

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

Bruna Laise Hettwer

**EFEITO DA MISTURA DE TEFLUBENZURON E ADJUVANTES EM
LINHAGEM RESISTENTE E SUSCETÍVEL DE *Chrysodeixis includens*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A BENZOILUREIAS**

Santa Maria, RS

2020

Bruna Laise Hettwer

**EFEITO DA MISTURA DE TEFLUBENZURON E ADJUVANTES EM LINHAGEM
RESISTENTE E SUSCETÍVEL DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) A BENZOILUREIAS**

Dissertação apresentada no curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Oderlei Bernardi

Santa Maria, RS

2020

Hettwer, Bruna Laise

EFEITO DA MISTURA DE TEFLUBENZURON E ADJUVANTES EM
LINHAGEM RESISTENTE E SUSCETÍVEL DE *Chrysodeixis*
includens (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A BENZOILUREIAS /
Bruna Laise Hettwer.- 2020.

49 p.; 30 cm

Orientador: Oderlei Bernardi

Coorientadores: Jonas André Arnemann , Adriano Arrué
Melo

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, RS, 2020

1. Adjuvante 2. Inseticida 3. Falsa-medideira 4.
Suscetibilidade I. Bernardi, Oderlei II. Arnemann ,
Jonas André III. Melo , Adriano Arrué IV. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2020

Todos os direitos autorais reservados a **Bruna Laise Hettwer**. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Egon Wink, Nº16, Santa Cruz do Sul, RS, Brasil CEP: 96.830-320

Fone: (51) 9 9934-9414


E-mail: blhettwer@hotmail.com

Bruna Laise Hettwer


**EFEITO DA MISTURA DE TEFLUBENZURON E ADJUVANTES EM LINHAGEM
RESISTENTE E SUSCETÍVEL DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) A BENZOILUREIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Agronomia.**

Aprovado em 09 de outubro de 2020:



Oderlei Bernardi, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)



Walter Boller, Dr. (UPF) - Videoconferência



Adriano Arruê Melo, Dr. (UFSM) - Videoconferência

Santa Maria, RS
2020

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Ernani Hettwer pelo incentivo, apoio e exemplo para minha formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força, coragem e determinação de seguir em frente sempre.

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela oportunidade e auxílio durante todo o mestrado.

Um agradecimento especial ao meu pai Ernani Hettwer por todo esforço para me proporcionar a busca pelo meu crescimento profissional, compreensão pelas ausências, grata pelos ensinamentos e valores passados. É meu ídolo, meu eterno muito obrigado.

Ao meu tio Rogério, pelo incentivo de eu prosseguir com os estudos e todo apoio durante os anos de graduação e mestrado.

A toda minha família pela compreensão, auxílio e incansável apoio em todos os momentos compartilhados ao longo do mestrado.

Ao professor Adriano Arrué Melo pela orientação, pela oportunidade, confiança, amizade e todos os ensinamentos passados. És um exemplo de profissional e de ser humano.

Ao professor Oderlei Bernardi por todo conhecimento, toda paciência, todos os ensinamentos e confiança transmitidos a mim no período do mestrado. Um exemplo de profissionalismo, comprometimento e pessoa para mim.

Aos colegas e amigos do Grupo de Pesquisa em Manejo Inteligente em Tecnologia de Aplicação (MITA). Aos mestrados Eric, Henrique e Roberto. Aos graduandos Lucas, Augusto e Colaço. Em especial a Milena e a Manoela pela ajuda em todos os experimentos em campo e laboratório, atividades durante o mestrado e amizade. Muito obrigado!

Aos colegas e amigos Grupo de Pesquisa e Resistência de Insetos (G-PRI), por todo o auxílio na condução dos trabalhos e momentos de confraternização. Aos mestrados Júnior, Eduardo, Cíntia e Jéssica, aos graduandos Daniela, Fábio, Venicius, Stefan, Gerson, Rafaela, Nicolle, Patricia, Alexandre e Ramon. Meu muito obrigado!

Em especial ao colega e amigo Regis por toda a dedicação e ensinamentos ao longo do mestrado, pelas conversas e apoio. Meu eterno agradecimento.

As minhas colegas de profissão e amigas Simone, Maíne e Natalia pelo incentivo, inspiração e força para a realização do mestrado.

E a todas pessoas não citadas que foram essenciais pelo apoio durante o mestrado, meu muito obrigado.

RESUMO

EFEITO DA MISTURA DE TEFLUBENZURON E ADJUVANTES EM LINHAGEM RESISTENTE E SUSCETÍVEL DE *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) A BENZOILUREIAS

AUTORA: Bruna Laise Hettwer
ORIENTADOR: Oderlei Bernardi

A lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma das principais lagartas desfolhadoras da cultura da soja. Uma das estratégias de manejo dessa espécie envolve o uso de inseticidas. Recentemente foi reportado que essa espécie evoluiu para resistência aos inseticidas inibidores da biossíntese de quitina utilizados na cultura da soja no Brasil. Diante disso, objetivou-se analisar se alguns adjuvantes melhoram a performance dos inseticidas no controle de insetos-praga e avaliar os efeitos dos adjuvantes sobre linhagens resistentes e suscetíveis de *C. includens* ao inibidor de biossíntese de quitina teflubenzuron. No primeiro artigo compilou-se numa revisão bibliográfica os estudos com o uso de adjuvantes adicionados à calda de inseticidas para controle de insetos-praga. Constatou-se que os adjuvantes alteram as características físico-químicas das caldas inseticidas reduzindo a tensão superficial, diminuindo o ângulo de contato e estabilizando o pH. A adição de adjuvantes nas caldas de inseticidas também pode aumentar a eficácia de controle, mas isso depende do inseticida, cultura e praga-alvo. No segundo artigo foram conduzidos bioensaios para avaliar se os adjuvantes adicionados à calda inseticida de teflubenzuron ocasionam aumento na mortalidade de linhagens de *C. includens* (resistentes, heterozigotos e suscetíveis a inibidores da biossíntese de quitina). Com o uso de análises cromatográficas também avaliou-se a quantidade de teflubenzuron depositado nas folhas da soja quando do uso de adjuvantes. Em bioensaios com dieta artificial, a concentração letal de teflubenzuron foi menor para a linhagem suscetível de *C. includens* quando da presença dos adjuvantes (CL_{50} variando de 0,36 a 0,53 $\mu\text{g i.a./cm}^2$ de dieta com adjuvantes vs 0,73 $\mu\text{g i.a./cm}^2$ de dieta sem adjuvantes). Entretanto, nenhum efeito relevante dos adjuvantes adicionados a calda inseticida de teflubenzuron foi detectado para as linhagens de *C. includens* de genótipo heterozigoto ($CL_{50} = 1,18$ a 1,35 $\mu\text{g i.a./cm}^2$) e resistente (mortalidade de 39,0 a 48,3% na máxima concentração testada). Em bioensaios com folhas de soja, mesmo aquelas do terço superior, nas quais houve uma maior deposição de teflubenzuron (3,4 mg/kg vs < 1,7mg/kg), a mortalidade de suscetíveis (97,5 a 100%), heterozigotos (77,5 a 82,5%) e resistentes (12,5 a 20,0%) foi similar quando da presença ou ausência de adjuvantes na calda inseticida. Diante disso, conclui-se que os adjuvantes testados não ocasionam aumento na mortalidade de linhagens de *C. includens* suscetíveis e resistentes ao inibidor da biossíntese de quitina teflubenzuron.

Palavras-chave: Inseticida. Falsa-medideira. Suscetibilidade. Mistura em tanque.

ABSTRACT

EFFECTS OF THE MIXTURE OF TEFLUBENZURON AND ADJUVANTS ON RESISTANT AND SUSCEPTIBLE STRAINS OF *Chrysodeixis includens* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) TO BENZOYLUREAS

AUTHOR: Bruna Laise Hettwer
SUPERVISOR: Oderlei Bernardi

The soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), is one of the main defoliating pest of soybean crop. The main management strategies of this species involves the use of chemical insecticides. Recently, it was been reported that this species field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides used in soybean crop in Brazil. Based on this, the objective of this study was to evaluate whether adjuvants improve the performance of insecticides in the control of insect pests and also to evaluate the biological effects of adjuvants on resistant and susceptible strains of *C. includens* to the chitin biosynthesis inhibitor teflubenzuron. In the first article, it was compiled in a bibliographic the effects os adjuvants on the performance of insecticides aplied to control insect pests. It was found that adjuvants alter the physicochemical characteristics of the insecticide spray, reducing the surface tension, decreasing the contact angle and stabilizing the pH. The addition of adjuvants to the insecticide spray can also increase the control efficacy, but this depends on the insecticide, crop and target pest. In the second article, bioassays were conducted to assess the effects of adjuvants added to teflubenzuron spray on the mortality of *C. includens* strains (resistant, heterozygous, and susceptible to chitin biosynthesis inhibitors). Using chromatography analysis, it was also evaluated the amount of teflubenzuron deposited on soybean leaves when applied in combination with adjuvants. In diet bioassays, the lethal concentration of teflubenzuron was lower for the susceptible strain of *C. includens* when adjuvants was added to the spray (LC₅₀ ranging from 0.36 to 0.53 µg a.i./cm² of diet with adjuvants vs 0.73 µg a.i./cm² of diet without adjuvants). However, no relevant effects of adjuvants in association with teflubenzuron was verified on heterozygous (LC₅₀ = 1.35 to 1.18 µg a.i./cm² of diet) and resistant (mortality from 39.0 to 48.3% at the maximum concentration tested) strains. In bioassays with soybean leaves, even those in the upper third part of the plant canopy, in which there was a greater deposition of teflubenzuron (3.4 mg/kg vs < 1.7 mg/kg), the mortality of susceptible (97.5 to 100%), heterozygous (77.5 to 82.5%) and resistant (12.5 to 20.0%) strains, with and without adjuvants on the insecticide spray, were similar. Therefore, it is concluded that adjuvants tested do not increase the mortality of susceptible and resistant strains of *C. includens* to the chitin biosynthesis inhibitor teflubenzuron.

Keywords: Insecticide. Soybean looper. Susceptibility. Tank-mix.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO II

Figure 1. Mortality \pm standard error of Teflu-R strain at the concentration of 15,000 μg teflubenzuron/ cm^2 applied with or without adjuvants. Bars with the same letter are not significantly different (Tukey test at $P \leq 0.05$)..... 45

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Tabela 1. Efeito de adjuvantes em características físico-químicas de caldas inseticidas 24

Tabela 2. Efeito de adjuvantes sobre a eficácia biológica dos inseticidas em diferentes espécies-praga.....25

ARTIGO II

Table 1. Concentration-mortality (LC; $\mu\text{g a.i./cm}^2$) response of SBL strains exposed to teflubenzuron alone or applied with adjuvants. 42

Table 2. Percentage of mortality of SBL strains fed on soybean leaves treated with teflubenzuron alone or applied with adjuvants obtained from different parts of the plant canopy43

Table 3. Deposition and penetration of teflubenzuron applied on soybean with and without adjuvants in different parts of the plant canopy..... 44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 ARTIGO I - O uso de adjuvantes afeta o desempenho de inseticidas químicos e biológicos?	14
3 ARTIGO II - Influence of adjuvants added to teflubenzuron spray on strains of the soybean looper <i>Chrysodeixis includens</i> (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) resistant and susceptible to chitin biosynthesis inhibitors	26
6 DISCUSSÃO	46
6 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1 INTRODUÇÃO

Dentre os insetos-praga de grandes culturas agrícolas destacam-se as lagartas desfolhadoras. Neste complexo de espécies, a falsa-medideira da soja, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada uma das principais espécies que ataca as culturas da soja e algodão no Brasil, devido sua ocorrência frequente e dificuldade de controle (YANO et al., 2015). Essa espécie tem o potencial de reduzir drasticamente a área foliar das plantas de soja e ocasionar dano econômico significativo, especialmente se a desfolha ocorrer durante o período reprodutivo da cultura (MARTINS; TOMQUELSKI, 2015).

O manejo de *C. includens* não é uma tarefa fácil, pois além da dificuldade em atingir o alvo de controle no momento da aplicação, a espécie é naturalmente tolerante a muitos inseticidas químicos sintéticos (MOSCARDI et al., 2012). Essa maior tolerância está relacionada a sua capacidade de desintoxicar e excretar alguns inseticidas (MARTIN; BROWN, 1984). Por muito tempo, o manejo de *C. includens* foi realizado com inseticidas de amplo espectro, tais como organoclorados, organofosforados, piretroides e carbamatos (BOETHEL et al., 1992). Atualmente, uma série de novos inseticidas, com modo de ação distinto, tem sido utilizados para controle desta espécie, tais como inibidores de crescimento, diamidas entre outros. No entanto, falhas de controle tem sido reportadas com frequência, podendo isso estar associado à evolução da resistência. Nos Estados Unidos, desde a década de 1990 há registros da resistência de *C. includens* a piretroides (LEONARD et al., 1990). De acordo com a base de dados da Michigan State University (www.pesticideresistance.org), essa espécie evoluiu para resistência aos inseticidas acefato, BHC, DDT, cipermetrina, deltametrina, permetrina, teflutrim, fenvalerato, metomil, paratiom metílico e tiodicarbe. No Brasil há registros de resistência a lambdacialotrina (STACKE et al., 2020a) e a inibidores da biossíntese de quitina (STACKE et al., 2020b).

Dentre os fatores que afetam a evolução da resistência pode-se citar os fatores genéticos, bioecológicos e operacionais (GEORGHIOU; TAYLOR, 1977). As principais estratégias de manejo da resistência, as quais são passíveis de manipulação, estão inseridas nos fatores operacionais, como por exemplo, a escolha do produto, dose e a tecnologia de aplicação. Nesse contexto, nossa hipótese é que a tecnologia de aplicação, como o uso de adjuvantes na calda de pulverização pode aumentar a atividade biológica de determinado inseticida para controle de insetos-praga.

Os adjuvantes agrícolas, segundo a American Society for Testing and Materials (ASTM) podem ser definidos como sendo um produto adicionado ao tanque de pulverização para auxiliar/modificar a ação de produtos fitossanitários ou as características físico-químicas da mistura. No Brasil, o termo adjuvante, significa “produto utilizado em mistura com produtos formulados para melhorar a sua aplicação” conforme o decreto N 4.074, de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei do Agrotóxicos e Afins Nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Os adjuvantes podem compor as caldas de pulverização pela incorporação na formulação dos produtos ou pela adição no momento da aplicação diretamente no tanque de pulverização (HOLLOWAY, 1998).

Os adjuvantes são classificados pela sua atividade em duas categorias, sendo elas: adjuvantes utilitários e os ativadores (ASTM, 1999). Os adjuvantes utilitários tem a função de melhorar as características físico-químicas da calda inseticida sem interferir diretamente na eficácia do produto, sendo eles antiespumantes, dispersantes, controladores de deriva entre outros (McMULLAN, 2000). Os adjuvantes ativadores tem como objetivo principal melhorar a atividade do produto, a taxa de penetração, cobertura, proteção do ingrediente ativo e a eficácia (KISSMAN, 1998; TADROS, 2005; CALORE et al., 2015; MELO et al., 2019). Nesse sentido, o intuito deste trabalho foi investigar se a adição de adjuvantes na calda inseticida pode melhorar a performance de inseticidas no controle de insetos-praga. Portanto, os objetivos específicos da presente dissertação foram:

- Compilar numa revisão bibliográfica os principais efeitos de adjuvantes em aspectos físico-químicos das caldas inseticidas e na performance dos inseticidas para o manejo de insetos-praga em culturas agrícolas.

- Avaliar se adjuvantes adicionados a calda inseticida aumentam a performance de teflubenzuron sobre linhagens (resistentes, heterozigotos e suscetíveis) de *C. includens*. Ainda, avaliar se os adjuvantes melhoram a deposição do inseticida sobre folhas da soja e aumentam a eficácia de controle.

2 ARTIGO I

O uso de adjuvantes afeta o desempenho de inseticidas químicos e biológicos?

Does the use of adjuvants affect the performance of chemical and biological insecticides?

Bruna Laise Hettwer¹ Oderlei Bernardi¹ Adriano Arrué Melo¹

Seção: Ciência Rural

RESUMO

O uso de inseticidas químicos e/ou biológicos é uma prática adotada pelos agricultores para o manejo de insetos-praga. Entretanto, a técnica de aplicação no uso destes produtos pode ser a diferença entre o sucesso e o fracasso das aplicações agrícolas. Estima-se que o uso de adjuvantes pode ser uma alternativa para melhorar a eficácia dos inseticidas químicos sintéticos e biológicos. Portanto, a utilização de adjuvantes com inseticidas deve considerar os critérios técnico/científicos e as características da aplicação. Nesse sentido, essa revisão de literatura busca elucidar alguns aspectos acerca do uso de adjuvantes em aplicações agrícolas e entender seus efeitos na performance dos inseticidas. Constatou-se que os adjuvantes alteram as características físico-químicas das caldas de pulverização, alterando a tensão superficial, o ângulo de contato e o pH. Ainda, a adição de adjuvantes pode resultar na melhora da performance dos inseticidas químicos sintéticos e biológicos, entretanto, isso depende do inseticida, cultura e praga-alvo de controle.

Palavras-chaves: surfactante, calda inseticida, controle químico, bioinseticida, eficácia.

ABSTRACT

The use of chemical and/or biological insecticides is a practice adopted by farmers for the management of insect pests. However, the application technology in the use of these products can be the difference between the success and failure of agricultural applications. It is estimated that the use of adjuvants may be an alternative to improve the effectiveness of synthetic and biological chemical insecticides. Therefore, the use of adjuvants with insecticides must consider the technical or scientific criteria and the characteristics of the application. Based on this, this review intends to elucidate some aspects about the use of adjuvants in agricultural applications and to understand whether they are beneficial for the performance of insecticides. It was found that the adjuvants change the physical-applied characteristics of the spray, changing the surface tension, the contact angle and the pH. The addition of adjuvants can result in a better efficacy of chemical insecticides and bioinsecticides, however, this is dependent on the insecticide, culture and target-pest.

Key words: surfactant, insecticide spray, chemical control, bioinsecticide, efficacy.

INTRODUÇÃO

O uso de inseticidas é uma prática comum adotada pelos agricultores para o controle de insetos-praga. A recomendação de qual inseticida utilizar deve levar em consideração a cultura, estágio de desenvolvimento, a espécie-praga e a sua densidade populacional. Portanto, a escolha do inseticida (químico ou biológico) e seu posicionamento são fatores chave para o sucesso no manejo de insetos-praga. Dentre os critérios para a escolha do inseticida, o modo como o inseto se contamina com o produto é uma característica importante. Por exemplo, os bioinseticidas à base de nicotina, tem por característica contaminarem os insetos na sua fase de vapor, mas também em menor quantidade por contato (COPPING & MENN, 2000). Ao se conhecer essas

características pode-se melhorar, por meio da tecnologia de aplicação a ação do inseticida sobre o inseto-praga. Portanto, a eficiência das aplicações agrícolas depende do inseticida escolhido, do momento de aplicação e da qualidade da aplicação (AZEVEDO & CASTELANI, 2013). Em outras palavras, o pesticida é apenas um dos elementos na técnica de transferência do equipamento aplicador para o alvo (RAETANO, 2019).

No processo de aplicação dos inseticidas, o emprego de adjuvantes pode melhorar a performance dos inseticidas. Os adjuvantes podem ser classificados de acordo com sua funcionalidade em utilitários e ativadores (ASTM, 1999). Os adjuvantes utilitários têm a função de melhorar determinadas características físico-químicas da calda de pulverização, sem necessariamente interferir na eficácia do produto, sendo eles, antiespumantes, dispersantes, condicionantes de calda, redutores de deriva, entre outros (MCMULLAN, 2000). Os adjuvantes ativadores têm como principal objetivo melhorar a eficácia biológica dos pesticidas, aumentando a taxa de penetração nos tecidos da planta ou no inseto (TADROS, 2005). Nesse contexto, na literatura percebe-se que as interações entre adjuvantes e outras classes de pesticidas, como herbicidas e fungicidas foram amplamente estudadas. No entanto, a interação adjuvantes e inseticidas ainda é pouco conhecida. Diante disto, essa revisão de literatura busca compilar e elucidar alguns aspectos dessa interação e entender se esta melhora a performance dos inseticidas utilizados no manejo de insetos-praga.

Efeitos de adjuvantes em características físico-químicas de caldas inseticidas

Na tabela 1 foi apresentado um compilado dos principais efeitos dos adjuvantes em características físico-químicas de caldas inseticidas. Dentre os efeitos destacam-se aqueles sobre o potencial hidrogeniônico (pH), a tensão superficial das caldas inseticidas e ângulo de contato, os quais serão detalhados abaixo.

O pH das caldas de inseticidas químicos e biológicos pode afetar diretamente a eficácia dos produtos. Para o pH dos inseticidas biológicos como aqueles formulados com *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner, por exemplo, o ideal é que seja menor que 7,0 (LIU & TZENG, 1998). O pH das caldas inseticidas pode ser alterado pela adição de adjuvantes. Por exemplo, os adjuvantes Nonil Fenol Etoxilado (In-Tec[®]), Nonil Fenoxi Poli Etanol (Agral[®]), Lauril Éter Sulfato de Sódio (TA35[®]), Óleo Mineral (Nimbus[®]), Óxido de Alquileno (Silwet[®]) e Éster Metílico de Óleo de Soja (Aureo[®]) são importantes na manutenção do pH de caldas de pulverização com inseticidas formulados com Bt (Dipel SC[®] e Dipel WP[®]) com valores inferiores a 6,0, mesmo com um repouso de calda de 24 horas, mantendo assim os valores próximos do ideal para a performance destes inseticidas (DOS SANTOS et al., 2019). Em outro estudo, os inseticidas abamectina (Vertimec[®]), bifentrina (Talstar[®]), clorpirifós (Lorsban[®]), fenproatrina (Danimen[®]) e fipronil (Klap[®]), aplicados com a adição do adjuvante à base de fosfatidilcolina + ácido propiônico (LI 700[®]) teve o pH da calda de pulverização reduzido, na qual o adjuvante atuou como protetor da hidrólise alcalina (CUNHA et al., 2017).

A tensão superficial é outro aspecto importante a se considerar em uma calda de pulverização. A tensão superficial é o resultado do desequilíbrio entre as forças moleculares agindo sobre a superfície do líquido em relação àquelas que se encontram no interior da solução. As forças intermoleculares que atraem as moléculas da superfície de um líquido para o seu interior torna-se um obstáculo para formação de gotas, sendo que estas forças de coesão tendem a diminuir a área superficial ocupada pelo líquido, ocorrendo assim formação de gotas esféricas (BEHRING et al., 2004). A tensão superficial também influencia o ângulo de contato entre a gota e a superfície da folha. Nesse contexto, o uso de adjuvantes pode alterar as características das caldas inseticidas e melhorar as propriedades de molhabilidade, espalhamento e aderência nas superfícies das plantas (HESS & FOY, 2000).

A adição do adjuvante organossiliconado (Silwet L-77[®]), em calda do inseticida biológico Best HD[®] (*B. thurigiensis* var. *kurstaki* cepa HD-1), reduziu a tensão superficial promovendo uma melhor molhabilidade (COSTA et al., 2017). Esse efeito é relevante para bioinseticidas à base de Bt, os quais necessitam ter um bom espalhamento sobre as partes vegetais para que os insetos-alvo ingiram uma dose letal (JURAT-FUENTES & CRICKMORE, 2017). As caldas inseticidas com tiametoxam, imidacloprido e lambda-cialotrina reduziram o ângulo de contato quando associadas aos adjuvantes Break-Thru[®] S240 e Break-Thru[®] S233, com maior molhamento em trigo e milho (MELO et al., 2019). Em amendoim, thiametoxam em associação com óleo mineral (Nimbus[®]) e óleo vegetal (Veget'Oil[®]) também apresentou menor ângulo de contato, melhorando o espalhamento do inseticida (CALORE et al., 2015).

Com base nestes estudos pode-se inferir que os adjuvantes adicionados a calda inseticida melhoram a estabilidade e qualidade das caldas e aumentam a probabilidade de que o inseticida mantenha ou melhore o seu potencial de controle, além de mitigar riscos de contaminação ambiental.

Efeito dos adjuvantes na eficácia de inseticidas para controle de insetos-praga

Quando da aplicação de inseticidas espera-se que os mesmos tenham uma máxima eficácia no controle de insetos-praga. Nesse sentido, a tecnologia de aplicação de inseticidas com o uso de adjuvantes pode ser uma alternativa para se obter uma maior eficácia dos produtos no controle de insetos-praga. Na tabela 2 foram compilados os principais estudos que demonstraram os efeitos de adjuvantes na performance de inseticidas para controle de insetos-praga.

Na cultura da soja, a adição do adjuvante (Extremo[®]) ao inseticida biológico Dipel[®] ocasionou um aumento de 30% na mortalidade da lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) (CAYE et al. 2019). A adição do adjuvante

à base de lauril éter sulfato de sódio (TA-35[®]) também aumentou em 17% a mortalidade do percevejo-marrom da soja, *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), quando adicionado à calda de tiametoxam + lambdacialotrina (FERRARI et al., 2014). Na cultura do amendoim, a mistura de tiametoxam + lambdacialotrina ocasionou maior mortalidade de ninfas e adultos de *Enneothrips flavens* Moulton, 1941 (Thysanoptera: Thripidae) quando o óleo vegetal (Veget´Oil[®]) foi adicionado à calda inseticida (CALORE et al., 2015). Na cultura do milho, os inseticidas alfacipermetrina, lambdacialotrina, deltametrina e esfenvalerate tiveram maior eficácia de controle de *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885) (Lepidoptera: Crambidae) quando da adição de um adjuvante organosiliconado (Break Thru[®] S240) no tanque de pulverização (SLABBERT & VAN DEN BERG, 2009). A adição de adjuvantes em geral nas aplicações melhora a adesão e a penetração de produtos fitossanitários nas folhas (ANTUNIASSI, 2009), pois favorecem a penetração dos inseticidas pela cutícula de cera das folhas (CURRAN et al., 2009).

De maneira geral, o uso de adjuvantes pode melhorar a eficácia dos inseticidas.

Entretanto, com base nos estudos compilados (Tabela 2) observa-se que a resposta de adjuvantes adicionados à calda inseticida varia com o inseticida, cultura e praga-alvo. Portanto, antes do uso de determinado adjuvante agrícola é necessário que se conheça quais são as suas características físico-químicas e, principalmente, a sua interação com o inseticida a ser aplicado, pois somente assim será possível ter uma maior assertividade na sua utilização e uma melhor relação custo-benefício.

CONCLUSÕES

Os adjuvantes agrícolas alteram as características físico-químicas das caldas de pulverização de inseticidas químicos e biológicos reduzindo a tensão superficial, diminuindo o ângulo de contato da gota e estabilizando o pH.

O uso de adjuvantes agrícolas em caldas inseticidas pode melhorar a performance de inseticidas químicos e biológicos para controle de insetos-praga, mas isso depende do inseticida, cultura e praga-alvo.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece pela bolsa de estudos concedida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

DECLARAÇÃO DE INTERESSE DE CONFLITO

Os autores do trabalho não tem interesse de conflito a declarar.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Annual Book of ASTM Standards. Designation E 1519-95, Standard Terminology Relating to Agricultural Tank Mix Adjuvants. v.11.05, p.905-906. 1999.
- ANTUNIASSI, U.R. **Conceitos básicos da tecnologia de aplicação de defensivos para a cultura da soja**. Boletim de pesquisa de Soja, 2009. 18p. Boletim técnico 13.
- AZEVEDO, L.; CASTELANI, P. **Agricultural Adjuvants for Crop Protection**. 1 ed. Rio de Janeiro: Imos Gráfica Editora, 2013. 236p.
- BEHRING, J.L. et al. Adaptação no método do peso da gota para determinação da tensão superficial: um método simplificado para a quantificação da CMC de surfactantes no ensino da química. **Química Nova**, v.27, p.492-495. 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000300021>>. Acesso: 20 Set. 2020.
- CALORE, R.A. et al. Efeitos de adjuvantes no controle de *Enneothrips flavens* Moulton,

1941 (Thysanoptera: trypidae) na cultura do amendoim. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10, p.74-81. 2015. Disponível em: < <https://doi.org/10.5039/agraria.v10i1a5043>>.

Acesso: 20 Mai. 2020.

CAYE, M. et al. Efeito da aplicação e do uso de adjuvantes com o inseticida Dipel® no controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) em soja. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE AGROTÓXICOS, 9., 2019, Campo Grande, MS. **Anais...** Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 2019. v.9, p.266-269.

COPPING L.G.; MENN, J.J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, v.56, n.8, p.651-676. 2000. Disponível em:

<[https://doi.org/10.1002/1526-4998\(200008\)56:8<651::AID-PS201>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1526-4998(200008)56:8<651::AID-PS201>3.0.CO;2-U)>. Acesso em: 20 Set. 2020.

CUNHA, J.P.A.R. et al. Tensão superficial, potencial hidrogeniônico e condutividade elétrica de caldas de produtos fitossanitários e adjuvantes. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, p.261-270. 2017. Disponível em: < <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170030>>. Acesso: 20 Mai. 2020.

CURRAN, W.S. et al. Adjuvants for enhancing herbicide performance. **Agronomy Facts 37**, The Pennsylvania State University, 2009. Disponível em: <<https://library.ndsu.edu/ir/bitstream/handle/10365/3066/1847cu99.pdf>>. Acesso: 24 Jul. 2020.

COSTA, L.L. et al. Droplet spectra and surface tension of spray solutions by biological insecticide and adjuvants. **Engenharia Agrícola**, v.37, p.292-301. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v37n2p292-301/2017>>. Acesso: 20 Jul. 2020.

DOS SANTOS, C.A.M. et al. Effect of addition of adjuvants on physical and chemical characteristics of Bt bioinsecticide mixture. **Scientific Reports**, v.9, p.1-8. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-019-48939-y>>. Acesso: 21 Mai. 2020.

FERRARI, F. et al. Efeito do volume de calda adjuvante e horário de aplicação sobre a eficiência de controle percevejos da soja. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 9., 2014, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2014. v. 9.

HESS, F.D.; FOY, C.L. Interaction of surfactants with plant cuticles. **Weed Technology**, v.14, p.807-813. 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2000\)014\[0807:IOSWPC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2000)014[0807:IOSWPC]2.0.CO;2)>. Acesso: 20 Set. 2020.

JURAT-FUENTES, J.L.; CRICKMORE, N. Specificity determinants for Cry insecticidal proteins: Insights from their mode of action. **Journal Invertebrate Pathology**, v.142, p.5-10. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.07.018>>. Acesso: 19 Mai. 2020.

KNOWLES, B.H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ -endotoxins. **Advances in Insect Physiology**, v.24, p.275-308. 1994. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60085-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60085-5)>. Acesso: 20 Set. 2020.

LASMAR, O. et al. Evaporation time of droplets containing thiamethoxam and adjuvants on hydrophilic, hydrophobic and lipophilic surfaces under different air relative humidities. **Bioscience Journal**, v.32, p.108-114. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.14393/BJ-v32n1a2016-29647>>. Acesso: 19 Mai. 2020.

LIU, B.L.; TZENG, Y.M. Optimization of growth medium for production of spores from *Bacillus thuringiensis* using response surface methodology. **Bioprocess Engineering**, v.18, p.413-418. 1998. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/PL00008999>>. Acesso: 17 Mai. 2020.

MCMULLAN, P.M. Utility adjuvants. **Weed Technology**, v.14, p.792-797. 2000. Disponível em: < [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2000\)014\[0792:UA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2000)014[0792:UA]2.0.CO;2)>. Acesso: 20 Mai. 2020.

MELO, A.A. et al. Study of the effects of adjuvants associated with insecticides on the physicochemical properties of the spray solution and characterization of deposits on wheat and maize leaves under simulated rain. **Engenharia Agrícola**, v.39, p.315-322. 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v39n3p315-322/2019>>. Acesso: 10 Jul. 2020.

RAETANO, C.G. Introdução ao estudo da tecnologia de aplicação de produtos fitossanitários. In: ANTUNIASSI, U.R.; BOLLER, W. Tecnologia de Aplicação para culturas anuais. Passo Fundo: Aldeia Norte, 2019. p.15-27.

SLABBERT, O.; VAN DEN BERG, J.V. The effect of the adjuvant, Break-Thru S240, on whorl penetration and efficacy of foliar insecticide applications against *Chilo partellus*. **South African Journal of Plant and Soil**, v.26, p.254–258. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/02571862.2009.10639963>>. Acesso: 24 Mai. 2020.

TADROS, T.F. **Applied Surfactants: Principles and applications**. Weinheim: John Wiley & Sons, 2005.

Tabela 1 - Efeito de adjuvantes em características físico-químicas de caldas inseticidas.

Adjuvante	Inseticida	Efeito	Referência
In-tec [®] , Agral [®] , Li-700 [®] , TA-35 [®] , Nimbus [®] , Silwet [®] e Aureo [®]	Dipel [®] (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	Todos os adjuvantes reduziram a tensão superficial Apenas os adjuvantes Silwet [®] , Agral [®] e LI 700 [®] reduziram o pH da calda Somente o adjuvante Nimbus [®] reduziu o ângulo de contato do inseticida	Dos Santos et al., 2019
Break-Thru [®] S240, Break-Thru [®] S233, Break-Thru [®] Union, Oleo FC Agraröl [®] , Naturo'il [®] .	Actara 25 WG [®] , Confidor [®] e Karate [®]	Houve redução da tensão superficial da calda em até 70%	Melo et al., 2019
Li 700 [®] , Silwet L-77 [®] , Agral [®] , Nimbus [®] e Aureo [®]	Best HD [®] (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	Redução na tensão superficial da calda	Costa et al., 2017
Áureo [®] , LI 700 [®] , In-tec [®] e Nimbus [®]	Vertimec [®] , Talstar [®] , Lorsban [®] , Danimen [®] e Klap [®]	Houve maior redução na tensão superficial quando da adição de Nimbus [®] O adjuvante LI 700 [®] reduziu o pH da calda de todos os inseticidas	Cunha et al., 2017
Veget'Oil [®] , Nimbus [®] e Vertex RS [®]	Engeo Pleno [®] SC	Veget'Oil [®] e Nimbus [®] reduziram o ângulo de contato em até 48% e a tensão superficial em até 50%	Calore et al., 2015
Nimbus [®] , Veget'Oil [®] e In-Tec [®]	Actara [®] 250WG	A tensão superficial da calda reduziu em até 50% com a adição de Nimbus [®]	Lasmar et al., 2016

Tabela 2 - Efeito de adjuvantes sobre a eficácia dos inseticidas em diferentes espécies-praga.

Adjuvante	Inseticida	Espécie	Efeito	Referência
Break Thru® S 240, Extremo® e Nimbus®	Dipel® (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	<i>Chrysodeixis includens</i>	Os adjuvantes aumentaram em até 30% a mortalidade	Caye et al., 2019
Veget Oil® (OV), Nimbus® (OM) e Vertex RS®(TB)	Engeo Pleno® SC	<i>Enneothrips flavens</i>	Aumento na mortalidade de ninfas e adultos	Calore et al., 2015
TA-35® (lauril éter sulfato de sódio)	Engeo Pleno®	<i>Euschistus heros</i>	O adjuvante proporcionou aumento na mortalidade em até 17%	Ferrari et al., 2014
Break Thru® S240	Alfa-cipermetrina, lambda-cialotrina, deltametrina e esfenvalerate	<i>Chilo partellus</i>	A adição do adjuvante aumentou em 50% a mortalidade	Slabbert & Van Den Berg, 2009

3 ARTIGO II

Influence of adjuvants added to teflubenzuron spray on strains of the soybean looper *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) resistant and susceptible to chitin biosynthesis inhibitors

Bruna L Hettwer¹, Daniela N Godoy¹, Manoela R Hanich¹, Milena Caye¹, Rafaella P Moreira¹, Eric F Luchese¹, Renato Zanella², Oderlei Bernardi¹ and Adriano A Melo¹

¹*Department of Plant Protection, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima 1000, Santa Maria, Rio Grande do Sul 97105-900, Brazil*

²*Department of Chemistry, Federal University of Santa Maria, Av. Roraima 1000, Santa Maria, Rio Grande do Sul 97105-900, Brazil*

Section: Annals of the Brazilian Academy of Sciences

Abstract

The soybean looper (SBL), *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae), is a native and important soybean and cotton pest in South America. Field-evolved resistance of SBL to inhibitors of chitin biosynthesis has recently been reported from Brazil. Here, we conducted laboratory bioassays to investigate if adjuvants added to the teflubenzuron spray increase the mortality of SBL strains (resistant, heterozygous, and susceptible to chitin biosynthesis inhibitors). Using chromatography analysis, we also evaluated the amount of teflubenzuron deposited on soybean leaves when applied alone or in combination with

adjuvants. In laboratory bioassays, the biological activity of teflubenzuron increased against the susceptible SBL strain when adjuvants were added to the spray. In contrast, no relevant effects of adjuvants added to the teflubenzuron spray against heterozygous and resistant SBL larvae were detected. In leaf bioassays, even leaves from the upper third part of the plants containing a significantly higher amount of teflubenzuron (3.4 mg/kg vs 1.7 and 0.6 mg/kg); the mortality of SBL strains was similar when teflubenzuron was applied alone or in mixture with adjuvants. Our findings indicate that adjuvants added to teflubenzuron spray do not provide a substantial increase in the mortality of SBL strains resistant to chitin biosynthesis inhibitors.

Keywords: benzoylphenylureas, soybean pest, susceptibility, tank mixture.

Introduction

The soybean looper (SBL), *Chrysodeixis includens* (Walker 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) is an important defoliator pest of soybean [*Glycine max* L. (Merr.)] and cotton (*Gossypium hirsutum* L) in South American countries (Santos et al. 2017, Silva et al. 2020). For decades, SBL management on soybean and cotton has been performed with chemical insecticides (Panizzi 2013). However, the development and deployment of transgenic soybean and cotton plants, expressing insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner, has enabled other control tactics against SBL (Bernardi et al. 2012, Sorgatto et al. 2015, Marques et al. 2016). These Bt crops are planted on areas of nearly 1.2 (cotton) and 24 (soybean) million hectares, representing 82 and 62% of the total area cultivated with these crops in Brazil (Brokees & Barfoot 2018, Council Biotechnology Information 2018).

Currently, the management of SBL in soybean and cotton crops is mainly performed by chemical and biological insecticides (on non-Bt areas) or by cultivation of Bt plants. Among

the chemical insecticides, inhibitors of chitin biosynthesis (benzoylphenylureas) have been used since the 1970s against lepidopteran pests, including SBL (Beeman 1982). Chemical control of SBL is difficult because larvae are less exposed to insecticide sprays due to their habit of remaining sheltered under the plant canopy (Papa & Celoto 2007, Funichello et al. 2019). Prolonged and frequent use of benzoylphenylureas against SBL has contributed to field resistance to the chitin synthesis inhibitors teflubenzuron, novaluron, and lufenuron in populations of SBL in Brazil (Stacke et al. 2019, Stacke et al. 2020). Such resistance has also been reported in *Plutella xylostella* (L.) (Santos et al. 2011) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Nascimento et al. 2016).

In the insecticide application technology context, some adjuvants are used in tank mixtures of insecticides to increase the effectiveness of the substances (Melo et al. 2019). Adjuvants have the function of modifying the physicochemical characteristics, increasing the efficacy, and protecting phytosanitary products in the mixture (Abdelgaleil et al. 2015, Melo et al. 2015, Santos et al. 2019). Previous studies indicate that adjuvants added to diamides increased the mortality of adults of *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae) (Demkovich et al. 2018). This was also verified for adjuvants added to indoxacarb and cartap to control *Neoleucinodes elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) (De Bortoli et al. 2013), thiamethoxam + lambda-cyhalothrin to control *Enneothrips flavens* (Guenée 1854) (Thysanoptera: Trypidae) (Calore et al. 2015), and dimethoate and spinetoram to control *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) (Negash et al. 2020). However, the effects of adjuvants added to insecticide sprays against insects resistant to insecticides remain unknown. Understanding if adjuvants increase the mortality of resistant and mainly heterozygous pest insects is important to support insect resistance management plans; heterozygous insects are mainly responsible for the dispersion of resistance alleles in field populations (Caprio & Sumerford et al. 2007).

To fill this knowledge gap, we conducted laboratory studies to investigate whether adjuvants added to teflubenzuron spray increased the mortality of SBL strains (resistant, heterozygous, and susceptible to chitin biosynthesis inhibitors). We hypothesized that the response of SBL strains exposed to teflubenzuron + adjuvants or teflubenzuron alone varies based on the genotype of the SBL. We conducted these evaluations using diet-overlay and soybean-leaf bioassays. The amount of teflubenzuron that penetrated soybean leaves was also quantified using chromatographic analysis.

Material and methods

SBL strains

A teflubenzuron-resistant SBL colony (Teflu-R) was isolated from field populations as described in detail by Stacke et al. 2020. The Teflu-R strain presented a high resistance ratio to teflubenzuron > 36,300-fold. We also used a strain of SBL that has been maintained in the laboratory since 2015 without exposure to insecticides and Bt toxins, referring to this colony as a susceptible strain (Sus). To evaluate heterozygotes, reciprocal crosses between resistant ♀ × susceptible ♂ were performed. We only used this heterozygote strain because inheritance of resistance is autosomally inherited (Stacke et al. 2020).

Adjuvants

The following adjuvants were added to the teflubenzuron spray: Nimbus[®] (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo SP, Brazil), TA 35[®] (Inquima Ltda, Cambé PR, Brazil), Break-Thru[®] S 240 (Evonik Degussa Brazil Ltda, São Paulo SP, Brazil) and Rizospray

Extremo[®] (Rizobacter do Brazil, Londrina PR, Brazil). The amount of each adjuvant was added to the insecticide spray according to the recommendations of the manufacturers.

Diet-overlay bioassays

The bioassays were conducted in 24-well acrylic plates (Costar[®], São Paulo SP, Brazil) to evaluate the susceptibility of SBL strains to teflubenzuron (Nomolt[®], 150 g teflubenzuron/L, BASF SA, São Paulo SP, Brazil) alone or applied with adjuvants. Each well received 1.0 mL of artificial diet based on white bean, wheat germ, and yeast, commonly used for rearing SBL (adapted from Greene et al. 1976). After a drying period, five to seven concentrations of teflubenzuron alone or teflubenzuron + adjuvants were prepared with distilled water. The control treatment was only distilled water. A volume of 30.0 μ L of each concentration was applied to the diet surface in each well (surface area of 1.88 cm²) and allowed to dry. Subsequently, a single early L3 larva was added to each well. Plates were sealed with their covers and placed in a room at $27 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ RH and a photoperiod of 14:10 h. Mortality was assessed after 5 days. Larvae without movement were considered dead. Concentration-mortality data were subjected to Probit analysis to estimate the LC₅₀ and LC₉₀ lethal concentrations and 95% confidence intervals (95% CIs), using the Polo-PC program (LeOra Software 2002). A likelihood ratio test was performed to test the hypothesis that the LC₅₀ and LC₉₀ values are equal. If rejected, pairwise comparisons were performed, and significance was declared if 95% CIs did not overlap (Savin et al. 1977).

Leaf bioassays

Leaf-bioassays were performed to evaluate the survival of SBL strains on soybean leaves sprayed with teflubenzuron alone (Nomolt[®]: 150 g teflubenzuron/L, BASF SA, São Paulo SP, Brazil) or mixed with adjuvants. Soybean seeds (ICS 1032 RR, Sementes Ponteio, Cruz Alta RS, Brazil) were sown in field conditions during the crop season of 2019–2020. Planting was performed on 27 November 2019 in Santa Maria, RS, Brazil (29° 71' 54" S e 53° 73' 56" W), at a density 280,000 plants/ha. At sowing, 200 kg/ha of Nitrogen–Phosphorus–Potassium (NPK; 5–20–20) were applied. Soybean were sown in four identical blocks arranged in a randomized design with treatments were distributed in 12-m² plots (each plot was comprised of six soybean rows of 4.0 m in length and with a spacing of 0.50 m between rows). At the R₁ growth stage (Fehr & Caviness 1981), soybean plots were sprayed with teflubenzuron (22.5 g a.i./ha) and respective adjuvants diluted in 150 L of water using a pressurized-CO₂ backpack sprayer with a 3.0-m a side bar and 0.5-m nozzle spacing (MGA 90° hollow cone nozzle, MagnoJet, Ibaiti PR, Brazil). The dose of teflubenzuron sprayed correspond to the field recommendation against SBL on soybean. Unsprayed leaves were used as control treatment. After 30 min of application, leaflets of the lower (0.0 to 0.6 m height), middle (0.6 to 0.8 m height) and upper (0.8 to 1.0 m height) parts of the soybean plants were removed and transported to the laboratory. Subsequently, leaves were placed over a gelled mixture of 2.5% agar-water in 100-mL plastic pots (one leaves/pot). Each pot was infested with a single L3 larva of the resistant, heterozygous or susceptible strain (4 repetitions of 10 larvae, totalizing 40 larvae/strain/treatment). Pots were sealed and placed in a room at 25 ± 2°C, 60 ± 5% relative humidity, and a photoperiod of 12:12 h. Survival was evaluated after 5 days. The numbers of larvae tested and dead in each treatment were used to estimate the 95% confidence intervals (95% CIs) for the probability of mortality, according to a binomial distribution (Dorai-Raj 2009). For this analysis, the function *binom.probit* from the package *binom* in R 3.6.1 (R

Development Core Team 2019) was used. Percent mortality was corrected using the Abbott's formula (Abbott 1925) and considered significantly different when the 95% CIs did not overlap.

Chromatography to quantify teflubenzuron on soybean leaves

To perform the chromatographic analysis, soybean leaflets were collected in the same plots and at the same time as the leaves used in leaf bioassays. In total, 12 leaflets of each plant part were sampled, stored in plastic bags, and transported to the laboratory. The sample preparation method was based on a previous method described by Viera et al. 2017. Leaflets were homogenized using a food processor, and the original QuEChERS procedure was performed as follow: 3.0 g of the sample were weighed in a 50/mL polypropylene (PP) tube, 10 mL of acetonitrile were added, and the tube was vortexed for 1.0 min. A mixture of 1.5 g of NaCl and 4.0 g of MgSO₄ was used to promote the partitioning step. The tube was vigorously shaken for 1.0 min and centrifuged for 8.0 min at 2.600 g. The clean-up step was performed in a 15/mL polypropylene tube with 2.0 mL of the supernatant and 300 mg of MgSO₄, 50 mg C18, and 10 mg GCB. The tube was vortexed for 1.0 min, followed by centrifugation at 2.600 g for 8.0 min. Finally, the extract was filtered (0.2/μm nylon syringe filter) and diluted five times with ultrapure water prior to analysis by UHPLC–MS/MS. The amount of teflubenzuron on leaves from each soybean part were compared by PROC ANOVA, using the Tukey test ($P < 0.05$), in the SAS® software (SAS Institute 2002).

Results

Diet overlay bioassays

The low mortality response of the Teflu-R strain to concentration increases of teflubenzuron did not allow the estimation of LC values. The Teflu-R strains exposed to the maximum concentration (15,000 $\mu\text{g a.i./cm}^2$) of teflubenzuron alone or in mixture with adjuvants presented a similar mortality (39.0 to 48.3%) ($F = 1.65$; $df = 4, 25$; $P = 0.1931$) (Fig. 1). When the F_1 progeny from Teflu-res $\text{♀} \times \text{Sus}\text{♂}$ (heterozygote) was exposed to teflubenzuron + Nimbus ® (0.5%), the LC_{50} value was significantly lower (0.69 a.i./ cm^2) than that of teflubenzuron in mixture with other adjuvants or teflubenzuron alone (LC_{50} from 1.18 to 1.35 a.i./ cm^2) (Table 1). However, estimated LC_{90} values of teflubenzuron alone or associated with adjuvants were similar for the heterozygote strain. The Sus strain exposed to teflubenzuron applied with adjuvants presented LC_{50} (0.36 to 0.53 a.i./ cm^2) and LC_{90} (1.55 to 1.76 a.i./ cm^2) values significantly lower than when teflubenzuron was used alone (0.73 and 2.52 a.i./ cm^2 , respectively), indicating an increase in the biological activity of teflubenzuron against susceptible strain when applied with adjuvants (Table 1).

Leaf bioassays

There were no significant differences in the mortality of the Teflu-R strain fed on leaves from upper (from 12.5 to 20%), middle (from 7.7 to 12.8%) and lower (from 2.5 to 7.0%) thirds of the soybean plants sprayed with teflubenzuron alone or in mixture with adjuvants (Table 2). No significant differences were also detected when the F_1 progeny from Teflu-res $\text{♀} \times \text{Sus}\text{♂}$ and Sus strain were fed on leaves from the three parts of the plant treated with teflubenzuron alone or in combination with adjuvants (Table 2). The mortality of heterozygous and Sus strains on leaves of each part of the soybean plants sprayed with teflubenzuron alone or in combination with adjuvants was higher when exposed to leaves from upper (77.0 to 100%), middle (64.1 to 92.3%) and lower (55.2 to 84.6%) parts than the mortality of the Teflu-R strain exposed to

leaves of any part (mortality < 20%) (Table 2). In contrast, the mortality of all SBL strains on untreated leaves was < 2.5%.

Quantification of the amount of teflubenzuron on soybean leaves

Adjuvants added to the teflubenzuron spray did not increase the penetration capacity of this active ingredient on leaves of soybean located in the upper ($F = 0.85$, $df = 4, 10$, $P = 0.5228$), middle ($F = 0.48$; $df = 4, 10$; $P = 0.7518$), and lower ($F = 0.30$; $df = 4, 10$; $P = 0.8698$) parts of the plants when compared to teflubenzuron alone (Table 3). However, on leaves from the upper third part of soybean plants the amount of teflubenzuron (3.4 ± 0.4 mg/kg) was significantly higher than on leaves from other parts (middle = 1.7 ± 0.2 mg/kg and lower = 0.6 ± 0.2 mg/kg) ($F = 28.66$; $df = 2, 42$; $P < 0.0001$). Therefore, deposition of teflubenzuron alone or in combination with adjuvants was greater in the upper third leaves followed by middle and lower leaves of the soybean plants.

Discussion

The addition of adjuvants to teflubenzuron spray increased the mortality of the teflubenzuron-susceptible SBL strain only in diet bioassays but did not affect the mortality of resistant and heterozygous strains. In leaf bioassays, no differences in mortality for teflubenzuron alone or in mixture with adjuvants on SBL strains were detected. Contrary to this, adjuvants added to the insecticide spray of other biosynthesis chitin inhibitors (flufenoxuron, triflumuron, novaluron and lufenuron) increased the mortality of susceptible *N. elegantalis* (De Bortoli et al. 2013). In laboratory and field applications of chlorantraniliprole and flubendiamide the addition of adjuvants increased the mortality of *A. transitella*

(Demkovich et al. 2018). Adjuvants added to fipronil, lambda-cyhalothrin, and dimethoate spray also increased the control efficacy against *T. tabaci* (Gangwar et al. 2016, Negash et al. 2020) and the biological activity of chlorantraniliprole against *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) (Arrué et al. 2014).

In our study, adjuvants added to teflubenzuron spray did not increase the amount of active ingredient that penetrated the soybean leaves. We detected a high amount of teflubenzuron on leaves of the upper part of soybean plants, although without an increased mortality of SBL strains. The low effects of adjuvants added to the teflubenzuron spray against SBL strains can be explained by the high capacity of this species to detoxify and eliminate insecticides after to ingestion (Martin & Brown 1984). This can also be influenced by the mechanisms of resistance to chitin biosynthesis inhibitors, which are associated with target site mutations (Van Leeuwen et al. 2012, Douris et al. 2016), detoxification mediated by monooxygenase P450 enzymes (Sonoda & Tsumuki 2005, Nascimento et al. 2016), and reduced cuticular penetration (Pimprikar & Georghiou 1979). Therefore, these mechanisms may prevent binding of the active ingredient or, alternatively, the active ingredient was degraded, reducing the amount that reaches the target sites. Understanding the resistance mechanisms to chitin biosynthesis inhibitors in SBL should be a research topic for future studies.

The low mortality of resistant and heterozygote strains when exposed to teflubenzuron alone or in mixture with adjuvants can be explained by their high resistance to inhibitors of chitin biosynthesis, which leads us to infer that under field conditions, the use of adjuvants did not contribute to reduce the resistance frequency to teflubenzuron in populations of SBL. In an insect resistance management (IRM) context, the low mortality of heterozygotes when exposed to teflubenzuron explain, in part, the generalized resistance of SBL populations to this insecticide in Brazil (Stacke et al. 2020). Therefore, it is necessary to reduce the use of inhibitor

of chitin biosynthesis against SBL in Brazil, as well as to give preference to insecticides with distinct modes of action and lower resistance frequencies.

In summary, adjuvants added to teflubenzuron spray do not cause a substantial increase in the mortality of SBL strains. Thus, the integrated use of chemical control with Bt soybean and Bt cotton technologies (Greenberg et al. 2010, Bernardi et al. 2012, Sorgatto et al. 2015) and biological control agents, e.g., *Chrysodeixis includens* multiple nucleopolyhedrovirus (ChinNPV – a registered baculovirus-based insecticide to control SBL in Brazil) (Muraro et al. 2019), may delay the development of further resistance and can facilitate the reversion of the resistance of SBL to inhibitors of chitin biosynthesis. Therefore, for successful IPM and IRM plans, the use of multiple control tactics with diverse mortality factors is necessary to manage SBL in soybean and cotton crops.

Acknowledgments

We thank National Council for the Improvement of Higher Education (CAPES) for granting a scholarship to the first author.

References

- Abbott WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entomol* 18: 265–267.
- Abdelgaleil, SAM, Abdel-Aziz NF, Sammour EA, El-Bakry AM, & Kassem SMI. 2015. Use of tank-mix adjuvants to improve effectiveness and persistence of chlorpyrifos and cyhalothrin formulations. *J Agr Sci Tech* 17: 1539–1549

- Arrué A, Guedes JVC, Storck L, Swarowsky A, Cagliari D, Burtet LM & Arnemann JA. 2014. Precipitação artificial após aplicação do inseticida clorantraniliprole associado com adjuvante em plantas de soja. *Ciênc Rural* 44: 2118–2123.
- Beeman RW. 1982. Recent advances in mode of action of insecticides. *Annu Rev Entomol* 27: 253–281.
- Bernardi O, Malvestiti GS, Dourado PM, Oliveira WS, Martinelli S, Berger GU, Head GP & Omoto C. 2012. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest Manag Sci* 68: 1083–1091.
- Brookes G & Barfoot P. 2018. Farm income and production impacts of using GM crop technology 1996–2016. *GM Crops Food* 9: 59–89.
- Calore RA, Da Costa Ferreira M & Galli JC. 2015. Adjuvant effects on the control of *Enneothrips flavens* Moulton, 1941 (Thysanoptera: trypidae) in peanut culture. *Braz J Agric Sci* 10: 74-81.
- Caprio MA & Sumerford DV. 2007. Evaluating transgenic plants for suitability in pest and resistance management programs. In: LACEY, L.A., KAYA, H.K. (Eds.), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Kluwer Academic, Dordrecht, p. 805-828.
- Council Biotechnology Information (CIB-Brazil). 2018. 20 years of GMOs: environmental, economic and social benefits in Brazil. <https://croplifebrasil.org/publicacoes/20-years-of-gmos-environmental-economic-and-social-benefits-in-brazil/> (Accessed 25 April 2020).
- De Bortoli SA, Benvenga SR, Gravena S, Vacari AM & Volpe HXL. 2013. Ação de inseticidas sobre os ovos e lagartas da broca-pequena-do-fruto do tomate, em bioensaio de laboratório. *Arch of the Biol Inst* 80: 73-82.

- Demkovich MR, Siegel JP, Walse SS & Berenbaum MR. 2018. Impact of agricultural adjuvants on the toxicity of the diamide insecticides chlorantraniliprole and flubendiamide on different life stages of the navel orangeworm (*Amyelois transitella*). *J Pest Sci* 91: 1127-1136.
- Dorai-Raj S. 2009. binom: Binomial confidence intervals for several parameterizations. R package version 1.0–5. (http://CRAN.R-project.org/package_binom).
- Douris V, Steinbach D, Panteleri R, Livadaras I, Pickett J A, Van Leeuwen T & Vontas J. 2016. Resistance mutation conserved between insects and mites unravels the benzoylurea insecticide mode of action on chitin biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci* 113: 14692-14697.
- Fehr WR & Caviness CE. 1977. Stages of soybean development. Special Report 87. <http://lib.dr.iastate.edu/specialreports/87> (Accessed 20 March 2020)
- Funichello M, Fraga DF, Prado EP, Aguirre-Gil OJ & Busoli AC. 2019. Vertical distribution of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in transgenic and conventional cotton cultivars. *Rev Ciênc Agrov* 18: 150–153.
- Gangwar RK, Jat GS, Rathore SS & Sharma RK. 2016. Effect of surfactant on the efficacy of insecticides against onion thrips, *Thrips tabaci*. *Indian J Agric Sci* 86: 757–761.
- Greenberg SM, Li YX & Liu TX. 2010. Effect of age of transgenic cotton on mortality of lepidopteran larvae. *Southwest Entomol* 35: 261–268.
- Greene GL, Leppla NC & Dickerson WA. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J Econ Entomol* 69: 488–497.
- LeOra Software. 2002. Polo-plus Probit and logit analysis computer version 1.0. LeOra Software, Berkeley, CA.
- Marques LH, et al. 2016. Efficacy of soybean's event DAS-81419-2 expressing Cry1F and Cry1Ac to manage key tropical lepidopteran pests under field conditions in Brazil. *J Econ Entomol* 109: 1922–1928.

- Martin JRWR & Brown TM. 1984. The action of acephate in *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Pristhesancus papuensis* (Hemiptera: Reduviidae). *Entomol Exp Appl* 5: 3–9.
- Melo AA, Usano-Aleman J, Guedes JVC & Hunsche M. 2015. Impact of tank-mix adjuvants on deposit formation, cuticular penetration and rain-induced removal of chlorantraniliprole. *Crop Prot* 78: 253–262.
- Melo AA, Hunsche M, Guedes JVC, Hahn L & Feltrin NM. 2019. Study of the effects of adjuvants associated with insecticides on the physicochemical properties of the spray solution and characterization of deposits on wheat and maize leaves under simulated rain. *Eng Agríc* 39: 315–322.
- Muraro DS, Giacomelli T, Stacke RF, Godoy DN, Marçon P, Popham HJ & Bernardi O. 2019. Baseline susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to *C. includens* nucleopolyhedrovirus and diagnostic concentration for resistance monitoring. *J Econ Entomol* 112: 349-354.
- Nascimento RB, Farias JR, Bernardi D, Horikoshi RJ & Omoto, C. 2016. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. *Pest Manag Sci* 72: 810–815.
- Negash B, Azerefeign F & Ayalew, G. 2020. Insecticide resistance management against thrips (Thysanoptera: Thripidae) on onion in the central Rift Valley of Ethiopia. *Int J Trop Insect Sci* 40: 1–9.
- Papa G & Celoto FJ. 2007. Lagartas na soja. <http://www.ilhasolteira.com.br/colunas/index.php?acao=verartigo&idartigo=1189090532> (Accessed 20 April 2020)
- Panizzi AR. 2013. History and contemporary perspectives of the Integrated Pest Management of soybean in Brazil. *Neotrop Entomol* 42: 119–127.

- Pimprikar GD & Georghiou GP. 1979. Mechanisms of resistance to diflubenzuron in the housefly, *Musca domestica* (L). *Pestic Biochem Physiol* 12: 10–22.
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Santos VC, de Siqueira HAA, da Silva JE & de Farias MJDC. 2011. Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the State of Pernambuco, Brazil. *Neotrop Entomol* 40: 264–270.
- Santos SR, Specht A, Carneiro E, Paula-Moraes SV de & Casagrande MM. 2017. Interseasonal variation of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) populations in the Brazilian Savanna. *Rev Bras Entomol* 61: 294–299.
- Santos CAM, da Silva Santos RT, Della’Vechia JF, Griesang F, Polanczyk RA & da Costa Ferreira M. 2019. Effect of addition of adjuvants on physical and chemical characteristics of Bt bioinsecticide mixture. *Sci Rep* 9: 1–8.
- SAS Institute., 2002. Statistical analysis system: Getting started with the SAS learning. SAS Institute, Cary, NC.
- Savin, NE, Robertson JL & Russell RM. 1977. A critical evaluation of bioassay in insecticide research: likelihood ratio tests of dose-mortality regression. *Bull Entomol Soc Am* 23: 257–266.
- Silva CS, Cordeiro EMG, Paiva JB, Dourado PM, Carvalho RA, Head G, Martinelli S & Correa AS. 2020. Population expansion and genomic adaptation to agricultural environments of the soybean looper, *Chrysodeixis includens*. *Evol Appl* 00: 1–15.
- Sonoda S & Tsumuki H. 2005. Studies on glutathione S-transferase gene involved in chlorfluazuron resistance of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Pestic Biochem and Physiol* 82: 94–101.

- Sorgatto RJ, Bernardi O & Omoto C. 2015. Survival and development of *Spodoptera frugiperda* and *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt cotton and implications for resistance management strategies in Brazil. *Environ Entomol* 44: 186–192.
- Stacke RF, Giacomelli T, Bronzatto ES, Halberstadt SA, Garlet CG, Muraro DS, Guedes JV & Bernardi O. 2019. Susceptibility of Brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. *J Econ Entomol* 112: 1378–1387.
- Stacke RF et al. 2020. Field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides by soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), in Brazil. *Chemosphere* 259, 127499.
- Van Leeuwen T et al. 2012. Population bulk segregant mapping uncovers resistance mutations and the mode of action of a chitin synthesis inhibitor in arthropods. *Proc Natl Acad Sci* 109: 4407–4412.
- Viera MS, Rizzetti TM, de Souza MP, Martins ML, Prestes OD, Adaime MB & Zanella R. 2017. Multiresidue determination of pesticides in crop plants by the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method and ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry using a calibration based on a single level standard addition in the sample. *J Chromatogr A* 1526: 119–127.

Table 1. Concentration-mortality (LC; $\mu\text{g a.i./cm}^2$) response of SBL strains exposed to teflubenzuron alone or applied with adjuvants.

Treatment	<i>n</i>	Slope \pm SE	LC ₅₀ (95% CI) ^{a,b}	LC ₉₀ (95% CI) ^{a,b}	χ^2 (df) ^c
Teflu-res ♀ \times Sus ♂					
Teflubenzuron	419	2.27 \pm 0.36	1.35 (1.11–1.59) b	4.95 (3.73–7.80) a	3.10 (4)
Teflubenzuron + Nimbus® (0.5%)	418	1.57 \pm 0.18	0.69 (0.49–0.94) a	4.53 (2.74–11.16) a	6.28 (4)
Teflubenzuron + TA 35 (0.05%)	477	1.68 \pm 0.20	1.18 (0.97–1.44) b	6.79 (4.77–11.26) a	2.23 (5)
Teflubenzuron + Break-Thru® S 240 (0.05%)	420	1.96 \pm 0.21	1.41 (1.20–1.69) b	6.37 (4.67–9.81) a	2.78 (4)
Teflubenzuron + Rizospray Extremo® (0.5%)	380	1.67 \pm 0.20	1.20 (0.99–1.47) b	7.06 (4.93–11.81) a	2.42 (5)
Sus					
Teflubenzuron	420	2.38 \pm 0.24	0.73 (0.63–0.84) c	2.52 (2.06–3.27) b	2.06 (4)
Teflubenzuron + Nimbus® (0.5%)	478	2.20 \pm 0.19	0.46 (0.40–0.53) ab	1.76 (1.45–2.25) ab	1.75 (5)
Teflubenzuron + TA 35 (0.05%)	420	2.58 \pm 0.29	0.42 (0.36–0.48) ab	1.33 (1.08–1.74) a	3.84 (4)
Teflubenzuron + Break-Thru® S 240 (0.05%)	420	2.22 \pm 0.22	0.36 (0.31–0.41) a	1.36 (1.10–1.78) a	2.13 (4)
Teflubenzuron + Rizospray Extremo® (0.5%)	473	2.75 \pm 0.25	0.53 (0.45–0.62) b	1.55 (1.27–2.02) a	5.08 (5)

^aLC₅₀: concentration of teflubenzuron ($\mu\text{g a.i./cm}^2$) required to kill 50% of insects in the observation period of 5 days. LC₉₀ is the concentration of teflubenzuron required to kill 90% of larvae tested.

^bLC₅₀ and LC₉₀ values designated by different letters in each SBL strain are significantly different due to non-overlap of 95% CIs

^c $P > 0.05$ in the goodness-of-fit test.

Table 2. Percentage of mortality of SBL strains fed on soybean leaves treated with teflubenzuron alone or applied with adjuvants obtained from different parts of the plant canopy.

Treatment	% mortality (95% CI) ^a		
	Teflu-R	Teflu-R _♀ × Sus _♂	Sus
Upper			
Teflubenzuron	12.5 (4.9–25.7) aA	77.5 (62.7–88.2) aB	97.5 (87.1–99.7) aB
Teflubenzuron + Nimbus [®] (0.5%)	12.5 (4.9–25.7) aA	80.0 (65.4–90.0) aB	100.0 (91.1–100.0) aC
Teflubenzuron + TA 35 (0.05%)	12.5 (4.9–25.7) aA	80.0 (65.4–90.0) aB	100.0 (91.1–100.0) aC
Teflubenzuron + Break-Thru [®] S 240 (0.05%)	17.5 (8.2–31.63) aA	82.5 (68.4–91.7) aB	100.0 (91.1–100.0) aB
Teflubenzuron + Rizospray Extremo [®] (0.5%)	20.0 (9.9–34.5) aA	77.5 (62.7–88.2) aB	97.5 (87.1–99.7) aB
Middle			
Teflubenzuron	7.7 (3.3–11.2) aA	66.7 (51.9–77.5) aB	87.2 (74.2–94.3) aB
Teflubenzuron + Nimbus [®] (0.5%)	7.7 (3.3–11.2) aA	74.4 (59.8–84.4) aB	92.3 (80.5–97.5) aB
Teflubenzuron + TA 35 (0.05%)	7.7 (3.3–11.2) aA	74.4 (59.8–84.4) aB	89.7 (77.3–95.9) aB
Teflubenzuron + Break-Thru [®] S 240 (0.05%)	12.8 (6.3–18.2) aA	66.7 (51.9–77.5) aB	92.3 (80.5–97.5) aC
Teflubenzuron + Rizospray Extremo [®] (0.5%)	9.7 (4.7–14.8) aA	64.1 (49.3–75.1) aB	84.6 (71.1–92.4) aB
Lower			
Teflubenzuron	5.0 (0.1–16.1) aA	52.5 (37.2–67.4) aB	79.5 (65.3–88.5) aB
Teflubenzuron + Nimbus [®] (0.5%)	2.5 (0.2–12.8) aA	65.0 (49.4–78.3) aB	84.6 (71.1–92.4) aB
Teflubenzuron + TA 35 (0.05%)	5.0 (0.1–16.1) aA	70.0 (54.6–82.4) aB	84.6 (71.1–92.4) aB
Teflubenzuron + Break-Thru [®] S 240 (0.05%)	5.0 (0.1–16.1) aA	65.0 (49.4–78.3) aB	76.9 (62.6–86.5) aB
Teflubenzuron + Rizospray Extremo [®] (0.5%)	7.5 (2.1–19.4) aA	55.0 (39.5–69.6) aB	79.5 (65.3–88.5) aB

^aPercentage values (95% CI) in each soybean leaf location followed by the same lowercase letter within a

column or uppercase letter in a line are not significantly different due to non-overlap their 95% CIs.

Table 3. Quantification of teflubenzuron on soybean leaves with and without adjuvants in different parts of the plant canopy.

Treatment ^a	Active ingredient amount (mg/kg) ± SE		
	Upper	Middle	Lower
Teflubenzuron	2.5 ± 1.0 a	1.2 ± 0.5 a	0.5 ± 0.2 a
Teflubenzuron + Nimbus [®] (0.5%)	4.6 ± 1.4 a	2.0 ± 0.5 a	0.7 ± 0.3 a
Teflubenzuron + TA 35 (0.05%)	2.8 ± 0.4 a	1.6 ± 0.7 a	0.8 ± 0.3 a
Teflubenzuron + Break-Thru [®] S 240 (0.05%)	3.7 ± 0.9 a	1.9 ± 0.1 a	0.5 ± 0.2 a
Teflubenzuron + Rizospray Extremo [®] (0.5%)	3.2 ± 0.3 a	1.8 ± 0.3 a	0.7 ± 0.4 a
Mean	3.4 ± 0.4 A	1.7 ± 0.2 B	0.6 ± 0.2 C

^aMeans ± SE followed by lowercase letters in a column are not significantly different, while uppercase letters indicate that the amount of teflubenzuron varied according with the part of the plant (Tukey test at $P \leq 0.05$).

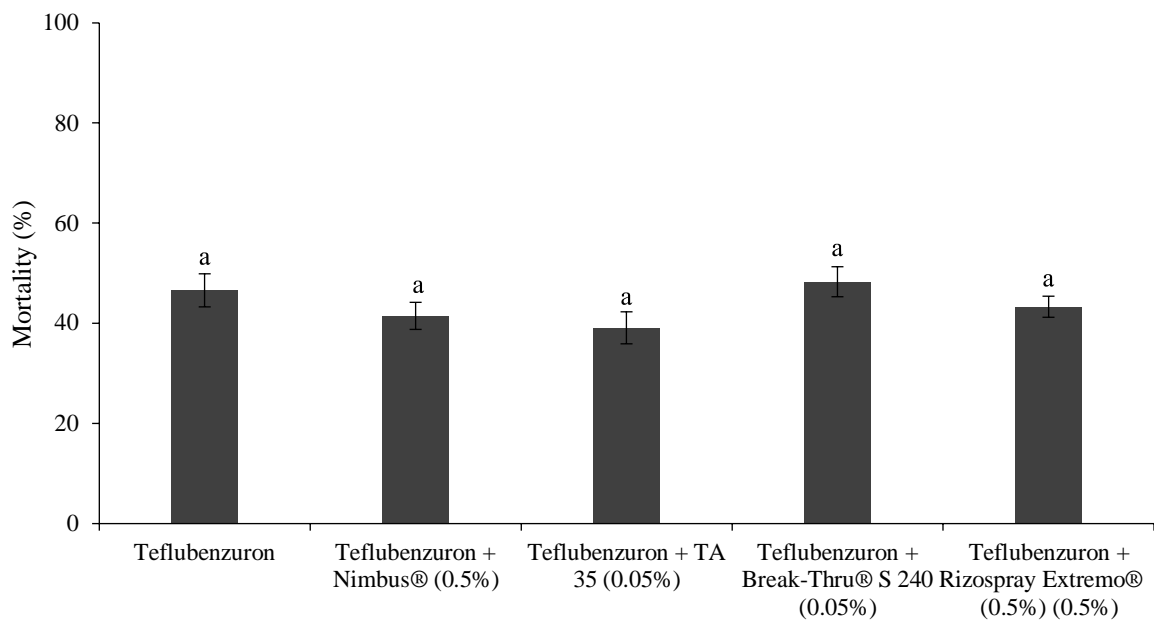


Figure 1. Mortality \pm standard error of Teflu-R strain at the concentration of 15,000 μg teflubenzuron/ cm^2 applied with or without adjuvants. Bars with the same letter are not significantly different (Tukey test at $P \leq 0.05$).

5 DISCUSSÃO

A tecnologia de aplicação busca uma melhor qualidade das aplicações agrícolas. Nesse contexto, a adição de adjuvantes nas caldas de pulverização tem como objetivo melhorar desempenho dos inseticidas a campo. O uso de adjuvantes pode alterar diversas características da calda e dessa maneira interferir direta ou indiretamente na performance dos inseticidas. O conhecimento sobre quais são os efeitos dos adjuvantes nas caldas inseticidas ainda é escasso, portanto, esse trabalho buscou compilar da literatura e gerar novos resultados de pesquisa que possam auxiliar e subsidiar a recomendação de adjuvantes em associação com inseticidas para o manejo de pragas agrícolas.

No artigo I intitulado “O uso de adjuvantes afeta o desempenho de inseticidas químicos e biológicos?” compilou-se os resultados de diversos trabalhos de pesquisa sobre os efeitos dos adjuvantes nas caldas inseticidas. Constatou-se que os adjuvantes alteram positivamente as características físico-químicas das caldas inseticidas. Essas alterações resultaram numa melhora no pH da caldas, evitando perdas pela degradação das moléculas de inseticidas. Ainda os adjuvantes melhoraram a tensão superficial e o ângulo de contato da calda inseticida e gotas, respectivamente, impactando diretamente no espalhamento das gotas na superfície das folhas, e assim, melhorando a cobertura. Os adjuvantes também aumentaram a performance de alguns inseticidas, mas essa resposta é dependente do inseticida, da cultura e da praga-alvo de controle. Portanto, o uso de adjuvantes associados com inseticidas melhoram a qualidade das aplicações e podem aumentar a eficácia de controle de insetos-praga.

No artigo II intitulado “Influence of adjuvants added to teflubenzuron spray on strains of the soybean looper *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) resistant and susceptible to chitin biosynthesis inhibitors”, a adição dos adjuvantes à calda inseticida de teflubenzuron não afetou a mortalidade de indivíduos resistentes e heterozigotos a inibidores da biossíntese de quitina. Portanto, os adjuvantes demonstraram não ser uma opção viável para uma maior mortalidade dos heterozigotos, os quais são os principais carreadores dos alelos de resistência no início do processo de evolução da resistência. Diante disso, para o Manejo de Resistência de Insetos recomenda-se que se faça o uso da rotação de inseticidas com modo de ação distinto, bem como, de outras táticas de manejo de *C. includens* que tenham comprovada eficácia, tais como: inseticidas biológicos, plantas geneticamente modificadas e parasitoides de ovos.

6 CONCLUSÕES

Os adjuvantes alteram as características físico-químicas das caldas de pulverização e aumentam a eficácia de inseticidas químicos e biológicos no controle de insetos, entretanto, isso depende do inseticida, da cultura e da praga-alvo.

A adição de adjuvantes à calda inseticida de teflubenzuron não aumentam a mortalidade de linhagens de *C. includens* de genótipos resistente e heterozigoto aos inibidores da biossíntese de quitina.

A adição de adjuvantes à calda inseticida de teflubenzuron proporcionou alta mortalidade de uma linhagem suscetível de *C. includens* quando exposta a folhas de soja oriundas do terços inferior, médio e superior das plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS E 1519. Terminology relating to agricultural tank mix adjuvants. **Annual Book of ASTM Standards**, v.11, p. 905-906, 1999.

AZEVEDO, L. A. S. **Adjuvantes agrícolas para a proteção de plantas**. 1. ed. Seropédica: IMOS Gráfica e Editora, 2011. 264 p.

BOETHEL, D. J. et al. Management of insecticide resistant soybean loopers (*Pseudoplusia includens*) in the southern United States. 66-87. In: COPPING, L. G.; GREEN, M. B.; REES, R. T. (eds.). **Pest management in soybean**. 1 ed. Dordrecht: Society of Chemical Industry Essex, 1992. p. 66-87.

CALORE, R. A. et. al. Efeitos de adjuvantes no controle de *Enneothrips flavens* Moulton, 1941 (Thysanoptera: tryptidae) na cultura do amendoim. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 10, n. 1, p. 74-81, 2015.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 70, n. 3, p. 319-323, 1977.

HOLLOWAY P.J. Improving agrochemical performance: possible mechanisms for adjuvancy. In: Knowles D.A. (eds) Chemistry and Technology of Agrochemical Formulations. **Springer**, Dordrecht, 1998. <https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-94-011-4956-3_8>. Acesso em: Jul. 2020.

KISSMANN, K. G. Adjuvantes para caldas de produtos fitossanitários. In: Guedes, J. V. C.; Dornelles, S. B. (Orgs.). Tecnologia e segurança na aplicação de agrotóxicos: novas tecnologias. Santa Maria: Departamento de Defesa Sanitária; **Sociedade de Agronomia de Santa Maria**, p. 39-51, 1998. <<http://w3.ufsm.br/herb/Adjuvantes%20para%20caldas%20de%20produtos%20fitossanitarios%20-%20Kissmann.pdf>>. Acesso em: Jul. 2020.

LEONARD, B. R. et al. Variations in response of soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides in Louisiana. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 1, p. 27-34, 1990.

MARTIN Jr. W. R.; BROWN, T. M. The action of acephate in *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Pristhesancus papuensis* (Hemiptera: Reduviidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 35, n. 1, p. 3-9, 1984.

MARTINS, G. L. M.; TOMQUELSKI, G. V. Efficiency of insecticides on *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) on soybean crop. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 2, n. 4, p. 25-30, 2015.

McMULLAN, P. M. Utility adjuvants. **Weed Technology**. Champaign, v. 14, n. 4, p. 792-797, 2000.

MELO, A. A. et al. Study of the effects of adjuvants associated with insecticides on the physicochemical properties of the spray solution and characterization of deposits on wheat and maize leaves under simulated rain. **Engenharia Agrícola**, v. 39, p. 315-322, 2019.

MOSCARDI et al. Artrópodes que atacam as folhas da soja p. 227. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 859 p.

STACKE, R. F. et al. Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance, fitness costs and cross-resistance to other pyrethroids in soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 131, p. 105096, 2020a.

STACKE, R. F. et al. Field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides by soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), in Brazil. **Chemosphere**, v. 259, p.127499, 2020b.

TADROS, T. F. **Applied Surfactants: Principles and applications**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag & Co, 2005. 634 p.

YANO, S. A. C. et al. High susceptibility and low resistance allele frequency of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) field populations to Cry1Ac in Brazil. **Pest Management Science**, v. 72, n. 8, p. 1578-1584, 2015.