

HISTOPATOLOGIA DA INTERAÇÃO DE *BACILLUS THURINGIENSIS* E  
EXTRATOS VEGETAIS NO INTESTINO MÉDIO DE *SPODOPTERA*  
*FRUGIPERDA* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

N. Knaak<sup>1</sup>, M.S. Tagliari<sup>1</sup>, L.M. Fiuza<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Vale do Rio dos Sinos, CP 275, CEP 93001-970, São Leopoldo, RS, Brasil. E-mail: fiuza@unisinos.br

RESUMO

Plantas são fontes naturais de substâncias inseticidas, já que podem ser produzidas pelo vegetal em resposta a ataques de insetos podendo representar uma alternativa no manejo de insetos-praga, como *Spodoptera frugiperda*. Dessa forma, o presente trabalho objetivou a análise histopatológica do intestino médio de lagartas de *S. frugiperda*, após a ingestão dos extratos obtidos por maceração e infusão de *Petiveria alliacea*, *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Malva silvestris*, *Baccharis genistelloides* e *Ruta graveolens*, assim como a associação desses extratos com *Bacillus thuringiensis aizawai*. As lagartas foram tratadas *in vivo* com cada extrato e a bactéria, mais a associação desses extratos com *B. thuringiensis* e após, uma reação de cinética entre 3 e 27 horas, foram fixadas para o preparo de cortes histológicos, os quais foram corados e analisados comparativamente às testemunhas em microscopia óptica. Os resultados mostraram mudanças na histologia do intestino médio das lagartas de *S. frugiperda*, 3 horas após a aplicação dos tratamentos à base de *P. alliacea*, *Z. officinale*, *C. citratus* e *M. silvestris*, enquanto que para *B. genistelloides* e *R. graveolens* só foram observadas alterações após 6h. Na interação dos extratos com *B. thuringiensis* observou-se alterações nas microvilosidades, desorganização do intestino médio e a hipertrofia das células epiteliais que projetaram-se para o lúmen. Os resultados desse trabalho mostram que o efeito histopatológico de *Z. officinale*, *M. silvestris*, *R. graveolens* e *B. genistelloides*, foram mais ativos quando comparados aos extratos de *P. alliacea* e *C. citratus*, os quais apresentaram uma interação positiva com *B. thuringiensis*.

PALAVRAS-CHAVE: Lepidoptera, *Bacillus thuringiensis*, plantas inseticidas, intestino médio, controle biológico.

ABSTRACT

HISTOPATHOLOGY OF THE INTERACTION OF *BACILLUS THURINGIENSIS* AND PLANT EXTRACTS IN THE MIDGUT OF *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). The natural insecticidal substances produced by plants in response to insect attack may represent an alternative for the management of pest insects such as *Spodoptera frugiperda*. This study was therefore aimed to histopathologically analyze the midgut of larvae of *S. frugiperda*, after ingestion of extracts obtained by maceration and infusion of *Petiveria alliacea*, *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Malva silvestris*, *Baccharis genistelloides* and *Ruta graveolens*, and the association of these extracts with *Bacillus thuringiensis aizawai*. The larvae were treated *in vivo* with each extract, *B. thuringiensis*, and the combination of these extracts with the bacteria, and after a reaction kinetics of between 3 to 27 hours they were fixed for the preparation of histological sections, which were stained and analyzed in comparison to the controls with light microscopy. The results showed changes in the histology of the midgut of the larvae of *S. frugiperda*, 3 hours after application of treatments based on *P. alliacea*, *Z. officinale*, *C. citratus* and *M. silvestris*, while for *B. genistelloides* and *R. graveolens* changes were observed only after 6h. In the interaction of extracts with *B. thuringiensis* the analysis revealed changes in microvilli, disorganization of the midgut and hypertrophy of epithelial cells that projected into the lumen. The findings show that the histopathological effects of *Z. officinale*, *M. silvestris*, *R. graveolens* and *B. genistelloides* were more active when compared to extracts of *P. alliacea* and *C. citratus*, which showed a positive interaction with *B. thuringiensis*.

KEY WORDS: Lepidoptera, *Bacillus thuringiensis*, insecticidal plants, midgut, biological control.

<sup>2</sup>Instituto Riograndense do Arroz, Cachoeirinha, RS, Brasil.

## INTRODUÇÃO

A produção agrícola tem evoluído e os avanços da ciência têm fundamentado tecnologias diversas, permitindo o aumento na produção agrícola. Entretanto, alguns fatores do ambiente atuam interferindo negativamente na produção da cultura (OLIVEIRA; FREITAS, 2009). Segundo ZUCCHI *et al.* (1992), os prejuízos causados pelos insetos-praga, nas principais culturas do mundo, podem causar perdas na produção entre 2 e 28%. Nesse contexto, no Brasil, os insetos-praga são responsáveis por prejuízos de 7 a 79% na produção nacional e regional.

Na lavoura de arroz irrigado do Rio Grande do Sul ocorrem diferentes insetos-praga, sendo que o lepidóptero da família Noctuidae, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797), é considerado uma das principais (OLIVEIRA; FREITAS, 2009). O controle desses é feito basicamente com o uso de produtos químicos, mas, a partir da última década, a conscientização química sobre o uso indiscriminado e incorreto de defensivos agrícolas no ambiente rural e urbano, causando prejuízos aos ecossistemas e ao homem, tem motivado o desenvolvimento de métodos e produtos alternativos para o controle de pragas.

Os produtos naturais obtidos de matéria-prima vegetal oferecem larga variedade de moléculas com grande diversidade nas suas estruturas e atividade biológica (REIGOSA; PEDROL, 2002). Também pode ser considerada outra razão para o interesse crescente em fitotoxinas, a ampla gama de novos sítios de ação nos organismos alvo. Nesse caso, mesmo que elas não sejam disponíveis para comercialização, podem indicar caminhos para a síntese de novos produtos (DUKE *et al.*, 2000). Isso é importante se considerada a velocidade com que os insetos e os micro-organismos têm desenvolvido resistência aos produtos químicos utilizados frequentemente como agentes de controle de espécies alvo.

De acordo com MELLO; SILVA-FILHO (2002), os componentes inseticidas podem ser divididos nos seguintes grupos: substâncias derivadas de compostos químicos (tanino, terpenoides, flavonoides, alcaloides, quinona, linomoides, fenóis), moléculas produzidas a partir do processamento de proteínas (quitinase, lectinas, inibidores de  $\alpha$ -amilase e inibidores de proteinases) e compostos voláteis das plantas.

Quanto aos micro-organismos, o agente de controle mais comum é o *Bacillus thuringiensis* Berliner, uma bactéria Gram-positiva, que produz inclusões de cristais de proteínas durante a esporulação. Essas inclusões (delta-endotoxinas) são tóxicas para certas larvas de lepidópteros, dípteros ou coleópteros na ocasião da ingestão (RAUL; ELLAR, 1998; ARONSON; SHAI, 2001). As delta-endotoxinas são sintetizadas em formas de cristais inativos que solubilizados e

proteoliticamente ativos no intestino do inseto tornam-se tóxicas (VAN RIE *et al.*, 1990).

O intestino médio dos insetos é de origem endodérmica, consiste de um tubo de diâmetro variável formado por um epitélio simples apoiado sobre uma membrana basal (CHAPMAN, 1998). Essa região do sistema digestivo é considerada o principal local de secreção de enzimas digestivas e absorção de nutrientes, bem como a regulação de íons (LOEB *et al.*, 2001). O ápice das células epiteliais do intestino médio em geral apresenta microvilosidades, sendo estas envolvidas na digestão, absorção de nutrientes, água e secreção de líquidos (TERRA *et al.*, 1996).

Supõe-se que os ingredientes ativos tóxicos, oriundos de plantas, atuem no intestino médio dos insetos. Dessa forma, o presente trabalho objetivou a análise histopatológica do intestino médio de lagartas de *S. frugiperda*, após a ingestão dos extratos obtidos através da maceração e infusão de *Petiveria alliacea*, *Zingiber officinale*, *Cymbopogon citratus*, *Malva silvestris*, *Baccharis genistelloides* e *Ruta graveolens*, assim como a associação desses extratos com a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis aizawai*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As lagartas de 2º instar de *S. frugiperda*, provenientes da criação de insetos estabelecida pelo grupo de pesquisa: Manejo de Populações de Insetos, da UNISINOS, foram mantidas em condições controladas ( $25 \pm 2^\circ \text{C}$ , umidade relativa de 70% e fotofase de 12h).

Os extratos vegetais foram obtidos da maceração e infusão de *P. alliacea*, *Z. officinale*, *C. citratus*, *M. silvestris*, *B. genistelloides* e *R. graveolens*. A infusão foi obtida pela adição da água aquecida a  $90^\circ \text{C}$  e o macerado foi preparado com água a  $4^\circ \text{C}$ , na proporção de 1:10. As suspensões do entomopatógeno *B. thuringiensis aizawai* foram obtidas diretamente pela diluição do produto comercial Xentari® (Abbott do Brasil Ltda.) à concentração de  $1.10^9$  céls/mL.

Foram preparados tratamentos somente com o extrato vegetal (infusão, macerado), tratamentos somente com o produto Xentari® e tratamentos com a combinação do extrato vegetal (infusão e macerado) mais Xentari®. Para cada tratamento foram aplicados 100  $\mu\text{L}$  das suspensões na superfície da dieta de POITOUT; BUES (1970), previamente acondicionada em miniplacas de acrílico. Nos ensaios, 30 lagartas de 2º instar de *S. frugiperda* foram colocadas individualmente em cada miniplaca de acrílico, contendo os tratamentos. Nas testemunhas, o volume dos tratamentos foi substituído por água destilada esterilizada. Os tratamentos foram mantidos em câmara climatizada a  $25^\circ \text{C}$ , 70% de UR e fotofase de 12h.

Após a aplicação dos tratamentos, 5 lagartas de cada tratamento foram coletados em períodos de 3, 6, 9, 12, 24 e 27 horas. Após a fixação, em *Bouin Hollande Sublime-BHS* por 24 horas (BRANDTZAEG, 1982), as lagartas foram submetidas à desidratação em soluções de etanol, em ordem crescente de graduação, seguidos de banhos rápidos de xilol e impregnação em parafina. Os cortes histológicos longitudinais do intestino médio das lagartas de *S. frugiperda* foram realizados a 5 µm de espessura. A coloração foi efetuada com *Azul de Heidenhain* (FIUZA, 1995) e observados em microscopia óptica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram mudanças na histologia do intestino médio das lagartas de *S. frugiperda*, 3 horas após a aplicação dos tratamentos à base de *P. alliacea*, *Z. officinale*, *C. citratus* e *M. silvestris* (Fig. 1B, 1C, 1D e 1F), enquanto que para *B. genistelloides* e *R. graveolens* (Fig. 1E e 1G) só foram observadas alterações após 6h, quando comparadas à testemunha.

As lagartas tratadas com *P. alliacea*, 6 horas após o tratamento com macerado e infusão, apresentaram

vacuolização do citoplasma e projeções de células epiteliais na luz intestinal, porém, a degradação da membrana peritrófica e das microvilosidades ocorreram 12 horas após o tratamento. Nos períodos observados para o tratamento de macerado e infusão de *P. alliacea*, as alterações foram semelhantes, sendo que a partir de 24 horas o macerado foi mais ativo, provocando alterações nas microvilosidades do intestino médio.

Após 3h da aplicação do macerado de *Z. officinale*, houve alongamento celular, projeção de células para a luz intestinal, ausência da membrana peritrófica e ruptura do epitélio. Após 24 horas teve início a degradação das microvilosidades, vacuolização do citoplasma e aumento no volume celular. Na infusão de *Z. officinale* foi observado que, após 12 horas, houve a desintegração da membrana peritrófica e após 24 horas alterações das células epiteliais, projeção de muitas células na luz intestinal. Dessa forma, o tratamento com macerado foi mais ativo, já que, com 3h após aplicação dos tratamentos, a membrana peritrófica estava ausente e esta serve de proteção do epitélio contra danos mecânicos e químicos provocados pelo alimento, barreira física contra micro-organismos e compartimentalização da digestão (TERRA, 1988; CHAPMAN, 1998).

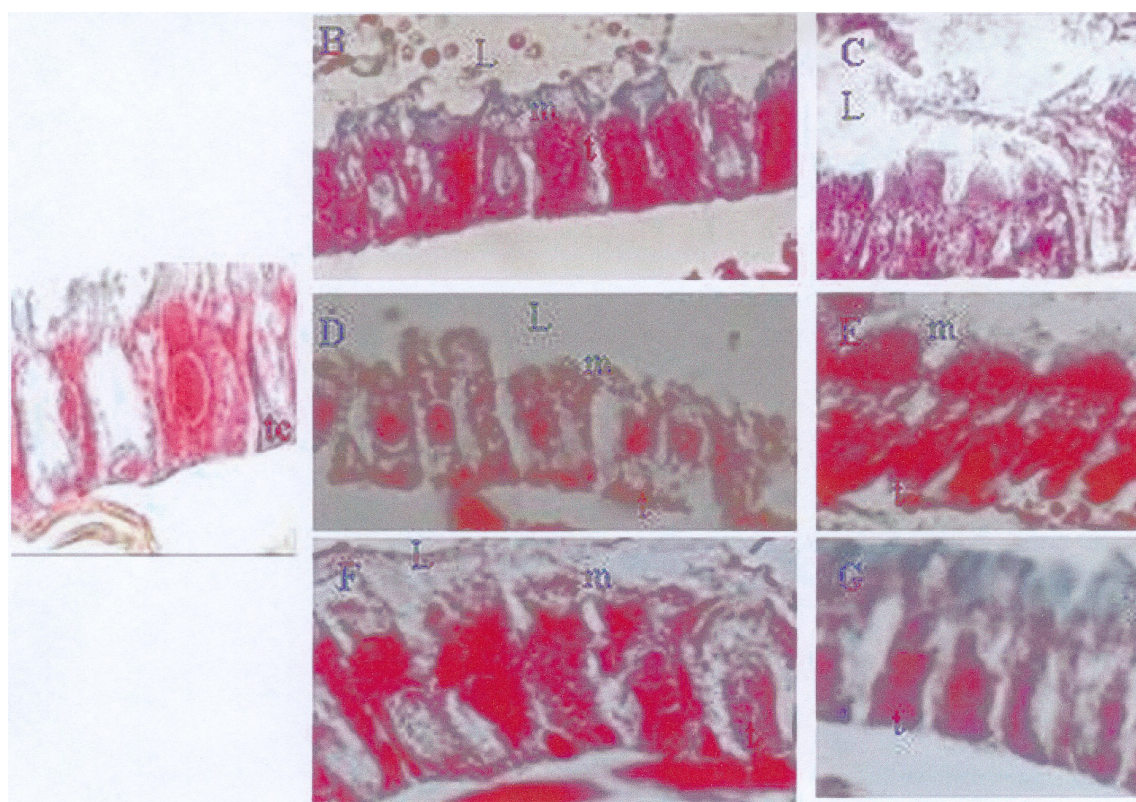


Fig. 1 - Secções longitudinais do intestino médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, 3 horas após a aplicação dos tratamentos: Testemunha (A), macerado de *Petiveria alliacea* (B), macerado de *Zingiber officinale* (C), macerado de *Malva silvestris* (D), macerado de *Ruta graveolens* (E), macerado de *Cymbopogon citratus* (F), macerado de *Baccharis genistelloides* (G), epitélio intestinal (e), luz intestinal (L), tecido conjuntivo (tc), microvilosidades (m). Aumento de 400 vezes.



*C. citratus* e *M. silvestris*, na forma macerada e infusão, causaram vacuolização do citoplasma e alongamento celular, após 3h do tratamento. Enquanto que para *B. genistelloides* e *R. graveolens* as mesmas alterações foram observadas após 9h para o macerado e 6h para infusão. A degradação das microvilosidades foram observadas após 24h para *C. citratus* e *M. silvestris*, no entanto, para *B. genistelloides* e *R. graveolens*, essas alterações ocorreram 27h após a aplicação dos tratamentos. Da mesma forma CORREIA *et al.* (2009), avaliando o extrato de *Azadirachta indica* em lagartas de *S. frugiperda*, verificaram que as alterações morfológicas só foram evidenciadas no mesêntero, sendo a sua intensidade

dependente do tempo e da concentração utilizada. Ainda observaram degeneração do epitélio e redução de células regenerativas e de atividade secretora dessa região, em ambas as concentrações de nim. Essas alterações foram observadas após 96h a 1,0% e 144h a 0,5%.

Em todos os tratamentos realizados no presente estudo foi observado que a forma macerada foi mais ativa que a infusão, pois a degradação das microvilosidades ocorreram em períodos mais curtos do que a infusão, sendo as microvilosidades consideradas muito importantes, pois estão envolvidas na digestão, absorção de nutrientes, água e secreção de líquidos (TERRA *et al.*, 1996).

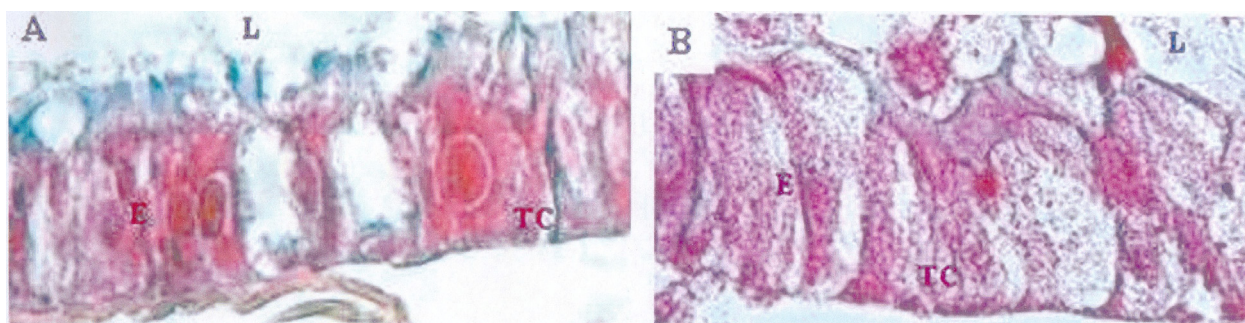


Fig. 2 - Seções longitudinais do intestino médio das lagartas de *Spodoptera frugiperda* não tratadas (A) e 9 horas após o tratamento com *Bacillus thuringiensis aizawai* - Xentari® (B); epitélio intestinal (e); luz intestinal (l); tecido conjuntivo (tc). Aumento de 400 vezes.

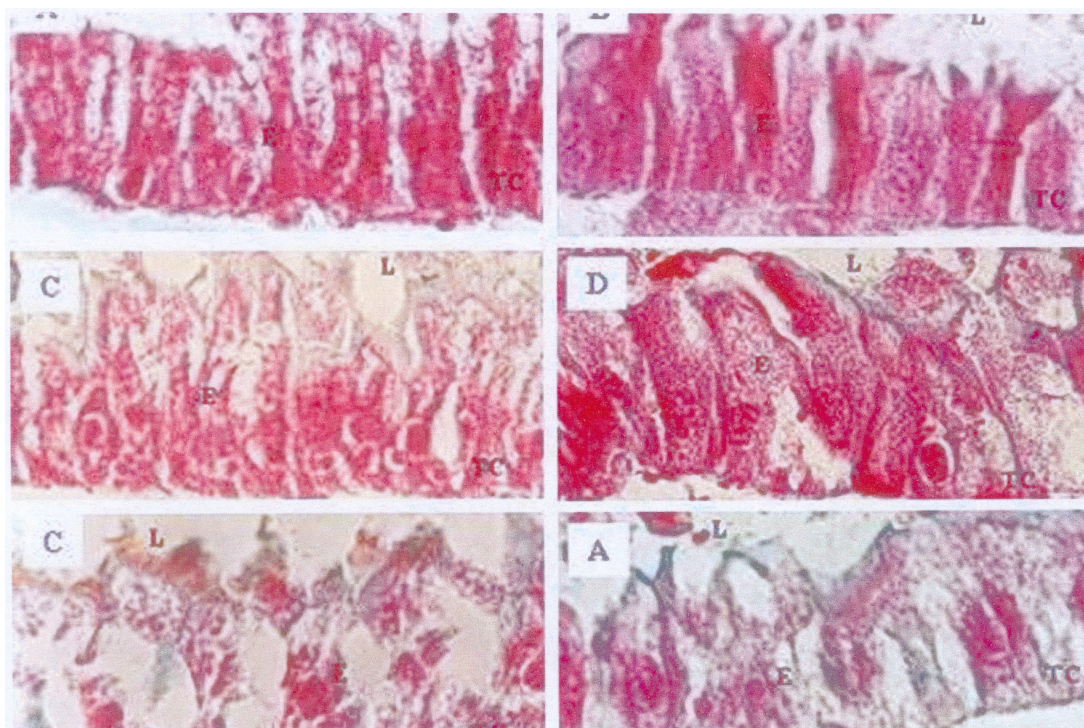


Fig. 3 - Seções longitudinais do intestino médio das lagartas de *Spodoptera frugiperda*, 3 horas após o tratamento com o macerado de extratos vegetais e o produto comercial Xentari® (aumento de 400 vezes). *Zingiber officinalis* + Xentari® (A); *Petiveria alliacea* + Xentari® (B); *Malva silvestris* + Xentari® (C); *Baccharis genistelloides* + Xentari® (D); *Ruta graveolens* + Xentari® (E); *Cymbopogon citratus* + Xentari® (F). Epitélio intestinal (e); luz intestinal (l); tecido conjuntivo (tc).

Quanto à aplicação do produto Xentari® (Fig. 2A e 2B) observou-se que, após 3 horas, havia muitas células na luz intestinal e iniciou-se a destruição da membrana peritrófica quando comparado a testemunha. Após 9 horas ocorreu o alongamento das microvilosidades. Após 27 horas iniciou-se a degradação das microvilosidades e alterações das células colunares do intestino médio.

A interação do macerado de *Z. officinale* e do produto Xentari® (Fig. 3A) causou um alongamento das células, ausência da membrana, degradação das microvilosidades e alterações na estrutura do epitélio num período de 3 horas após a aplicação dos tratamentos.

Na mesma interação, onde foi utilizada a infusão de *Z. officinale* e Xentari®, em 3 horas após os tratamentos houve alongamento das células e das microvilosidades e ausência da membrana peritrófica. Após 24 horas iniciou-se a desintegração das microvilosidades, alterações das células epiteliais seguidas da ruptura celular e projeção dessas para a luz intestinal.

De acordo com ARANDA *et al.* (1996), 15 minutos após a aplicação das Cry 1C e Cry 1D em *S. frugiperda*, já é possível observar mudanças em suas células epiteliais, porém, a vacuolização do citoplasma, a degradação da membrana e a destruição das células são observadas 1 hora após a aplicação das toxinas de *B. thuringiensis*. Embora mais lento, o mesmo mecanismo de ação foi observado no mesmo inseto alvo quando utilizado nesse estudo *Bt aizawai*.

Quanto à interação do macerado de *P. alliacea* (Fig. 3F), foram observadas alterações das microvilosidades após 3 horas da aplicação. Após 12 horas havia muitas células na luz intestinal observando-se a degradação das microvilosidades e as alterações das células epiteliais. Na interação do extrato de infusão de *P. alliacea* e Xentari® após 3 horas houve alongamento celular e vacuolização do citoplasma. Após 24 horas foi observada a desintegração das microvilosidades e a ruptura das células epiteliais.

Na interação dos extratos *C. citratus*, *M. silvestris*, *B. genistelloides* e *R. graveolens* com Xentari® (Fig. 3B, C, D, E) observaram-se alterações estruturais das microvilosidades com 3h, exceto para *C. citratus*, onde essas alterações foram observadas 24h. Porém no tratamento com infusão/ Xentari®, estas alterações ocorreram 9h após a aplicação dos tratamentos para os extratos de *M. silvestris* e *B. genistelloides*, e 6h para *C. citratus* e *R. graveolens*.

Nas pesquisas de BAINES *et al.* (1997), usando doses subletais de toxinas Cry 1A de *B. thuringiensis*, as células do intestino médio não foram afetadas, apresentando apenas alterações estruturais nas microvilosidades e mitocôndrias, cujas alterações histopatológicas iniciam nas microvilosidades do

intestino médio. Esses resultados mostram semelhanças com os dados da presente pesquisa, quando comparados com o efeito histopatológico da associação com extratos, obtidos por maceração, e Xentari® no intestino médio nas primeiras horas após a ingestão pelas lagartas de *S. frugiperda*.

Os compostos químicos (tanino, terpenoides, flavonoides, alcaloides, quinona, linomoides, fenóis), moléculas produzidas a partir do processamento de proteínas (quitinase, lectinas, inibidores de  $\alpha$ -amilase e inibidores de proteinases) e compostos voláteis das plantas (MELLO; SILVA-FILHO, 2002), presentes nos extratos vegetais, sofrem diferentes alterações de acordo com as condições físico-químicas ao longo do trato digestivo dos insetos. Sendo assim, nesse estudo verificou-se que a toxicidade dos extratos *P. alliacea*, *Z. officinale*, *R. graveolens*, *M. silvestris*, *B. genistelloides* e *C. citratus* causaram danos como: a vacuolização do citoplasma, rompimento das microvilosidades, destruição da membrana peritrófica e alterações nas células do intestino médio de *S. frugiperda*. Esses resultados também foram relatados por diversos autores que estudaram o modo de ação das toxinas de *B. thuringiensis* em lepidópteros da família Noctuidae (GILL *et al.*, 1992; ARANDA *et al.*, 1996; SCHNEPP *et al.*, 1998; MONNERAT; BRAVO, 2000).

RAUSEL *et al.* (2000) observaram a vacuolização do citoplasma e o rompimento das microvilosidades, no intestino médio, em lagartas de *Lymantria monacha* (L.) expostas à toxina Cry 1A, além dos efeitos já mencionados. Os autores verificaram a desorganização do intestino médio e a hipertrofia das células epiteliais que foram desprendidas e lançadas para dentro do lúmen. ARANDA *et al.* (1996) testando a interação de proteínas Cry 1C e Cry 1D de *B. thuringiensis aizawai* em lagartas de *S. frugiperda*, obteve dados semelhantes, que também foram observados com o produto Xentari® e a associação deste com os extratos vegetais testados nesse estudo.

A ruptura das células epiteliais observada na interação de *Z. officinale* e *P. alliaceae* com Xentari® indica uma redução no gradiente eletroquímico de K na célula, conforme relata LIEBIG *et al.* (1995), testando proteína Cry de *B. thuringiensis kurstaki* em larvas de *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae).

BAINES *et al.* (1997), testando toxinas Cry 1A de *B. thuringiensis* em lepidópteros, afirma que o colapso provocado no gradiente eletroquímico no epitélio do intestino médio causa a morte do inseto. Nesse sentido, quando utilizados extratos vegetais de *Z. officinale*, *P. alliacea*, *C. citratus*, *M. silvestris*, *B. genistelloides* e *R. graveolens* e a interação desses com Xentari® observou-se a destruição da membrana peritrófica, das microvilosidades e das células epiteliais no intestino médio, as quais também podem provocar um desequilíbrio iônico entre as células e o meio externo que leva o inseto a morte.



Os resultados desse trabalho mostram que os efeitos histopatológicos de *Z. officinale*, *M. silvestris*, *R. graveolens* e *B. genistelloides*, no intestino médio de *S. frugiperda*, foram mais ativos quando comparados aos extratos de *P. alliacea* e *C. citratus*, os quais apresentaram uma interação positiva com o produto Xentari® (*B. thuringiensis aizawai*), acelerando o processo de destruição das células intestinais, o que representa um maior tempo letal da espécie alvo *S. frugiperda*, quando foram utilizados simultaneamente esses métodos de controle.

#### REFERÊNCIAS

- ARANDA, E.; SANCHEZ, J.; PEFEROEN, M.; GÜERCA, L.; BRAVO, A. Interactions of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, v.68, p.203-212, 1996.
- ARONSON, A.I.; SHAI, Y. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. *FEMS Microbiology Letters*, v.95, p.1-8, 2001.
- BAINES, D.; SCHWARTZ, J.L.; SOHI, S.; DEDES, J.; PANG, A. Comparison of the response of midgut epithelial cells and cell lines from lepidopteran larvae to CryIA toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Insect Physiology*, v.4, p.823-831, 1997.
- BRANDTZAEG, P. Tissue preparation methods for immunocytochemistry. In: BULLOCK, G.; PETRUZ, P. (Ed.). *Technique in immunocytochemistry*. London: Academic Press, 1982. p.49-51.
- CHAPMAN, R.F. *The insects: structure and function*. 4.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770p.
- CORREIA, A.A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A.A.C.; OLIVEIRA, J.V.; TORRES, J.B. Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com Nim. *Neotropical Entomology*, v.38, p.1-9, 2009.
- DUKE, S.O.; DAYAN, F.E.; RIMANDO, A.M. Natural products and herbicide discovery. IN: COBB, A.H.; KIRKWOOD, R.C. (Ed.). *Herbicides and their mechanisms of action*. Sheffield: Academic Press, 2000. p.105-133.
- FIUZA, L.M. *Etude des sites récepteurs et de la toxicité des d-endotoxines de Bacillus thuringiensis Berliner chez les larves de la Pyrale du riz Chilo suppressalis Walker*. Montpellier: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 1995.
- GILL, S.S.; COWLES, E.A.; PIETRANTONIO, P.V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annual Review of Entomology*, v.37, p.501-533, 1992.
- LIEBIG, B.; STETSON, D.L.; DEAN, D.H. Quantification of the effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on short-circuit current in the midgut of *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*, v.41, p.17-22, 1995.
- LOEB, M.J.; MARTIN, P.A.W.; HAKIM, R.S.; GOTO, S.; TAKEDA, M. Regeneration of cultured midgut cells after exposure to sublethal doses of toxin from two strains of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Insect Physiology*, v.47, p.599-606, 2001.
- MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: na evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. *Braz. Journal of Plant Physiology*, v.14, p.71-81, 2002.
- MONNERAT, R.G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: Modo de ação e resistência. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). *Controle biológico*. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 2000. v.3, p.163-200.
- OLIVEIRA, J.V.; FREITAS, T.F.S. Trio de peso. *Revista Cultivar*, v.123, p.14-16, 2009.
- POITOUT, S.; BUES, R. Élevage de plusieurs espèces de Lépidopteres Noctuidae sur milieu artificiel riche et surmilieu simplifié. *Annales de Zoologie. Ecologie Animale*, v.2, p.79-91, 1970.
- RAUL, M.A.; ELLAR, D.J. Toxicities and Respector Binding Properties of *Bacillus thuringiensis* CryIC Toxin Active against Both Lepidoptera and Diptera. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.73, p.52-58, 1998.
- RAUSELL, C.; DECKER, N.; GARCIA-ROBLES, I.; ESCRICHE, B.; VAN KERKHOVE, E.; REAL, M. D.; MARTÍNEZ-RAMÍREZ, A. C. Effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on the midgut of the nun moth *Lymantria monacha*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v.75, p.288-291, 2000.
- RAUREIGOSA, M.; PEDROL, N. *Allelopathy from molecules to ecosystems*. Plymouth: Science Publishers, 2002. 316p.
- SCHNEPF, E.; CRICKMORE, J.V.R.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZIEGLER, D.R.; DEAN, D.H. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v.62, p.775-806, 1998.
- TERRA, W.R. Physiology and biochemistry of insect digestion: a evolutionary perspective *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.21, p.675-734, 1988.

TERRA, W.R.; FERREIRA C.; BAKER, J.E. Compartmentalizations of digestion. In: LEHANE, M.J.; BILLINGSLY, P.F. (Ed.). *Biology of the Insect Midgut*. London: Chapman and Hall, 1996. p.206-235.

VAN RIE, J.; JANSSENS, S.; HÖFTE, H.; DEGHEELE, D.; van MELLAERT, H. Receptors on the brush border membrane of the of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. *Applied and Environmental Microbiology*, v.56, p.1378-1385, 1990.

ZUCCHI, R.A.; VENDRAMIN, J.D.; BERTI FILHO, A. *Importância dos Insetos e Manejo de Pragas*. In.: CURSO DE ENTOMOLOGIA APLICADA À AGRICULTURA. 1992, Piracicaba, SP. *Anais*. Piracicaba: FEALQ, 1992. p.1-30.

Recebido em 6/1/09  
Aceito em 16/11/09