 (S), S2122 (S) e S2124 (S) utilizadas na imersão das sementes promoveram o crescimento das plantas de algodão em altura em relação à estirpe S1450 (S) inoculada via imersão de sementes e à testemunha. Já as estirpes S1450 (P), S1905 (P), S2122 (P) e S2124 (P), no tratamento inoculação planta, inibiram o crescimento em altura. (ANOVA: $F = 14,255$; $P \leq 0,001$) (Tabela 2).

Na terceira (ANOVA: $F = 4,388$; $P < 0,001$) e quarta semana (ANOVA: $F = 0,081$; $P = 0,009$), a estirpe S2124 (S), utilizada na imersão de sementes, continuou a influenciar o crescimento em altura das plantas, quando comparada com a testemunha, com um incremento em torno de 10%. Na terceira semana, a estirpe S2124 (S), imersão de sementes, foi semelhante às estirpes S1450 (S), S1905 (S) e S2122 (S), via imersão de sementes e foi

diferente estatisticamente do tratamento inoculação planta e da testemunha. Na quarta semana de medição da parte aérea, a estirpe S2124 (S), imersão de sementes, foi semelhante às estirpes S1450 (S), S1905 (S), S2122 (S), imersão de sementes e das estirpes S1905 (P), S2122 (P) e S2124 (P), inoculação planta, porém, diferiu estatisticamente da estirpe S1450 (P) e da testemunha (Tabela 2). Provavelmente a estirpe S2122 (S) S2124 (S) possui uma interação positiva com a cultivar BRS Aroeira de algodão e algum mecanismo de promoção de crescimento pode estar envolvido neste processo como, por exemplo, a produção de AIA.

Esses resultados podem ser explicados pelo fato de bactérias endofíticas estimularem o crescimento de plantas em um estágio de desenvolvimento e inibem em outro (STURZ & NOWAK, 2000). Além disso, estudos demonstram que a habilidade de algumas bactérias em produzir substâncias promotoras do crescimento em plantas pode ser altamente específica a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares (NOWAK, 1998).

Santana (2014), nas mesmas condições de plantio, testou as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* em dois métodos de tratamento (imersão de sementes e inoculação planta) em algodão; no tratamento imersão de sementes, de algodão da cultivar 8H, as estirpes S2122 e S2124 promoveram um aumento de 12 % e 11 % no crescimento em altura das plantas, na primeira e segunda semana de medição da parte aérea, respectivamente. Esse resultado foi semelhante com o presente estudo com a cultivar BRS Aroeira; onde, na primeira, segunda e terceira semana de medição da parte aérea de plantas de algodão, foi obtido um incremento de 13,7 %, 12,4 e 12,6 % e 11,7 % e 12,4 %, com as estirpes S2122 (S) e S2124 (S), respectivamente.

A partir da quinta semana (ANOVA: $F = 0,081$; $P = 0,081$), nenhuma das estirpes nos dois métodos de inoculação influenciou o crescimento das plantas em altura (Tabela 2).

Tabela 2 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de algodão em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	18,36 ± 1,49a	26,61 ± 1,80b	38,09 ± 2,91b	45,61 ± 4,26b	50,22 ± 5,35a
S1450 (P)	18,11 ± 1,71a	27,64 ± 4,42b	38,60 ± 5,19b	45,38 ± 5,49b	50,61 ± 4,96a
S1905 (P)	18,58 ± 1,09a	28,34 ± 3,66b	40,69 ± 3,06b	48,76 ± 3,86ab	56,30 ± 5,59a
S2122 (P)	17,87 ± 2,51a	27,08 ± 3,62b	40,08 ± 4,16b	49,46 ± 5,00ab	54,73 ± 5,64a
S2124 (P)	18,45 ± 0,82a	27,71 ± 1,02b	40,30 ± 2,35b	48,10 ± 4,58ab	54,64 ± 8,20a
S1450 (S)	22,98 ± 0,61a	22,98 ± 0,62b	44,18 ± 2,81ab	51,36 ± 2,95ab	55,70 ± 3,00a
S1905 (S)	23,02 ± 0,26a	36,21 ± 3,50a	44,46 ± 5,57ab	52,12 ± 5,50ab	56,62 ± 8,24a
S2122 (S)	23,65 ± 2,94a	36,62 ± 3,37a	47,29 ± 3,31ab	53,44 ± 3,33ab	59,48 ± 7,32a
S2124 (S)	23,44 ± 2,63a	36,71 ± 2,91a	48,10 ± 4,76a	56,77 ± 6,36a	62,81 ± 9,51a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação à influência das estirpes de *B. thuringiensis* nos dois métodos de inoculação, imersão das sementes e inoculação das plantas, no número de folhas de plantas de algodão, a estirpe S2124 na primeira semana (Kruskal-Wallis: $H = 16,874$; $P = 0,031$) nos dois métodos de inoculação [(S) e (P)] apresentou inibição, quando comparadas com a testemunha e com as estirpes S1905, S2122 e S2124, tanto no tratamento imersão (S) de sementes, quanto inoculação planta (P) (Tabela 3).

Já na segunda semana (Kruskal-Wallis: $H = 27,254$; $P \leq 0,001$) de contagem do número de folhas, a estirpe S1905 (S), imersão semente, se destacou no aumento do número de folhas em relação a estirpe S1450 (S), imersão de sementes, e foi semelhante às outras estirpes, independente do método de inoculação. (Tabela 3).

Já na terceira (Kruskal-Wallis: $H = 13,802$; $P = 0,087$), quarta (Kruskal-Wallis: $H = 10,824$; $P = 0,212$) e quinta (Kruskal-Wallis: $H = 12,730$; $P = 0,121$) semana de contagem do número de folhas nas plantas de algodão, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 3).

O aumento do número de folhas das plantas de algodão é interessante pelo fato de aumentar as taxas de fotossíntese e favorecer o desenvolvimento das plantas. Esses resultados corroboram com os de Santana (2014), que obteve resultados semelhantes, em relação ao

aumento do número de folhas, com incrementos de 12 % e 11 %, respectivamente, com as estirpes S2122 (S) e S2124 (S), imersão de sementes, e a cultivar 8 H de algodão. Marcuzzo *et al.* (2000), em estudos na promoção de crescimento de aveia, testaram rizobactérias na microbiolização de sementes, e promoveram um incremento em altura, aos 48 dias de plantio, em torno de 34 % no número de folhas.

Tabela 3 - Número de folhas de plantas de algodão em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	4,00 ± 0,00a	4,73 ± 0,36ab	6,00 ± 0,00a	7,33 ± 0,40a	7,67 ± 0,23a
S1450 (P)	3,80 ± 0,29a	4,40 ± 0,43ab	5,93 ± 0,14a	6,67 ± 0,40a	7,47 ± 0,50a
S1905 (P)	4,00 ± 0,00a	4,73 ± 0,43ab	6,27 ± 0,36a	7,07 ± 0,27a	7,87 ± 0,69a
S2122 (P)	4,00 ± 0,00a	4,46 ± 0,38ab	6,00 ± 0,23a	6,80 ± 0,38a	7,27 ± 0,36a
S2124 (P)	3,66 ± 0,40b	4,26 ± 0,27ab	6,00 ± 0,00a	6,60 ± 0,27a	7,33 ± 0,40a
S1450 (S)	4,00 ± 0,00a	4,00 ± 0,00c	5,93 ± 0,36a	6,80 ± 0,38a	7,67 ± 0,40a
S1905 (S)	4,00 ± 0,00a	5,67 ± 0,40a	6,73 ± 0,43a	7,33 ± 0,70a	8,33 ± 0,42a
S2122 (S)	4,00 ± 0,00a	5,33 ± 0,52ab	6,20 ± 0,77a	6,93 ± 0,72a	7,47 ± 0,50a
S2124 (S)	3,60 ± 0,54b	5,13 ± 0,69ab	6,07 ± 0,64a	7,13 ± 0,65a	8,00 ± 0,67a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação ao comprimento (Kruskal-Wallis: $H = 1,916$; $P = 0,099$) e peso seco da raiz (ANOVA: $F = 2,839$; $P = 0,020$), não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 4).

Com relação ao peso seco da parte aérea (Kruskal-Wallis: $H = 10,373$; $P = 0,240$), houve um aumento nesse parâmetro nas plantas de algodão tratadas com a estirpe S1905 (S), via imersão de sementes, em relação à testemunha e às demais estirpes de ambos os tratamentos, e esse resultado foi semelhante às estirpes S1905 (P) e S2124 (P), inoculação planta (Tabela 4). Resultados semelhantes de aumento significativo da massa seca da parte aérea de plantas de cebola aos 90 dias foram encontrados por Hartmann (2009), ao tratar sementes de cebola por meio de microbiolização com o isolado UFV40 de *Bacillus cereus*. Bertrand *et al.* (2001), citado por Asghar *et al.* (2002), isolaram 13 bactérias da rizosfera de plantas de canola (*Brassica napus*) para avaliar a atividade dos promotores de crescimento das

plantas. Oito dos 13 isolados estudados proporcionaram um aumento significativo, de 11 a 52%, no rendimento de matéria seca das plantas de canola.

Tabela 4 – Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de algodão em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	Comprimento da Raiz (cm)	Peso Seco Raiz (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
Testemunha	43,70 ± 5,60a	1,01 ± 0,59a	4,32 ± 1,06b
S1450 (P)	52,14 ± 5,42a	0,84 ± 0,47a	4,24 ± 1,57b
S1905 (P)	43,43 ± 4,37a	0,98 ± 0,74a	5,24 ± 1,15ab
S2122 (P)	49,67 ± 4,53a	0,72 ± 0,67a	4,54 ± 0,59b
S2124 (P)	52,38 ± 2,90a	0,93 ± 0,77a	4,97 ± 1,23ab
S1450 (S)	49,87 ± 5,52a	0,95 ± 0,51a	3,77 ± 0,86b
S1905 (S)	48,67 ± 8,36a	1,44 ± 1,37a	6,69 ± 0,67a
S2122 (S)	46,97 ± 3,50a	0,93 ± 0,71a	4,58 ± 0,48b
S2124 (S)	44,41 ± 2,04a	0,85 ± 0,62a	4,49 ± 0,79b

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Os resultados demonstram que há uma interação positiva das estirpes S2122 (S) e S2124 (S) no crescimento em altura, da estirpe S2122 (S) no aumento do número de folhas e da estirpe S1905 (S) no aumento do peso seco da parte aérea de plantas de algodão. Esse efeito em plantas pode se dar pela interação específica entre isolados de bactérias e genótipos da planta. Essa especificidade pode estar relacionada com a coexistência natural da planta hospedeira e da bactéria ou com o compartilhamento metabólico entre plantas hospedeiras e bactérias (HOLL & CHANWAY, 1992; CHANWAY *et al.*, 1988). Além disso, estudos demonstram que algumas bactérias que tem a habilidade de produzir substâncias promotoras de crescimento em plantas podem ser altamente específica a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares (NOWAK, 1998).

3.2.2 Arroz

Na primeira semana (ANOVA: $F = 11,983$; $P < 0,001$) de medição da altura da parte aérea das plantas de arroz, houve diferença entre os tratamentos e a testemunha, onde o tratamento imersão de sementes com a estirpe S1450 (S) apresentou um incremento em torno de 30% na parte aérea com relação à testemunha e às demais estirpes de ambos os tratamentos (imersão de sementes e inoculação planta) (Tabela 5).

Na segunda semana (ANOVA: $F = 8,048$; $P < 0,001$) as estirpes S1450 (S) e S2122 (S), imersão sementes, se destacaram no crescimento das plantas de arroz, porém, essas estirpes foram semelhantes à testemunha, e superiores às estirpes S1905 (S) e S2124 (S), imersão sementes e às demais estirpes inoculação planta (Tabela 5).

Já na terceira semana (ANOVA: $F = 4,146$; $P < 0,001$) todas as estirpes dos tratamentos imersão de sementes se destacaram no crescimento das plantas de arroz, porém, foram semelhantes à testemunha e às estirpes S2122 (P) e S2124 (P), inoculação planta e superiores às estirpes S1450 (P) e S1905 (P) do mesmo tratamento (Tabela 5).

Na quarta semana (ANOVA: $F = 2,305$; $P = 0,042$) da medição da altura das plantas de arroz, a estirpe S1450 (P), inoculação planta, foi inferior a estirpe S2122 (S), imersão de sementes, porém ambas foram semelhantes à testemunha e às estirpes S1905 (P), S2122 (P), S2124 (P), inoculação planta, e às estirpes S1450 (S), S1905 (S) e S2124 (S), imersão de sementes (Tabela 5).

Na quinta semana (ANOVA: $F = 1,218$; $P = 0,317$) de medição da parte aérea das plantas, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 5).

Araujo *et al.* (2012), avaliou 45 isolados de *Bacillus* sp. no crescimento de *Brachiaria brizantha*. Para isto, foi realizada a inoculação desses isolados nas sementes dessa gramínea. Desse total, três isolados de *Bacillus* sp. (1A, 2B e 6A) foram capazes de promover o crescimento de *B. brizantha*, na média de três cortes efetuados na cultura, durante 180 dias. Trabalhos utilizando *Bacillus* sp. na promoção de crescimento de plantas de arroz são, praticamente, inexistentes. Desse modo, esses resultados são pioneiros na utilização de *B. thuringiensis* na promoção de crescimento de plantas de arroz, constituindo os primeiros estudos com essa bactéria de forma endofítica.

Tabela 5 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de arroz em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	23,68 ± 1,76c	36,58 ± 1,32ab	48,72 ± 1,80ab	61,25 ± 3,76ab	69,65 ± 6,13a
S1450 (P)	21,23 ± 1,43c	32,40 ± 2,89b	44,52 ± 3,07b	56,54 ± 5,10b	64,20 ± 6,37a
S1905 (P)	22,95 ± 2,27c	32,52 ± 3,41b	44,12 ± 5,06b	57,35 ± 6,83ab	66,78 ± 7,31a
S2122 (P)	22,36 ± 2,13c	35,45 ± 2,17bc	49,12 ± 3,09ab	60,10 ± 3,59ab	71,94 ± 7,19a
S2124 (P)	23,34 ± 1,18c	37,77 ± 1,53ac	51,81 ± 5,96ab	62,01 ± 1,61ab	69,52 ± 4,27a
S1450 (S)	30,64 ± 2,47a	41,57 ± 3,24a	53,84 ± 2,42a	64,28 ± 2,15ab	71,94 ± 5,38a
S1905 (S)	27,04 ± 1,10b	39,04 ± 2,26ac	53,48 ± 4,21a	63,53 ± 3,06ab	72,20 ± 6,12a
S2122 (S)	27,39 ± 2,59b	40,58 ± 2,82a	54,04 ± 4,19a	66,11 ± 4,43a	74,80 ± 4,76a
S2124 (S)	27,56 ± 2,49b	40,26 ± 3,41ac	53,02 ± 6,36a	61,02 ± 7,24ab	69,09 ± 9,03a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação ao número de perfilhos de plantas de arroz, na primeira (kruskal-Wallis: $H = 12,552$; $P = 0,128$), segunda (kruskal-Wallis: $H = 17,427$; $P = 0,026$), terceira (kruskal-Wallis: $H = 6,219$; $P = 0,623$), quarta (kruskal-Wallis: $H = 5,983$; $P = 0,649$) e quinta (ANOVA: $F = 0,330$; $P = 0,949$) semana não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 6).

Tabela 6 - Número de perfilhos de plantas de arroz em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	3,00 ± 0,00a	4,00 ± 0,00a	5,13 ± 0,29a	6,47 ± 1,44a	8,26 ± 3,14a
S1450 (P)	2,86 ± 0,18a	3,93 ± 0,14a	5,47 ± 0,60a	6,53 ± 0,80a	7,67 ± 1,08a
S1905 (P)	3,00 ± 0,00a	4,13 ± 0,29a	6,30 ± 2,02a	7,90 ± 2,42a	8,97 ± 3,07a
S2122 (P)	2,93 ± 0,14a	4,00 ± 0,00a	5,87 ± 0,55a	7,00 ± 0,85a	8,67 ± 1,45a
S2124 (P)	3,40 ± 0,89a	4,06 ± 0,14a	6,33 ± 1,17a	7,73 ± 1,60a	9,17 ± 2,06a
S1450 (S)	3,00 ± 0,00a	4,40 ± 0,43a	5,47 ± 0,86a	6,33 ± 1,33a	8,07 ± 1,77a
S1905 (S)	3,00 ± 0,00a	4,47 ± 0,44a	6,07 ± 1,36a	7,13 ± 2,19a	8,73 ± 2,01a
S2122 (S)	3,00 ± 0,00a	4,27 ± 0,43a	5,60 ± 0,72a	7,00 ± 1,26a	8,33 ± 1,41a
S2124 (S)	3,00 ± 0,00a	4,53 ± 0,44a	5,60 ± 1,21a	6,33 ± 1,26a	7,73 ± 1,23a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Nos parâmetros comprimento raiz (ANOVA: $F = 1,940$; $P = 0,095$), peso seco parte aérea (ANOVA: $F = 1,714$; $P = 0,141$) e peso seco raiz (ANOVA: $F = 0,807$; $P = 0,602$) de plantas de arroz, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 7).

Tabela 7 - Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de arroz em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	Comprimento Raiz (cm)	Peso Seco Raiz (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
Testemunha	50,26 ± 5,42a	1,02 ± 0,58a	1,59 ± 0,65a
S1450 (P)	45,21 ± 3,72a	0,71 ± 0,18a	1,04 ± 0,22a
S1905 (P)	47,08 ± 2,68a	1,13 ± 0,70a	2,30 ± 0,97a
S2122 (P)	45,10 ± 2,31a	1,05 ± 0,43a	1,91 ± 0,53a
S2124 (P)	47,12 ± 4,99a	0,92 ± 0,34a	1,73 ± 0,41a
S1450 (S)	43,50 ± 2,64a	0,92 ± 0,34a	1,63 ± 0,38a
S1905 (S)	42,12 ± 1,65a	1,39 ± 0,43a	2,00 ± 0,62a
S2122 (S)	46,69 ± 5,57a	0,92 ± 0,29a	2,07 ± 0,17a
S2124 (S)	42,17 ± 2,83a	0,84 ± 0,29a	1,63 ± 0,52a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Esses resultados em plantas de arroz, onde somente o efeito da bactéria foi verificado no crescimento em altura, podem ser decorrentes pelo estresse causado pela interferência no processo de colonização das sementes pelas bactérias; o estresse pode afetar a emergência, a formação de fitomassa aérea e radicular (PEIXOTO NETO *et al.*, 2002).

Outro efeito seria a variação na concentração de AIA produzido pela bactéria na planta, pois esses efeitos podem ser positivos ou negativos, sendo que as consequências são dependentes da quantidade de AIA produzida e da sensibilidade às mudanças de concentração dos diversos tecidos da planta e genótipos (SPAEPEN *et al.*, 2007), o que explicaria parte das variações observadas entre os parâmetros analisados da planta (crescimento em altura, número de folhas e peso seco da parte aérea e raiz).

3.2.3 Milho

Na primeira semana (Kruskal-Wallis: $H = 27,065$; $P \leq 0,001$) de medição da parte todas as estirpes do método imersão sementes, apresentaram incremento em altura em relação à testemunha e a todas estirpes do tratamento inoculação planta (Tabela 8).

Já na segunda semana (ANOVA: $F = 4,721$; $P \leq 0,001$) apenas a estirpe S1450 (S) do método imersão sementes manteve o resultado de incremento em altura em relação à testemunha e aos tratamentos inoculação plantas, porém foi semelhante às estirpes S1905 (S), S2122 (S) e S2124 (S), imersão sementes (Tabela 8).

É interessante o crescimento inicial das plantas de milho, pois isso pode favorecer um rápido estabelecimento dessas plantas no campo e, também, auxiliar na diminuição do ataque de insetos-praga, principalmente de *S. frugiperda*.

Resultados similares foram observados por Araújo e Guerreiro (2009) em plantas de milho, bacterizadas com os isolados CAS-2, NGR-1, PNP-2, RFJ-1, RUB-2 e TAC-2 de *Bacillus* sp. Estes isolados se destacaram quanto ao desempenho na promoção do crescimento do milho quanto à altura aos 29 e aos 50 dias de plantio, sendo que a condição solo natural foi mais propícia ao crescimento do milho, do que o solo autoclavado. Ao inocular o isolado BH72 da bactéria endofítica diazotrófica *Azoarcus* sp. em plantas de arroz, HUREK *et al.* (1994), obteve um resultado significativo no crescimento dessas plantas.

Na terceira (ANOVA: $F = 1,947$; $P = 0,083$), quarta (Kruskal-Wallis: $H = 6,364$; $P = 0,607$) e quinta (KRUSKAL-WALLIS: $H = 1,333$; $P = 0,995$) semanas de medição da parte aérea das plantas de milho, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 8).

Tabela 8 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de milho em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	56,92 ± 3,74b	83,82 ± 4,61b	104,82 ± 3,46a	119,51 ± 4,51a	128,55 ± 3,46a
S1450 (P)	49,64 ± 13,62b	80,29 ± 5,87b	101,59 ± 5,81a	118,08 ± 6,71a	129,03 ± 8,39a
S1905 (P)	56,90 ± 6,16b	83,31 ± 6,67b	104,48 ± 4,57a	116,67 ± 3,33a	127,42 ± 6,22a
S2122 (P)	51,52 ± 7,90b	81,35 ± 7,83b	104,92 ± 3,76a	116,77 ± 3,10a	127,98 ± 2,43a
S2124 (P)	54,00 ± 3,20b	79,60 ± 6,25b	104,17 ± 7,80a	115,14 ± 8,35a	128,72 ± 3,04a
S1450 (S)	63,85 ± 5,16a	95,97 ± 6,19a	112,46 ± 6,48a	124,22 ± 8,45a	134,50 ± 4,27a
S1905 (S)	65,26 ± 2,68a	92,22 ± 6,26ab	107,86 ± 4,02a	119,68 ± 4,755a	127,32 ± 6,35a
S2122 (S)	64,32 ± 4,71a	92,34 ± 8,62ab	109,04 ± 4,10a	119,68 ± 4,75a	127,48 ± 6,61a
S2124 (S)	62,52 ± 2,38a	90,68 ± 3,04ab	108,96 ± 6,29a	120,70 ± 10,28a	129,55 ± 11,0a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Na primeira semana (ANOVA: $F = 6,564$; $P \leq 0,001$) de contagem do número de folhas das plantas de milho, o método imersão de sementes com as estirpes S1905 (S), S2122 (S) e S2124 (S) se destacou quando comparado com a testemunha e com as estirpes do método inoculação planta, mas foi semelhante à estirpe S1450 (S), imersão de sementes (Tabela 9).

Na segunda (ANOVA: $F = 2,526$; $P = 0,027$) e terceira (ANOVA: $F = 2,091$; $P = 0,063$) semana não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 9).

Na quarta semana (ANOVA: $F = 16,090$; $P \leq 0,001$), a estirpe S2124 (S), imersão de sementes se destacou no aumento do número de folhas quando comparada com a testemunha e com as estirpes do tratamento inoculação planta e com a estirpe S1450 (S), imersão de sementes; porém foi semelhante às estirpes S1905 (S) e S2122 (S), imersão de sementes (Tabela 9).

Na quinta semana (Kruskal-Wallis: $H = 31,717$; $P \leq 0,001$) a estirpe S2124 (S), imersão de sementes, continuou se destacando quando comparada com a testemunha, com as estirpes S1450 (P) e S2124 (P), inoculação planta, porém a média da altura não variou em relação à quarta semana de contagem do número de folhas, continuando a mesma (quarta semana: média = 10,67; quinta semana: média: 10,67). Esse resultado foi semelhante às estirpes S1905 (P) e S2122 (P), inoculação planta, e às estirpes S1450 (S), S1905 (S) e S2122 (S), imersão de sementes (Tabela 9).

Guerrero (2008), ao inocular os isolados bacterianos BRG-2, CAS-2, NGR-1, PNP-2, PRP-2, TAC-2 de *Bacillus* sp., relatou que houve aumento no número de folhas desdobradas de plantas de milho aos 50 dias após o plantio, cultivadas em solo autoclavado.

Tabela 9 - Número de folhas de plantas de milho em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	5,26 ± 0,43b	7,20 ± 0,60a	7,87 ± 0,38a	8,60 ± 0,43c	9,07 ± 0,43b
S1450 (P)	5,13 ± 0,18b	7,40 ± 0,36a	8,13 ± 0,55a	8,60 ± 0,43c	8,97 ± 0,47b
S1905 (P)	5,33 ± 0,40b	7,20 ± 0,18a	8,27 ± 0,72a	9,00 ± 0,33bc	9,40 ± 0,14ab
S2122 (P)	5,27 ± 0,27b	7,73 ± 0,27a	8,60 ± 0,59a	9,07 ± 0,54bc	9,40 ± 0,43ab
S2124 (P)	5,40 ± 0,54b	7,27 ± 0,64a	8,27 ± 0,49a	8,3 ± 0,36c	9,13 ± 0,44b
S1450 (S)	5,87 ± 0,38ab	7,27 ± 0,64a	8,73 ± 0,27a	9,27 ± 0,35bc	9,87 ± 0,50ab
S1905 (S)	6,20 ± 0,38a	8,00 ± 0,97a	8,67 ± 0,57a	9,53 ± 0,18ab	10,40 ± 0,43ab
S2122 (S)	6,07 ± 0,27a	7,93 ± 0,36a	8,73 ± 0,14a	9,53 ± 0,18ab	10,40 ± 0,49ab
S2124 (S)	6,07 ± 0,27a	8,20 ± 0,44a	8,73 ± 0,43a	10,67 ± 0,23a	10,67 ± 0,23a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação ao comprimento das raízes (ANOVA: $F = 5,126$; $P \leq 0,001$) das plantas de milho, a estirpe S1905 (S), imersão de sementes, promoveu o aumento do comprimento das raízes em relação à testemunha e às demais estirpes de ambos os tratamentos, com incremento em torno de 50% (Tabela 10). O aumento no comprimento da raiz das plantas de milho promove uma maior eficiência na retirada de água, auxiliando a planta em períodos secos, além de favorecer na absorção de nutrientes. O crescimento em comprimento das raízes pode está relacionado com a produção de AIA, pois foi verificado a produção desse fitohormônio pela estirpe S1905 em trabalhos com repolho (PRAÇA, 2012). Em trabalho com *B. subtilis* foi verificado um estímulo no desenvolvimento radicular de plantas de soja, em resposta da produção de fitohormônios pela bactéria durante seu desenvolvimento (ARAUJO *et al.*, 2005). Mafia *et al* (2007), ao avaliar o enraizamento e crescimento de eucalipto, selecionou dois isolados de *B. subtilis* (S1 e 3918) que foram efetivos para enraizamento e aumento da biomassa radicular, com incrementos da ordem de 40,6 e 114,2 %, respectivamente.

Já com relação ao peso seco da raiz (Kruskal-Wallis: $H = 9,837$, $P = 0,277$) e peso seco da parte aérea (Kruskal-Wallis: $H = 16,345$; $P = 0,038$) não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 10). Cerigioli (2005), em experimento utilizando imersão de sementes de milho em suspensão bacteriana de *Bacillus megaterium* por 12 horas, em solo

esterilizado suplementado apenas com zinco, onde as plantas foram coletadas 30 dias após a emergência e não obteve um aumento significativo no peso seco da parte aérea e das raízes.

Tabela 10. Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de milho em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	Comprimento Raiz (cm)	Peso Seco Raiz (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
Testemunha	72,05 ± 9,92b	5,79 ± 2,74a	12,69 ± 0,82a
S1450 (P)	83,90 ± 4,64b	6,36 ± 0,88a	10,65 ± 1,83a
S1905 (P)	74,52 ± 6,57b	5,51 ± 1,36a	14,51 ± 1,61a
S2122 (P)	66,57 ± 8,42b	6,89 ± 2,62a	14,72 ± 2,62a
S2124 (P)	68,44 ± 15,86b	7,07 ± 1,12a	13,90 ± 2,56a
S1450 (S)	84,95 ± 10,06b	6,79 ± 1,52a	15,58 ± 0,46a
S1905 (S)	111,17 ± 24,75a	4,63 ± 1,51a	14,57 ± 0,33a
S2122 (S)	77,61 ± 5,52b	6,14 ± 0,93a	14,87 ± 0,71a
S2124 (S)	69,41 ± 10,26b	4,91 ± 1,63a	13,03 ± 1,84a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Novamente, foi verificado uma interação positiva entre as estirpes S1450 (S), S1905 (S) e S2124 (S) de *B. thuringiensis*, via imersão de sementes, com as plantas de milho; onde a estirpe S1450 (S), favoreceu o aumento no crescimento em altura, a estirpe S2124 (S) favoreceu o aumento do número de folhas, porém, essa estirpe foi semelhante a estirpe S1905 (S); e a estirpe S1905, que estimulou o crescimento em comprimento das raízes. Esses resultados são pioneiros na utilização de *B. thuringiensis* na promoção de crescimento de plantas de milho, constituindo os primeiros estudos com essa bactéria de forma endofítica, e demonstram o potencial do uso destas bactérias nesta cultura.

3.2.4 Repolho

Na primeira semana (ANOVA: $F = 22,848$; $P \leq 0,001$) de avaliação da altura da parte aérea, os dois métodos de inoculação se destacaram da testemunha, sendo que o método de

inoculação, imersão de sementes obteve um desempenho em crescimento ainda melhor que a inoculação planta (Tabela 11).

Na segunda semana (ANOVA: $F = 18,077$; $P \leq 0,001$), todas as estirpes de *B. thuringiensis*, no tratamento imersão de sementes continuaram a influenciar o crescimento em altura das plantas de repolho em relação à testemunha e ao tratamento inoculação planta (Tabela 11).

Na terceira semana (ANOVA: $F = 5,182$; $P \leq 0,001$), todas as estirpes, imersão de sementes, apresentaram incremento na altura das plantas de repolho quando comparada com a testemunha e à estirpe S2124 (P), tratamento inoculação planta; porém foram semelhantes às estirpes S1450 (P), S1905 (P) e S2122 (P), inoculação planta (Tabela 11).

Na quarta (ANOVA: $F = 1,331$; $P = 0,260$) e quinta (ANOVA: $F = 0,979$; $P = 0,468$) semanas não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 11).

Novamente foi verificado o crescimento em altura das plantas de repolho já na primeira semana de medição da parte aérea, o que favorecer a implantação da cultura em campo, além de diminuir o ataque de insetos-pragas, entre esses, *P. xylostella*.

Esses resultados corroboram com o trabalho de Praça (2012) em estudos de promoção do crescimento vegetal em repolho, onde verificou que o melhor tratamento foi à imersão de sementes em sedimento da estirpe S1905 de *B. thuringiensis* pelo tempo de 15 minutos, demonstrando um incremento significativo no crescimento das plântulas, em torno de 200% e na altura da parte aérea, de 12 %. Perboni (2014), onde sementes de canola híbrido 61 foram imersas em uma solução de *Bacillus* sp. e promoveram o crescimento das plantas em altura. Inbar et al. (1994) ao tratar solo com isolado de fungo *Trichoderma harzianum*, onde obteve aumento significativo quanto à altura das plantas em 24% e 17%, e peso de massa seca em 25% e 29% em pepineiro e pimenteira.

Tabela 11 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de repolho em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	5,97 ± 0,93c	11,52 ± 1,52c	18,91 ± 2,14b	23,44 ± 2,88a	26,32 ± 2,57a
S1450 (P)	7,87 ± 0,16b	13,48 ± 0,84b	20,43 ± 1,77ab	25,53 ± 2,71a	28,52 ± 2,33a
S1905 (P)	7,66 ± 0,82b	13,17 ± 1,13bc	20,55 ± 1,32ab	24,87 ± 1,45a	27,41 ± 1,09a
S2122 (P)	8,12 ± 0,37b	13,79 ± 0,62b	20,50 ± 0,64ab	25,05 ± 1,86a	28,08 ± 1,07a
S2124 (P)	7,50 ± 0,75b	13,14 ± 0,97b	19,38 ± 1,04b	24,81 ± 1,58a	26,73 ± 1,47a
S1450 (S)	10,27 ± 0,37a	16,85 ± 0,72a	22,58 ± 1,16a	25,42 ± 1,30a	27,83 ± 1,54a
S1905 (S)	10,30 ± 0,61a	16,79 ± 0,79a	23,27 ± 2,32a	27,29 ± 1,96a	28,65 ± 1,94a
S2122 (S)	9,72 ± 0,50a	17,17 ± 1,68a	22,94 ± 1,16a	25,78 ± 1,48a	27,67 ± 1,36a
S2124 (S)	9,50 ± 1,12a	15,74 ± 0,83a	22,27 ± 1,73a	25,57 ± 1,85a	27,53 ± 1,50a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação ao número de folhas de plantas de repolho na primeira semana (Kruskal-Wallis: $H = 35,171$; $P \leq 0,001$) a estirpe S1450 (S), imersão de sementes, apresentou diferença estatística quando comparada com a testemunha e as estirpes S1450 (P) e S2122 (P), inoculação planta; porém a estirpe S1450 (S) foi semelhante às estirpes S1905 (S), S2122 (S) e S2124 (S), imersão de sementes e às estirpes S1905 (P) e S2124 (P), inoculação planta.

Na segunda semana (Kruskal-Wallis: $H = 35,475$; $P \leq 0,001$) a estirpe S1450 (S), imersão de sementes, continuou a influenciar no aumento do número de folhas, diferindo estatisticamente da testemunha, da estirpe S 2122 (S), imersão de sementes e de todas as estirpes do tratamento inoculação planta, porém essa mesma estirpe foi semelhante às estirpes S1905 (S) e S2124 (S) e (Tabela 12).

Este resultado é importante, pois pode favorecer a fotossíntese e com isso a produtividade da cultura. Um incremento no número de folhas de 19,53% foi observado por Barreti *et al.* (2008) em plantas de tomate tratadas com isolado UFV-E49 quando comparado com a testemunha.

Já na terceira (ANOVA: $F = 1,779$; $P = 0,114$), quarta (Kruskal-Wallis: $H = 12,041$; $P = 149$) e quinta (ANOVA: $F = 2,331$; $P = 0,040$) semana de contagem do número de folhas não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 12).

Tabela 12. Número de folhas de plantas de repolho em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Controle	4,00 ± 0,00b	5,80 ± 0,29b	7,27 ± 0,43a	8,27 ± 0,72a	9,53 ± 0,93a
S1450 (P)	4,00 ± 0,00b	6,00 ± 0,00b	7,93 ± 0,64a	9,07 ± 0,72a	10,27 ± 0,79a
S1905 (P)	4,07 ± 0,15ab	6,00 ± 0,00b	7,87 ± 0,18a	8,80 ± 0,50a	9,53 ± 0,77a
S2122 (P)	4,00 ± 0,00b	6,00 ± 0,00b	8,33 ± 0,70a	9,20 ± 0,96a	10,87 ± 1,30a
S2124 (P)	4,13 ± 0,30ab	5,73 ± 0,36b	7,47 ± 0,93a	8,47 ± 0,96a	9,67 ± 0,67a
S1450 (S)	5,07 ± 0,14a	7,20 ± 0,44a	8,80 ± 0,90a	9,53 ± 0,44a	11,40 ± 0,54a
S1905 (S)	5,00 ± 0,00ab	7,00 ± 0,00ab	8,47 ± 1,01a	9,43 ± 0,86a	11,03 ± 0,65a
S2122 (S)	4,53 ± 0,45ab	6,53 ± 0,50b	8,33 ± 1,02a	8,87 ± 0,65a	10,80 ± 1,19a
S2124 (S)	4,60 ± 0,37ab	6,80 ± 0,44ab	8,43 ± 1,22a	8,93 ± 1,18a	10,70 ± 1,75a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação ao comprimento da raiz (Kruskal-Wallis: $H = 8,205$; $P = 0,414$), peso seco parte aérea (ANOVA: $F = 1,720$; $P = 0,139$) e peso seco da raiz (ANOVA: $F = 1,290$; $P = 0,290$) de plantas de repolho, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 13).

Tabela 13. Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de repolho em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	Comprimento Raiz (cm)	Peso Seco Raiz (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
Testemunha	49,67 ± 2,08a	0,33 ± 0,16a	2,14 ± 0,92a
S1450 (P)	51,40 ± 9,89a	0,42 ± 0,13a	2,71 ± 0,40a
S1905 (P)	59,95 ± 8,55a	0,44 ± 0,14a	2,86 ± 0,46a
S2122 (P)	56,65 ± 2,44a	0,59 ± 0,29a	2,82 ± 0,36a
S2124 (P)	50,75 ± 1,93a	0,54 ± 0,32a	2,50 ± 0,25a
S1450 (S)	54,33 ± 0,15a	0,65 ± 0,07a	3,10 ± 0,23a
S1905 (S)	48,70 ± 2,24a	0,59 ± 0,25a	3,24 ± 0,81a
S2122 (S)	48,97 ± 3,48a	0,69 ± 0,25a	3,00 ± 0,87a
S2124 (S)	52,07 ± 1,24a	0,65 ± 0,18a	3,44 ± 0,53a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Nota-se que em plantas de repolho, que todas as estirpes de *B. thuringiensis*, imersão de sementes, favoreceram o crescimento em altura dessas plantas; já em relação ao número de folhas, a estirpe S1450 (S), imersão de sementes, teve uma ação favorável; porém, nos demais parâmetros não houve diferença entre os tratamentos. Isso, possivelmente, pode ser explicado, pelo fato de que substâncias promotoras de crescimento produzidas por bactérias podem ser altamente específicas a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares, como também a diferentes ambientes onde estão inseridos, ou, por sua vez, em decorrência do estresse pelo qual a comunidade possa estar passando devido a alterações ambientais e antropogênicas (Oliveira *et al.*, 2009; Jha *et al.*, 2009; Prakamhang *et al.*, 2009).

3.2.5 Soja

Na primeira semana (ANOVA: $F = 10,882$; $P \leq 0,001$) de mensuração da altura da parte aérea das plantas de soja, as estirpes S1450 (S), S1905 (S), S2122 (S) e S2124 (S), imersão de sementes, promoveram um melhor crescimento em altura em relação à testemunha e ao método de tratamento inoculação planta (Tabela 14). Esse crescimento inicial das plantas

de soja é importante pelo fato do rápido estabelecimento da cultura e favorecer na diminuição do ataque de *A. gemmatilis*, importante lagarta desfolhadora na cultura da soja.

Na segunda semana (ANOVA: $F = 7,879$; $P \leq 0,001$) as estirpes S1450 (S), S2122 (S) e S2124 (S), imersão de sementes, se destacaram no crescimento em altura das plantas em relação à testemunha, à estirpe S1905 (S) e todas as estirpes do método de tratamento inoculação planta (Tabela 14).

Na terceira semana (ANOVA: $F = 2,282$; $P = 0,043$) de medição da parte aérea, a estirpe S2122 (S) se destacou no crescimento, em relação às estirpes S1450 (P) e S1905 (P), porém foi semelhante à testemunha e as demais estirpes dos dois métodos de tratamento, imersão de sementes e inoculação planta (Tabela 14).

Na quarta (ANOVA: $F = 1,139$; $P = 0,362$) e quinta (ANOVA: $F = 0,715$; $P = 0,677$) semanas não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 14).

Araújo e Hungria (1999) avaliaram o uso do *B. subtilis* na cultura da soja e observaram que houve um aumento na nodulação e no crescimento das plantas, além de um aumento significativo no rendimento da cultura no campo. Sakiyama (2001), ao avaliar estirpes de bactérias endofíticas, verificou que as estirpes CL4, CL8, F7-4, F6 e SS110 promoveram o crescimento de explantes da cultivar Catuaí Vermelho de *Coffea arabica* L. e da cultivar Apoatã de *Coffea canephora* Pierre ex Froenhe.

Tabela 14 - Altura (cm) da parte aérea de plantas de soja em função de dois métodos de inoculação [imersão de sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* por cinco semanas.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	25,02 ± 1,64bc	39,45 ± 2,41ad	54,66 ± 3,79ab	66,82 ± 5,06a	76,36 ± 9,72a
S1450 (P)	23,74 ± 1,18cd	37,00 ± 2,14bc	50,60 ± 6,11b	62,40 ± 11,10a	71,90 ± 14,31a
S1905 (P)	20,67 ± 4,02d	33,54 ± 4,14b	49,97 ± 7,33b	59,61 ± 9,86a	66,01 ± 9,18a
S2122 (P)	25,96 ± 2,51c	40,22 ± 3,26ac	52,99 ± 2,19ab	62,91 ± 5,65a	70,80 ± 9,30a
S2124 (P)	25,97 ± 2,33bc	39,49 ± 2,04ac	54,14 ± 2,88ab	64,92 ± 6,15a	74,38 ± 8,69a
S1450 (S)	32,04 ± 2,77a	44,50 ± 2,63a	57,97 ± 4,18ab	71,40 ± 4,21a	78,30 ± 6,28a
S1905 (S)	28,47 ± 1,37a	42,47 ± 1,59ac	54,36 ± 3,29ab	62,92 ± 7,35a	72,08 ± 11,29a
S2122 (S)	30,75 ± 0,96a	45,27 ± 3,85a	61,30 ± 6,63a	71,38 ± 12,10a	78,77 ± 12,73a
S2124 (S)	29,24 ± 3,29a	43,64 ± 3,92a	56,26 ± 7,31ab	66,36 ± 10,31a	70,95 ± 13,27a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Na primeira (Kruskal-Wallis: $H = 12,219$; $P = 0,142$) e segunda (Kruskal-Wallis: $H = 26,815$; $P \leq 0,001$) semana de contagem do número de folhas de plantas de soja, não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 15).

Já na terceira semana (ANOVA: $F = 4,081$; $P = 0,002$), a estirpe S1905 (S), imersão de sementes, se destacou no aumento do número de folhas de plantas de soja quando comparada com a estirpe S1450 (P) e S2122 (P), inoculação planta; porém foi semelhante à testemunha e às demais estirpes dos dois métodos de tratamento, imersão de sementes e inoculação plantas (Tabela 15).

Na quarta (ANOVA: $F = 2,471$ $P = 0,030$) e quinta (ANOVA: $F = 2,956$; $P = 0,012$) semana não houve diferença significativa entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 15).

Neves *et al.* (2001) microbiolizando sementes de cebola com 25 bactérias isoladas de diferentes nichos, avaliaram a promoção de crescimento de cebola em dois estádios de desenvolvimento realizados aos 60 e 120 dias, obtendo 22,2% e 14,9% de incremento para o número de folhas.

Tabela 15. Número de folhas de plantas de soja em função dos dois métodos de inoculação [imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P)] com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.

Tratamento	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana	5ª Semana
Testemunha	4,00 ± 0,00a	5,13 ± 0,29a	6,67 ± 0,40ab	8,07 ± 0,14a	9,33 ± 0,94a
S1450 (P)	3,60 ± 0,54a	5,00 ± 0,00a	6,33 ± 0,62b	7,87 ± 1,30a	9,20 ± 1,59a
S1905 (P)	3,73 ± 0,43a	4,80 ± 0,44a	6,53 ± 0,50ab	7,93 ± 0,14a	9,33 ± 0,47a
S2122 (P)	4,00 ± 0,00a	5,00 ± 0,00a	6,00 ± 0,00b	7,67 ± 0,67a	9,57 ± 1,23a
S2124 (P)	3,80 ± 0,44a	5,20 ± 0,44a	6,47 ± 0,50ab	7,93 ± 0,79a	9,87 ± 1,09a
S1450 (S)	4,00 ± 0,00a	5,47 ± 0,50a	7,07 ± 0,59ab	8,40 ± 0,89a	11,33 ± 1,43a
S1905 (S)	4,00 ± 0,00a	5,87 ± 0,29a	7,53 ± 0,50a	9,07 ± 0,72a	11,20 ± 0,86a
S2122 (S)	4,00 ± 0,00a	5,87 ± 0,29a	7,33 ± 0,62ab	9,13 ± 0,55a	11,20 ± 1,01a
S2124 (S)	4,00 ± 0,00a	5,40 ± 0,54a	6,80 ± 0,76ab	8,00 ± 0,81a	10,13 ± 1,30a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

Em relação ao comprimento da raiz (Kruskal-Wallis: $H = 6,086$; $P = 0,638$), peso seco da parte aérea (Kruskal-Wallis: $H = 13,101$; $P = 0,108$) e peso seco da raiz (ANOVA: $F = 1,273$; $P = 0,298$) de plantas de soja, não houve diferença estatística entre os tratamentos e a testemunha, não possuindo efeitos benéficos ou deletérios (Tabela 16).

Tabela 16. Comprimento das raízes, matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de soja em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com estirpes de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	Comprimento Raiz (cm)	Peso Seco Raiz (g)	Peso Seco Parte Aérea (g)
Testemunha	66,29 ± 15,10a	0,87 ± 0,36a	3,57 ± 0,45a
S1450 (P)	69,04 ± 11,73a	1,00 ± 0,17a	4,15 ± 0,87a
S1905 (P)	83,35 ± 40,31a	0,85 ± 0,43a	3,08 ± 1,13a
S2122 (P)	57,20 ± 1,16a	0,81 ± 0,26a	3,30 ± 0,93a
S2124 (P)	59,10 ± 6,49a	0,61 ± 0,14a	2,35 ± 0,34a
S1450 (S)	66,27 ± 5,32a	0,57 ± 0,20a	2,47 ± 0,35a
S1905 (S)	93,80 ± 51,57a	0,82 ± 0,20a	3,00 ± 0,43a
S2122 (S)	65,01 ± 12,74a	0,80 ± 0,21a	3,00 ± 0,48a
S2124 (S)	64,41 ± 13,60a	0,53 ± 0,35a	2,62 ± 1,25a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não apresentam diferenças significativas.

É possível notar que nas plantas de soja, somente houve resultados significativos no crescimento da parte aérea das plantas, onde as estirpes S1450 (S), S2121 (S) e S2124 (S), imersão de sementes, promoveram um crescimento significativo em alturas dessas plantas; já no aumento do número de folhas, somente a estirpe S1905 (S), imersão de sementes, teve um efeito significativo, porém somente na terceira semana. Estudos na promoção de crescimento vegetal em soja com *B. thuringiensis* de forma endofítica é inexistente na literatura; desse modo esse trabalho é o primeiro no Brasil a ser desenvolvido, contudo, estudos posteriores são necessários para entender os mecanismos envolvidos no crescimento dessas plantas mediados por essa bactéria.

O método de tratamento imersão de sementes com as estirpes de *B. thuringiensis*, foi aquele em que foram obtidos os melhores resultados para a cultura da soja, assim como para as outras culturas estudadas, conforme descrito anteriormente. O melhor desempenho das plantas inoculadas através da imersão de sementes pode ser devido ao fato que a imersão da bactéria na semente, antes do semeio da mesma, pode ser o método mais conveniente de introduzir a bactéria na planta, pois, durante o processo de germinação da semente, esta libera carboidratos e aminoácidos em abundância na forma de exsudatos que favorecem a bactéria

(SUBRAHMANYAM *et al.*, 1983), o que aumenta as chances do seu estabelecimento de forma endofítica (STIRLING, 1991).

Esses resultados demonstram que o método de tratamento imersão de sementes foi o mais eficiente, sendo verificada a ocorrência de efeitos significativos na emergência de sementes de algodão e milho e na promoção de crescimento de todas as espécies vegetais testadas nesse estudo, independente da estirpe ou da espécie vegetal utilizada. Assim, as estirpes de *B. thuringiensis* podem ter colonizado tanto externa como internamente as plantas, favorecendo a síntese de hormônios de crescimento ou induzindo a síntese destes compostos, que influenciam no crescimento das plantas (COCKING, 2003). As bactérias promotoras de crescimento podem ter influenciado o crescimento das plantas pelo mecanismo direto, afetando o metabolismo das plantas, por processos como a fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo e ferro ou produzindo hormônios como auxinas, giberelinas, citocininas e etileno (BASHAN & DE-BASHAN, 2005).

Assim, a produção de fitormônios é um dos principais mecanismos de promoção no crescimento das plantas mediada pelos microrganismos endofíticos. Entre os fitormônios produzidos por *Bacillus* sp., se destacam: ácido indol acético (KANG *et al.*, 2009), ácido indol butírico (MARTÍNEZ-MORALES *et al.*, 2003), giberelinas (GUTIÉRREZ-MAÑERO *et al.*, 2001), citocininas e compostos que imitam a ação dos jasmonatos (PING, 2004). Além disso, podem promover o crescimento vegetal por meio da solubilização de fosfato, ou pela fixação biológica de nitrogênio (WANG, 2007).

A partir dos resultados, suspeita-se que o AIA possa ser um fator de importância no crescimento das plantas no ensaio de promoção de crescimento, pois o crescimento em altura das plantas pode estar relacionado com a produção de AIA e citocinina, uma vez que o balanço entre auxinas e citocininas faz a regulação da diferenciação celular vegetal, onde concentrações maiores de citocinina induzem o crescimento da parte aérea de plantas (SPAEPEN *et al.*, 2009). Desse modo, especula-se, também, que a produção de citocininas pelas bactérias contribui para a concentração desse fitohormônio na planta, onde influencia em seu crescimento e desenvolvimento (PERTRY *et al.*, 2009). Os efeitos do AIA produzido pelos microrganismos endofíticos são o crescimento e alongamento das raízes, aumento dos pelos radiculares, o que melhora a absorção e nutrientes do solo para a planta, o que resulta em um melhor desenvolvimento da planta (VERMA *et al.*, 2001; CABALLERO-MELLADO, 2006).

As estirpes bacterianas tiveram efeitos diferenciados em função da espécie de planta e da estirpe utilizada. Isso indica que algumas estirpes podem promover o crescimento em uma

espécie de planta e serem ineficazes em outras, como foi demonstrado em um estudo na inoculação de rizobactérias em miniestacas de eucalipto (TEIXEIRA, 2007). Além disso, a interação planta-endofíto é regida por uma íntima relação, que é envolvida por um processo de co-evolução onde o tipo de colonização é influenciado pelo genótipo, estágio de crescimento, *status* fisiológico, tipo de tecido da planta, práticas agrícolas, além de condições ambientais tais como, temperatura, oferta de água e nutrientes (COMPANT *et al.*, 2010, DAVITT *et al.*, 2011, GUNDEL *et al.*, 2011).

Embora, em muitos casos, cada estirpe pode atuar de forma específica em determinada cultivar ou híbrido, podem existir estirpes que podem promover o crescimento em diferentes espécies, como foi verificado no trabalho de Raasch *et al.* (2013), que, ao inocular o produto *Rizolyptus*® (*Bacillus subtilis*) em clones de eucalipto, obteve um maior crescimento em altura nas miniestacas 1277 e I144, com um ganho de 20,3 e 37,2%, respectivamente. Isso, possivelmente, pode ser explicado, pelo fato de que substâncias promotoras de crescimento produzidas por bactérias podem ser altamente específicas a certas espécies de plantas, ou até mesmo de cultivares, como também a diferentes ambientes onde estão inseridos, ou, por sua vez, em decorrência do estresse pelo qual a comunidade possa estar passando devido a alterações ambientais e antropogênicas (OLIVEIRA *et al.*, 2009; JHA *et al.*, 2009; PRAKAMHANG *et al.*, 2009).

3.3 Bioensaios

Nos bioensaios com arroz e milho, as lagartas de *S. frugiperda* não se alimentaram das folhas provenientes dos dois métodos de inoculação com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124, nem das folhas testemunha. Nenhum sintoma de dano foi observado nas folhas. Como as lagartas são criadas com dieta artificial, este fato pode ter influenciado a não preferência alimentar das mesmas.

Já nos bioensaios com algodão (Tabela 17), repolho (Tabela 18) e soja (Tabela 19), em todos os tratamentos foi verificada uma baixa mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*, *P. xylostella* e *A. gemmatilis*. Possivelmente isso ocorreu pela

Tabela 17 – Mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de algodão em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	% de mortalidade
Testemunha	0,3
1450 S	10
1905 S	0,6
2122 S	0,3
2124 S	0,3
1450 P	0
1905 P	0
2122 P	10
2124 P	10

Tabela 18 - Mortalidade de lagartas de *P. xylostella* alimentadas com folhas de repolho em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	% de mortalidade
Testemunha	0,3
1450 S	0,3
1905 S	10
2122 S	0
2124 S	10
1450 P	0
1905 P	0,3
2122 P	0,3
2124 P	0

Tabela 19 - Mortalidade de lagartas de *A. gemmatalis* alimentadas com folhas de soja em função de dois métodos de inoculação, imersão das sementes (S) e inoculação nas plantas (P) com as estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis* após 45 dias de plantio.

Tratamento	% de mortalidade
Testemunha	0
1450 S	0,3
1905 S	10
2122 S	10
2124 S	0
1450 P	10
1905 P	10
2122 P	0,3
2124 P	0,3

É importante observar que testes com os insetos-praga não foram realizados, logo após a inoculação bacteriana, e não se pode afirmar que os tratamentos não tenham eficiência em nenhum momento. Novos testes deverão ser realizados para avaliar a mortalidade das lagartas ao longo de todo o experimento.

Para uma avaliação mais adequada dos tratamentos no controle de pragas, será importante realizar novos estudos com diferentes concentrações da bactéria na planta e na semente. No caso da inoculação nas plantas é necessário realizar testes com maior número de aplicações ou mesmo trabalhar nas sementes com formulações de liberação lenta para que a bactéria possa causar efeito durante todo o ciclo da cultura.

4. CONCLUSÃO

As estirpes de *B. thuringiensis* apresentaram potencial para a promoção do crescimento de plantas de algodão, arroz, milho, repolho e soja. Todas as estirpes testadas promoveram o crescimento das plantas, e não houve uma estirpe que se desempenhou mais em todas as situações, demonstrando que houve uma interação positiva entre as estirpes e as cultivares ou híbrido testados.

O tratamento imersão de sementes respondeu de maneira mais satisfatória do que a inoculação planta, demonstrando ser eficiente independente da estirpe ou espécie vegetal testada.

Não foi verificado controle de forma endofítica e sistêmica de *S. frugiperda*, *A. gemmatilis* e *P. xylostella* pelas estirpes S1450, S1905, S2122 e S2124 de *B. thuringiensis*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, F. F. de. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 456-462, 2008.

ARAUJO, F. F. de; GUABERTO, L. M.; SILVA, I. F. da. Bioprospecção de rizobactérias promotoras de crescimento em *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 3, p. 521-527, 2012.

ARAUJO, F. F.; GUERREIRO, R. T. Bioprospecção de isolados de *Bacillus* promotores de crescimento de milho cultivado em solo autoclavado e natural. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 837 – 844, 2009.

ARAUJO, F. F.; HUNGRIA, M. Nodulação e rendimento de soja co-infectada com *Bacillus subtilis* e *Bradyrhizobium japonicum*/*B. elkanii*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1633 – 1643, 1999.

ARAUJO, A. E. S.; ROSSETTO, C. A. V.; BALDANI, V. L. D; BALDANI, J. I. Germinação e vigor de sementes de arroz inoculadas com bactérias diazotróficas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 4, p. 932 – 939, 2010.

ARAUJO, F. F. HUNGRIA, M.; HENNING, A. A. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 21, p. 1639-1645, 2005.

ASGHAR, H.N. **Isolation and screening of plant growth promoting rhizobacteria for increasing field and oil contents of *Brassica* sp.** Faisalabad: University of Agriculture, 2002. 210f. Tese (Doutorado – Soil Science) - University of Agriculture, Faisalabad, 2002.

BASHAN, Y.; de-BASHAN, L. E. Plant Growth-Promoting In: HILLEL, D., In **Encyclopedia of soils in the environment**. 1.ed, Oxford,.v. 1, p. 103-115, 2005

BARRETTI, P. B.; ROMEIRO, R. S.; MIZUBUTI, E. S. G.; SOUZA, J. T. Seleção de bactérias endofíticas de tomateiro como potenciais agentes de biocontrole e de promoção de crescimento. **Ciência Agrotecnológica**, v. 33, p. 2038-2044, 2009.

BIALEK, K.; COHEN, J. Amide-linked indoleacetic acid conjugates may control levels of indoleacetic in germinating seedlings of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, Rockville, v.100, n.4, p.2002-2007, 1992.

BIOCONTROLE – **Métodos de controle de pragas**. Disponível em: <http://www.biocontrole.com.br/pragas/praga.php?id=plutella_xylostella> Acesso em: 16 de dezembro de 2013.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; GILL, S. S. SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry**, v. 41, n.7, p. 423-431. 2011.

BRUNETTA, J. M. F. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; GOMES, J. M.; BINOTI, D. B.; FONSECA, N. A. N. Isolamento e seleção de rizobactérias promotoras do crescimento de *Pinus taeda*. **Revista Árvore**, v.34, n.3, p.399-406, 2010.

CABALLERO-MELLADO, J. Agriculture microbiology and microbe interaction with plants. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*. v. 48, nº 2, p. 154-161. 2006.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, p. 75-79, 1997.

CERIGIOLI, M. M. **Diversidade de bactérias endofíticas de raízes de milho (*Zea mays* L.) e potencial para promoção de crescimento**. Tese (Doutorado em Genética e Evolução), 2005.

CHANWAY, C. P.; HOLL, F. B.; TURKINGTON, R. Genotypic coadaptation in growth promotion of forage species by *Bacillus polymixa*. **Plant and Soil**, v.106, p.281-284, 1988.

COCKING, E. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. **Plant Soil**, n. 252, p. 169-175, 2003.

COMPANT, S.; CLÉMENT, C.; SESSITSCH, A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 669-678, 2010.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. (Circular técnica, 21). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 45 p., 1995.

DAVITT, A. J.; CHEN, C.; RUDGERS, J. A. Understanding context-dependency in plant-microbe symbiosis: The influence of abiotic and biotic contexts on host fitness and the rate of symbiont transmission. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71. p.137-145, 2011.

ENEBAK, S. A. Rhizobacteria Isolated from loblolly pine seedlings mediate growth promotion of greenhouse-grown loblolly, slash, and longleaf pine seedlings. **Forest Science**, v.51, n.6, p.541-545, 2005.

FAROOQ, M.; BARSA, S. M. A.; WAHID, A. Priming of field-sown rice seed enhances germination, seedling establishment, allometry and yield. **Plant Growth Regulator**, v.49, p.285-294, 2006.

GRÜTZMACHER, A. D.; NAKANO, O.; MARTINS, J. F. S.; LOECK, A. E.; GRÜTZMACHER, D. D. Consumo foliar de cultivares de arroz irrigado por *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 519-525. 2000.

GUERREIRO, R. T. **Seleção de *Bacillus spp* promotores de crescimento de milho**. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Presidente Prudente: UNOESTE, 55 p, 2008.

GUNDEL, P. E.; GARIBALDI, L. A.; MARTÍNEZ-GHERSA, M. A.; GHERSA, C. M. Neotyphodium endophyte transmission to *Lolium multiflorum* seeds depends on the host plant fitness. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71. p. 359-366, 2011.

GUTIÉRREZ-MAÑERO, F. J.; RAMOS-SOLANO, B.; PROBANZA, A.; MEHOUACHI, J.; TADEO, F.; TALON, M. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 111, p. 206-211, 2001.

HARTHMANN, O. E. L. **Microbiolização de sementes de sementes com rizobactérias na produção de cebola**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal do Paraná. 117 p. 2010.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa-CNPSo (Embrapa-CNPSo. Circular Técnica, 30). 70 p, 2000.

HOLL, F. B.; CHANWAY, C. P. Rhizosphere colonisation e seedling growth promotion of lodgepole pine by *Bacillus polymyxa*. **Canadian Journal of Microbiology**, v.38, p.303-308, 1992.

HUREK, T.; REINOLD-HUREK, B.; MONTAGU, M. van; KELLENBERGER, E. Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus* sp. strain BH72 in grasses. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 176, p. 1913-1923, 1994.

INBAR, J.; ABRAMSKY, M.; COCHEN, D.; CHET, I. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. **Europa Journal of Plant Pathology**, v.100, p.337-346, 1994.

JHA, B.; THAKUR, M.C.; GONTIA, I.; ALBRECHT, V.; STOFFELS, M.; SCHMID, M. & HARTMANN, A. Isolation, partial identification and application of diazotrophic rhizobacteria from traditional Indian rice cultivars. **Europe Journal Soil Biology**., 45: 62-72, 2009.

KANG, S.M.; JOO, G.J.; HAMAYUN, M.; NA, C.I.; SHIN, D.H.; KIM, H.Y.; HONG, J.K.; LEE, I.J. Gibberellin production and phosphate solubilization by newly isolated strain of

Acinetobacter calcoaceticus and its effect on plant growth. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 31, p. 277- 281, 2009.

LUTTREL, R. G. & MINK, J. S. Damage to cotton structures by the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **The Journal of Cotton Science**. v.3, p. 35-44, 1999.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A; FERREIRA, E. M.; SIQUEIRA, L. de. Efeito de rizobactérias sobre o enraizamento e crescimento de clones de eucalipto em diferentes condições de propagação clonal. **Revista Árvore**, v.31, n.5, p.813-821, 2007.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, nº 2, p. 176-177, 1962.

MARCUZZO, L. L.; RIBEIRO, A. S.; MOURA, A. B. Efeitos da microbiolização de sementes sobre o crescimento de aveia branca e o fungo *Drechslera avenae*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES. **Anais...** Pelotas: DFs/FAEM/UFPel. CD-ROM. 2000.

MARTÍNEZ-MORALES, L.; SOTO-URZUA, L.; BACA, B.; SANCHEZ-AHEDO, J. Indole-3-butyric acid (IBA) production in culture medium by wild strain *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 228, p.167-173, 2003.

MIRANDA, J. E.; FERREIRA, A. C. B. Contra-ataque. **Caderno Técnico Cultivar**, Pelotas, p. 7-10, 2005.

MONNERAT, R. G.; BATISTA, A. C.; MEDEIROS, P. T.; MARTINS, E.; MELATTI, V.; PRAÇA, L.; DUMAS, V.; DEMO, C.; GOMES, A. C.; FALCÃO, R.; BERRY, C., Characterization of brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**, v. 41: p. 291 – 295, 2007.

MONNERAT, R. G.; SANTOS, R.; BARROS P.; BATISTA, A.; BERRY, C. **Isolamento e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* endofíticas de algodão**. Brasília:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 4 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Comunicado Técnico, 98), 2003.

NEVES, D. M. S.; MOURA, A. B.; SANTOS, A. S. Efeito PGPR de *Pseudomonas marginalis* em cebola. **Summa Phytopatologica**, Jaboticabal, v. 27, n.1, 119 p., 2001.

NOWAK, J. Review benefits of *in vitro* "biotization" of plant tissue cultures with microbial inoculants. **In vitro Cellular and Developmental Biology of Plant**. Largo, v.34, n.2, p.122-130, 1998.

OLIVEIRA, A.L.M.; STOFFELS, M.; SCHMID, M.; REIS, V.M.; BALDANI, J.I. & HARTMANN, A. Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. **European Journal Soil Biology**., 45:106-113, 2009.

PERBONI, A. T. **Desempenho de plantas de canola originadas de sementes microbiolizadas com bactérias promotoras de crescimento**. (Tese de doutorado). Universidade Federal de Pelotas: Pelotas/RS, 99 p. 2014.

PEREIRA, L. G. B. **Dossiê Técnico: Táticas de Controle da Lagarta-do-Cartucho do Milho *Spodoptera frugiperda***. Belo Horizonte: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC). 28 p. 2007

PERTRY, I.; VACLAVIKOVA, K.; DEPUYDT, S.; GALUSZKA, P.; SPICHAL, L.; TEMMERMAN, W.; STES, E.; SCHMULLING, T.; KAKIMOTO, T.; VAN, M. M. Identification of *Rhodococcus fascians* cytokinins and their modus operandi to reshape the plant. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, p. 929-934, 2009.

PING, L.; BOLAND, W. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. **Trends in Plant Science**, London, v. 9, p. 263-266, 2004.

PRAÇA, L. B.; GOMES, A. C. M. M.; CABRAL, G.; MARTINS, E. S.; SUJII, E. R.; MONNERAT, R. G. Endophytic colonization by brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage seedlings grown *in vitro*. **Bt Research**, v. 3, n. 3 , p. 11-19, 2012.

PRAKAMHANG, J.; MINAMISAW, K.; TEAMTAISON, K.; BOONKERD, N. & TEAUMROONG, N. The communities of endophytic diazotrophic bacteria in cultivated rice (*Oryza sativa* L.). **Applied Soil Ecology**., 42:141-149, 2009.

RAASCH, L. D.; BONALDO, S. M.; OLIVEIRA, A. A. F. *Bacillus subtilis*: enraizamento e crescimento de miniestacas de eucalipto em Sinop, norte de Mato Grosso, Brasil. **Bioscience Journal**, , v. 29, Supplement 1, p. 1446-1457, 2013

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1049-1054, 2006.

SAKIYAMA, C. C. H. **Colonização de *Coffea arabica* L. por bactérias endofíticas promotoras de crescimento.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. (Tese de doutorado). 80 p., 2001.

SANTANA, F. S. C. ***Bacillus thuringiensis* como endofíticos em algodão: avaliação na promoção de crescimento e controle de *Spodoptera frugiperda*.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (Dissertação de Mestrado). 99 p, 2014.

SPAEPEN, S.; VANDERLEYDEN, J.; REMANS, R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism plant signaling. **FEMS Microbiology Reviews**, Malden, v. 31, n. 4, p. 425-448, 2007.

SPAEPEN, S.; VAN DURME, J.; DAS, F.; MAURER-STROH, S.; ROUSSEAU, F.; SCHYMKOWITZ, J.; VANDERLEYDEN, J. Brominated phenols as auxin-like molecules. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 81-87, 2009.

STIRLING, G. R. Mass production and release of biological control agents. In: Stirling, G. R. Biological control of plant parasitic nematodes - Progress, problems and prospects. **Red Wood Press. Mekshom**, p. 125-165. 1991.

STURZ, A. V. & NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, n.15, p. 153-190, 2000.

SUBRAHMANYAN, P., REDDY, M. N; RAO, A.S. **Exudation of certain organic compounds from seeds of groundnut. Seed Science and Technology.** v. 11, p. 267-272. 1983.

SCHLINDWEIN, G.; VARGAS, L. K.; LISBOA, B. B.; AZAMBUJA, A. C.; GRANADA, C. E.; GABIATTI, N. C.; F.; PRATES, F; STUMPF, R. **Influência da inoculação de rizóbios sobre a germinação e o vigor de plântulas de alface.** *Ciência Rural*, v.38, n.3, p.658-664, 2008.

TEIXEIRA, D. A.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; FERREIRA, E. M.; SIQUEIRA, L.; MAFFIA, L. A.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n.1, p.118-123, 2007.

VERMA, S. C.; LADHA, J. K.; TRIPATHI, A. K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. **Journal of Biotechnology**, v.91, p.127-141, 2001.

WANG, G. H.; JIN, J.; XU, M. N.; PAN, X. W.; TANG, C. Inoculation with phosphate-solubilizing fungi diversifies the bacterial community in rhizospheres of maize and soybean. **Pedosphere**, Beijing, v. 17, n. 2, p. 191-199, 2007.