

BRUNA CAROLINA SERAFIM TECKIO

**COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS COM *Bacillus thuringiensis* E CUSTO “ON FARM” PARA O CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS
NA CULTURA DO ALGODÃO**

**TANGARÁ DA SERRA/MT - BRASIL
2023**

BRUNA CAROLINA SERAFIM TECKIO

COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS COM *Bacillus thuringiensis* E CUSTO “ON FARM” PARA O CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS NA CULTURA DO ALGODÃO

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a D.Sc. Mônica Josene Barbosa Pereira

Coorientadora: Prof.^a D.Sc. Cleci Grzebieluckas

**TANGARÁ DA SERRA/MT - BRASIL
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

- T255c TECKIO, Bruna Carolina Serafim.
Compatibilidade de Produtos Fitossanitários com *Bacillus Thuringiensis* e Custo “On Farm” para o Controle de Lepidópteros na Cultura do Algodão / Bruna Carolina Serafim Teckio - Tangará da Serra, 2023.
65 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)
- Trabalho de Conclusão de Curso
(Dissertação/Mestrado) - Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Interdisciplinar em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, Faculdade de Ciências Agrárias, Biológicas, Engenharia e da Saúde, Câmpus de Tangará da Serra, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2023.
Orientador: Mônica Josene Barbosa Pereira
Coorientador: Cleci Grzebieluckas
1. Bactéria Entomopatogênica. 2. *Spodoptera Frugiperda*. 3. Associação de Produtos. 4. Índice Biológico. 5. Custos de Produção. I. Bruna Carolina Serafim Teckio. II. Compatibilidade de Produtos Fitossanitários com *Bacillus Thuringiensis* e Custo “On Farm” para o Controle de Lepidópteros na Cultura do Algodão: .
CDU 632.95

BRUNA CAROLINA SERAFIM TECKIO

COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS COM *Bacillus thuringiensis* E CUSTO “ON FARM” PARA O CONTROLE DE LEPIDÓPTEROS NA CULTURA DO ALGODÃO

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 23 de Fevereiro de 2023

Banca Examinadora



Documento assinado digitalmente
MONICA JOSENE BARBOSA PEREIRA
Data: 11/01/2024 23:18:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a D.Sc. Mônica Josene Barbosa Pereira
Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Tangará da Serra
(Orientadora)



Documento assinado digitalmente
HILTON MARCELO DE LIMA SOUZA
Data: 08/01/2024 10:20:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.º D.Sc. Hilton Marcelo de Lima Souza
Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Tangará da Serra
(membro interno)



Documento assinado digitalmente
LUIZ PANHOCA
Data: 12/01/2024 10:13:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.º D.Sc. Luiz Panhoca
Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba
(membro externo)

**TANGARÁ DA SERRA/MT - BRASIL
2023**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu marido Matheus, que sempre me apoiou e me deu forças para continuar, também gostaria de dedicar ao Dr. Jose Eduardo que me apoiou nessa caminhada, e principalmente agradeço a Deus e a minha orientadora.

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado de Mato Grosso-UNEMAT e ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola (PPGASP) pela oportunidade de realizar o mestrado.

À minha querida orientadora Prof. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira pela orientação, dedicação a pesquisa, humildade e principalmente por sua paciência, toda minha gratidão e admiração.

À minha coorientadora Prof. Dra. Cleci, agradeço a dedicação e apoio.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Controle Biológico Grupo ABC agrícola, por toda ajuda, apoio, amizade e aprendizado, todos, sem exceção! Não deixarei escrito aqui nomes, para não cometer o erro de esquecer de alguém. Obrigada pelas risadas, apoio e companhia!

“É melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

Theodore Roosevelt

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13
Toxicidade da associação de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner) com produtos fitossanitários em <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodão	17
Custos da produção <i>on farm</i> de <i>Bacillus thuringiensis</i> para o controle de lepidópteros pragas	47
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66

RESUMO GERAL

O complexo de lagartas é um fator limitante na cultura do algodão, devido aos danos causados nas estruturas reprodutivas. Uma alternativa para o manejo destas pragas é a aplicação de bactérias entomopatogênicas, produzidas em larga escala nas propriedades rurais ("on farm"). No entanto, apesar de grandes grupos de *commodities* agrícolas aderirem, exponencialmente, a este tipo de produção, as informações inerentes à sua viabilidade são limitadas. Além disso, a efetividade deste manejo depende de estudos de compatibilidade das bactérias em associação com os produtos fitossanitários, utilizados durante a condução da cultura. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a toxicidade da associação de *Bacillus thuringiensis* (Bt) com os produtos fitossanitários comumente utilizados, na cultura do algodão, no controle de *Spodoptera frugiperda* e, avaliar o custo da produção on farm de *B. thuringiensis* para o controle de lepidópteros-praga. Para a compatibilidade *in vitro*, avaliou-se 19 produtos fitossanitários associados com Bt sobre o crescimento vegetativo e reprodutivo da bactéria (Índice Biológico). Os tratamentos considerados compatíveis foram utilizados nos bioensaios de laboratório (dieta artificial e folhas de algodão), semi-campo e campo, empregando lagartas de 2º ínstar de *S. frugiperda*. O estudo de análise de custos da produção "on farm", baseou-se na mensuração dos custos de implantação e manutenção de uma biofábrica com capacidade de produção anual de 360 mil litros, tendo sido considerado o inseticida comercial Metilcarbamato de oxima, para fins comparativos. Nos testes *in vitro*, constatou-se que os princípios ativos Diafentiurom, Acetamiprido e Metilcarbamato de Oxima apresentaram compatibilidade com *B. thuringiensis*. Os tratamentos Bt + Acetamiprido, Bt + Espinoteram e Bt + Metilcarbamato, resultaram em mais de 70% de mortalidade das lagartas alimentadas com dieta artificial. Tanto no experimento de semi-campo, quanto de campo, Bt + Metilcarbamato de Oxima resultou em uma mortalidade acima de 90% de *S. frugiperda*, após 2 dias de exposição. Quanto à produção "on farm" de Bt, verificou-se que essa é viável economicamente, pois gera uma redução de custos de 43,37%, em relação, ao Metilcarbamato de oxima. Ademais, as aplicações de Bt produzido "on farm" proporcionaram uma redução de 54%, em comparação, ao comercial em razão da necessidade de aplicação de maior quantidade deste produto por hectare. Desta forma, concluiu-se que o Metilcarbamato de oxima pode ser usado associado com Bt no manejo de *S. frugiperda* no algodão e que a produção "on farm" da bactéria em estudo, é viável do ponto de vista econômico para o controle de lepidópteros-praga para a cultura supracitada.

Palavras-chave: Bactéria Entomopatogênica, *Spodoptera frugiperda*, Associação de Produtos, Índice Biológico, Custos de Produção.

ABSTRACT GENERAL

The caterpillar complex is a limiting factor in cotton cultivation, due to the damage caused to reproductive structures. An alternative for managing these pests is the application of entomopathogenic bacteria, produced on a large scale on rural properties ("on farm"). However, despite large groups of agricultural commodities exponentially adopting this type of production, the information inherent to its viability is limited. Furthermore, the effectiveness of this management depends on compatibility studies of the bacteria in association with the phytosanitary products used during the culture. Therefore, the objective of this research was to evaluate the toxicity of the association of *Bacillus thuringiensis* (Bt) with phytosanitary products commonly used in cotton cultivation, in the control of *Spodoptera frugiperda* and, to evaluate the cost of on-farm production of *B. thuringiensis* for the lepidopteran pest control. For *in vitro* compatibility, 19 phytosanitary products associated with Bt were evaluated on the vegetative and reproductive growth of the bacteria (Biological Index). The treatments considered compatible were used in laboratory bioassays (artificial diet and cotton leaves), semi-field and field, using 2nd instar caterpillars of *S. frugiperda*. The cost analysis study of "on farm" production was based on measuring the costs of implementing and maintaining a biofactory with production capacity annual volume of 360 thousand liters, with the commercial insecticide Oxime Methylcarbamate being considered for comparative purposes. In *in vitro* tests, it was found that the active ingredients Diafentiuron, Acetamiprid and Oxima Methylcarbamate were compatible with *B. thuringiensis*. The treatments Bt + Acetamiprid, Bt + Espinoteram and Bt + Methylcarbamate resulted in more than 70% mortality of caterpillars fed with an artificial diet. In both semi-field and field experiments, Bt + Oxima Methylcarbamate resulted in mortality above 90% of *S. frugiperda*, after 2 days of exposure. As for the "on farm" production of Bt, it was found that this is economically viable, as it generates a cost reduction of 43.37%, in relation to oxime methylcarbamate. Furthermore, applications of Bt produced "on farm" provided a 54% reduction, in comparison, to the commercial one due to the need to apply a greater quantity of this product per hectare. Thus, it was concluded that oxime methylcarbamate can be used in association with Bt in the management of *S. frugiperda* in cotton and that the "on farm" production of the bacteria under study is viable from an economic point of view for the control of lepidoptera-plague for the aforementioned culture.

Keywords: Entomopathogenic Bacteria, *Spodoptera frugiperda*, Product Association, Biological Index, Production Costs.

INTRODUÇÃO GERAL

O algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma cultura de importância socioeconômica, em virtude de subprodutos como fibra, caroço e óleo (DANIEL et al., 2021). De acordo com o *United States Department of Agriculture* (USDA), o Brasil é o quarto maior produtor mundial de algodão (MEYER, 2022), tendo produzido na safra 2021/22, 3,98 milhões de toneladas. Nesse cenário, a região Centro-Oeste detém grande representatividade, por concentrar 70,58% da produção de algodão do país (CONAB, 2022). No entanto, tal cultura é constantemente ameaçada por problemas fitossanitários, tendo como exemplo, o complexo de lepidópteros-praga (MIRANDA, 2010).

Na cultura do algodão, as lagartas se alimentam das estruturas reprodutivas das plantas, principalmente, botões e maçãs, impactando diretamente na produção de fibra e caroço (BÉLOT; VILELA, 2020). Dependendo da infestação, as lagartas podem danificar até cerca de 70% dos botões florais e 63% das maçãs (SANTANA, 2020), sendo o controle fundamental para garantir a produtividade e evitar prejuízos econômicos aos produtores.

Via de regra, o controle químico é o mais utilizado, destacando-se os princípios ativos metomil, lufenuron, tiodicarbe, flubendiamida e espinosade (BELLETTINI et al., 2011; ATTALLAH; ABDELWAHED; ABO-ALY, 2017) como os mais pulverizados, embora existam mais 78 produtos registrados para a cultura, no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (AGROFIT, 2022). Economicamente, os custos para aplicações de ingredientes químicos são altos, somente para o controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), uma praga em expansão no algodão, o Brasil gasta aproximadamente US\$ 600 milhões a cada ano (ONU NEWS, 2017).

Para reduzir custos de aplicação e otimizar o manejo da cultura de forma viável ao produtor, tornou-se comum a prática da mistura de tanque, com instrução normativa publicada pelo MAPA, no ano de 2017 (MAPA, 2017). Todavia, para aderir a esta ferramenta é necessário avaliar a compatibilidade entre os diferentes produtos e, sobretudo, sua eficácia quando em mistura (GAZZIERO, 2015). Essa necessidade passa a ser ainda mais evidente quando se trata da mistura de produtos químicos com bioinseticidas, principalmente, a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) (ROSSI-ZALAF et al., 2008).

Embora a compatibilidade biológica e seu efeito no controle de pragas seja complexo de avaliar (VEIGA, 2014), o efeito da interação dos produtos e os entomopatógenos pode variar em função da espécie/linhagem do microrganismo, da natureza química dos produtos e das doses utilizadas (PINTO et al., 2012; AMIZADEH et al., 2015). Os estudos de compatibilidade de defensivos químicos com bioinseticidas são normalmente conduzidos *in vitro*, através da avaliação do crescimento vegetativo ou a sobrevivência do microrganismo, para posteriormente, serem efetuados sobre a praga-alvo, em condições de laboratório, semi-campo e campo (RIBEIRO et al., 2012).

Além disso, a necessidade de análise da compatibilidade entre produto químico e Bt decorre de três premissas. A primeira pela vantagem da utilização de *B. thuringiensis* nas culturas, em decorrência do amplo espectro de ação com alta especificidade a determinados grupos de insetos, efeito não poluente ao meio ambiente, inocuidade aos mamíferos, invertebrados e ausência de toxicidade às plantas e ainda, por possuir um baixo risco de seleção de indivíduos resistentes (BECHELENI; CAMPOLINO, 2017; ARANA et al., 2019).

Segundo, pela grande quantidade de produtos à base de Bt disponíveis no mercado. No Brasil, de acordo com o MAPA (AGROFIT, 2022), existem 38 produtos à base de *B. thuringiensis* para o controle de pragas agrícolas, incluindo *S. frugiperda* (MONNERAT et al., 2018). Dada esta expansão, o comércio mundial de bioinseticidas representa uma parcela de 5% do mercado total de proteção de cultivos, com um valor aproximado de US\$ 3 bilhões em todo o mundo (DAMALAS; KOUTROUBAS, 2018). Desse montante, cerca de 90%, apresentam a bactéria *B. thuringiensis* como ingrediente ativo (KUMAR; ARCHANA, 2015), a qual pode ser produzida através de fermentação submersa descontínua ou batelada (HURTADO, 2004).

Por fim, o crescente aumento da produção de Bt no sistema “on farm” (ALMEIDA; LEITE, BATISTA FILHO, 2019) justifica a necessidade de se testar a compatibilidade deste bioinseticida com produtos químicos convencionais. A produção de Bt “on farm” consiste na multiplicação de cepas bacterianas dentro da propriedade, para uso próprio. Estudos comprovam que as bactérias produzidas neste sistema são tão efetivas no controle de pragas quanto os produtos comerciais de mesmo princípio ativo e com menor custo (ABREU; HOVIDA; CONTE, 2015; SANTOS; DINNAS; FEITOZA, 2020). Ou seja, utilizar *B. thuringiensis* da produção própria, de certa forma, permite ao produtor uma independência do mercado de

biológicos, reduzindo assim os custos de aquisição desses produtos (SANTOS; DINNAS; FEITOZA, 2020), que pode alcançar até 80% (AVILA et al., 2021).

Todavia, essa afirmativa abre precedentes, pois para a sua efetivação é necessário investir em infraestrutura e equipamentos adequados, contar com uma assistência técnica qualificada para desenvolvimento de toda a produção, como escolha apropriada do sistema, do meio de cultura, dos protocolos de multiplicação, conhecimento das peculiaridades do microrganismo a ser multiplicado, rigidez no controle de qualidade e mão de obra para a aplicação em campo (SANTOS; DINNAS; FEITOZA, 2020). Ou seja, para mensurar de forma assertiva a redução dos custos com aplicação de Bt produzidos “on farm” é necessário que o agricultor estime os custos com implementação, manutenção, matéria-prima, além de gastos fixos e variáveis (SANTOS et al., 2012).

Portanto, considerando os danos ocasionados por lepidópteros-praga na cultura do algodão e os desafios ligados ao manejo desse complexo, desde o uso incorreto dos defensivos agrícolas a erros na mistura de tanque, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a compatibilidade da bactéria com inseticidas e relacionar isso com a viabilidade econômica. Para a apresentação dos dados foram elaborados dois artigos: o primeiro intitulado “Toxicidade de *B. thuringiensis* em associação com produtos fitossanitários sobre *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodão” cujo objetivo foi avaliar a compatibilidade de produtos fitossanitários em associação com *B. thuringiensis* na cultura do algodão. Já, segundo artigo tencionou mensurar o custo da produção “on farm” da bactéria entomopatogênica para o controle de lepidópteros-praga em comparação com inseticida comercial químico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. A. S. de.; ROVIDA, A. F. S.; CONTE, H. Controle biológico por insetos parasitoides em culturas agrícolas no Brasil: Revisão de literatura. **Revista Uningá Review**, v. 22, n. 2, p.22-25, 2015.

AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: Acesso em: 02 mai. 2022.

ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A. Entomopathogenic Fungi. *In*: SOUZA, B.; VÁZQUEZ, L. L.; MARUCCI, R. C. (Eds.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems**. Switezerland: Springer Cham, 2019. p. 223-233.

AMIZADEH, M. *et al.* Compatibility and interaction between *Bacillus thuringiensis* and certain insecticides: perspective in management of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 25, n. 6, p. 671-684, 2015.

ARANA, J. S. *et al.* Avaliação de métodos de ativação do inóculo sólido de *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, para uso em fermentação semissólida. **Revista Engenharia e Tecnologia Aplicada-UNG-Ser**, v. 3, n. 1, p. 39-48, 2019.

ATTALLAH, E. R.; ABDELWAHED, M. H.; ABO-ALY, M. M. Development, and validation of multi-residue method for determination of 412 pesticide residues in cotton fiber using GC-MS/MS and LC-MS/MS. **The Journal of The Textile Institute**, v. 109, n. 1, p.46-63, 2017.

AVILA, G. M. de. A. *et al.* Use of efficient microorganisms in agriculture. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. e40610817515, 2021.

BECHELENI, F. R. C.; CAMPOLINO, M. L. Aplicação Biotecnológica da bactéria *Bacillus thuringiensis* no controle biológico da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda*. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 5, n. 1, 2017.

BELLETTINI, S. *et al.* Inseticidas no controle da lagarta militar *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) no algodoeiro. *In*: Congresso Brasileiro de Algodão, 8., 2011, Campina Grande. **Anais [...]** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2011. p. 205-209.

BÉLOT, J. L.; VILELA, P. M. C. A. **Manual de boas práticas de manejo do algodoeiro em Mato Grosso**. 4. ed. Cuiabá: IMA-MT, 2020. 337p.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 10 ago. 2022.

DAMALAS, C. A.; KOUTROUBAS, S. D. Current status and recent developments in biopesticide use. **Agriculture**, v. 8 n. 13, p.2-6, 2018.

DANIEL, D. F. *et al.* Aptidão Agroclimática para a Cultura do Algodão em Três Municípios do Estado de Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 36, n. 2, p. 257-270, 2021.

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

HURTADO, G. B. La producción de ingredientes activos con *Bacillus thuringiensis*. *In*: BRAVO, A.; CERON, J. ***Bacillus thuringiensis* en el control biológico**. Bogotá: Buena Semilla, 2004. p. 233-273.

KUMAR, S.; ARCHANA S. Biopesticides: present status and the future prospects. **Journal of Fertilizers & Pesticides**, v. 6, n. 2, p.100-129, 2015.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 148, de 26 de dezembro de 2017**. Diário oficial da união, n.1, p.5, 2017.

MEYER, L. Cotton Sector at a Glance. **Economic Research Service - Department of Agriculture (USDA)**. Disponível em:

<<https://www.ers.usda.gov/topics/crops/cotton-and-wool/cotton-sector-at-a-glance/>>.

Acesso em: 10 ago. 2022.

MIRANDA, J. E. **Manejo integrado de pragas do algodoeiro no cerrado brasileiros**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2010. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 131).

MONNERAT, R. *et al.* **Produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* para uso na agricultura**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2018. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 360).

ONU NEWS. **África Austral adota plano para combater lagarta de “grande poder destrutivo”**, 17 fev. 2017. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2017/02/1577661>>. Acesso em: 30 set. 2022.

PINTO, L. *et al.* *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 2, p. 618-626, 2012.

RIBEIRO, L. P. *et al.* Compatibility of *Beauveria bassiana* commercial isolate with botanical insecticides utilized in organic crops in southern Brazil. **Biological Agriculture & Horticulture**, v. 28, n. 4, p. 223-240, 2012.

ROSSI-ZALAF, L. S. *et al.* Interação de micro-organismo com outros agentes de controle de pragas e doenças. *In*: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Eds.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba, SP: FEALQ, 2008. p. 279-302.

SANTANA, D. R. S. **Competição intra e interespecífica de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus danos na cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. 2020. 82 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdades de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2020.

SANTOS, A.; DINNAS, S.; FEITOZA, A. Qualidade Microbiológica de bioprodutos comerciais multiplicados *On Farm* no Vale do São Francisco: Dados preliminares. **Enciclopédia Biosfera**, v. 17, n. 34, p. 429-443, 2020.

SANTOS, P. de. S. *et al.* Selection of surfactant compounds to enhance the dispersion of *Beauveria bassiana*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 3, p. 281-292, 2012.

VEIGA, A. C. P. **Compatibilidade entre produtos químicos e biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. 2014. 76 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2014.

ARTIGO 1

Toxicidade da associação de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) com produtos fitossanitários em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodão

[Biological Control]

RESUMO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga polífaga que causa sérios danos e perdas econômicas a diversas culturas como o algodão. Em Mato Grosso, a alta pressão de lagartas elevam os custos e reduz a produtividade desta cultura. Assim, na tentativa de redução dos custos com aplicações, aliado à falta de maquinários exclusivos para cada tipo de pulverização, tornou-se comum a mistura de produtos de diferentes classes químicas e/ou produtos químicos com biológicos nas propriedades rurais, principalmente biopesticidas à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt). Todavia, nota-se desconhecimento generalizado sobre a compatibilidade desses produtos com os inseticidas utilizados na cultura do algodão. Desta forma, esta pesquisa a toxicidade da associação de *B. thuringiensis* com os produtos fitossanitários comumente utilizados, na cultura do algodão, no controle de *S. frugiperda*. Inicialmente, avaliou-se a compatibilidade *in vitro*, de 19 produtos fitossanitários sobre o crescimento vegetativo, esporulação e número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de Bt. Os tratamentos considerados compatíveis foram utilizados nos bioensaios de laboratório (dieta artificial e folhas de algodão), semi-campo e campo, empregando lagartas de 2º instar de *S. frugiperda*. Nos testes *in vitro*, constatou-se que os princípios ativos Diafentiurom, Acetamiprido e Metilcarbamato de Oxima apresentaram compatibilidade com *B. thuringiensis*. Os tratamentos Bt + Acetamiprido, Bt + Espinoteram e Bt + Metilcarbamato, resultaram em mais de 70% de mortalidade das lagartas alimentadas com dieta artificial. Tanto no experimento de semi-campo, quanto de campo, Bt + Metilcarbamato de Oxima resultou em uma mortalidade acima de 90% de *S. frugiperda*, após 2 dias de exposição. Portanto, conclui-se que a mistura de Metilcarbamato de Oxima + Bt, é compatível, podendo ser indicada no manejo de *S. frugiperda* no algodão.

Palavras-chave: Controle biológico, Entomopatógenos, Lagarta-do-cartucho, Mistura de tanque

Toxicity of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) mixed with phytosanitary products on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton culture

[Biological Control]

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is a polyphagous pest that causes serious damage and economic losses to several crops such as cotton. In Mato Grosso, high caterpillar pressure increases costs and reduces the productivity of this crop. Thus, in an attempt to reduce application costs, combined with the lack of exclusive machinery for each type of spraying, it has become common to mix products from different chemical classes and/or chemical products with biological products on rural properties, mainly biopesticides based on *Bacillus thuringiensis* (Bt). However, there is widespread lack of knowledge about the compatibility of these products with insecticides used in cotton cultivation. In this way, this research investigates the toxicity of the association of *B. thuringiensis* with phytosanitary products commonly used in cotton cultivation to control *S. frugiperda*. Initially, the *in vitro* compatibility of 19 phytosanitary products was evaluated on vegetative growth, sporulation and number of Colony Forming Units (CFU) of Bt. The treatments considered compatible were used in laboratory bioassays (artificial diet and cotton leaves), semi-field and field, using 2nd instar caterpillars of *S. frugiperda*. In *in vitro* tests, it was found that the active ingredients Diafenthiuron, Acetamiprid and Oxime Methylcarbamate were compatible with *B. thuringiensis*. The treatments Bt + Acetamiprid, Bt + Espinoteram and Bt + Methylcarbamate resulted in more than 70% mortality of caterpillars fed with an artificial diet. In both semi-field and field experiments, Bt + Oxime Methylcarbamate resulted in mortality above 90% of *S. frugiperda*, after 2 days of exposure. Therefore, it is concluded that the mixture of Oxime Methylcarbamate + Bt is compatible and may be indicated for the management of *S. frugiperda* in cotton.

Keywords: Biological control, Entomopathogens, Fall armyworm, Tank mix

1. Introdução

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas para várias culturas no mundo (Kenis et al., 2023). Na cultura do algodão, os danos ocasionados por *S. frugiperda* ocorrem desde a germinação, quando as lagartas promovem o tombamento e a morte das plântulas, reduzindo assim o estande de plantas (Miranda, 2006; Barros et al., 2010; Hardke et al., 2015; Montezano et al., 2018; Overton et al., 2021). No estágio reprodutivo da cultura, as lagartas podem danificar cerca de 70% dos botões florais e 63% das maçãs, dependendo da infestação (Santana, 2020), impactando negativamente sobre a produtividade e qualidade da fibra e caroço (Bélot e Vilela, 2020).

Na cultura do algodão, o uso de misturas de produtos fitossanitários em tanque com modos de ação e alvos diferentes é uma prática comum (Gazziero, 2015). A partir da regulamentação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa, 2017), tal ferramenta prática passou a ser cada vez mais utilizada pelos produtores, dada a possibilidade de otimizar recursos e reduzir os custos envolvidos nas aplicações. Além da mistura de produtos fitossanitários (ex.: inseticidas, fungicidas, herbicidas), a associação destes com bio defensivos, vem sendo utilizada com bastante frequência no campo, principalmente, com a espécie *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Nester et al., 2002).

Formulações comerciais à base de *Bacillus* são difundidas há mais de 40 anos e são consideradas extremamente seguros com altos índices de eficiência no controle de lagartas (Nester et al., 2002). Neste sentido, Silva (2022) ao avaliar a compatibilidade entre *B. thuringiensis* e o inseticida Metomil, constatou a preservação da alta eficiência dos dois princípios ativos no controle da *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae), a Cipermetrina, por sua vez, foi incompatível devido ao baixo crescimento da colônia bacteriana. Pesquisas desse cunho são imprescindíveis, pois abrem possibilidades acerca da viabilidade da associação de produtos químicos e biológicos para o controle de outras espécies de insetos-praga.

Portanto, são de exímia relevância no Brasil, sobretudo pela adesão em expansão da produção de insumos biológicos nas propriedades agrícolas, também conhecida como produção “on farm”. De modo geral, este tipo de produção se dá quando o produtor rural multiplica os microrganismos na própria fazenda para o controle racional e sustentável de pragas e doenças no agroecossistema (Gabardo et

al., 2021). Uma das principais vantagens desse sistema, é a redução dos custos com transporte e armazenamento de defensivos convencionais (Monnerat et al., 2018). Logo, reduz os custos de aquisição desses produtos em até 80% (Santos et al., 2020; Avila et al., 2021). Além disso, o uso de insumos biológicos produzidos “on farm”, decresce os custos de produção em 58,6% e, aumenta a produtividade e rentabilidade, em 13% e 175%, respectivamente, em relação ao manejo convencional fundamentado exclusivamente em defensivos químicos (Cruvinell et al., 2022).

Sendo assim, diante da evidente carência de estudos sobre a compatibilidade de *B. thuringiensis* com produtos comumente pulverizados no manejo fitossanitário da cultura do algodão e reconhecendo que a construção deste conhecimento representa avanços na tomada de decisão do produtor na hora de realizar a mistura dos produtos químicos com o biológico, a presente pesquisa objetivou avaliar a toxicidade da associação de *B. thuringiensis* (“on farm”) com os produtos fitossanitários comumente utilizados algodão, no controle de *S. frugiperda*.

2. Material e Métodos

Todos os experimentos foram conduzidos na fazenda Santa Tereza, Campo Novo do Parecis, MT, Brasil (13°40'31" S, 57°53'31" W). O clima da região é Equatorial e Tropical Quente e Úmido (Alvares et al., 2013). Os bioensaios de laboratório, os experimentos de semi-campo (estufa telada) e campo foram conduzidos nas instalações da própria fazenda.

Inicialmente, foi estabelecido o cultivo de plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) da cultivar FM 944 GL® em vasos sob casa de vegetação. Sementes de algodão foram semeadas em bandejas de plástico contendo 200 células. Após a germinação (aproximadamente, 12 dias), as plântulas foram transplantadas, individualmente, em vasos de 5 L, os quais foram previamente preenchidos com solo do tipo Latossolo Vermelho Distroférrico. As plantas foram irrigadas diariamente e eventuais plantas daninhas foram removidas dos vasos, sempre que necessário.

2.1. Obtenção de *B. thuringiensis*

Nos bioensaios foi utilizado o isolado HD-1 (S1450) de *B. thuringiensis*, proveniente da Coleção de Microrganismos do Laboratório da Empresa Brasileira de

Pesquisa Agropecuária (Embrapa), situado em Brasília/DF. A bactéria *B. thuringiensis* foi cultivada em placas de Petri, contendo meio sólido Nutrient Agar® (HiMedia Laboratories Pvt. Ltda., Mumbai, Índia), composto por extrato de levedura (2,0 g/L), extrato de bife (1,0 g/L), peptona (5,0 g/L), cloreto de sódio (5,0 g/L) e ágar (15,0 g/L). As placas foram mantidas em câmara de incubação para o crescimento bacteriano, sob temperatura de $26\pm 1^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas, por 36 horas.

2.2. Preparação da calda à base de *B. thuringiensis*

Para o bioensaio de compatibilidade de *B. thuringiensis* com os produtos fitossanitários, a bactéria foi multiplicada em meio Embrapa líquido, cuja composição foi: extrato de levedura, KH_2PO_4 , nutriente *broth* e soluções de sais (CaCO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). O pH do meio líquido foi ajustado em 7,0 e a mistura foi autoclavada por 30 minutos a 120°C . Em seguida, 50 mL do meio líquido Embrapa foi adicionado em 2 frascos de Erlenmeyer contendo 5 mL de *B. thuringiensis*. O Erlenmeyer contendo *B. thuringiensis* foi colocado em um *shaker* durante 72 horas a 28°C e 200 RPM (Monnerat et al., 2018). Para quantificar as Unidades Formadoras de Colônias (UFC), foram feitas diluições seriadas para a contagem de esporos em câmara de Neubauer (Alves e Moraes, 1998), sendo a concentração de 3×10^8 esporos/mL, utilizada como padrão da suspensão.

2.3 Compatibilidade *in vitro* de *B. thuringiensis* com produtos fitossanitários

Foram avaliados 19 produtos fitossanitários registrados para a cultura do algodão no Brasil (Agrofit, 2022), na dose máxima recomendada pelo fabricante para a praga-alvo, na compatibilidade *in vitro* de *B. thuringiensis* (Tabela 1).

Para isso, avaliou-se o efeito desses produtos sobre o crescimento vegetativo e sobre o esporo do isolado de *B. thuringiensis* estudado. Primeiro, o meio Nutrient Agar® (NA) foi pesado em 1 litro de água destilada, e distribuído em erlenmeyer de 200 mL, sendo posteriormente autoclavado a 1 atm./ 120°C , por 30 minutos, e depois os frascos de Erlenmeyer, contendo o meio de cultura foram levados para cabine de segurança biológica.

Tabela 1. Descrição dos agroquímicos avaliados quanto a compatibilidade *in vitro* com o isolado de *B. thuringiensis*.

Trat.	Associação	Grupo Químico	Classe	Concentração de I. A
T1	Bt +Abamectina	Avermectinas	Inseticida	0,125 L
T2	Bt + Metomil	Metilcarbamato de Oxima	Inseticida	1,2 L
T3	Bt + Espinectoram	Espinosinas	Inseticida	0,120 L
T4	Bt + Diafentiurom	Feniltiouréia	Inseticida	0,800 L
T5	Bt + Clorotalonil	Isoftalonitrila	Fungicida	1,5 L
T6	Bt + Piriproxifen	Éter piridiloxipropílico	Inseticida	0,125 L
T7	Bt + Acetamiprido	Neonicotinóide	Inseticida	300 g
T8	Bt + Glufosinato	Derivado de aminoácidos	Herbicida	1,5 L
T9	Bt +Glifosato	Aminoácidos fosfonados	Herbicida	2,5 L
T10	Bt +Trifloxysulfuron sodium	Sulfoniluréias	Herbicida	0,005 kg
T11	Bt +Hidrocarbonetos parafínicos	Hidrocarboneto	Espalhante Adesivo	0,5 L
T12	Bt+ Nonilfenol etoxilado	Alquilfenol etoxilado	Espalhante Adesivo	0,2 L
T13	Bt+ Bixafem	Carboxamida	Fungicida	0,5 L
T14	Bt +Ditiocarbamatos	Ditiocarbamatos	Fungicida	1,5 L
T 15	Bt +Haloxifope-P-metilico	Ácido ariloxifenoxipropiônico	Herbicida	0,125 L
T 16	Bt+ Hidróxido de fentina	Organoestânico	Fungicida	0,4 L
T17	Bt+ Octaborato de sódio + Bt	Octaborato de Sódio	Fertilizante	0,5 L
T18	Bt +Difenoconazol	Triazóis	Fungicida	0,4 L
T19	Bt+Oxicloreto de cobre	Inorgânico	Fungicida	0,5 L
Controle	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Biológico	Biológico	1 L

Fonte: P.C.: Produto Comercial; Dose recomenda para 100 L de calda.

I.A; Ingrediente ativo.

Observação: A dose dos produtos testados foi conforme recomendação do fabricante por hectare.

Quando o meio de cultura se encontrava em estado líquido a uma temperatura de 40°C, cada i.a. foi adicionado na dose recomendada pelo fabricante para o alvo de controle. A homogeneização da mistura do meio de cultura com os produtos químicos, foi feita com o auxílio de um agitador magnético. Após a homogeneização, o meio de cultura foi vertido em placas de Petri (Ø 9 cm) e após a solidificação foram inoculadas com suspensões de células bacteriana, provenientes do pré-cultivo obtida no experimento anterior (*item 2.2*). No centro da placa, foi adicionado 5,0 µL de suspensão de *B. thuringiensis*. Após a inoculação, as placas foram acondicionadas em estufa bacteriológica por um período de quatro dias, sob condições controladas (30 ± 2 °C; 70 ± 10% RH; 12:12 h luz/escuro). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) e cada placa de petri correspondeu a uma repetição, totalizando 3 repetições por tratamento. Como tratamento controle foi utilizado o meio de cultura Nutrient Agar® sem adição de produto químico, conforme metodologia utilizada por Veiga (2014).

Ao final do quarto dia de incubação, mediu-se o crescimento vegetativo (CV), calculando-se a média do CV, de acordo com a metodologia utilizada por Alves e Moraes (1998). A medição do crescimento vegetativo das colônias em cada tratamento foi executada com o auxílio de uma régua milimétrica (Figura 1).

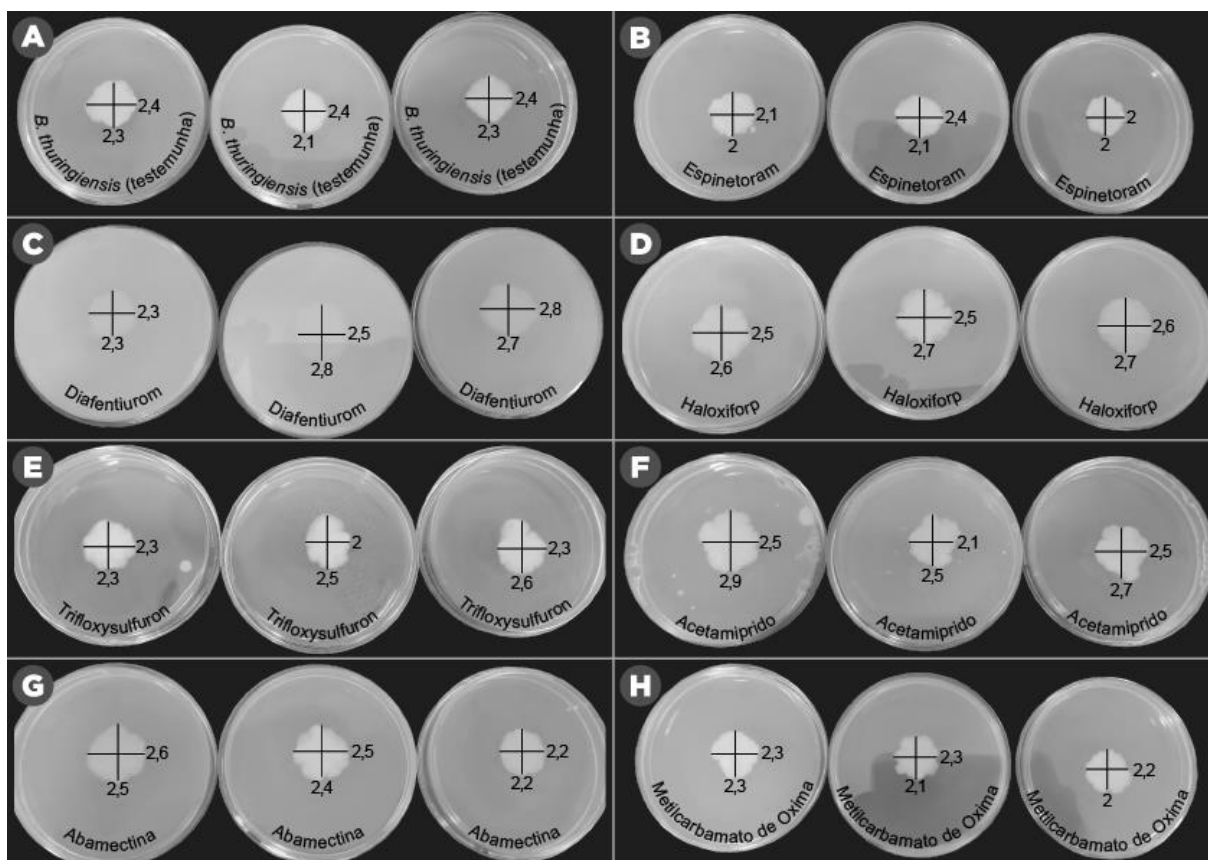


Figura 1. Crescimento vegetativo dos tratamentos que permitiram a formação da colônia bacteriana A) *B. thuringiensis* (testemunha), B) Espinetoram, C) Diafentiurom, D) Haloxiforp, E) Trifloxysulfuron, F) Acetamiprido, G) Abamectina, H) Metilcarbamato de Oxima.

Para cada tratamento com crescimento bacteriano, escolheu-se aleatoriamente uma placa e a colônia desta foi raspada e transferida para um Erlenmeyer contendo meio de cultura líquido. Em seguida, cada Erlenmeyer foi mantido em *shaker* durante 36 horas, a 200 RPM e na temperatura de 27 °C. Após esse período, realizou-se o plaqueamento para verificar a concentração de UFC da calda, nas diluições seriadas de 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} , empregando-se três repetições por tratamento. Desta forma, foi obtida uma calda proveniente de cada tratamento, as quais foram posteriormente empregadas nos bioensaios de toxicidade sobre *S. frugiperda*.

Para determinação da compatibilidade dos produtos foi utilizada a classificação de Alves et al. (1998), a qual se baseia nos valores médios da porcentagem de esporulação e crescimento das colônias de *B. thuringiensis*, para isso, aplicou-se a seguinte fórmula:

$$(T = 20 * [CV] + 80 * [ESP] / 100)$$

Onde:

T = valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para classificação do produto;

CV = porcentagem de crescimento vegetativo com relação ao controle;

ESP = porcentagem de esporulação com relação ao controle.

2.4 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em dieta artificial

Os indivíduos de *S. frugiperda* utilizados nos bioensaios foram provenientes da criação conduzida no Laboratório de Entomologia na Universidade do Estado do Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* Eugênio Carlos Stieler, Tangará da Serra, MT.

A calda de *B. thuringiensis* utilizada para composição dos tratamentos foi obtida através da raspagem das colônias de *B. thuringiensis* no primeiro bioensaio (*item 2.3*), sendo usada apenas a calda das misturas que promoveram o crescimento bacteriano (Bt + Diafentiurom, Bt + Acetamiprido, Bt + Metilcarbamato de Oxima, Bt + Espinetoram, Bt + Haloxifor, Bt + Trifloxysulfuron sodium e Bt + Abamectina). Como controle positivo foi utilizada a calda de *B. thuringiensis* e como controle negativo aplicou-se apenas água destilada.

Nos bioensaios de toxicidade, foram utilizadas lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*, conforme metodologia descrita por Gonçalves (2020). Estas foram alimentadas com dieta artificial adaptada de Greene et al. (1976), distribuída em forma de discos de 20 mm individualizados em placas de Petri (Ø 9cm). Nos discos de dieta, foram aplicados 75 µL de cada calda associada (tratamentos compatíveis) e os controles positivo e negativo. Após a aplicação, as lagartas de *S. frugiperda* foram inoculadas nos respectivos tratamentos, com o auxílio de um pincel de cerdas macias. Cada placa de Petri, contendo uma lagarta correspondeu a uma repetição, totalizando 30 repetições por tratamento.

Posterior à inoculação das lagartas, as placas de Petri foram acondicionadas em incubadora bacteriológica e mantidas sob condições ambientais controladas (25 ± 2°C, UR 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 h). A mortalidade das lagartas foi avaliada a cada 24h durante 10 dias. Foi considerada morta toda lagarta que não apresentou movimento quando tocada com pincel (Nunes et al., 2019).

2.5 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em folhas de algodão

O bioensaio de mortalidade de *S. frugiperda* em folhas de algodão tratadas com calda de *B. thuringiensis* seguiu a metodologia do bioensaio de mortalidade em dieta artificial (item 2.4). Folhas de algodão provenientes das plantas estabelecidas em casa-de-vegetação (45 dias de idade) foram destacadas do terço apical e em seguida levadas para laboratório, lavadas em água corrente e colocadas para secar durante 60 minutos. Depois de secas, as folhas foram imersas durante 10 segundos em calda de *B. thuringiensis* + associações obtidas do bioensaio *in vitro* (item 2.3) e colocadas para secar durante 60 minutos sob temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (Veiga, 2014). Em seguida, cada folha tratada foi acomodada em placa de petri (Ø 9cm), compondo os tratamentos.

O pecíolo de cada folha foi envolvido com algodão umedecido, para manter a turgidez da folha. Em seguida, uma lagarta de segundo instar de *S. frugiperda* foi transferida com o auxílio de um pincel de cerdas finas para a folha de algodão e as placas de Petri vedadas com filme plástico (PVC). A mortalidade foi avaliada conforme bioensaio anterior.

2.6 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em ambiente protegido

Plantas de algodão da cultivar FM 944 GL® foram cultivadas em vasos, nas mesmas condições do bioensaio anterior (item 2.5). Quando as plantas atingiram o estágio fenológico R3, foi feita a pulverização com a mistura de *B. thuringiensis* + produto fitossanitário para cada tratamento, utilizando-se um pulverizador costal de 20L. O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, onde cada planta consistiu em uma repetição, num total de 5 repetições por tratamento.

Neste experimento, foram selecionados os tratamentos que apresentaram os melhores resultados no controle de *S. frugiperda*, em laboratório, sendo eles: Bt + Metilcarbamato de Oxima (1,2 L/100L), Bt + Espinetoram (0,120L/100), Bt + Haloxyfop (0,125 L/100L), além dos controles positivo (Bt 1L/100L) e negativo (água). Após a secagem total das plantas (2h), 20 lagartas de *S. frugiperda* de segundo instar foram inoculadas na parte apical de cada planta (repetição) (Lima et. al., 2009).

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC) e as avaliações foram realizadas, diariamente, durante 4 dias (96 horas). Para estimar

a mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* em cada planta (repetição), registrou-se o número de indivíduos mortos, diariamente.

2.7 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em campo

No experimento à campo, foi utilizada a mesma cultivar de algodão convencional (FM 944 GL®) usada em casa de vegetação. As plantas foram cultivadas em um espaçamento de 0,80m entrelinhas, deixando-se após o desbaste, um total de 50 plantas por hectare. A área total usada para condução do experimento foi de 2.100 m² (27x78 m) (Figura 2).



Figura 2. Croqui do delineamento adotado em campo para o bioensaio de toxicidade de *B. thuringiensis* sobre lagartas de 2º instar de *S. frugiperda*.

Adotou-se o mesmo delineamento experimental e os mesmos tratamentos empregados no item 2.6. Cada parcela apresentava 9 linhas de plantas de algodão,

com 8 m de comprimento e 3,5 m de largura. As avaliações foram realizadas nas linhas centrais de cada parcela, sendo 1 linha por parcela, desprezando-se as bordaduras dos blocos. Quando necessário, as plantas foram irrigadas para permitir seu pleno desenvolvimento.

Em cada bloco, os tratamentos foram aplicados de forma aleatório e após 2 horas foi efetuada a infestação com 20 lagartas de 2º instar por repetição, totalizando 200 lagartas por tratamento. Para evitar a fuga das lagartas, bem como a ação de eventuais inimigos naturais presentes na área (predadores e/ou parasitoides) as plantas tratadas foram cobertas com uma gaiola de tecido tipo filó (1,5m x 100cm x 50cm) (Figura 3).



Figura 3. Plantas de algodão protegidas com gaiolas de filó, para evitar a fuga das lagartas. Fazenda Santa Tereza, Campo Novo do Parecis, MT, 2022.

A mortalidade das lagartas em campo, foi avaliada diariamente. Todas as plantas de cada tratamento foram inspecionadas e as lagartas que não reagiram quando tocadas com um pincel, foram coletadas e encaminhadas para Laboratório, a fim de confirmar a mortalidade. Esse procedimento foi feito durante toda a duração do experimento de campo (4 dias).

2.8 Análise dos dados

Os dados obtidos nos bioensaios foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de variâncias paramétricos de Levene. Os dados de esporulação e UFC, foram transformados para $\log x$, para corrigir a normalidade e homogeneidade de variâncias. Os dados de mortalidade diária foram utilizados para elaborar as curvas de sobrevivência pelo método Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de Log-Rank utilizando o Proc LIFETEST do software SAS® Studio 3.8 (Sas Institute, 2020). Os dados obtidos nos experimentos de ambiente protegido e campo não atenderam aos pressupostos da análise de variância, e por esta razão, foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, empregando o pacote Easyanova do software R-Studio version 4.0.2 (R Development Core Team, 2020).

3. Resultados

3.1 Compatibilidade *in vitro* de ***Bacillus thuringiensis*** com produtos fitossanitários

Houve diferença significativa entre a testemunha e as misturas testadas para as variáveis diâmetro de colônia e UFC (Tabela 2). Os maiores valores de diâmetro foram observados para os tratamentos Haloxifor, seguido de Diafentiurom, Acetamiprido e Abamectina, sendo estes os que permitiram crescimento vegetativo e esporulação de *B. thuringiensis* (Tabela 2).

De acordo os valores médios da porcentagem de esporulação e crescimento das colônias (T), os inseticidas Diafentiurom, Acetamiprido e Metilcarbamato de Oxima foram considerados compatíveis com *B. thuringiensis* ($T > 60$), não afetando o número de UFC. Os fungicidas Bixafem, Hidróxido de Fentina, Oxicloreto de cobre e

Difenoazonazol foram incompatíveis, assim como os herbicidas, com exceção do Haloxifor (Tabela 2).

Tabela 2. Médias ($\pm$ EP) dos parâmetros de crescimento *in vitro* de *Bacillus thuringiensis* após exposição aos tratamentos.

tratamentos ¹	Associação	Produto fitossanitário	Diâmetro (cm)	T	Classificação	UFC/MI.
T1	<i>Bt</i> + Abamectina	Inseticida	2,40 $\pm$ 0,1	30,05	Muito tóxico	2,07x10 ⁸ $\pm$ 9,68x10 ⁷
T2	<i>Bt</i> + Metilcarbamato de Oxima	Inseticida	2,20 $\pm$ 0,06	64,83	Compatível	1,33x10 ⁹ $\pm$ 3,33x10 ⁸
T3	<i>Bt</i> + Espinetoram	Inseticida	2,10 $\pm$ 0,08	25,89	Muito tóxico	8,33x10 ⁸ $\pm$ 5,04x10 ⁸
T4	<i>Bt</i> + Diafentiurom	Inseticida	2,57 $\pm$ 0,13	740,00	Compatível	3,53x10 ⁹ $\pm$ 2,23x10 ⁹
T5	<i>Bt</i> + Clorotalonil	Fungicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T6	<i>Bt</i> + Piriprofixem	Inseticida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T7	<i>Bt</i> + Acetamiprido	Inseticida	2,53 $\pm$ 0,12	123,12	Compatível	1,20x10 ⁹ $\pm$ 2,31x10 ⁸
T8	<i>Bt</i> + Glufosinato	Herbicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T9	<i>Bt</i> + Glifosato	Herbicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T10	<i>Bt</i> + Trifloxysulfuron sodium	Espalhante/Adesivo	2,33 $\pm$ 0,06	40,10	Tóxico	5,93x10 ⁸ $\pm$ 2,07x10 ⁷
T11	<i>Bt</i> + Hidrocarbonetos parafínicos	Espalhante/Adesivo			Muito tóxico	Não desenvolveu
T12	<i>Bt</i> + Nonilfenol etoxilado	Espalhante/Adesivo			Muito tóxico	Não desenvolveu
T13	<i>Bt</i> + Bixafem	Fungicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T14	<i>Bt</i> + Ditiocarbamatos	Inseticida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T15	<i>Bt</i> + Haloxiforp	Fungicida	2,60 $\pm$ 0,03	40,53	Tóxico	5,00x10 ⁸ $\pm$ 2,08x10 ⁸
T16	<i>Bt</i> + Hidróxido de Fentina	Fungicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T17	<i>Bt</i> + Octaborato de sódio	Fertilizante			Muito tóxico	Não desenvolveu
T18	<i>Bt</i> + Difenozonazol	Fungicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
T19	<i>Bt</i> + Oxicloreto de Cobre	Fungicida			Muito tóxico	Não desenvolveu
Controle	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Inseticida	2,30 $\pm$ 0,05	-	-	1,60x10 ⁹ $\pm$ 3,06x10 ⁸
<i>F</i> _{7,16} (Valor)			4,31**	-	-	3,01*

¹Medias seguidas por mesma letra são consideradas iguais estatisticamente pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade pelo teste f, respectivamente. UFC: Unidades Formadoras de Colônia. :T= 20 * [CV] + 80 * [ESP] / 100, valor corrigido do crescimento vegetativo e esporulação para classificação do produto. Classificação de acordo com os valores de T: 0 a 30 = Muito tóxico; 31 a 45 = Tóxico; 46 a 60 = Moderadamente tóxico; e > 60 Compatível

3.2 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em dieta

A partir dos resultados apresentados anteriormente (item 3.1) tomou-se como critério, o teste de mortalidade de *S. frugiperda* com todos os tratamentos em que houve crescimento e esporulação *B. thuringiensis*, independente da classificação. Os resultados demonstraram que a mortalidade de *S. frugiperda* diferiu entre os tratamentos em dieta artificial (Figura 4).

Nos primeiros cinco dias de observação, o tratamento *Bt* + Espinetoram já apresentou 80% mortalidade de lagartas (Figura 4A), enquanto *Bt* + Acetamiprido provocou 61% (Figura 4B) e *Bt* + Trifloxysulfuron sodium 21% (Figura 4C). Após 10 dias de observação as associações *Bt* + Acetamiprido e *Bt* + Metilcarbamato de Oxima alcançaram 80% de mortalidade (Figura 4D e 4E), seguida de tratamento *Bt* + Diafentiurom com 73% de mortalidade (Figura 4C), *Bt* + Haloxiforop com 66% (Figura 4F) e *Bt* + Abamectina 56% (Figura 4G).

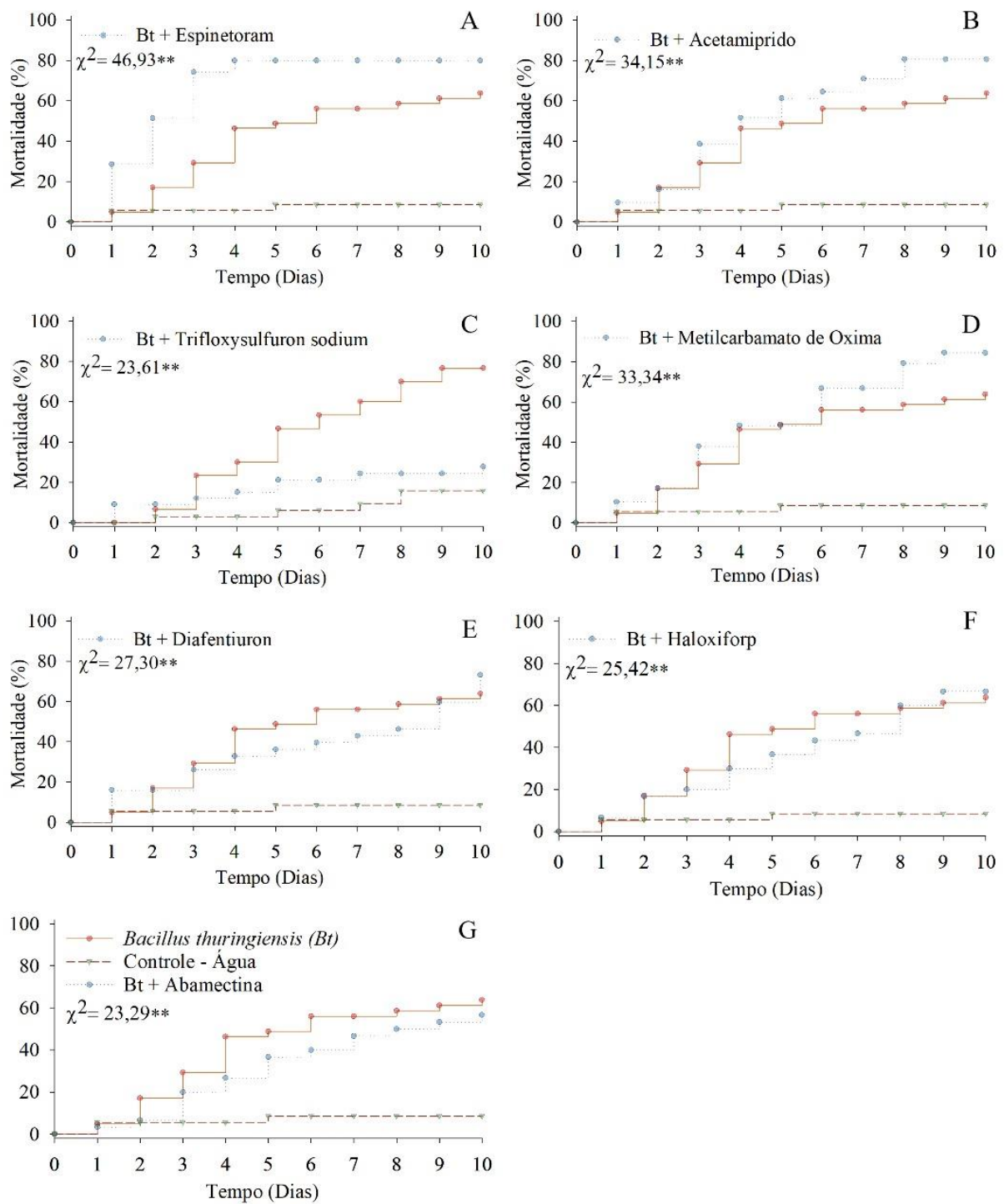


Figura 4. Curva de mortalidade de *S. frugiperda* após exposição aos tratamentos utilizando dieta A) Bt + Abamectina, B) Bt + Acetamiprido, C) Bt + Diafentiuiron, D) Bt + Espinetoram, E) Bt + Haloxiforpo, F) Bt + Metilcarbamato de Oxima, G) Bt + Trifloxysulfuron sodium. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste qui-quadrado.

3.3 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em folhas de algodão

A mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de algodão, diferiu estatisticamente entre os tratamentos (Figura 5). Após 10 dias de observação, foi 28% de mortalidade no tratamento *Bt* + Abamectina (Figura 5A), 45% nos tratamentos *Bt* + Acetamiprido (Figura 5B) e *Bt* + Diafentiurom (Figura 5C), 56% para *Bt* + Espinetoram (Figura 5D), 59% no tratamento *Bt* + Haloxifor (Figura 5E), 53% em *Bt* + Metilcarbamato de Oxima (Figura 5F) e apenas 27%; para *Bt* + Trifloxysulfuron sodium (Figura 5G).

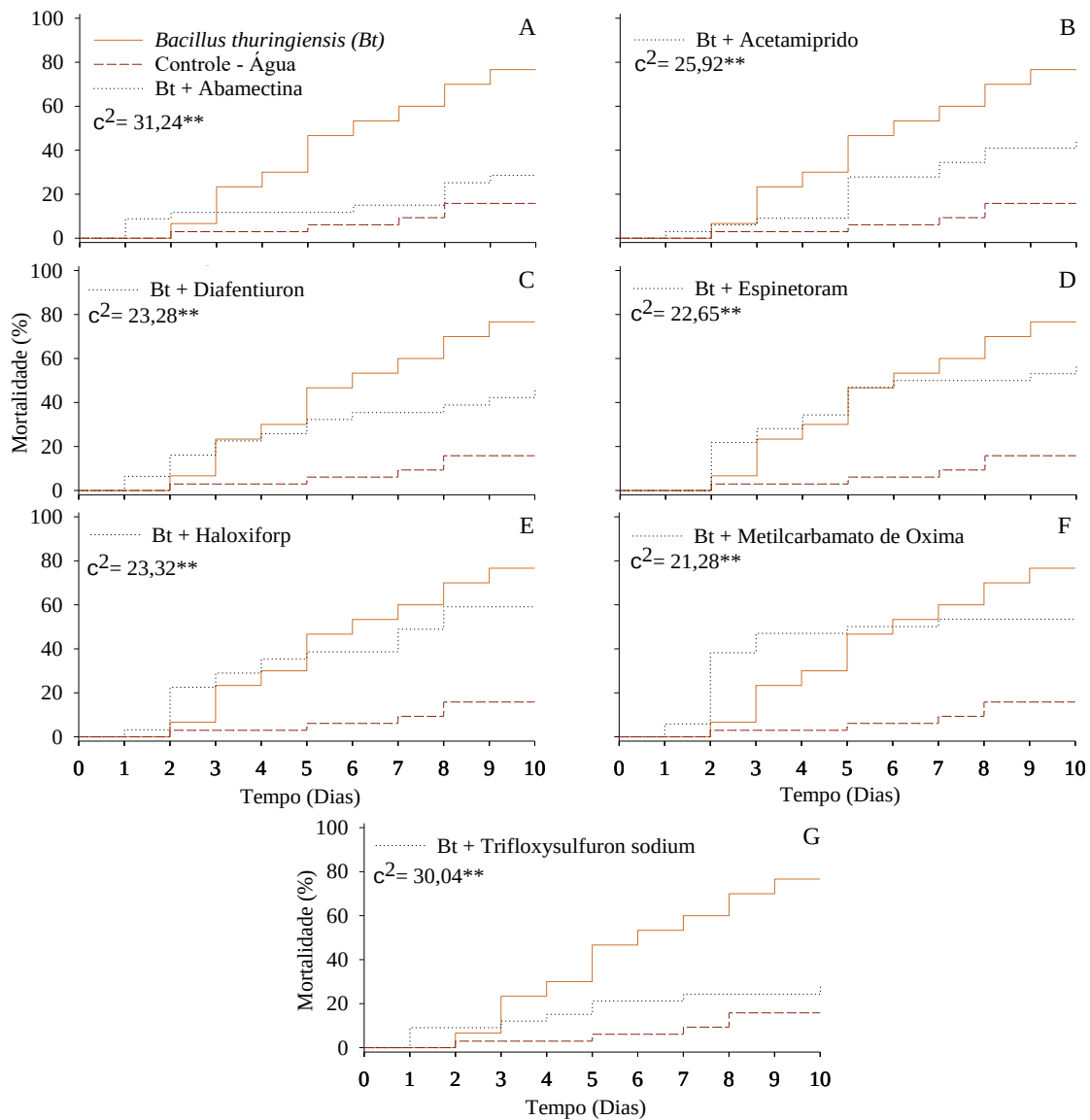


Figura 5. Curva de mortalidade de *S. frugiperda* após exposição aos tratamentos utilizando folhas destacadas de algodão A) *Bt* + Abamectina, B) *Bt* + Acetamiprido, C) *Bt* + Diafentiurom, D) *Bt* + Espinetoram, E) *Bt* + Haloxifor, F) *Bt* + Metilcarbamato de

Oxima, G) Bt + Trifloxysulfuron sodium. ** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste qui-quadrado.

Quanto aos tratamentos aplicados em dieta artificial, verificou-se que todos os tratamentos diferiram do controle negativo (água) (Figura 6A). As maiores porcentagens de mortalidade (75-90%) foram observadas para os tratamentos Bt + Diafentiurom, Bt + Metilcarbamato de Oxima, Bt + Acetamiprido e Bt + Espinetoram. Além disso, esses tratamentos não diferiram estatisticamente do controle positivo (*B. thuringiensis*), o qual causou cerca de 86% de mortalidade.

A mortalidade larval de *S. frugiperda* alimentada com folhas de algodão tratadas, diferiu significativamente entre os tratamentos. Ao final dos 10 dias de avaliação, os tratamentos *Bt* + Metilcarbamato de Oxima, *Bt* + Haloxifor, *Bt* + Espinetoram, *Bt* + Diafentiurom e *Bt* + Acetamiprido não diferiram estatisticamente entre si, com mortalidade variando de 46% a 60%. Já, os tratamentos *Bt* + Trifloxysulfuron sodium e *Bt* + Abamectina, não diferiram do controle, com mortalidade máxima de 30%.

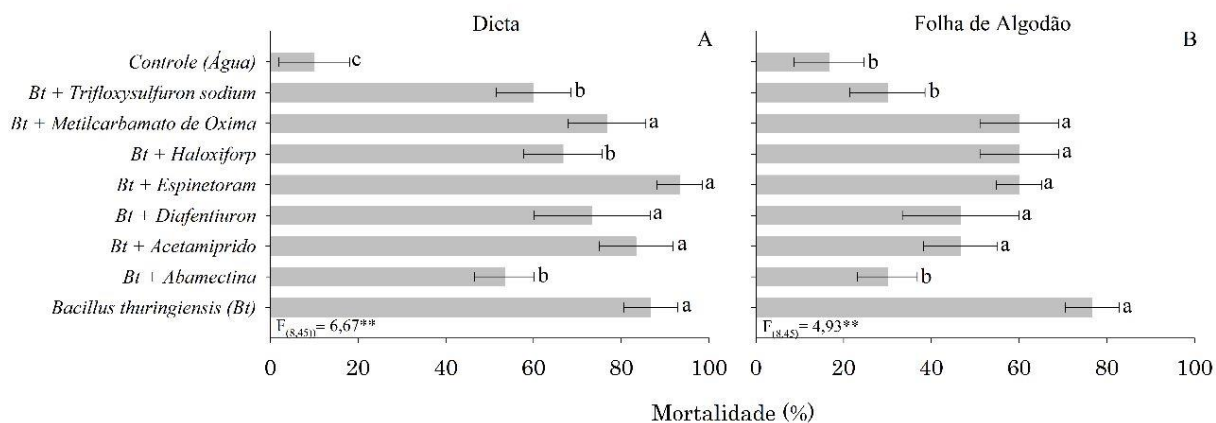


Figura 6. Percentual de mortalidade ($\pm$ EP) de *Spodoptera frugiperda* após de 10 de exposição aos tratamentos utilizando A) Folha de algodão, e B) Dieta, como substrato alimentar. Tratamentos seguidas por mesma letra são considerados iguais estatisticamente pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

3.3 Toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *S. frugiperda* em condições de ambiente protegido e campo

No experimento de ambiente protegido, constatou-se que todos os tratamentos proporcionaram elevados percentuais de mortalidade de *S. frugiperda* (Figura 7A). Os tratamentos *Bt* + Espinetoram e *Bt* + Metilcarbamato de Oxima causaram a morte de, aproximadamente, 80% e 100% das lagartas, no primeiro e segundo dias, respectivamente, diferindo estatisticamente da calda isolada de *Bt*. A associação *Bt* + Haloxiforp evidenciou 95% de mortalidade no terceiro dia e 100% no quarto dia (Figura 7 A). Vale ressaltar que os tratamentos anteriormente citados, não diferiram estatisticamente do *Bt* isolado, nos dois últimos dias de avaliação.

Os resultados obtidos no campo foram semelhantes aos de semi-campo, no entanto, a mortalidade nos tratamentos *Bt* + Espinetoram e *Bt* + Metilcarbamato de Oxima, no primeiro dia, foi de apenas 55% e 65%, respectivamente (Figura 7B). No segundo dia, tais tratamentos causaram mortalidade acima 93%, enquanto, *Bt* + Haloxiforp, no mesmo período, provocou mortalidade de 48%. Ao 3º dia, todos os tratamentos atingiram 100% de mortalidade, com exceção de *Bt* + Haloxiforp, que atingiu 100%, apenas ao quarto dia.

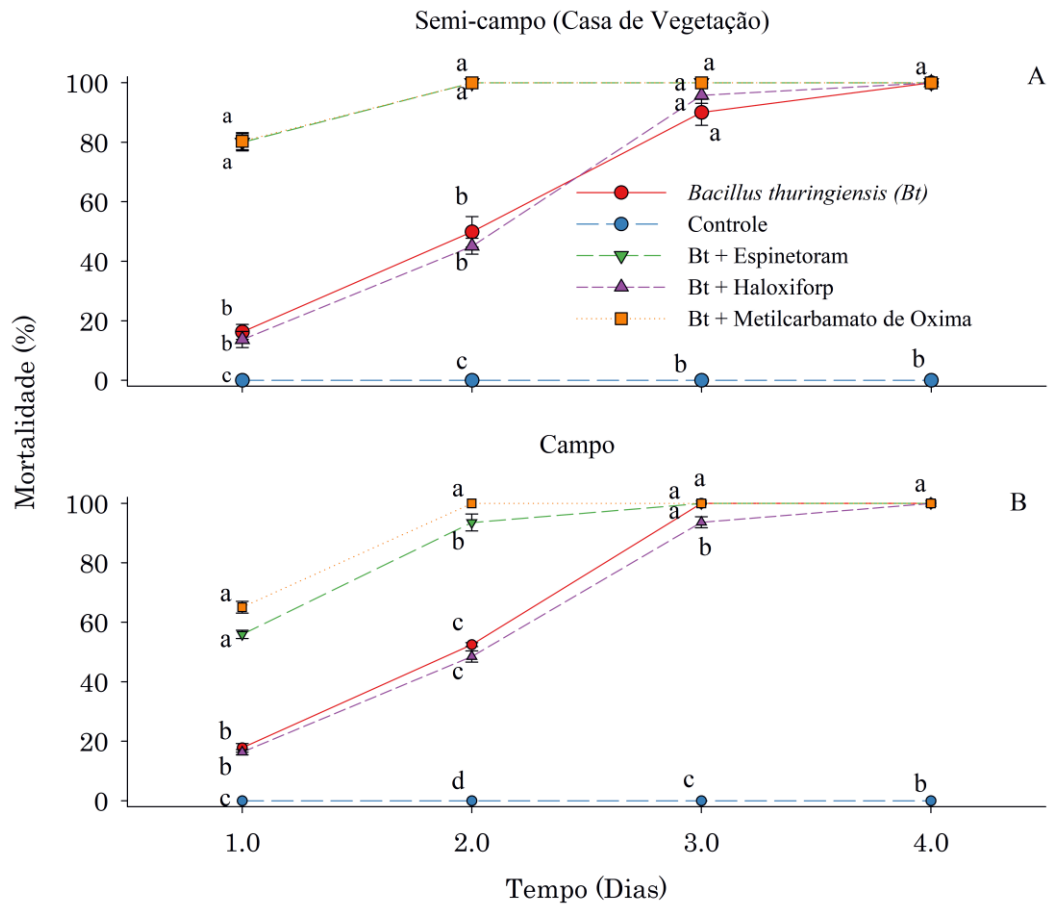


Figura 7. Percentual de mortalidade (Média $\pm$ EP) de *S. frugiperda* nos bioensaios de A) semi-campo, B) campo. Dentro de cada dia os tratamentos seguidos pela mesma letra são considerados iguais estatisticamente pelo teste Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

4. Discussão

A maioria dos produtos fitossanitários do presente estudo e que comumente são pulverizados no ciclo da cultura do algodão, foram considerados incompatíveis quando associados com *B. thuringiensis*, uma vez que apresentaram baixos valores de T (>30), na classificação de toxicidade (Tabela 2).

Todavia, é importante ressaltar que, aparentemente, tal classificação de compatibilidade não foi o melhor critério de seleção para os bioensaios *in vivo*, pois as misturas de *Bt* + Abamectina (inseticida) e *Bt* + Espinetoram (inseticida), embora tenham sido classificados como muito tóxicos (T>30), permitiram o crescimento vegetativo e a esporulação de *B. thuringiensis*, assim como a associação *Bt* + Trifloxysulfuron sodium (espalhante/adesivo) e *Bt* + Haloxiforop (fungicida), classificados como tóxicos.

É válido salientar que as doses empregadas foram as recomendadas pelo fabricante na bula comercial e, aparentemente, não apresentaram efeito inibitório ao crescimento de *Bt*. Pinto et al. (2012) observaram em seus estudos que os produtos químicos utilizados na dose recomendada não prejudicam o crescimento das colônias de *B. thuringiensis*, entretanto, em doses dez vezes maior que a recomendada, inseticidas como Tiametoxam, Malation e Fipronil inibiram o desenvolvimento da bactéria. Na ocasião, o inseticida Lambda-cialotrina foi o único que não afetou *B. thuringiensis*.

Segundo Batista Filho et al. (2001), o efeito da interação dos ingredientes ativos e os entomopatógenos pode variar em função da natureza química dos produtos e das doses utilizadas, dentre outros fatores. Assim, os incrementos no diâmetro da colônia de *B. thuringiensis* associado aos i.as. Diafentiurom, Haloxiforop, Acetamiprido e Abamectina, pode estar relacionado ao enriquecimento do meio de cultura pelos i.as ou outros componentes químicos, como compostos nitrogenados presentes no material inerte da formulação dos produtos e que podem ter sido usados pela bactéria como substrato alimentar (Veiga, 2014). Sabe-se que algumas espécies de *Bacillus* possuem a capacidade de degradar e sequestrar determinadas substâncias como carbono e nitrogênio presentes na formulação inseticida, utilizando-os para o seu crescimento e desenvolvimento (Das et al., 2003).

Morris (1997) ao estudar a compatibilidade de 27 inseticidas com *B. thuringiensis*, constatou que o princípio Metilcarbamato de Oxima foi compatível.

Nesse sentido, Abdullah (2019) também notou que a associação do bioinseticida *Bt* com clorfenapir, cipermetrina e metomil (Metilcarbamato de Oxima), não afetaram o crescimento das colônias bacterianas em testes *in vitro*, corroborando com os resultados alcançados no presente estudo.

Nos bioensaios em dieta e folha de algodão, foi observado que a mortalidade de *S. frugiperda* nos tratamentos *B. thuringiensis*, *Bt* + Acetamiprido, *Bt* + Diafentiuron, *Bt* + Espinetoram, *Bt* + Haloxifor e *Bt* + Metilcarbamato apresentaram os maiores valores. De modo geral, foi observado que houve maior mortalidade total quando utilizado dieta como substrato alimentar, em comparação, com folha de algodão. Neste caso, a preferência pela dieta fez com que as lagartas tivessem uma maior ingestão e contato com os princípios ativos. Esse resultado era esperado, uma vez que *S. frugiperda* tem maior preferência pela dieta às folhas de algodão, pois esse lepidóptero-praga apresenta um menor índice de adaptação à cultura em questão (Venturin Filho, 2023).

Os resultados dos bioensaios em laboratório foram confirmados pelos testes de ambiente protegido e de campo. Em ambos, *Bt* + Espinetoram e *Bt* + Metilcarbamato de Oxima proporcionaram os maiores valores de mortalidade nos primeiros dias de avaliação. Isso se dá pelo fato do produto Metilcarbamato ser um inseticida eficiente no controle de *S. frugiperda* (Tomquelski e Martins, 2007). Veiga (2014), obteve bons resultados de controle de *S. frugiperda*, com o uso do Espinetoram, sendo que a formulação Exalt SC® (Espinetoram) possui preservativos que evitam o ataque aos microrganismos (Knowles, 1995). O fato desse produto ter sido tóxico quando testado *in vitro*, serve de exemplo para demonstrar que nem sempre o resultado da compatibilidade *in vitro* de uma mistura, mensurado pelo crescimento vegetativo e esporulação, servirá para predizer a qualidade da atividade inseticida da mistura (Gonçalves, 2020).

Nos bioensaios de laboratório, ambiente controlado e campo, o tratamento à base de *B. thuringiensis* proporcionou um incremento de mortalidade de forma mais lenta quando comparado aos demais tratamentos. Esse fato pode estar relacionado ao seu mecanismo de ação, onde a proteína produzida pela bactéria deve ser ingerida, e após a ingestão dos cristais ocorre a solubilização desses no intestino do inseto (pH alcalino), liberando as protoxinas que são clivadas por proteases do próprio inseto, resultando em toxinas ativas. Essas toxinas são capazes de se ligar a receptores

específicos presentes nas microvilosidades das células intestinais do inseto (Bravo et al., 2007).

Espinetoram e Metilcarbamato de Oxima em mistura com o *Bt* permitiram uma maior mortalidade de *S. frugiperda* ao longo do tempo, nos bioensaios de ambiente controlado e campo. A mistura de *Bt* com o princípio Metilcarbamato de Oxima, resultou em compatibilidade e mortalidade de *S. frugiperda*. Esse resultado sugere que essa mistura tornou o controle da praga mais eficiente em comparação ao uso dos produtos de forma isolada como demonstrado no tratamento controle. Além disso, esses resultados trazem importantes desdobramentos práticos no manejo de *S. frugiperda*, pois essas associações têm potencial para serem aplicadas no manejo de populações resistentes, ao atrelar o químico com biológico, a quantidade e a frequência de inseticida aplicado serão menores e assim a população da lagarta será menos exposta ao composto químico e, conseqüentemente, a pressão de seleção será menor.

Nesse pressuposto, a adoção de produtos biológicos em programas de manejo integrado reduz a quantidade e a frequência de pulverizações com produtos químicos no sistema de cultivo convencional, caracterizado pela alta pressão de seleção das pragas (Downes et al., 2016). Em alguns casos, o efeito sinérgico da associação de *Bt* com inseticidas convencionais (ex.: *Bt* + chlorantraniliprole) pode promover uma maior toxicidade sobre a praga-alvo e ajudar a retardar a resistência em populações de insetos-praga como já constatado para a *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (Shabbir et al., 2021).

Um outro achado relevante deste estudo, é que a mortalidade em campo confirmou os índices do teste executado em ambiente protegido. Pois, como bem menciona Alves et al. (1998), os estudos *in vitro* permitem uma exposição máxima dos microrganismos ao produto químico, o que não ocorre em condições de campo, em que diversos fatores podem prejudicar o microrganismo-alvo. Dessa forma, quando um produto é considerado inócuo em laboratório, há uma maior confiança na sua seletividade no campo. Por outro lado, uma alta toxicidade em laboratório não necessariamente indica uma alta toxicidade no campo, mas sim a possibilidade de ocorrência de danos. À vista disso, os dados aqui obtidos em testes controlados são consistentes com a experiência prática em campo. Essa validação é importante para garantir que a tecnologia testada é confiável e eficaz em situações reais.

5. Conclusões

- ✓ A maioria dos produtos fitossanitários usados no manejo da cultura do algodão foram incompatíveis com *B. thuringiensis*.
- ✓ A mistura de Bt + Metilcarbamato de Oxima provocou mais de 90% de mortalidade de lagartas após 2 dias de exposição em condições de semi-campo e campo.
- ✓ Metilcarbamato de Oxima pode ser utilizado em associação com Bt para o manejo de *S. frugiperda*.

6. Referências Bibliográficas

Abdullah, R.R.H., 2019. The side effect of commonly used chemical pesticides on entomopathogenic *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* as biopesticides. Egypt. J. Plant Prot. Res. Inst. 2, 1-8.

Agrofit, 2022. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários - Consulta Aberta. https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons (acessado em 12 de setembro de 2022).

Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.de.M., Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorologische Zeitschrift. 22, 711-728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.

Alves, S.B., Moino Jr., A., Almeida, J.E.M., 1998. Produtos fitossanitários e entomopatógenos, in: Alves, SB (Ed.), Controle microbiano de insetos. Fealq, São Paulo, 217-236.

Alves, S.B., Moraes, A.S., 1998. Quantificação de inóculos de patógenos de insetos, in: Alves, S.B. (Ed.), Controle microbiano de insetos. Fealq, São Paulo, 765-777.

Avila, G.M.de.A., Gabardo, G., Clock, D.C., Lima Junior, P.S.de., 2021. Use of efficient microorganisms in agriculture. Research, Society and Development. 10, e40610817515. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i8.17515>.

Barros, E.M., Torres, J.B., Ruberson, J.R., Oliveira, M.D., 2010. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. Entomol. Exp. Appl. 137, 237-245. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2010.01058.x>.

Batista Filho, A., Almeida, J.E.M., Lamas, C., 2001. Effect of Thiamethoxam on Entomopathogenic Microorganisms. Neotrop. Entomol. 30, 437-447. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000300017>.

Bélot, J.L., Vilela, P.M.C.A., 2020. Manual de boas práticas de manejo do algodoeiro em Mato Grosso, 4 ed. IMA-MT, Cuiabá.

Bravo, A., Gill, S.S., Soberón, M., 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon. 49, 423-435. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.022>.

Cruvinell, A., Silva, T.M., Rocha, M.A.M., Azevedo, M.O., Aguilera, J.G., Bernardo, M.L.T., Bernardo, J.T., Almeida, J.E.M.de., 2022. Profitability in soybean production on the Bom Jardim Lagoano farm with on-farm biological management. Research, Society and Development. 11, e135111436112. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36112>.

Das, A.C., Chakravarty, A., Sukul, P., Mukherjee, D., 2003. Influence and persistence of phorate and carbofuran insecticides on microorganisms in rice field. Chemosphere. 53, 1033-1037. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00713-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00713-6).

Downes, S., Kriticos, D., Parry, H., Paull, C., Schellhorn, N., Zalucki, M.P., 2017. A perspective on management of *Helicoverpa armigera*: transgenic Bt cotton, IPM, and landscapes. Pest Manag. Sci. 73, 485-492. <https://doi.org/10.1002/ps.4461>.

Gabardo, G., Silva, H.L.da., Clock, D.C., 2021. "On Farm" Production of microorganisms in Brazil. Scientia Agraria Paranaensis. 20, 312-318. <https://doi.org/10.18188/sap.v20i4.28587>.

Gazziero, D. L., 2015. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. *Planta Daninha*. 33. 83-92. [https://doi.org/ 10.1590/S0100-83582015000100010](https://doi.org/10.1590/S0100-83582015000100010).

Gonçalves, K.C. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2020.

Greene, G.L., Leppla, N.C., Dickerson, W.A., 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69, 487-488. <https://doi.org/10.1093/jee/69.4.487>.

Hardke, J.T., Lorenz, G.M., Leonard, B.R., 2015. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) ecology in southeastern cotton. *J. Integ. Pest Mngmt.* 6, 10. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmv009>.

Kenis, M., Benelli, G., Biondi, A., Calatayud, P-A., Day, R., Desneux, N., Harrison, R.D., Kriticos, D., Rwomushana, I., van den Berg, J., Verheggen, F., Zhang, Y-J., Agboyi, L.K., Ahissou, R.B., Ba, M.N., Bernal, J., Bueno, A.de.F., Carrière, Y., Carvalho, G.A., Chen, X-X., Cicero, L., Plessis, H.D., Early, R., Fallet, P., Fiaboe, K.K.M., Firake, D.M., Goergen, G., Groot, A.T., Guedes, R.N.C., Gupta, A., Hu, G., Huang, F.N., Jaber, L.R., Malo, E.A., McCarthy, C.B., Meagher Jr., R.L., Mohamed, S., Sanchez, D.M., Nagoshi, R.N., Nègre, N., Niassy, S., Ota, N., Nyamukondiwa, C., Omoto, C., Palli, S.R., Pavela, R., Ramirez-Romero, R., Rojas, J.C., Subramanian, S., Tabashnik, B.E., Tay, W.T., Virla, E.G., Wang, S., Williams, T., Zang, L-S., Zhang, L., Wu, K., 2023. Invasiveness, biology, ecology, and management of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Entomologia Generalis*. 43, 187-241. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2022/1659>.

Knowles, B.H., 1994. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ -endotoxins. *Advances in Insect Physiology*. 24, 275-308. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60085-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60085-5).

Mapa, 2017. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 148, de 26 de dezembro de 2017. Estabelece critérios e procedimentos a serem adotados para recomendação de mistura em tanque de agrotóxicos e afins, e sua prescrição

em receituário agrônomo. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2018/portaria-ndeg-148-de-26-de-dezembro-de-2017>. (acessado em 12 de setembro de 2022).

Lima, M.P.L.de., Oliveira, J.V.de., Marques, E.J., 2009. Manejo da lagarta-do-cartucho em milho com formulações de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. Cienc. Rural. 39, 1227-1230. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000066>.

Miranda, J.E., 2006. Distribuição vertical de lagartas de *Spodoptera frugiperda* no algodoeiro. Embrapa Algodão. Comunicado Técnico. 277. 1-4.

Monnerat, R., Praça, L.B., Silva, E.S.da., Montalvão, S.C.L.; Martins, E.S., Soares, C.M.S., Queiroz, P.R., 2018. Produção e controle de qualidade de produtos biológicos à base de *Bacillus thuringiensis* para uso na agricultura. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos. 360. 1-32.

Montezano, D.G., Specht, A., Sosa-Gómez, D.R., Roque-Specht, V.F., Sousa-Silva, J. C.; Paula-Moraes, S.V., Peterson, J. A., Hunt, T.E., 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. African Entomology. 26, 286-300. <https://doi.org/10.4001/003.026.0286>.

Morris, O.N., 1977. Compatibility of 27 chemical insecticides with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. The Canadian Entomologist. 109, 855-864. <https://doi.org/10.4039/Ent109855-6>.

Nester, E.W.; Thomashow, L.S.; Metz, M.; Gordon, M., 2002. 100 Years of *Bacillus thuringiensis*: A Critical Scientific Assessment: This report is based on a colloquium, “100 Years of *Bacillus thuringiensis*, a Paradigm for Producing Transgenic Organisms: A Critical Scientific Assessment,” sponsored by the American Academy of Microbiology and held November 16–18, in Ithaca, New York, American Society for Microbiology, Washington.

Nunes, N.R., Ferreira, F.T.R., Thiesen, L.V., Corassa, J.N., Pitta, R.M., 2019. Linha Básica de Suscetibilidade de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera:

Noctuidae) a Benzoato de Emamectina. Entomological Communications. 1, ec01015. <https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec01015>.

Overton, K., Maino, J. L., Day, R., Umina, P. A., Bett, B., Carnovale, D., Ekesi, S., Meagher, R., and Reynolds, O.L., 2021. Global crop impacts, yield losses and action thresholds for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): A review. Crop Protection. 145, 105641. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105641>.

Pinto, L.M.N., Dorr, N.C., Ribeiro, A.P.A., Salles, S.M.de., Oliveira, J.V.de., Menezes, V.G., Fiuza, L.M., 2012. *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. Braz. J. Microbiol. 43, 618-626. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200025>.

R Development Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing.

Santana, D.R.S. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil, 2020.

Santos, A., Dinnas, S., Feitoza, A., 2020. Qualidade Microbiológica de bioprodutos comerciais multiplicados *On Farm* no Vale do São Francisco: Dados preliminares. Enciclopédia Biosfera. 17, 429-443. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/2092>.

SAS Institute, 2020. SAS user's guide. SAS Institute Cary, NC.

Shabbir, M.Z., He, L., Shu, C., Yin, F., Zhang, J., Li, Z.Y., 2021. Assessing the single and combined toxicity of chlorantraniliprole and *Bacillus thuringiensis* (GO33A) against four selected strains of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), and a gene expression analysis. Toxins. 13, 227. <https://doi.org/10.3390/toxins13030227>.

Silva, L.P.R. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil, 2022.

Tomquelski, G.V., Martins, G.L.M., 2007. Eficiência de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho na região dos chapadões. Revista Brasileira de Milho e Sorgo. 6, 26-39. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v6n1p26-39>.

Veiga, A.C.P. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2014.

Venturin Filho, J.M. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2023.

ARTIGO 2

Custos da produção on farm de *Bacillus thuringiensis* para o controle de lepidópteros pragas

[Custos e @gronegócio online]

RESUMO

A produção *on farm* é uma alternativa para a criação de inimigos naturais na própria fazenda, podendo ser fungos, vírus, bactérias e insetos. A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* é amplamente utilizada no controle de lepidópteros-praga, no entanto, são escassas as informações sobre a viabilidade da produção *on farm* desta bactéria. O objetivo da pesquisa foi avaliar o custo da produção *on farm* de *B. thuringiensis* para o controle de lepidópteros pragas e comparar com o valor de mercado do produto comercial. O estudo foi desenvolvido em uma empresa do agronegócio que produz insumos biológicos, em Campo Novo do Parecis – MT. Para atingir este objetivo foram mensurados os custos de implantação e manutenção de uma biofábrica com capacidade de produção anual de 360 mil litros, e atender a demanda de 30 mil ha. Para fins de comparação do preço, o produto comercial utilizado foi o Metil carbamato de oxima. Identificou-se que o produto *on farm* gera um custo menor de 46,37% em relação ao Metil carbamato de oxima comercializado para o mesmo fim. No entanto, quando comparadas as aplicações essa diferença atinge 54% em razão da necessidade de um volume maior do produto comercial (1,2 litro) por hectare. Com base nos resultados concluiu-se que a produção *on farm* de *B. thuringiensis* é viável economicamente e que apesar do alto investimento inicial, ele é rapidamente absorvido, uma vez que o custo de aquisição de produtos químicos comerciais é superior a 100%.

Palavras-Chave: Insumos biológicos, Metil carbamato de oxima, viabilidade da produção, biofábrica.

On farm production costs of *Bacillus thuringiensis* for the control of lepidopteran pests

ABSTRACT

Production on the farm is an alternative to the creation of natural enemies on the farm itself, which can be fungi, viruses, bacteria, and insects. The entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* is widely used in the control of lepidopteran pests, however, there is little information about the feasibility of producing this bacterium on the farm. The objective of the research was to evaluate the cost of production on the farm of *B. thuringiensis* for the control of lepidopteran pests and compare it with the market value of the commercial product. The study was developed in an agribusiness company that produces biological inputs, in Campo Novo do Parecis - MT. To achieve this objective, the costs of implementing and maintaining a biofactory with an annual production capacity of 360,000 liters were measured and meeting a demand of 30,000 ha. For price comparison purposes, the commercial product used was oxime methyl carbamate. It was identified that the product on the farm generates a lower cost by 46.37% compared to oxime methyl carbamate sold for the same purpose. However, when applications are detected, this difference reaches 54% due to the need for more commercial product 1.2 liters per hectare. Based on the results concluded, it was concluded that production on the *B. thuringiensis* farm is economically viable and that despite the high initial investment, it is quickly absorbed, since the cost of acquiring commercial chemical products is greater than 100%.

Keywords: Biological inputs, oxime methyl carbamate, production viability, biofactory

1. Introdução

Os defensivos biológicos à base de bactérias *Bacillus thuringiensis* têm sido amplamente utilizados em todo o mundo para controlar pragas que causam prejuízos econômicos, especialmente as espécies pertencentes à ordem Lepidoptera (ABBAS et al., 2022). Nos últimos anos, muitos produtores rurais têm optado por produzir biopesticida à base de *B. thuringiensis* em suas próprias fazendas, utilizando técnicas conhecidas como produção “on farm”. Essas técnicas permitem que os produtores tenham maior controle sobre a qualidade do produto e reduzam os custos de produção, contribuindo para uma agricultura mais sustentável e eficiente (LANA et al., 2019).

No Brasil, existem 38 produtos registrados à base de *B. thuringiensis* disponíveis no mercado para o controle de pragas agrícolas (AGROFIT, 2022) e o manejo de pragas por meio da aplicação desta bactéria vem se mostrando vantajoso, possibilitando ao produtor conquistar selos verdes ou orgânicos que valorizem a rentabilidade da produção de forma substancial entre outros benefícios, como maior visibilidade da empresa no mercado nacional e internacional no que tange a sustentabilidade e meio ambiente com certificados como o ISO14100 (RIEKSTIN, 2012).

As principais vantagens da utilização de *B. thuringiensis* é sua seletividade, voltada para o controle das pragas, minimizando os impactos ao meio ambiente e o risco para outras espécies, além da diminuição dos danos relacionados à saúde humana, gerando maior segurança aos trabalhadores rurais e aos consumidores finais dos produtos agrícolas (CHAGAS, 2021).

Nos últimos anos, dada a estas vantagens, o mercado de bioprodutos no Brasil aumentou de maneira exponencial. Em 2008, havia apenas um produto registrado no Brasil e em 2018, dez anos depois, já havia 52 defensivos de baixa toxicidade registrados, culminando em uma movimentação interna de cerca de R\$ 464 milhões de reais (BRASIL, 2019). Em 2020, o mercado global de produtos para controle biológico movimentou mais de cinco bilhões de dólares, e tem crescido a uma taxa de 14,4% ao ano, com expectativa de movimentação de pelo menos 8 bilhões de dólares até 2025 (ARAÚJO, 2022).

Essa grande demanda tem impulsionado a criação de “biofábricas” (ALMEIDA et al, 2019), e a produção de insumos agrícolas para uso próprio (“on farm”), sendo

uma vertente crescente dentro dos sistemas agrícolas, no qual a principal vantagem consiste na redução do custo de produção (SANTOS et al., 2020) que pode chegar a 80% (AVILA et al., 2021). Todavia, para se criar um projeto de investimento é necessário que sejam estimados os custos com implementação e manutenção, bem como separá-los em custos das matérias primas de produção industrial, gastos fixos, consumo mensal, depreciação, taxas de registro e custos de aplicação no campo (SANTOS et al. 2012; GOUVEA et al., 2014; LOPES et al., 2018). Dentre outros aspectos relevantes estão a escolha do isolado, a forma e o meio (sólido ou líquido) de multiplicação, já que estes impactam diretamente sobre os custos de produção (MASCARIN et al., 2015).

A produção de isolados em meio líquido é uma ferramenta inovadora com baixo custo de produção (JACKSON et al., 1997), visto que seus insumos são carbono, oxigênio, sais minerais e nitrogênio (MASCARIN et al., 2014). Mas, para garantir a qualidade do produto, o processo de fermentação deve ser realizado sob condições controladas de esterilidade (LANA et al., 2019). Segundo Gotti (2016) e Almeida et al. (2019), para a criação de uma indústria com capacidade de produção de 600 litros/dia de fermentação líquida, o investimento inicial em equipamentos e adequações prediais pode ultrapassar o valor de R\$ 1,5 milhão, e os custos e despesas fixas mensais R\$ 16.000,00, além do custo operacional final de R\$ 30,00 por litro de produto.

Nesse contexto, o objetivo da pesquisa foi avaliar o custo da produção “on farm” de bactéria entomopatogênica para o controle de lepidópteros pragas e comparar com o valor de mercado do produto comercial para este mesmo fim. Justifica-se o estudo em virtude da importância de conhecer os reais custos de produção e assim avaliar a melhor alternativa entre comprar um determinado produto ou fabricar dentro da própria unidade, visto que esses impactam diretamente no resultado das empresas.

2. Referencial teórico

O custo de produção representa um desafio significativo para os agricultores brasileiros (QUINTAM; DE ASSUNÇÃO, 2023). De acordo com o Plano Agrícola e Pecuário 2022/2023 durante o período de fevereiro de 2021 a fevereiro de 2022, houve um aumento perceptível nos preços de alguns insumos de produção, incluindo o Brasil, onde alguns custos em dólares de fertilizantes, petróleo e gás natural estão em níveis historicamente altos (BRASIL, 2023).

Sendo assim, dado os custos cada vez mais elevados dos produtos fitossanitários e a necessidade de atender as demandas do mercado nacional e internacional por produtos com menor impacto sobre o meio ambiente e livres de resíduos químicos nos alimentos, abriu precedentes pela busca de novas estratégias de controle de pragas e doenças, por meio do uso de biodefensivos nas lavouras (COELHO et al., 2021; FRANCISCONI; BONALDO, 2022). Desta forma, o uso de biofábricas torna-se um campo aberto para novos empreendimentos e em diferentes campos da agricultura sustentável (ALMEIDA et al., 2019), visto que os produtores buscam, cada vez mais, produzir e/ou multiplicar as cepas nas propriedades (“on farm”) para realizar o manejo de pragas (LANA et al., 2019).

Sendo assim, este tópico avalia os principais benefícios gerados pela produção “on farm”, e os motivos da adoção desta modalidade. Vários estudos apontam numa mesma direção: redução significativa nos custos do manejo de pragas em comparação aos métodos convencionais (CRUVINELL et al., 2022). Tavares (2010), demonstrou que a produção “on farm” de *Trichogramma pretiosum* Riley para controle da lagarta-do-cartucho na cultura do milho foi economicamente viável e os custos envolvidos foram menores quando comparado à aquisição deste inimigo natural em empresa especializada. Lopes, Paixão, Cruz (2018), estudaram a viabilidade econômica de uma biofábrica de *T. pretiosum* para o controle de lepidópteros pragas e concluíram que a produção é viável, com uma boa rentabilidade e uma taxa interna de retorno de 8% e um *payback* de oito meses.

Já com relação a produção de *B. thuringiensis*, uma das vantagens é a facilidade do cultivo das cepas em grandes quantidades. Hajek e Eilenberg (2018) relatam que, tomando como base fermentadores com capacidade de 50.000 litros, a produção é mais fácil e relativamente mais barata, uma vez que, todo o

desenvolvimento da cultura do microrganismo ocorre em um mesmo local e todas as fases de crescimento são no mesmo recipiente.

Em estudo recente, Cruvinell et al. (2022), observaram que a média dos custos do manejo de pragas na cultura da soja com produtos biológicos (*Trichoderma*, *Metarhizium*, *Beauveria* e *Pochonia*), ficaram menores (26,08 sacas ha⁻¹) em relação ao do manejo convencional (44,93 sacas ha⁻¹). Ainda, segundo esses autores, a diminuição do custo de produção ao empregar manejo com biológicos produzidos “on farm” trouxe como consequência o aumento significativo (175%) da rentabilidade em relação à obtida com o manejo convencional. Além disso, esse crescimento tende a ser exponencial com uma melhoria contínua em cada safra em função da redução dos custos de produção gerados pelo manejo de pragas com o uso do bio defensivos produzidos na propriedade (CRUVINELL et al., 2022).

Outros aspectos relevantes da produção destes bio defensivos é a redução na dependência do produtor ao mercado de defensivos, que em geral possuem um alto custo e pode estar sujeito a variações tanto de preço como de oferta (VILLAS BÔAS; FRANÇA, 1996); ser uma estratégia em programas de manejo de plantas transgênicas e na resistência de insetos a inseticidas (LIU et al., 2014; SOUZA et al., 2021), além da redução dos impactos negativos sobre o meio ambiente (LACEY et al., 2015; van LENTEREN et al., 2018).

Embora todos estes pontos positivos sejam levantados, a produção “on farm” de biológicos traz como desvantagem a falta de condições adequadas para a fermentação, com uso de materiais não esterilizados e fermentadores inadequados, o que gera riscos de contaminação por microrganismos não desejáveis. Tal fato pode ser prejudicial não só para a lavoura, mas principalmente aos seres humanos que estarão em contato com o produto obtido da fermentação realizada nas propriedades rurais (KHADDA, 2021; GABARDO; SILVA; CLOCK, 2021; SONI et al., 2022). Para tanto, estabelecer qualidade no processo da produção de microrganismos nas fazendas e garantir a segurança, são necessárias algumas medidas como multiplicar apenas microrganismos que sejam registrados no Ministério da Agricultura, ter acompanhamento de um profissional especializado em produção de bio insumos, além de possuir estrutura e ambiente adequados para a produção (BIAZON et al., 2019).

Assim, de modo geral pode-se considerar a produção “on farm” como uma importante ferramenta biotecnológica à disposição do produtor e possuem diversas vantagens, como diminuição de custos de fabricação, armazenagem e transporte

quando se compara à aquisição de produtos comerciais prontos (VIDAL, AMARAL et al., 2021). Além disso, a produção própria de bioinsumos minimiza a dependência do produtor por insumos muitas vezes importados, sujeitos à variação cambial, que representam impacto direto no aspecto econômico do negócio. Dessa forma, há um fortalecimento da autonomia do setor produtivo (FARIA; WANDER, 2021).

Todavia, é importante ressaltar que, a contabilidade de custos pode fornecer subsídios importantes para a execução de um projeto de produção “on farm” (CIDAV et al., 2020). Assim, a análise de viabilidade econômica é de extrema importância para o sucesso de um Projeto de investimento em ativos reais (SOUZA et al., 2020). Segundo Gollo (2017), a análise de viabilidade econômica auxilia na verificação do retorno esperado para o investimento. De acordo com Silva et al. (2019), para realizar a análise de viabilidade econômica deve-se identificar o investimento necessário, os custos de operação e manutenção e as receitas (ou economias) esperadas. Para isso, entende-se o processo estudado, converte-se monetariamente as vantagens e desvantagens, estima-se os custos de implantação, manutenção e operação, identifica-se os riscos associados, considera-se as receitas esperadas, e avalia-se os critérios econômico-financeiros do investimento (SILVA et al., 2019).

3.Material e Métodos

3.1 Local de estudo

O estudo foi realizado em uma empresa do ramo do Agronegócio no Município de Campo Novo de Parecis – MT. A produção da bactéria *B. thuringiensis* para o controle do complexo de lagartas nas culturas de algodão, soja e milho foi em meio líquido em biorreatores industriais com capacidade de 5000 litros. Na produção foram mensurados os custos de implantação e manutenção da biofábrica com capacidade de produção anual de 360.000 litros em atendimento a uma demanda de 30 mil hectares de área plantada. A título de comparação entre o preço de custo e de produção foi utilizado o inseticida Metilcarbamato de oxima, que atua via contato e ingestão, indicado para o controle de pragas através de aplicação foliar nas culturas de algodão, milho, soja, dentre outros.

3.2. Coleta de dados

Este estudo foi uma pesquisa quanti-qualitativa, que segundo Yin (2016), caracteriza-se por ser capaz de apresentar as visões e perspectivas da empresa participante. A estratégia utilizada foi o estudo de caso, que conforme Roesch (2013), permite explorar processos à medida que eles se desenrolam nas organizações. Segundo Ying (2016), o conhecimento gerado por meio de estudos de caso difere de outros tipos de pesquisa por ser mais específico, contextual e mais orientado para fins de interpretação.

A coleta de dados se deu através da análise documental, na qual, segundo Maffezzolli e Boehs (2008), se buscam materiais relacionados ao fenômeno estudado, visando melhor compreensão de sua ocorrência. Dentre os documentos analisados estão extratos e notas fiscais de aquisição de insumos.

3.2 Levantamento de custos

Os custos foram classificados em fixos e variáveis, de acordo com o modelo de Lopes et al. (2018).

Quadro 1: Classificação dos custos de produção analisados em uma empresa

Classificação	Características	Aplicação
Custos Fixos (CF)	Custos que independem do volume de produção como	Salários e encargos sociais, horas extras, depreciação, manutenção, despesas de telefone, vigilância, dentre outros gastos.
Custo variáveis (CV)	Custos que se modificam na medida que se altera o volume de produção	Gastos com energia elétrica, material de consumo etc.
Despesas fixas (DF)	Estão intimamente relacionados ao período do mês, não oscilando proporcionalmente com o volume de produção dentro da faixa de capacidade instalada	Conta de água, energia, taxas bancárias etc.
Mão-de-obra	Contração de mão de obra para cada metodologia de produção dependendo da demanda	Engenheiro Agrônomo; Técnico de Laboratório e Auxiliares
Depreciação	Perda de valor do bem decorrente de seu uso, ou seja do desgaste natural	Substituição de biorreatores etc.

Fonte: Lopes et al. (2018)

4. Resultados e discussão

De acordo com os dados levantamentos junto a empresa, os gastos totais com infraestrutura inicial e materiais permanentes para a produção estimada de 360.000 litros de *B. thuringiensis* por ano, visando o controle de complexo de lagartas estão listados na Tabela 1.

Tabela 1: Investimento inicial com infraestrutura e material necessário para a implantação do projeto da Biofábrica em uma fazenda no ramo do agronegócio em Campo Novo do Parecis-MT, em 2022.

Descrição	Qtde	Unit. R\$	Total R\$	%
Galpão de 352 M ²	1	1.500	528.000	12,93
Aagitador de frascos com movimento orbital	1	1.000	1.000	0,02
Freezer horizontal	3	3.600	10.800	0,26
Cadeiras	4	600	2.400	0,06
Geladeira	2	4.900	9.800	0,24
Balança de precisão	1	3.200	3.200	0,08
Ar-condicionado	2	2.500	5.000	0,12
Autoclave	1	25.000	25.000	0,61
Gabine de segurança	1	15.900	15.900	0,39
Pipeta P-100	1	290	290	0,01
Pipeta P-1000	1	290	290	0,01
Estante de aço	1	800	800	0,02
Aparelho de osmose	1	3.500	3.500	0,09
Shaker	1	83.165	83.165	2,04
Biorreator 3000L	2	700.00	1.400.000	34,27
Biorreator 5000 L	2	754.493	1.508.986	36,94
CIP móvel – limpeza do biorreator	1	47.433	47.443	1,16
Vap de pressão	1	1.600	1.600	0,04
Empilhadeira elétrica	1	21.000	21.000	0,51
Empilhadeira diesel	1	48.000	48.000	1,18
Gerador de energia	1	108.000	108.000	2,64
Gerador de vapor	1	103.500	103.500	2,53
Torre de resfriamento	1	24.638	24.638	0,60
Compressor de parafuso	2	52.500	105.000	2,57
Vórtex	1	1.780	1.780	0,04
Microscópio	1	25.599	25.599	0,63
Total			4.084.691	100,00

Fonte: Dados da pesquisa (2022)

Para implementação da biofábrica, foi necessária a construção do galpão de 352 m² que juntamente com a equipação do espaço teve um custo total de

R\$4.084.691,00. Dentre os equipamentos adquiridos, observou-se que o maior custo inicial está representado pelos Biorreatores que juntos representam 71% do custo total dos equipamentos, seguidos pelo galpão, gerador de energia, gerador de vapor e compressor.

Na depreciação foram considerados todos os itens que necessitam ser substituídos bem como seu valor residual (Tabela 2).

Tabela 2. Valor do bem, vida útil, taxa de depreciação e valor residual dos bens moveis e imóveis para a implantação do projeto da Biofábrica em uma fazenda no ramo do agronegócio em Campo Novo do Parecis-MT, em 2022.

Descrição	Valor (R\$)	Vida útil (anos)	Depreciação (%)*	Valor Residual (R\$)	Depreciação (R\$)
Instalações (Galpão 354 m ²)	528.000,00	25	4	52.800,00	19.008,00
Aparelhos que ficam 24 h	197.965,00	10	20	19.797,00	35.633,70
Maquinários	69.000,00	10	10	6.900,00	6.210,00
Moveis	32.000,00	10	10	320,00	288,00
Equipamentos	1.869.936,00	10	10	186.994,00	168.294,24
Utensílios	7.180,00	10	10	718,00	646,20
Total	2.231.281,00			223,13	214.096,14

*Depreciação acelerada, taxa de 10%, vida útil 10 anos, contabilmente fica a taxa de 20% e vida útil de 5 anos- (RIR/2018, artigo 323 e lei N° 3470/58, artigo 69).

Fonte: Dados da pesquisa (2022)

Os custos fixos, envolvem diversos produtos e serviços para manter as atividades operacionais na indústria de forma organizada (Tabela 3). Destaca-se que 93% destes estão concentrados nos três primeiros itens: Custo com pessoal e encargos, energia e depreciação.

Tabela 3. Custos fixos de produção para a implantação do projeto da Biofábrica em uma fazenda no ramo do agronegócio em Campo Novo do Parecis-MT, em 2022.

Descrição	Valores anuais (R\$)	%
Custo com pessoal e Encargos	298.200,00	43,99
Energia	120.000,00	17,70
Depreciação	230.080,00	31,58
Manutenção Gerador de energia	17.547,00	2,59
Manutenção Gerador de vapor	10.000,00	1,48
Manutenção compressor de ar	8.000,00	1,18
CEPA	5.000,00	0,74
Outros	5.000,00	0,74
Totais	693.827,02	100,00

Fonte: Dados da pesquisa (2022)

Na tabela 4 são apresentados os custos variáveis estimados para a produção de 360.000 L de produto “on farm” a base de *B. thuringiensis* anualmente. Nessa categoria de custos a proteína de soja, o açúcar, o cloreto de potássio e o nitrato representam aproximadamente 77% dos custos variáveis.

Tabela 4. Custos variáveis de materiais necessários para a produção do *B. thuringiensis* em uma fazenda no ramo do agronegócio em Campo Novo do Parecis-MT, em 2022.

Itens	Quant.	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)	%
Fita adesiva	36 un.	20,00	720,00	0,27
Máscara descartável	4 cx	120,00	5.760,00	2,13
Luva descartável	4 cx	110,00	5.280,00	1,95
Pro pé descartável	1 pct	70,00	840,00	0,31
Toca de cabelo	1 pct	25,00	300,00	0,11
Papel Kraft	1 rolo	120,00	1.440,00	0,53
Detergente neutro (50 L)	2 UN	250,00	6.000,00	2,22
Algodão	1 UN	22,00	264,00	0,10
Gaze	1 rolo	137,18	1.646,16	0,61
Ponteira p 100	1 pct	170,00	2.040,00	0,75
Ponteira p 1000	1 pct	533,00	6.396,00	2,37
Alça bacteriológica	1 pct	20,00	240,00	0,09
Meio Nutrient agar	500 g	405,00	4.860,00	1,80
Proteína de soja (20 kg)	750 kg	190,00	91.200,00	33,72
Açúcar (2 kg) saca	1.050 kg	10,00	63.000,00	23,30
Cloreto de potássio (20	90 kg	394,00	23.640,00	8,74
Nitrato de sódio (25 kg)	120 kg	490,00	29.400,00	10,87
Ácido peracético (50 L)	90 kg	300,00	7.200,00	2,66
Ácido fosfórico (50 L)	100 L	392,00	9.408,00	3,48
Soda caustica (50 kg)	100 kg	300,00	7.200,00	2,66
Ante espuma (50 L)	25 L	300,00	3.600,00	1,33
Total			270.434,16	100,00

Fonte: Dados da pesquisa (2022)

A tabela 5 apresenta um resumo dos custos de implantação, operacionais variáveis e totais e seus respectivos preços unitários. Observa-se que a maior carga de custos está concentrada nos fixos que somados entre implantação e operacionais representam 95% enquanto as variáveis apenas 5%.

Tabela 5. Demonstrativo dos custos totais e unitários da produção “on farm” em fazenda no ramo do agronegócio em Campo Novo do Parecis-MT, em 2022.

Informação dos custos	Valores (R\$)	%
Custos de implantação (fixos)	4.084.691,00	80,90
Custos operacionais (fixos)	693.827,02	13,74
Custos variáveis	270.434,16	5,36
Custos totais	5.048.952,18	100,00
Custos fixos (unitário)	13,27	
Custos variáveis (unitário)	0,75	
Custos totais (unitário)	14,02	

Fonte: Dados da pesquisa (2022)

A tabela 6 traz dados do comparativo de receita em relação aos produtos “on farm” feito à base de *Bacillus thuringiensis* com o inseticida Metilcarbamato de oxima. Assim, foi possível verificar que a diferença de ganho quando se utiliza o produto “on farm” é 46,37% superior, quando comparado com o inseticida comercial, registrado para o controle de vários lepidópteros praga. Portanto, fazendo um cálculo básico, projeta-se que já no primeiro ano de produção “on farm” os custos fixos de R\$ 4.778,518,02 são absorvidos pela diferença entre o custo de aquisição e de produção.

Tabela 6. Diferença entre o preço de compra do inseticida Metilcarbamato de oxima e o custo de fabricação do *Bacillus thuringiensis* (Bt) em fazenda no ramo do agronegócio em Campo Novo do Parecis-MT, em 2022.

Avaliação	Produtos	
	Bt (on farm)	Metilcarbamato de Oxima
Valor	R\$ 5.048.952,18	R\$ 9.414.000,00
Diferença (Produção/Compra)	R\$ 4.365.047,82	
Percentual de ganho (%)	46,37%	

Fonte: Dados da pesquisa (2022)

Dada uma avaliação do percentual de ganho com a produção “on farm” com base no preço de custo e em relação ao preço dos produtos comercializados, observa-se na tabela 7, que o custo de cada litro do produto na produção “on farm” é R\$14,02, enquanto o Metilcarbamato de oxima custa R\$26,15, portanto, apresentando um acréscimo de 87%.

Estes resultados corroboram com a afirmação de Avila et al. (2021), que declaram que a produção “on farm” tem como uma das principais vantagens a redução

do custo dos produtores com defensivos, que pode chegar a 80%. Ao comparar as aplicações, e, tendo em vista para o Bt neste formato são necessários 1 litro do produto por hectares, enquanto para o Metilcarbamato de oxima essa quantidade é de 1,2 L/ha, esse custo supera em 124% a mais em relação ao Bt. Portanto, fica evidente que este tipo de produção é economicamente mais vantajoso que a obtenção do produto comercial. A tabela 8, traz dados comparativos dos custos de aplicação de Bt “on farm” versus Metilcarbamato de oxima em uma área de 30.000 ha.

Tabela 8. Comparativo dos custos (R\$) de aplicação de *Bacillus thuringiensis* versus Metilcarbamato de oxima para uma área de 30.000 ha.

Produto	Dose L/ ha	R\$ litro	Vol. calda /ha	R\$/ha	1 aplicação 30.000 ha.	5 aplicações 30.000 ha.
Bt “on farm”	1 L/ ha	14,02	100	14,02	420.600,00	2.103.000,00
Metil-carbamato	1,2 L/ha	26,15	100	31,38	941.400,00	4.707.000,00
Fonte: Dados da pesquisa (2022)						

Estes resultados vão de encontro com os dados de Cruvinell et al. (2022), quando avaliaram o número de aplicações de fungicidas e inseticidas químicos utilizados na lavoura de soja e o estudo mostrou uma redução de 30 mil litros de produtos químicos com a adoção de insumos biológicos produzidos “on farm” e com isso houve uma redução dos custos (58,6%), aumento da produtividade (13%) e uma rentabilidade de 83%.

Considerações finais

A pesquisa concluiu que a produção “on farm” de *B. thuringiensis* é viável economicamente. Apesar do alto investimento inicial, ele é rapidamente absorvido, uma vez que o custo de aquisição de produtos químicos comerciais é superior a 100% em comparação a produção “on farm”. Além disso, dados bibliográficos, demonstram que esse tipo de manejo pode ser incorporado à agricultura sustentável, visto que é um produto biológico que não prejudica o meio ambiente, como poderia ocorrer com o uso de defensivos químicos.

Recomenda-se que novos estudos sejam realizados para comparação com este, bem como com outros microrganismos. Os estudos brasileiros que envolvem custos com a produção “on farm” ainda são pouco explorados, e é essencial que compreendamos melhor esse setor agrícola em expansão.

Referências Bibliográficas

ABBAS, A. et al. Biological control of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Agronomy**, v. 12, n. 11, p. 2704, 2022.

ABRUNHOSA, L. S. **Avaliação da contaminação de meios de cultura utilizados para produção on farm de bioinseticidas**. Trabalho de conclusão de curso (graduação). Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, 2019.

AGROFIT- **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2022. AGROFIT- Consulta Aberta. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT- Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasil. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 05 de janeiro de 2023.

ALMEIDA, J. E. M.; LEITE, L. G.; BATISTA FILHO, A. Entomopathogenic Fungi. In: SOUZA, B., VASQUEZ, L.L., MARUCCI, R.C. (ed.). **Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems – Biological Control and Functional Biodiversity**. Springer. Switezerland. p. 223-233, 2019.

ARAUJO, A. M. P.; ASSAF, A.. **Introdução à Contabilidade**. São Paulo: Atlas, 2004.

ARAÚJO, R. M. de. **Análise da conjuntura atual, desafios e oportunidades do uso do controle biológico no manejo de resistência de pragas às plantas geneticamente modificadas de algodão, milho e soja com tecnologia BT no Brasil**. Dissertação (Mestrado Profissional em Agronegócios). Escola de Economia de São Paulo, São Paulo- SP. 2022.

AVILA, G. M. A. et al. Produção On Farm de microrganismos no Brasil. **Encontro Internacional de Produção Científica**, 2021.

BIAZON, V. V. et al. Marketing social para mudança de comportamento de produtores rurais e a produção de inoculantes on farm: proposta de ação. **Revista Scientia Alpha**, v. 1, n. 01, 2019.

BRASIL. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA). **Propostas do sistema CNA para o Plano Agrícola e Pecuário 2022/2023**. Disponível em: https://www.cnabrazil.org.br/assets/images/PAP_2022_2023_WEB.pdf. Acesso em: 22 jul. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano**. Brasília, DF, 2019.

CHAGAS, P. A.. **Perspectivas de implementação de conceitos da indústria 4.0 no bioprocessamento de produção de *Bacillus thuringiensis***. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2021.

CIDAV, Z. et al. A pragmatic method for costing implementation strategies using time-driven activity-based costing. **Implementation Science**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2020.

CRUVINELL, A. et al. Rentabilidade na produção de soja na fazenda Bom Jardim Lagoa no com manejo de biológicos *on farm*. **Research, Society and Development**, v.11, n.14, p- e135111436112-e135111436112. 2022.

GABARDO, G.; SILVA, H. L.; CLOCK, D. C.. “On Farm” Production of microorganisms in Brazil. **Scientia Agraria Paranaensis**, p. 312-318, 2021.

GIL, A. C. **Métodos e Técnicas de Pesquisa Social**. 7ª edição. São Paulo. Grupo GEN, 2019.

GITMAN, L. J. **Princípios de administração financeira**. ed.12. São Paulo: Pearson Prentice Hall., 2010,.848 p.

GOLLO, V. **Análise da viabilidade econômico-financeira das atividades leiteira e suinícola em uma propriedade rural**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CUSTOS, 24, 2017, Florianópolis. Anais [...]. São Leopoldo: Associação Brasileira de Custos, 2017. Disponível em:

<https://anaiscbc.emnuvens.com.br/anais/article/download/4289/4289>. Acesso em: 10 ago. 2023.

GOTTI, I. A. **Desenvolvimento de meio de cultura para produção de *Metarhizium anisopliae* (MESTSH.). Sorok. por fermentação líquida.** Isabella Alice Gotti. – São Paulo, 2016. 57 p.

GOUVEA, A. et al. Análise econômica da produção de *Trichogramma pretiosum* Riley em diferentes escalas. **EntomoBrasilis**. v. 7, n.1, p. 41-47, 2014.

GROPPELLI, A. A., NIKBAKHT, E. Administração Financeira. São Paulo: Saraiva, 2010.

HAJEK, A. E.; EILENBERG, J. **Bacterial Pathogens of Invertebrates**. In: HAJEK, A. E.; EILENBERG, J. Natural enemies: an introduction to biological control, Cambridge University Press. 2018.pp. 202-214.

JACKSON, M. A. et al. Liquid culture production of desiccation tolerant blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. **Mycological Research**, v. 101, n. 1, p. 35-41, 1997.

JARONSKI, S. T. Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. **BioControl**, v.55, n. 1, 159-185, 2010.

KASSAI, S.; SANTOS, A.; ASSAF NETO, A.. **Retorno de Investimento: Abordagem Matemática e Contábil do Lucro Empresarial**. 2. Ed. São Paulo: Atlas, 2000.

KHADDA, Balbir Singh. Prospects of organic farming in India. **A Voice for Agriculture**, v. 27, p. 27-34, 2021.

LACEY, L. A., et al. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.132, p. 1- 41, 2015.

LANA, U. G. P. et al. **Avaliação da qualidade de biopesticidas à base de *Bacillus thuringiensis* produzidos em sistema *on farm***. Embrapa Milho e Sorgo-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2019.

LIU, X. et al. Natural enemies delay insect resistance to Bt crops. **PloS one**, v. 9, n. 3, p. e90366, 2014.

LOPES, S. R., DA PAIXÃO, M. A. S., CRUZ, I. Viabilidade econômica de biofábrica de *Trichogramma pretiosum* para uso contra pragas agrícolas da ordem Lepidoptera. **Revista iPecege**, v.4, n. 1, p. 44-50, 2018.

MARTIN, N. B. et al. Sistema integrado de custos agropecuários CUSTAGRI. In: Congresso da sociedade brasileira de informática aplicada a agropecuária e agroindústria. Belo Horizonte. **Anais**. Belo Horizonte: Agrosoft: CTSOFT: SBI-AGRO 1997.

MARTINS, E. **Contabilidade de custos**. São Paulo: Atlas, 2006.

MASCARIN, G. M. et al. Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains. **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 127, p.11-20, 2015.

NETO, A. A. **Corporativas, Finanças. Valor**. São Paulo: Editora Atlas. 2009.

QUINTAM, C. P. R.; ASSUNÇÃO, G. M.. Perspectivas e desafios do agronegócio brasileiro frente ao mercado internacional. **Revista Científica Multidisciplinar**, v. 4, n. 7, p. e473641-e473641, 2023.

RAMIRES, Í. J.; ESPERANCINI, M. S. T.. Rentabilidade e risco da produção de algodão nos três principais estados produtores brasileiros. **Ciências Rurais em Foco** v.8, p.51.53, 2022.

RIEKSTIN, A. C. ISO 14001 e a sustentabilidade: A eficácia do instrumento no alcance do desenvolvimento sustentável. In: MARCOVITCH, J. (org.). **Certificação e sustentabilidade ambiental: uma análise crítica**. São Paulo, 2012. 148 p.

ROESCH, S. M. A.. **Projetos de Estágio e de Pesquisa em Administração**. 3ª edição. Grupo GEN, 2013.

SANTOS, A.; DINNAS, S.; FEITOZA, A.. Qualidade microbiológica de bioprodutos comerciais multiplicados *on farm* no vale do São Francisco: dados preliminares. **Enciclopédia biosfera**. v.17, n. 34. p.1-7, 2020.

SANTOS, P. D. S.. Selection of surfactant compounds to enhance the dispersion of *Beauveria bassiana*. **Biocontrol Science and Technology**. v 22, n. 3, p. 281-292. 2012.

SILVA, E. C.. **Como administrar o fluxo de caixa das empresas - guia de sobrevivência empresarial**. 4. ed. São Paulo: Atlas. 2010.

SILVA, K. P. et al. Análise da viabilidade econômica da automação de processo: estudo de caso em uma cooperativa agroindustrial avícola. Custos e agronegócio On Line, v. 15, Ed. Especial. Abr. p. 537-555, 2019. Disponível em: <http://www.custoseagronegocioonline.com.br/especialv15/OK%2020%20processos.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2023.

SONI, R. et al. Organic Farming: A Sustainable Agricultural Practice. **Vantage: Journal of Thematic Analysis**, v. 3, n. 1, p. 21-44, 2022.

SOUZA, A. et al. Business Plan Analysis Using Multi-Index Methodology: Expectations of Return and Perceived Risks. SAGE OPEN, v. 10, p. 1-15, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2158244019900171>. Acesso em: 08 ago. 2023.

SOUZA, A., CRUZ, J. A. W.. Classificando custos fixos e variáveis por meio de métodos estatísticos. **Revista Mineira de Contabilidade**. v. 2, n. 34, p. 22-28, 2009.

SOUZA, C. S. F et al. Efficiency of biological control for fall armyworm resistant to the protein Cry1F. **Brazilian Journal of Biology**. v.81, p. 154-163. 2021.

VAN LENTEREN, J.C., et al. biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Biocontrol**. v. 63, p. 39-59, 2018.

VILLAS BÔAS G. L., FRANÇA F. H.. Utilização do parasitóide *Trichogramma pretiosum* no controle da traça-do-tomateiro em cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**. v.14, p. 223-225, 1996.

YIN, R.t K. **Pesquisa Qualitativa do Início ao Fim**. Editora Grupo A, 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os bioensaios *in vitro* permitiram identificar a incompatibilidade entre *B. thuringiensis* e a maioria dos produtos fitossanitários pulverizados no algodão. Ademais, as informações observadas nas distintas condições de instalação dos experimentos (laboratório, semi-campo e campo), servirão como base para orientar os cotonicultores no que concerne a integração correta de diferentes princípios ativos (químicos e/ou biológicos) no controle de *S. frugiperda*.

Quanto aos custos da produção “on farm” de Bt, a mesma foi considerada viável economicamente, com menor custo em relação aos inseticidas químicos comercializados para tal fim, caso do Metilcarbamato de oxima. Apesar do alto investimento inicial necessário para a instalação de uma Biofábrica na fazenda, a absorção é rápida, podendo ser uma estratégia de manejo sustentável a ser agregada na cultura do algodão.