

**Patogenisitas isolat bakteri entomopatogenik *Bacillus thuringiensis*
diisolasi dari *Spodoptera litura* terhadap larva *Plutella xylostella*
(Lepidoptera:Plutellidae)**

*Patogenicity of Entomopathogenic Bacillus thuringiensis Isolated from Spodoptera
litura Against Plutella xylostella larvae (Lepidoptera:Plutellidae)*

Yulia Pujiastuti^{*1)}, Suparman SHK¹, Dwi Probawati Sulistyani²

¹Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Indralaya
30662, Sumatera Selatan, Indonesia

²Program Studi Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Indralaya 30662,
Sumatera Selatan, Indonesia

^{*}Penulis untuk korespondensi: ypujiastuti@unsri.ac.id

Sitasi: Pujiastuti Y, SHK Suparman, Sulistyani DP. 2021. Patogenicity of entomopathogenic *Bacillus thuringiensis* isolated from *Spodoptera litura* against *Plutella xylostella* larvae (*Lepidoptera:Plutellidae*). In: Herlinda S *et al.* (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-9 Tahun 2021, Palembang 20 Oktober 2021. pp. 621-627. Palembang: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI).

ABSTRACT

Diamondback moth, *Plutella xylostella* is an important insect pest on plants belong to Brassicaceae family. Symptoms of attack is hollow leaves and leave dirt on them. If it is not controlled, the yield loss can reach 80%. Control by using biological agents entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* may be used to reduce the population of *P. xylostella*. The purpose of research was to study the pathogenicity of *B. thuringiensis* isolated from cadaver of *Spodoptera litura* against *P. xylostella* larvae in the laboratory. The treatments were two isolates of *B. thuringiensis* encoded SIBt01 and SLBt03. The experiment was designed with a completely randomized design (CRD) separated between isolates. The treatment consisted of 5 treatments (including control) spore density and 5 replications. Observations were mortality rate and time of death of the test larvae. Results showed the highest mortality was in isolate SIBt01 (61.73%) and in isolate SIBt03 (56.66%). The lowest LT50 values of isolates SIBt01 and SLBt03 were 9.78 days and 9.14 days, respectively. Symptoms of infection in *Plutella* larvae are changes in body color and eventually die with symptoms of wet rot.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, biological control agents, toxicity, mortality

ABSTRAK

Plutella xylostella merupakan serangga hama penting pada tanaman yang tergolong dalam famili Brassicaceae. Gejala serangan berupa daun berlubang dan meninggalkan kotoran pada daun tersebut. Apabila tidak dikendalikan, kehilangan hasil dapat mencapai 80%. Pengendalian dengan menggunakan agens hayati bakteri entomopatogen *Bacillus thuringiensis* dapat digunakan untuk mengurangi populasi *P. xylostella*. Tujuan penelitian untuk mempelajari patogenisitas isolat *B. thuringiensis* yang berasal dari bangkai *Spodoptera litura* terhadap larva *P. xylostella* di laboratorium. Perlakuan berupa dua isolat *B. thuringiensis* dengan kode SIBt01 dan SLBt03. Percobaan didesain dengan Rancangan Acak Lengkap terpisah antar isolat. Perlakuan berupa kerapatan spora sebanyak 5 perlakuan (termasuk kontrol) dan ulangan sebanyak 5 kali. Pengamatan berupa tingkat mortalitas dan waktu kematian larva uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mortalitas

Editor: Siti Herlinda *et. al.*

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI)

tertinggi pada isolate SIBT01 sebanyak 61,73% dan pada isolate SIBt03 sebanyak 56,66%. Nilai LT_{50} paling rendah untuk isolate SIBt01 dan SLBt03 berturut-turut 9,78 hari dan 9,14 hari. Gejala infeksi pada larva *Plutella* berupa perubahan warna tubuh dan akhirnya mati dengan gejala busuk basah.

Kata kunci: *Bacillus thuringiensis*, agens hayati, toksisitas, mortalitas

PENDAHULUAN

Bacillus thuringiensis merupakan agens hayati yang sudah dimanfaatkan untuk mengendalikan serangga hama. Bakteri tersebut termasuk bakteri gram positif dan menghasilkan spora dan protein pada saat sporulasi. Isolate *B. thuringiensis* dapat diisolasi dari berbagai habitat seperti tanah, air, tanaman, bangkai serangga dan kotoran ternak (Joung and Cote, 2000; Liang dan Zhu, 2011; Valicente *et al.*, 2010; Baig dan Mehnaz, 2010). Pada umumnya, dari serangga yang mati dengan gejala busuk basah akan menghasilkan banyak isolat *B. thuringiensis* (Frankenhuyzen, 2009). Bakteri tersebut telah banyak digunakan untuk mengendalikan serangga yang berperan sebagai pemakan tanaman, terutama dari ordo Lepidoptera (Plata-Rueda *et al.*, 2020).

Hama *Plutella xylostella* merupakan hama penting yang tersebar di berbagai wilayah dunia. Di Indonesia serangga ini menyerang banyak tanaman kubis di dataran tinggi dan tanaman caisim di dataran rendah (Sastrosiswojo *et al.*, 2005). Kerusakan yang ditimbulkan berupa hilangnya sebagian daun dan menimbulkan lubang-lubang pada daun (Ulmer *et al.*, 2002). Saat larva instar pertama, biasanya ulat *Plutella* makan daun pada bagian epidermis bawah sehingga akhirnya akan menyisakan bagian epidermis atas. Setelah larva memasuki instar yang lebih besar pada umumnya mereka akan hidup soliter dan menimbulkan kerusakan yang hebat. Serangan ulat *Plutella* dapat menimbulkan kehilangan hasil hingga 58-80% (Gautham *et al.*, 2018) Oleh karena itu hama tersebut harus dikendalikan, terutama dengan menggunakan agens hayati dimana cara pengendalian ini dapat mengurangi tingkat pencemaran udara, tanah dan air. Penggunaan agens hayati dapat berlangsung secara alami dan dalam waktu yang lama. Penelitian bertujuan untuk mempelajari patogenisitas isolat *B. thuringiensis* yang berasal dari bangkai *Spodoptera litura* terhadap larva *P. xylostella* di laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Entomologi Program Studi Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya dari bulan Maret-Juni 2021. Isolat *B. thuringiensis* diisolasi dari bangkai ulat grayak *Spodoptera litura* dan merupakan koleksi laboratorium Entomologi (unpublished data). Percobaan dirancang dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) terpisah untuk masing-masing isolat *B. thuringiensis* (isolate SIBT01 dan SIBt03). Perlakuan sebanyak 5 perlakuan dengan 5 ulangan, perlakuan berupa kerapatan spora *B. thuringiensis* yang diperbanyak dalam media Nutrient Broth (NB). Serangga uji yang digunakan adalah larva *Plutella* instar 3 dengan daun caisim sebagai pakannya.

Perbanyak Serangga Uji

Serangga uji didapatkan dari kebun caisim di daerah Indralaya. Selanjutnya dipelihara di laboratorium dalam wadah plastik berukuran diameter 15 cm dan tinggi 20 cm. Daun caisim yang diberikan sebagai pakan diganti setiap hari. Menjelang berkepompong, larva dipindahkan dalam wadah plastik lain yang berisi tanah steril agar dapat digunakan sebagai tempat berpupa dengan baik. Ketika telah menjadi imago, serangga dipindahkan ke dalam wadah lain dengan tambahan madu 5% sebagai pakannya. Imago dibiarkan berkopolasi

dan menghasilkan telur. Setelah menetas dari telur dan menjadi larva instar ketiga, larva *Plutella* digunakan sebagai serangga uji.

Perbanyakkan *B. thuringiensis* Isolat dengan SIBt01 dan SIBt03

Isolat *B. thuringiensis* secara terpisah digunakan untuk membuat *seed culture* dengan menggunakan satu jarum ose yang dimasukkan dalam tabung Erlenmeyer yang berisi 10 ml NB. Proses pembuatan *seed culture* dilakukan dengan fermentasi selama 12 jam, suhu ruang dan kecepatan 200 rpm. Setelah itu, media diganti dengan yang baru dan dimasukkan kedalamnya 2 ml dari *seed culture* sebelumnya. Proses pembuatan *seed culture* selesai dalam 24 jam. Selanjutnya sebanyak 10 ml *seed culture* dari pengocokan yang kedua dimasukkan kedalam 100 ml NB dalam tabung Erlenmeyer. Proses fermentasi dilakukan pada keadaan 200 rpm, suhu ruang selama 72 jam. Setelah itu dilakukan penghitungan kerapatan spora dengan menggunakan haemocytometer. *B. thuringiensis* siap digunakan untuk aplikasi dengan dibuat berbagai pengenceran.

Aplikasi *B. thuringiensis* pada Larva *Plutella xylostella*

Daun caisim segar diambil dan dicelupkan kedalam larutan *B. thuringiensis* setiap isolat. Daun tersebut dikering anginkan dan kemudian diletakkan pada wadah plastik ukuran 10x10x5 cm sebanyak 5 ekor larva instar 3 dimasukkan ke dalamnya. Untuk masing-masing perlakuan dibuat 5 ulangan sehingga dibutuhkan 25 ekor larva / perlakuan. Pengamatan terhadap mortalitas larva, gejala infeksi dan kematian serta gejala kerusakan daun dilakukan setiap hari.

Analisis Data

Data mortalitas dianalisis dengan sidik ragam, gejala kerusakan daun dan gejala infeksi serta kematian serangga uji serta didokumentasikan dan dianalisis secara deskriptif. Nilai LT_{50} dianalisis dengan analisis probit.

HASIL

Tingkat Mortalitas Larva *Plutella*

B. thuringiensis yang diisolasi dari bangkai larva *S. litura* telah diidentifikasi di Laboratorium Entomologi PS Proteksi Tanaman FP UNSRI (unpublished data). Dua isolat dengan kode SIBt01 dan SIBt03 diujikan untuk mengetahui tingkat patogenisitasnya pada berbagai perlakuan kerapatan spora didapatkan angka mortalitas. Secara umum isolat SIBt01 mempunyai kisaran mortalitas yang lebih lebar yaitu 35,01% - 61,73%, sedangkan pada isolat SIBt03 data mortalitas dengan kisaran 16,66% - 56,66%. Tingkat mortalitas tertinggi didapatkan pada kerapatan 10^6 spora/ml pada kedua isolate tersebut, masing-masing 61,73% pada SIBt01 dan 56,66% pada SIBt03. Data mortalitas pada perlakuan dengan kerapatan tertinggi berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 1).

Nilai LT_{50} pada aplikasi isolate SIBt01 dan SIBt03 pada larva *Plutella*

Pada pengamatan lamanya waktu kematian yang dihitung dengan nilai LT_{50} menunjukkan waktu kematian 50% serangga uji dengan kisaran waktu 5,25 – 9,78 hari sedangkan pada isolat SIBt03 dari 4,77 - 9,14 hari. Nilai LT_{50} terendah dicapai pada perlakuan isolat SIBt01 dengan kerapatan paling tinggi, yaitu 10^8 spora/ml selama 5,25 hari (Tabel 2). Sedangkan pada isolat SIBt03, waktu kematian terscepat diperoleh pada perlakuan $2,2 \times 10^8$ spora/ml yaitu 4,77 hari (Tabel 3). Kematian 50% serangga uji memerlukan waktu yang cukup panjang karena proses kematian dimulai dari masuknya spora dan protein *B. thuringiensis* pada midgut larva.

Editor: Siti Herlinda et. al.

ISBN: 978-623-399-012-7

Penerbit: Penerbit & Percetakan Universitas Sriwijaya (UNSRI)

Tabel 1. Mortalitas larva *Plutella xylostella* yang terinfeksi *Bacillus thuringiensis* isolat kode SIBt01 dan SIBt03

Perlakuan (spora/ml)	Isolat SIBt03		Perlakuan (spora/ml)	Mortalitas (%)
	Mortalitas (%)	No		
Kontrol	13,85 a	1	Kontrol	3,33 a
4 x 10 ⁵	35,01 ab	2	4,9 x 10 ⁵	16,66 b
3,4 x 10 ⁶	37,12 ab	3	4,4 x 10 ⁶	26,66 bc
3,8 x 10 ⁷	43,08 bc	4	3,8 x 10 ⁷	40,00 c
2,2 x 10 ⁸	61,73 c	5	2,2 x 10 ⁸	56,66 d

Tabel 2. LT₅₀ masing-masing perlakuan konsentrasi *Bacillus thuringiensis* (Berl) isolate SIBt01 terhadap larva *Plutella xylostella* L.

Konsentrasi <i>B. thuringiensis</i> (spora/ml)	Rerata (Hari)	LT ₅₀ (hari)	
		Batas Bawah	Batas Atas
Kontrol	9,78	7,93	31,91
4,0 x 10 ⁵	7,73	6,89	9,57
3,4 x 10 ⁶	7,61	6,69	9,51
3,8 x 10 ⁷	5,92	4,98	7,87
2,2 x 10 ⁸	5,25	4,24	6,76

Tabel 3. Nilai LT₅₀ masing-masing perlakuan konsentrasi *Bacillus thuringiensis* Berliner isolate SIBt03 terhadap larva *Plutella xylostella* L.

Konsentrasi (spora/ml)	Rerata (hari)	LT ₅₀	
		Batas Bawah	Batas Atas
4,9 x 10 ⁵	9,14	7,05	17,63
4,4 x 10 ⁶	9,23	6,58	39,24
3,8 x 10 ⁷	6,30	4,75	14,60
2,2 x 10 ⁸	4,77	4,05	5,68

Gejala kerusakan tanaman

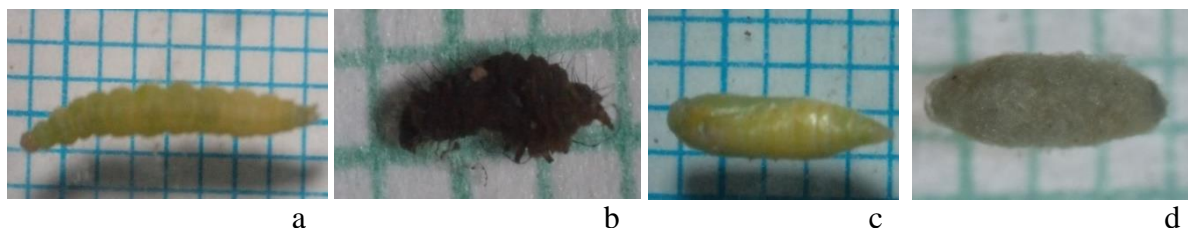
Pada saat awal aplikasi, daun yang digunakan segar dan sehat. Adanya pencelupan daun pada larutan yang mengandung spora dan protein *B. thuringiensis*, akan menyebabkan larva uji memakannya. Walaupun demikian, pada awal aplikasi larva uji tetap akan memakan daun untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Gejala kerusakan yang ditimbulkan oleh larva *Plutella* adalah hilangnya sebagian daun tanaman. Pada serangan yang berat, daun tanaman caisim hanya akan tersisa tulang daunnya (Gambar 1 b). Pada awal instar pertama pada umumnya larva akan memakan epidermis daun, namun dengan bertambahnya umur dan kebutuhan yang meningkat, menyebabkan larva memakan daun hingga menyisakan tulang daunnya.



Gambar 1. Daun caisim yang sehat (a) dan daun yang dimakan oleh larva *Plutella xylostella* dengan perlakuan *Bacillus thuringiensis* Berliner (b dan c).

Gejala Kematian Larva dan Pupa

Gejala kematian larva uji dimulai dengan adanya perubahan warna tubuh dari saat mulai diberi larutan. Saat hari pertama larva memakan daun yang sudah terpapar oleh *B. thuringiensis*. Setelah makan maka pada hari kedua akan nampak tubuh larva menjadi lemah dan menjadi berkurang konsumsinya. Pada beberapa ekor larva yang diperlakukan terlihat terjadi pengurangan jumlah konsumsi daun. Beberapa larva yang dapat bertahan hidup dan berhasil menjadi pupa, akan menunjukkan gejala tidak sehat karena aada gangguan pada waktu masih menjadi larva. Kekurangan konsumsi daun pada waktu larva mungkin akan menyebabkan pupa menjadi tidak sehat (Gambar 2).



Gambar 2. Larva *Plutella xylostella* L. sehat (a) dan terinfeksi *Bacillus thuringiensis* (c); pupa sehat (c) dan pupa terinfeksi *B. thuringiensis* (d)

PEMBAHASAN

Dalam proses perbanyakan menggunakan media NB, diperoleh tingkat spora dari 10^5 sampai 10^8 spora/ml. Dalam uji bioassay dengan menggunakan larva *Plutella* instar 3 diperoleh tingkat kematian yang berbeda pada kedua isolat tersebut. Tingkat kematian yang berbeda tersebut ada kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan kerapatan spora yang digunakan sebagai perlakuan. Telah diketahui bahwa spora dan protein *B. thuringiensis* bekerja sebagai racun perut, sehingga dengan makin banyak spora dan protein yang masuk dalam sistem pencernaan larva uji, maka akan menyebabkan kematian yang tinggi pula (Tabashnik *et al.*, 2016).

Mortalitas serangga uji ditentukan oleh berbagai hal antara lain adanya pengaruh racun yang masuk kedalam midgut serangga (Soberon *et al.*, 2018). Proses didalam midgut, sangat tergantung dari kondisi pH midgut serangga tersebut. Apabila kondisinya basa (pH tinggi) maka akan mempercepat proses perubahan dari protein makromolekul menjadi protein dengan berat molekul yang lebih kecil dan bersifat toksik (Bravo *et al.*, 2007). Selain itu, juga dipengaruhi oleh banyaknya spora atau protein *B. thuringiensis* yang masuk ke dalam midgut (Buisson *et al.*, 2019; Pujiastuti *et al.*, 2018; Bagari *et al.*, 2013). Oleh karenanya, dua isolat tersebut (SIBt01 dan SIBt03) menunjukkan karakter yang berbeda satu sama lain karena adanya faktor internal serangga. Dalam hal ini perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui berat molekul protein pada masing-masing isolat.

Pada saat awal aplikasi, daun yang digunakan segar dan sehat. Adanya pencelupan daun pada larutan yang mengandung spora dan protein *B. thuringiensis*, akan menyebabkan larva uji memakannya. Walaupun demikian, pada awal aplikasi larva uji tetap akan memakan daun untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Larva *Plutella* akan memakan daun tanaman kubis dan tanaman caisim mulai dari larva instar satu yaitu dengan mulai memakan pada bagian epidermis bawah. Akibatnya daun akan nampak transparan. Pada proses berikutnya, epidermis atas juga akan dimakan sehingga akhirnya hanya akan tertinggal tulang daun saja. Bahkan tanaman dapat mengalami kehilangan hasil sampai 80% (Gautham *et al.*, 2018).

Dalam memenuhi kebutuhan hidupnya larva *Plutella* memakan daun caisim. Pada saat aplikasi dengan menggunakan *B. thuringiensis*, maka pada hari berikutnya akan terjadi gangguan dalam proses metabolisme didalam tubuh larva. Dari luar tubuh, akan nampak adanya perubahan warna dan berkurangnya jumlah konsumsi daun (Pujiastuti *et al.*, 2018). Pada tahap berikutnya, nampak bahwa nafsu makan semakin menurun dan diikuti dengan adanya cairan yang keluar dari tubuh larva. Akhirnya larva mati dengan gejala busuk basah (Osman *et al.*, 2018). Bagi larva yang dapat bertahan dari kematian pada fase larva, maka akan masuk pada fase pupa. Pada saat tersebut, pupa yang terinfeksi akan menampakkan perubahan warna menjadi hitam kecoklatan dan akhirnya akan mati dengan gejala busuk basah. Proses tersebut terjadi karena spora dan protein yang tertelan dan masuk dalam midgut larva selama stadium larva akan menyebabkan terjadinya porus pada selaput dinding midgut (Bravo *et al.*, 2007). Akibatnya terjadi pertuaran ionik yang akhirnya menyebabkan dehidrasi. Oleh karena itu, kematian baik larva maupun pupa biasanya berupa busuk basah.

KESIMPULAN

Mortalitas tertinggi pada isolat SIBt01 sebanyak 61,73% dan pada isolat SIBt03 sebanyak 56,66%. Nilai LT_{50} paling rendah untuk isolat SIBt01 dan SLBt03 berturut-turut 9,78 hari dan 9,14 hari. Gejala infeksi pada larva dan *Plutella* berupa perubahan warna tubuh dan akhirnya mati dengan gejala busuk basah.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagari L, Syedy M, Sharma GP, Sharma P, Soni P. 2013. Isolation of crystal protein from *Bacillus thuringiensis*. *Int. J. Pure App. Biosci.* 1(2): 44-47.
- Baig DN, Mehnaz S. 2010. Determination and distribution of cry-type genes in halophilic *Bacillus thuringiensis* isolates of Arabian Sea sedimentary rocks. *Microbiological Research.* 165(5): 376–383.
- Bravo A, Sarjeet S Gill, Mario S. 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control *Toxicon.* 2007 Mar 15. 49(4): 423–435. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022
- Buisson C, Michel Gohar, Eugénie Huillet, Christina Nielsen-LeRoux. 2019. *Bacillus thuringiensis* Spores and Vegetative Bacteria: Infection Capacity and Role of the Virulence Regulon PlcR Following Intrahaemocoel Injection of *Galleria mellonella*. *Insects* 2019. 10: 129. DOI:10.3390/insects10050129
- Frankenhuyzen KV. 2009. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology.* 101(1): 1–16.
- Gautam, MP. Hem Singh, Sushil Kumar, Vinod Kumar, Gajendra Singh, SN Singh. 2018. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: *Lepidoptera*: *Plutellidae*) a major insect of cabbage in India. *A review Journal of Entomology and Zoology Studies* 2018. 6(4): 1394-1399
- Joung KB, J. Ch. Cot' e. 2000. A review of the environmental impacts of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Technical Bulletin.* 29: 1–16.
- Liang H, Y Liu, J Zhu. 2011. Characterization of cry2- type genes of *Bacillus thuringiensis* strains from soil isolated of Sichuan basin, China. *Brazilian Journal of Microbiology.* 42(1): 140–146.
- Osman GEH, Already R, Assaeedi ASA, Organji SR, El-Ghareeb D, Abulreesh HH, & Althubiani AS. 2015. Bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* a comprehensive review. *Egypt J. Biol. Pest Co.* 25(1): 271–288.

- Plata-Rueda A, Hughes Antonio Quintero, José Eduardo Serrão, Luis Carlos Martínez. 2020. Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Strains on the Nettle Caterpillar, *Euprosterina elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae). *Insects* 2020, 11: 310. DOI: 10.3390/insects11050310.
- Pujiastuti Y, Masyitah S, Dirgahayu S, Kadapo T, Hadikusuma SS, Effendy. 2018. The use of golden snail meal to enrich *Bacillus thuringiensis* culture media and its effect on the bacterial toxicity against *Spodoptera litura*. *J. HPT Tropika*. 18(1): 23–30 DOI: 10.23960/j.hptt.11823-30.
- Pujiastuti Y, Arsi A, Sandi S. 2020. Characteristics of *Bacillus thuringiensis* isolates indigenous soil of South Sumatra (Indonesia) and their pathogenicity against oil palm pests *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biodiversitas*. 21(4): 1287-1294. DOI: 10.13057/biodiv/d210403.
- Sastrosiswojo S, Uhan TS, Sutarya R. 2005. Penerapan teknologi PHT pada tanaman kubis. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. 55 hal.
- Soberón M, Monnerat R, Bravo A. 2018. Mode of Action of Cry Toxins from *Bacillus thuringiensis* and Resistance Mechanisms. In: Gopalakrishnakone P., Stiles B., Alape-Girón A., Dubreuil J., Mandal M. (eds) *Microbial Toxins. Toxinology*. Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-94-007-6449-1_28.
- Tabashnik B, Zhang M, Fabrick J. 2015. Dual mode of action of Bt proteins: protoxin efficacy against resistant insects. *Sci Rep* 5, 15107 (2015). DOI: 10.1038/SREP15107.
- Ulmer B, Gillot C, Woods D, Erlandson M. 2002. Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* L. lines. *Crop Protection*. 21: 327–331.
- Valicente FH, EA de Toledo Picoli, MJV de Vasconcelo. 2010. Molecular characterization and distribution of *Bacillus thuringiensis* cry1 genes from Brazilian strains effective against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Biological Control*. 53(3): 360–366.