

Universidade Federal do Triângulo Mineiro
Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas
Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica

Isabella Cardoso Cunha

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA*: EFICIÊNCIA
DO USO DE *BACULOVIRUS SPODOPTERA* E OUTRAS TÉCNICAS**

Uberaba

2017

Isabella Cardoso Cunha

**CONTROLE BIOLÓGICO DE *SPODOPTERA FRUGIPERDA*: EFICIÊNCIA
DO USO DE *BACULOVIRUS SPODOPTERA* E OUTRAS TÉCNICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, área de concentração de Processo Tecnológico, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Inovação Tecnológica.

Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura

Uberaba-MG

2017

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

C978c Cunha, Isabella Cardoso
Controle biológico de *Spodoptera frugiperda*: eficiência do uso de
Baculovirus spodoptera e outras técnicas / Isabella Cardoso Cunha. --
2017.
32 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica) -- Uni-
versidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017
Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura

1. Pragas - Controle biológico. 2. Milho - Doenças e pragas. 3. *Spo-*
doptera frugiperda. I. Okura, Mônica Hitomi. II. Universidade Federal
do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 632.937

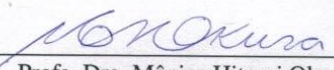
ISABELLA CARDOSO CUNHA

CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS: EFICIÊNCIA DO USO DE
BACULOVÍRUS SPODOPTERA

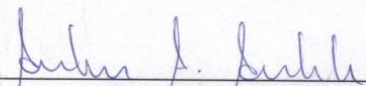
Trabalho de conclusão apresentado ao
Programa de Mestrado Profissional em
Inovação Tecnológica da Universidade
Federal do Triângulo Mineiro, como requisito
para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 26 de maio de 2017

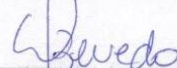
Banca Examinadora:



Prof. Dra. Mônica Hitomi Okura
Orientadora – PMPIT - UFTM



Prof. Dr. Anderson Assunção Andrade
Membro Titular – UFTM



Prof. Dr. Watson Rogério de Azevedo
Membro titular – IFTM

*Dedico esta dissertação à minha mãe
pelo amor e apoio insubstituíveis
durante todos os momentos da minha vida*

“Geralmente as pessoas tentam viver a vida de trás para frente: procuram ter mais coisas ou mais dinheiro para poderem fazer o que querem, e serem assim mais felizes. Mas é o contrário que funciona. Primeiro, você precisa ser quem realmente é e fazer o que é preciso para ter o que quer”.

(Margaret Young)

AGRADECIMENTOS

- ❖ *A minha orientadora, Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura pelo conhecimento, pela mão estendida me concedendo a oportunidade de aprendizado e pela confiança depositada em mim.*
- ❖ *As lagartas-do-cartucho, Spodoptera frugiperda, que muito contribuíram para meu aprendizado e que, embora, não tenham sido consideradas como parte integrante deste trabalho, com certeza serviram de referencial teórico-prático para meu conhecimento relativo ao controle biológico de pragas com a técnica de inoculação do Baculovirus.*
- ❖ *Aos colegas de estágio realizado na empresa VR Biotecnologia, que contribuíram com conhecimento e companheirismo durante toda essa etapa de grande importância em minha formação.*
- ❖ *Ao secretário do Curso de Pós-graduação Ênio Umberto Alves dos Santos, pela gentileza e rapidez com a qual sempre me recebeu buscando todas as formas possíveis para me auxiliar.*
- ❖ *Aos meus pais Ezio e Denise pelo suporte para alcançar meus objetivos de forma correta e vitoriosa.*
- ❖ *O Prof. Dr. Vicente de Paula Antunes Teixeira (Vicente) pelo apoio, confiança e conselhos que sempre me fortaleceram e pelo auxílio para a conclusão deste trabalho.*
- ❖ *Ao meu namorado Rodrigo pela paciência e apoio nas horas mais difíceis.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura indicando os poliedros em células lisadas.....	18
Figura 2. Lagartas infectadas pelo isolado seis de Baculovirus que não causam a liquefação das lagartas mortas.....	19
Figura 3. Divisão da família Baculoviridae segundo a classificação do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTVdb).	20
Figura 4. Infecção de inseto por Baculovirus.....	21
Figura 5. Estrutura e composição das partículas infectivas dos Baculovirus: Virus extracelular (BV); vírus derivado de oclusão (ODV).....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B. spodoptera - *Baculovirus spodoptera*

BT - *Bacillus thuringiensis*

BVs – Budded virions

CNBS - Conselho Nacional de Biossegurança

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

CTNBIO - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ICTE – Instituto de Ciências Tecnologias e Exatas

ICTVdb - Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus

MIP - Manejo Integrado de pragas

MNPV - *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus

MRI - Programas de manejo de resistência

NPVs - Nucleopoliedrovirus

OBS - occluded virus

ODV - vírus derivado de oclusão

OGMs - Organismos Geneticamente Modificados

PH – Potencial Hidrogeniônico

S. frugiperda – *Spodoptera frugiperda*

SfMNPV - *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus

SNPV - Vírus de simples nucleocapsídeos

UFTM – Universidade Federal do Triângulo Mineiro

VG - Granulovírus

VPN - Nucleopoliedrovírus

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	130
2. CONTEÚDO	141
2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i>	141
2.2 Tipos de controle para <i>Spodoptera frugiperda</i>	152
2.2.1. Bactéria <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	163
2.2.2. Inseto <i>Telemonus remus</i>	15
2.2.3. Inseto <i>Doru luteipes</i>	15
2.2.4. Inseto <i>Trichogramma</i> spp.	16
2.2.5. Baculovirus	16
2.3 Engenharia Genética de Baculovirus	241
2.4 Microencapsulamento do Baculovirus.....	252
2.5 Baculovirus <i>in vivo</i>	26
2.6 Baculovirus com DNA recombinante	274
3. CONSIDERAÇÕES	285
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar através de revisão bibliográfica os métodos de controle biológico utilizados no combate da *Spodoptera frugiperda* e a eficiência do uso de Baculovirus como bioinseticida, preservando o meio ambiente, sem interferir na saúde humana, visto que são vírus específicos de insetos, especialmente lepidópteros. Foram analisados artigos científicos nacionais e internacionais, a fim de realizar um breve histórico da lagarta *Spodoptera frugiperda*, também conhecida como a lagarta-do-cartucho, considerada a principal praga da cultura do milho, bem como, do uso de Baculovírus como bioinseticida. Os resultados obtidos através da revisão bibliográfica indicaram quais os problemas e soluções encontrados na utilização do Baculovírus em campo. Dentre os problemas encontrados destaca-se a resistência do Baculovírus adquirida ao milho Bt, a dificuldade de produção *in vitro* em larga escala no Brasil e a instabilidade do vírus no ambiente extracelular. Entretanto, técnicas como o uso do DNA recombinante e o microencapsulamento viral se tornaram métodos promissores de combate à praga. Constatou-se que o método de controle biológico de pragas utilizando o Baculovírus é considerado um meio eficiente de combate à lagarta-do-cartucho. Espera-se contribuir com esta revisão bibliográfica para o conhecimento científico através do levantamento de trabalhos publicados sobre o uso de Baculovírus como bioinseticida, os tipos de controle biológicos utilizados para o controle da *Spodoptera frugiperda* e as técnicas mais atuais em que se tem utilizado o *Baculovirus spodoptera* em campo, preservando o meio ambiente e agindo de forma sustentável de combate à praga.

Palavras chave: Baculovirus, bioinseticida, lagarta-do-cartucho

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the biological control methods used to combat *Spodoptera frugiperda* and the efficiency of the use of Baculovirus as bioinsecticide, preserving the environment, without interfering with human health, since they are insect - specific viruses, Especially Lepidoptera. National and international scientific papers were analyzed in order to make a brief history of the caterpillar *Spodoptera frugiperda*, also known as the carcass caterpillar, considered the main pest of the corn crop, as well as the use of Baculovirus as a bio-insecticide. The results obtained through the literature review indicated the problems and solutions found in the use of Baculovirus in the field. Among the problems found, the resistance of Baculovirus acquired to Bt maize, the difficulty of large-scale in vitro production in Brazil, and the instability of the virus in the extracellular environment stand out. However, techniques such as the use of recombinant DNA and viral microencapsulation have become promising methods for combating the pest. It was verified that the method of biological control of pests using Baculovirus is considered an efficient means to combat the caterpillar. It is hoped to contribute with this bibliographic review to the scientific knowledge through the survey of published works on the use of Baculovirus as bioinsecticide, the types of biological control used for the control of *Spodoptera frugiperda* and the most current techniques in which Baculovirus has been used *Spodoptera* in the field, preserving the environment and acting in a sustainable way to combat the pest

Keywords: Baculovirus, bioinsecticide, caterpillar

1. INTRODUÇÃO

A agricultura causa impacto ambiental pela remoção da vegetação nativa e implementação de outra que exige o fim do processo de sucessão natural (MACHADO, 2009). Dentre as pragas, se destacam os insetos, que possuem sucesso habitacional, vivem praticamente em todos os locais e se adaptam facilmente às diversidades ambientais. Portanto, há necessidade de controle de populações de insetos praga de forma eficiente e sustentável. Em busca deste objetivo, atualmente utilizam-se com sucesso, agentes entomopatogênicos, sendo eles vírus, fungos, nematoides ou bactérias. Esses indivíduos são os mais usados nos métodos de controle biológico (OLIVEIRA *et al.* 2006).

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, é classificada como uma das principais pragas que atacam a cultura do milho, e a qual demanda um alto investimento para o seu controle. O manejo desta praga tem se baseado principalmente em aplicações de inseticidas químicos a fim de minimizar os prejuízos nas lavouras. No entanto, já é notável o elevado risco associado aos trabalhadores e ao meio ambiente. Cabe mencionar o fato de que as pragas adquirem resistência aos produtos utilizados, ocasionando uma seleção de populações resistentes, o que torna evidente a necessidade de novos métodos de controle mais seguros (MORAES *et al.*, 2015).

O uso de táticas alternativas como a utilização de parasitoides, entomopatógenos e predadores naturais tem aumentado significativamente, visto que se trata de métodos eficazes e não contaminantes. O uso do Baculovirus como agente de controle biológico é considerado um meio satisfatório de combate à lagarta-do-cartucho, e tem sido estudado por diversos profissionais (SOUSA, 2015).

O objetivo de nosso trabalho é descrever e discutir os trabalhos publicados que mostrem a eficiência do uso de Baculovirus como bioinseticida, de forma sustentável, preservando os inimigos naturais, sem interferir na saúde humana.

2. CONTEÚDO

2.1 *Spodoptera frugiperda*

Os insetos considerados como pragas são aqueles capazes de causar danos econômicos à cultura implantada, diminuindo o rendimento da safra ou a qualidade do produto. Com o passar dos anos esses insetos têm a capacidade de coevoluir com seus hospedeiros, levando a uma adaptação na biologia dos insetos (BARBOSA, 2011).

A lagarta *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797), também conhecida como a lagarta-do-cartucho pertence à ordem *Lepidoptera* e é considerada a principal praga da cultura do milho, seja por seus enormes danos causado às lavouras, pela dificuldade de seu controle a partir de métodos tradicionais de controle de pragas, ou pela sua grande frequência de ocorrência (MORAES *et al.*, 2015). É considerada uma espécie endêmica no hemisfério ocidental e seu sucesso se deve ao fato de sua capacidade de dispersão e voracidade pelas suas plantas hospedeiras (PERUCA, 2015). Sua primeira ocorrência foi relatada em 1928 na América do Norte, embora os seus centros de imigração estejam localizados nos trópicos. Cabe mencionar o fato de sua ampla capacidade de atacar diversas culturas economicamente importantes em vários países, como o algodão, amendoim, abóbora, feijão, sorgo e tomate (OLIVEIRA, 2015).

A *Spodoptera frugiperda* é considerada a praga com maior relevância sobre a cultura do milho no Brasil, visto que é capaz de se alimentar de todos os estádios de desenvolvimento da planta, causando perdas significativas na cultura. Esses insetos dominaram também as regiões de clima temperado como os Estados Unidos, com uma capacidade de sobreviver até no inverno, migrando durante a primavera, verão e outono, atingindo o norte do país até o Canadá (BARBOSA, 2011).

O inseto adulto é uma mariposa com aproximadamente 3,5 cm de comprimento, coloração pardo-escura nas asas anteriores e branco-acinzentada nas posteriores. As posturas são feitas em massa, com média de 150 ovos. O período para eclosão das larvas é de aproximadamente três dias. As larvas recém-eclodidas alimentam-se da própria casca do ovo e, posteriormente, as lagartas se alimentam das partes aéreas da planta, provocando o sintoma conhecido como “folhas raspadas”. O que é um sintoma da presença da lagarta na cultura. À medida que as lagartas crescem, começam a fazer orifícios nas folhas, podendo causar graves danos às plantas. É comum também o ataque

na base da espiga ou nos grãos leitosos (CRUZ, 1995). A utilização de inimigos naturais também é de grande ajuda no controle da lagarta do cartucho, onde não há estes inimigos e a intensidade dos danos no milho é elevada (FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

A lagarta-do-cartucho tem causado grandes prejuízos, estimados em mais de 400 milhões de dólares anualmente (ROSA, 2011). Quando essa praga ataca plantas de até 30 dias, ela pode causar sua morte e reduzir o estande inicial e, em plantas maiores, pode comprometer a produtividade ao alimentar-se do parênquima das folhas, do broto central da planta (cartucho-do-milho) e dos grãos da espiga (CRUZ, 1995).

Existem vários estudos relacionados aos métodos de controle contra essa praga, utilizado em todo o mundo, e na sua maioria, baseiam-se na aplicação de inseticidas químicos. O que preocupa é a ocorrência de populações resistentes aos agrotóxicos, verificada em algumas regiões, e a diminuição da diversidade de agentes de controle biológico, em consequência do uso inadequado dos pesticidas (RUIZ, 2015). Depois do segundo ou terceiro ínstar, as larvas começam a fazer cavidades nas folhas, se alimentando em seguida do cartucho das plantas de milho, produzindo uma característica fileira de perfurações nas folhas. A densidade de larvas no cartucho é reduzida devido ao comportamento canibal deste inseto. Seu ciclo de vida é completado em 30 dias em condições de laboratório e, o número de ovos pode variar de 100 a 200 por postura/fêmea, sendo que um total de 1.500 a 2.000 ovos podem ser colocados por uma única fêmea. A lagarta pode atingir mais de 2,5cm de comprimento e a fase de pupa ocorre no solo (RUIZ, 2015)

2.2 Tipos de controle para *Spodoptera frugiperda*

As espécies reconhecidas como agentes de controle biológico da lagarta-do-cartucho podem ser classificadas como predadoras ou parasitoides, sendo as predadoras aquelas que utilizam como alimento o inseto-praga, e os parasitoides os que utilizam o corpo do animal, ou seus ovos, para depositarem suas posturas e parasitá-las (CRUZ, 2008). Visando garantir a qualidade do alimento referente ao controle de pragas, novas tecnologias têm sido introduzidas para criar variedades de produtos resistentes à insetos.

Os patógenos de insetos já possuem sua história no controle de pragas: em particular as bactérias, como *Bacillus thuringiensis*, fungos entomopatogênicos, inúmeras espécies de Baculovirus como também os nematoides entomopatogênicos (CORY, 2012). A elevada resistência e adaptação adquirida pela lagarta aos métodos de controle

tradicionais e as técnicas inovadoras justificam a busca por novos projetos obtidos com baixo custo com capacidade de diminuir os impactos causados por essa praga (RAMOS, 2016).

O controle da lagarta-do-cartucho não é uma tarefa fácil. O aumento de indivíduos resistentes se deve ao fato do uso inadequado de seus métodos de controle. A pulverização de inseticidas com mecanismo de ação semelhante, ou até igual, tem apresentado falhas de controle. No entanto, algumas características biológicas desta praga, como alto potencial reprodutivo e seu ciclo biológico curto, associadas a um cenário de sobreposição de cultivo de plantas hospedeiras, criou uma pressão seletiva pelos agrotóxicos e plantas Bt, favorecendo uma evolução da resistência e como consequência, falha nas táticas de controle (OMOTO *et al.*, 2013).

2.2.1. Bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt)

O termo transgênico, empregado pela primeira vez em 1983 na Universidade da Pensilvânia (EUA), é utilizado para designar um ser vivo que foi modificado geneticamente, em que se recebe um gene ou uma sequência gênica de um ser vivo de espécie diferente utilizando-se a técnica denominada de DNA recombinante (ALVES, 2004). As culturas geneticamente modificadas são as mais comercializadas no mundo, sendo em primeiro lugar a soja com 63% e em segundo lugar o milho com 19%.

Muitos produtores já utilizam o milho transgênico a fim de maximizar a produtividade, reduzir os custos de produção e diminuir a aplicação de agrotóxicos (ALVES *et al.*, 2015). O Brasil é considerado um dos maiores produtores de transgênicos do mundo, atrás somente dos Estados Unidos, em que 90% da área plantada de milho utiliza algum evento transgênico. A principal estratégia utilizada para o combate de *Spodoptera frugiperda* é a utilização de híbridos de milho, que expressam um tipo de proteína inseticida denominada Bt. O milho Bt é caracterizado por possuir um ou mais genes da bactéria *Bacillus thuringiensis*, um microrganismo patogênico para a lagarta. Com isso o milho Bt consegue diminuir em até 90% o ataque de pragas (MORAES; LOURENÇÃO; PATERNIANI, 2015).

Atualmente, com o uso da biotecnologia, o uso de genes que codificam proteínas com capacidade inseticida tornou-se um importante método de controle biológico, tornando o controle de pragas menos agressivo ao meio ambiente (BEDIN *et al.*, 2015).

O uso de bioinseticida *Bt* marcou a substituição dos inseticidas convencionais em diversos locais. Nos anos 80 com o surgimento de novas técnicas, em especial as voltadas para o uso de DNA recombinante, e o despertar da população para a real situação dos agrotóxicos, fizeram com que as entidades de pesquisa e o meio industrial demonstrassem interesse na utilização do *Bt* tanto para a agricultura quanto para a saúde pública (MORAES; LOURENÇÃO; PATERNIANI, 2015).

A substituição de agrotóxicos convencionais pelo milho *Bt* aconteceu de maneira muito rápida no Brasil, devido à sua alta eficácia, sendo que em 2013 o milho transgênico ocupou 81,6% das áreas plantadas (WAQUIL *et al.*, 2016). Devido ao seu uso inadequado, vários casos de falhas no controle de *S. frugiperda* já foram observados em diversas regiões brasileiras. Uma causa possível seria a não utilização de áreas de refúgio, condição fundamental para o manejo da resistência (RESENDE *et al.*, 2014). Os Programas de Manejo de Resistência (MRI) utilizam como principal estratégia o uso de refúgios, ou seja, áreas da lavoura em que se devam cultivar variedades não *Bt*, para que populações resistentes observadas no cultivo *Bt* possam se acasalar com populações não resistentes primitivas (BERNADI *et al.*, 2011).

Sabe-se que pelo menos três espécies da ordem Lepidoptera já se tornaram resistentes às proteínas *Bt*. Em Porto Rico, Estados Unidos e no Brasil já foram documentados populações de lagarta-do-cartucho resistentes ao milho *Bt* (HUANG, *et al.*, 2014). Em apenas dois anos esses insetos-pragas não só adquiriram resistência, como também conseguiram crescer em culturas *Bt*. Embora nos Estados Unidos e em outros países a utilização de áreas de refúgio seja regulamentada, pode não ser o suficiente para alcançar os atrasos desejados na evolução de insetos resistentes. Em combinação com outras táticas de manejo de pragas adequadas, o uso das proteínas *Bt* pode se tornar um meio eficaz para retardar a resistência dos insetos (TABASHNIK *et al.*, 2013).

Um terço dos produtores rurais estudados não compreendem os benefícios relacionados à adoção do refúgio, embora conheçam os benefícios relacionados ao uso do milho *Bt* associado ao controle das lagartas nas lavouras (RESENDE *et al.*, 2014). Esses autores ainda afirmam a necessidade de uma regulamentação por lei a favor da área de refúgio que vise intensificar as medidas educacionais sobre a produção da cultura do milho.

2.2.2. Inseto *Telemonus remus*

O parasitoide *Telemonus remus*, exclusivo de ovos, também é utilizado como tática de controle biológico para a praga *S. frugiperda*, capaz de parasitar todas as camadas de ovos do hospedeiro. Foi introduzido no Brasil em 1986 e é originário da Malásia e de Nova Guiné. É considerada uma metodologia de sucesso em vários países como a Colômbia e Venezuela, que atinge níveis de controle de até 90%. Contudo, no Brasil essa pesquisa só tem avançado nos últimos anos (POMARI *et al.*, 2013). As fêmeas que parasitam os ovos e são capazes de trabalhar tanto durante o dia, quanto durante a noite, o que aumenta as chances de parasitar também ovos recém-eclodidos (SILVA, 2011). A correta utilização desse parasitoide em campo é com a liberação de *T. remus* em três semanas consecutivas para o controle de ovos de *S. frugiperda* em milho (IVAN *et al.*, 2016).

2.2.3. Inseto *Doru luteipes*

As tesourinhas, como a *Doru luteipes* também têm sido citadas como método de controle para a *S. frugiperda* devido ao seu elevado consumo de ovos diário, estimado em 21 para os adultos e 12 para as ninfas. É necessária a presença de 70% do predador em plantas hospedeiras para manter a lagarta sobre controle e diminuir bruscamente os prejuízos causados por ela (WAQUIL *et al.*, 2002). Contudo, sua ocorrência se dá após o pico populacional da praga devido à sua dependência de densidade do hospedeiro. Por isso estudos vêm sendo realizados para que ocorra uma atração desses predadores anteriormente ao pico populacional, para que pudessem então, reduzir efetivamente suas populações (NONINO, 2007). A comum ocorrência de *D. luteipes* no cartucho da planta do milho, assim como de ovos e lagartas de *S. frugiperda*, beneficia a aproximação e potencializa a predação. O comportamento de onivoria característico de *D. luteipes* não se caracteriza como um fator negativo dentro do agroecossistema de milho, ao se considerar que *S. frugiperda* é uma praga que ocorre principalmente na fase vegetativa da cultura e, portanto, a predação provavelmente não é diminuída pelo consumo de materiais das plantas, tais como pólen (MENEZES NETTO, 2010).

2.2.4. Inseto *Trichogramma* spp.

Outros parasitoides de ovos são os *Trichogramma* spp. Espécies desse gênero são insetos muito pequenos e suas fêmeas depositam suas posturas dentro do ovo do hospedeiro. A espécie comercializada é a *Trichogramma pretiosum* e sua liberação nas lavouras ocorre assim que surgem as posturas ou adultos da mariposa. Essa liberação inundativa dos parasitoides de ovos tem sido o método preferencial de controle, visto que não danifica a planta. A vespa *Trichogramma* tem como preferência ovos de *Lepidoptera*, que são as principais pragas agrícolas (FIGUEIREDO *et al.*, 2015).

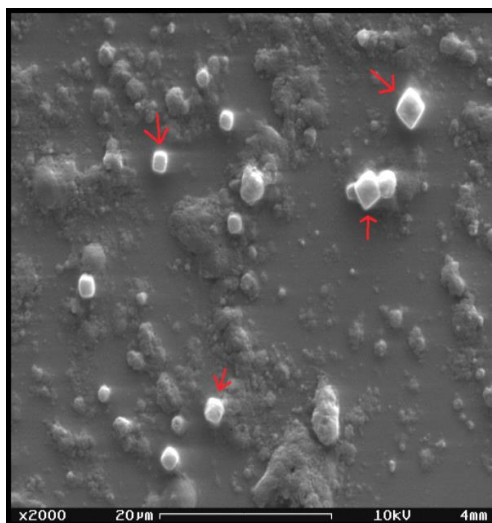
Entretanto, algumas variáveis podem interferir no seu manejo, no caso das condições climáticas como vento e chuva, que podem dificultar o acesso desse diminuto parasitoide até o hospedeiro. Cabe mencionar o fato da importância do sincronismo entre a presença do *T. pretiosum* com a ocorrência dos ovos da praga, que normalmente permanece de três a cinco dias (CRUZ, 2008). A temperatura também pode influenciar no seu desenvolvimento, já que em temperaturas mais baixas, em torno de 18°C, seu ciclo é completado em 20 dias, e em temperaturas mais elevadas cai para sete dias (BUENO *et al.*, 2010). Embora muito eficiente para inúmeras pragas agrícolas, *Trichogramma* spp apresentam dificuldades em parasitar massas de ovos de *S. frugiperda*, pois eles são cobertos por escamas e depositados em camadas (BESERRA *et al.*, 2002). Além dessa dificuldade, Toonders & Sánches (1987) contaram o número de ovos de *S. frugiperda* parasitados, observaram o parasitismo natural por *Trichogramma* spp. e verificaram que variou de 0 a 10%. No mesmo trabalho, os autores liberaram 30.000 parasitoides em 1,5 ha de milho e verificaram que a taxa de parasitismo foi apenas 4%. Portanto, mesmo com grande disponibilidade de ovos nas plantas nem sempre ocorre um aumento do parasitismo por *Trichogramma*.

2.2.5. Baculovirus

Os Baculovirus pertencem à família *Baculoviridae* e são compostos por vírus patogênicos a insetos, especialmente lepidópteros (IKEDA *et al.*, 2015). Dentre os vírus encontrados na natureza com capacidade inseticida, os Baculovirus são considerados o grupo com maior valor comercial (HAASE, 2015).

Os Baculovirus pertencem a um grupo de vírus que possui toxicidade para insetos, não causam prejuízo à saúde humana nem ao meio ambiente, o que torna o seu uso vantajoso (ALMEIDA, 2010). Os primeiros relatos de Baculovirus surgiram na Ásia, há 5000 anos, durante a grande produção de seda na China. A partir do avanço da cultura do bicho-da-seda em diversos países, alguns fatores dificultaram sua produção, como a morte dos insetos produtores da seda. Observou-se que se tratava de uma doença que impedia o desenvolvimento da cultura. Com a utilização de microscopia de luz, pesquisadores encontraram uma característica presente em todos os insetos, os corpos de inclusão. Estes corpos apresentavam estrutura poliédrica (Figura 1), que levou esse nome para designar doenças causadas por poliedros, as poliedroses (SILVA *et al.*, 2014).

Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura indicando os poliedros em células lisadas.



FONTE: SILVA *et al.*, 2014

Os primeiros trabalhos sobre o Baculovirus em que se obteve um levantamento dos principais inimigos naturais da *Spodoptera frugiperda* em diversos estados do Brasil tiveram início em 1984 (VALICENTE, 1989). Em cinco anos de pesquisa, mais de 14.000 lagartas foram coletadas e observou-se a presença de diversos parasitoides, incluindo lagartas mortas por vírus. Atualmente são constatados 22 isolados de Baculovirus. O isolado seis possui uma característica exclusiva e de suma importância

para a produção em larga escala: o fato de não causar o rompimento do tegumento da lagarta morta, sendo que após a sua morte, as lagartas infectadas pelo Baculovírus podem ser congeladas ou processadas imediatamente (Figura 2) (VALICENTE *et al.*, 2010).

Figura 2. Lagartas infectadas pelo isolado seis de Baculovírus que não causam a liquefação das lagartas mortas.



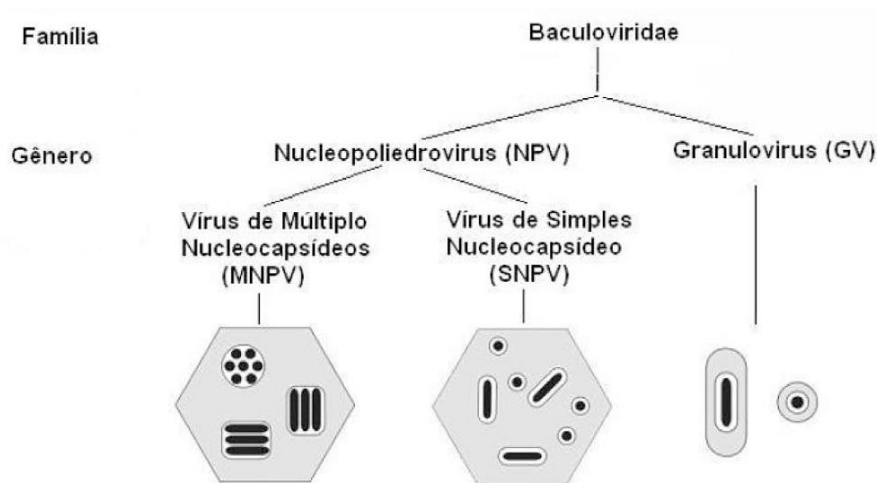
FONTE: VALICENTE *et al.*, 2010

Em 1972 um grupo de vírus da família *Baculoviridae* foi encontrado na região de Campinas, no estado de São Paulo. O *Baculovirus anticarsia* foi detectado pela primeira vez no Peru, em lagartas da espécie *Anticarsia gemmatalis* em uma cultura de alfafa (MOSCARDI, 1985). As primeiras aplicações de Baculovirus em lavouras de soja foram realizadas pela Embrapa Soja, a fim de verificar a viabilidade do produto (SECCHI, 2002).

A primeira biofábrica do município de Uberaba lançou seu bioinseticida à base de *Baculovirus spodoptera* em março de 2017 em parceria com a Embrapa Milho e Sorgo/UFTM, de Sete Lagoas, Minas Gerais. (CUSSI, 2017).

Existem dois gêneros da família dos Baculovírus: os Nucleopoliedrovirus (NPVs) e Granulovirus (GVs). Os NPVs apresentam forma poliédrica constituída de poliedrina, que corresponde a 95% do seu conteúdo proteico. Podem ser subdivididos em múltiplos (MNPV) ou simples (SNPV) dependendo do número de capsídeos existentes no *virion*. Os GVs apresentam forma ovicilíndrica com uma única partícula viral, contendo somente um nucleocapsídeo, ocluso pela matriz proteica constituída pela proteína granulina (Figura 3) (BARBOSA, 2016).

Figura 3. Divisão da família *Baculoviridae* segundo a classificação do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTVdb):

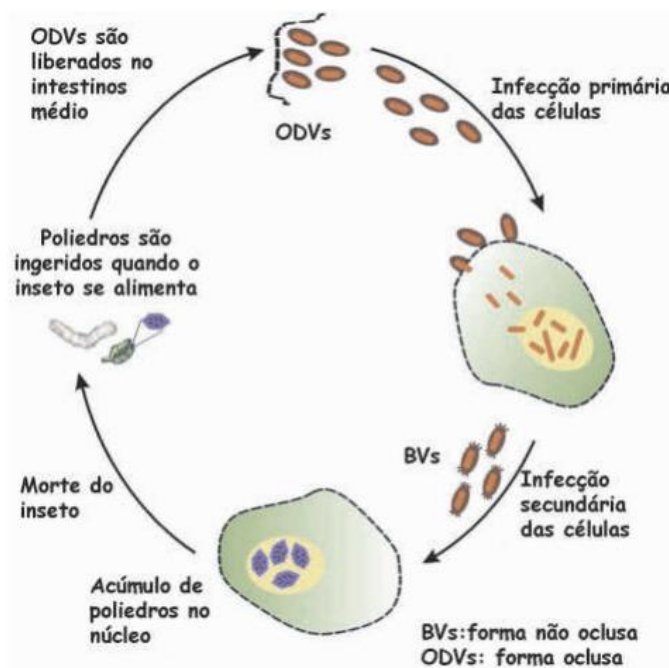


Fonte: VALICENTE *et al*, 2010

De acordo com VALICENTE *et al* (2010) os Baculovirus isolados da lagarta-do-cartucho do milho recebem o nome do hospedeiro do qual foi isolado, *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV). O SfMNPV foi identificado e purificado a partir de uma amostra de uma lagarta do campo. Atualmente mais de 5.000 hectares de milho já foram tratados com o *Baculovirus spodoptera*, o qual é produzido em laboratório com dietas artificiais adequadas à espécie. VALICENTE *et al* (2010) montaram uma formulação, sendo um produto final em pó, que atualmente está sendo utilizado para pulverizar as lavouras.

O ciclo de infecção primária consiste na inoculação dos vírus na lagarta. Assim que são ingeridos, seus poliedros se dissolvem no intestino do inseto, ocorrendo a liberação de suas partículas virais, que penetram nas células do intestino e se multiplicam no seu núcleo. Essas partículas são capazes de atravessar a membrana da célula e atingir o hemolinfa da lagarta fazendo com que ocorra uma infecção sistêmica. A célula infectada começa a formar novas partículas virais que penetram nos poliedros. Essa célula se rompe e são liberadas grandes quantidades de poliedros, tornando a lagarta debilitada e provocando a morte em torno de sete dias após a inoculação do Baculovirus (Figura 4) (MOSCARDI, 1983).

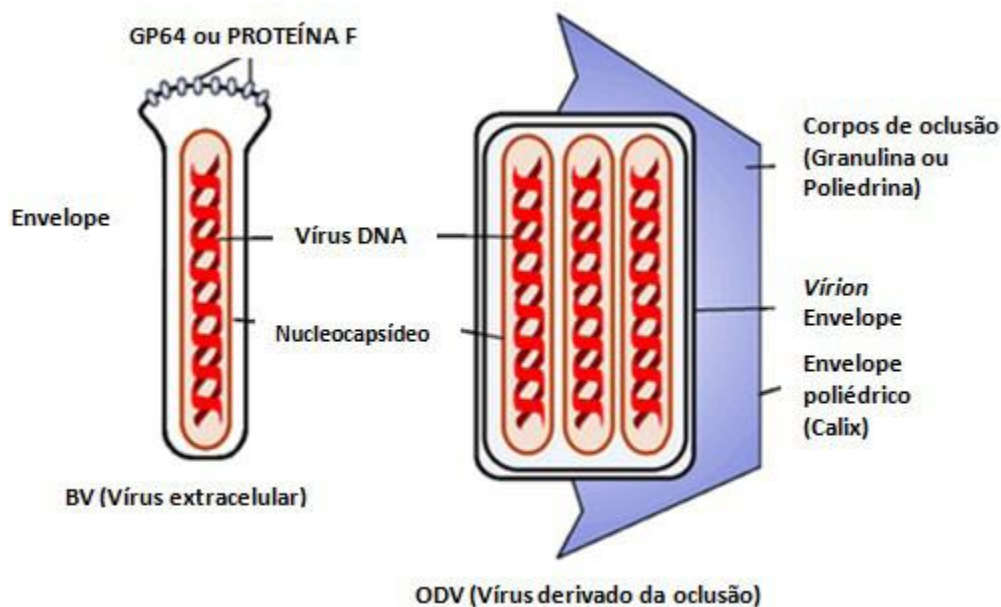
Figura 4. Infecção de inseto por Baculovirus. Os poliedros ingeridos pela lagarta são capazes de se multiplicar nas células do intestino do inseto, formando novas partículas virais que provocam a morte da lagarta.



Fonte: MOSCARDI, (1983).

Os Baculovirus produzem dois tipos de fenótipos: o vírus extracelular “budded virus” (BVs) e os vírus derivados de oclusão “occluded virus” (ODVs) (Figura 5). Os BVs são responsáveis pela infecção célula a célula, sendo esta forma viral essencial para o processo de infecção *in vitro*, pois alta concentração destas partículas virais indica a possibilidade do sincronismo do processo de infecção, garantindo que todas as células sejam infectadas no mesmo momento. Já os ODVs difundem o vírus de inseto para inseto, apresentando-se oclusos em uma matriz proteica, cuja principal constituinte é a poliedrina com aproximadamente 30 KDa (ROHRMANN, 1986). A poliedrina proporciona a preservação do vírus no ambiente por um tempo mais prolongado (CASTRO *et al.*, 2004). Portanto, essa oclusão permite que os ODVs sejam utilizados como os próprios bioinseticidas.

Figura 5. Estrutura e composição das partículas infectivas dos Baculovírus: Vírus extracelular (BV); vírus derivado de oclusão (ODV).



Fonte: Dantas, 2015.

2.3 Engenharia Genética de Baculovirus

Os Baculovirus têm chamado a atenção como bioinseticida devido à sua estreita gama de hospedeiros, tornando-os seguros para outros insetos e organismos. O seu alto valor patogênico também contribui para o seu destaque no controle de pragas (MOSCARDI *et al.*, 2011). Alguns produtos já foram desenvolvidos a base de SfMNPV, como uma formulação em pó molhável avaliada por Valicente e Costa (1995) que apresentou alta mortalidade de larvas. Os biopesticidas são capazes de substituir os agrotóxicos de uma forma extremamente eficiente. Com os avanços da pesquisa, os agentes de controle biológico desempenham um importante papel no desenvolvimento de futuras estratégias de gestão integrada de pragas, a fim de minimizar os impactos causados pelos pesticidas químicos. É muito provável que em um futuro próximo o seu papel seja mais significativo e compreendido pelos agricultores e sociedade (SARWAR, 2015).

A preparação e utilização de Baculovirus como agentes de controle de pragas foram facilitadas pelo fato de incorporarem partículas infecciosas em corpos de oclusão

proteicos (OBs) que conferem um nível de estabilidade ao vírus e podem ser dispersos com o mesmo equipamento e métodos utilizados para aplicar pesticidas químicos (THOMPSON *et al.*, 1981). Estes OBs, também conhecidos como poliedros ou grânulos, ocorrem em ambientes onde as larvas do hospedeiro se alimentam. Os OBs de alfabaculovírus e betabaculovírus têm sido utilizados com mais frequência em formulações de biopesticidas para controle de lagartas da ordem Lepidoptera.

Os hospedeiros lepidópteros larvais ingerem OBs ao se alimentarem de folhagem. Enquanto as larvas de hospedeiro infectadas com baculovírus tornam-se moribundas e, eventualmente, morrem de forma dramática, o tempo entre a infecção inicial do hospedeiro e sua morte por doença viral é geralmente uma questão de dias ou mesmo semanas, durante o qual o hospedeiro continua a alimentar e causar danos agrícolas. No entanto, a velocidade lenta de morte do Baculovirus tem significado que os Baculovirus são raramente utilizados para controle de pragas (KROEMER *et al.*, 2015).

Uma solução para o problema com velocidade lenta de matar veio com o desenvolvimento de métodos de engenharia genética de Baculovirus. Sugeriu-se a possibilidade de engenharia de Baculovirus para expressar proteínas inseticidas que matariam rapidamente as pragas infectadas ou interromperiam a sua alimentação ou que exibissem outras melhorias (por exemplo, maior patogenicidade). As larvas infectadas com estes vírus recombinantes geralmente morrem mais cedo do que as larvas infectadas com vírus de tipo selvagem não recombinantes, devido à toxicidade da proteína inseticida codificada em vez da patologia da própria infecção (MILLER *et al.*, 1983).

2.4 Microencapsulamento do Baculovirus

Muitos esforços têm sido feitos para controlar a lagarta-do-cartucho, um inseto que demonstra uma resistência natural aos agentes de controle biológico. Por isso é fundamental a busca por estratégias inovadoras capazes de burlar o próprio sistema da lagarta, como a utilização de um estimulante alimentar adequado. Esses compostos aumentam a palatabilidade, aumentando as chances de *S. frugiperda* se alimentar de uma dose letal (CIRA *et al.*, 2017). Entretanto, o uso de produtos químicos nos bioinseticidas tem sido questionado. Com isso, o microencapsulamento do baculovírus tem se mostrado uma técnica promissora que permite revestir pequenas partículas

sólidas em uma fina camada de revestimento, protegendo o vírus das condições ambientais extremas e estabilizando seu armazenamento (CUBILLOS, 2013).

2.5 Baculovirus *in vivo*

Observou-se que algumas características do ambiente podem interferir na qualidade do produto em campo, e por isso, formulados por encapsulamento fornecem proteção UV ao vírus, melhorando sua eficácia (BEHLE *et al.*, 2012). Além do fato da velocidade lenta de matar do Baculovirus selvagem, existem outras limitações para a sua utilização, que inclui o elevado custo de produção e a influência dos fatores ambientais (BEHLE *et al.*, 2012).

Uma das dificuldades de aplicação do Baculovirus em campo se dá pela perda das propriedades inseticidas relacionadas às condições ambientais, como temperatura, pH e umidade, além da interferência da radiação UV (RUIZ, 2015). O *Baculovirus spodoptera* é sensível ao pH 10, danificando em 97% o número da partículas virais. Quanto à temperatura, o vírus consegue resistir até 50°C sem perder sua eficiência (SOUSA, 2015).

Um dos maiores obstáculos para a adaptação do Baculovirus se deve ao fato do seu alto custo no mercado, ultrapassando o preço dos tratamentos químicos, que se justifica pela intensa mão de obra necessária em laboratório (KOKUBU, 2014). Atualmente, a produção do Baculovirus é baseada no modelo *in vivo*, com a criação das lagartas através de uma dieta artificial contaminada com o vírus. Além da desvantagem econômica deste método, outros fatores como contaminação externa devem ser apresentados, o que acrescenta muito ao custo final do produto (ELVIRA *et al.*, 2010).

Já a utilização da técnica *in vitro* é capaz de cultivar as células do inseto em placas com meios específicos. No entanto, a sua produção em larga escala também requer muitos cuidados, visto que a agitação ou aeração do material podem facilmente danificá-lo (BEAS CATENA *et al.*, 2011). A utilização de estratégias bem estabelecidas em engenharia de bioprocessos é uma forma de enfrentar os desafios tecnológicos e econômicos para a produção *in vitro* de Baculovirus. Deste modo, adaptar sistemas de produção que são utilizados há muito tempo com sucesso em processos com células microbianas (bactérias ou fungos) para sistema de cultivo com células de inseto é uma estratégia interessante, principalmente quando se deseja o aumento e a otimização da produção de Baculovirus. O conhecimento das equações cinéticas através da

modelagem matemática descritas por esses sistemas de produção *in vitro* de bioinseticidas virais e vetores de expressão de proteínas também tem sua importância na ampliação da produção viral (ALMEIDA, 2010).

Para que ocorra o registro de um Baculovirus como agente de controle biológico é necessária uma elaborada caracterização do agente ativo, representado pela estirpe de baculovírus. Essas estirpes derivam de amostras de campo de diferentes localizações geográficas e representam populações de diferentes composições de genótipos (GRADES, 2014). Esse autor ainda cita um isolado comercial mexicano que adquiriu resistência nos campos da Europa, e que a partir disso, outro isolado foi identificado e purificado para comercialização ao controle dos resistentes. O *Baculovirus agrotis* possui diferentes isolados geográficos pela Europa, Ásia e América do Norte, sendo que a China já sequenciou 99% do isolado AgseGV, encontrado na Ásia (ZHANG *et al.*, 2014).

2.6 Baculovírus com DNA recombinante

O Baculovirus apresenta uma velocidade de morte ao inseto lenta, o que dificulta a sua utilização prática. Muitas técnicas foram desenvolvidas para melhorar essa ação, uma delas é a modificação do Baculovirus utilizando-se a técnica do DNA recombinante, que inclui a inserção de genes que codificam hormônios, enzimas ou toxinas (JUNG *et al.*, 2012).

Uma recente abordagem revela que o uso do Baculovirus recombinante com *Bacillus thuringiensis* e *Autographa californica* apresentou uma alta atividade inseticida comparada à espécie selvagem (SHIM *et al.*, 2013). Apesar do Baculovírus de tipo selvagem apresentar uma velocidade de morte lenta da lagarta em comparação com os agrotóxicos, são considerados eficazes à longo prazo. No entanto, essa desvantagem levou ao desenvolvimento de um grande número de Baculovirus recombinante durante os últimos 20 anos, embora ainda apresente baixa influência no mercado mundial (MOSCARDI *et al.*, 2011).

Um grande esforço foi feito nos Estados Unidos para o desenvolvimento comercial de biopesticidas utilizando Baculovirus geneticamente modificados expressando proteínas inseticidas. Uma grande quantidade de dados sobre eficácia, desempenho de campo e segurança de vírus recombinantes foi gerada no processo, por laboratórios acadêmicos, governamentais e corporativos. Infelizmente, as empresas

produtoras de pesticidas nos EUA que estavam envolvidas na colocação de um biopesticida de Baculovirus recombinante no mercado cessaram suas atividades e não concluíram o processo de registro de seus vírus recombinantes. As razões por trás dessas decisões não foram formalmente ou totalmente explicadas, mas provavelmente envolveu as perspectivas de competir com outras tecnologias de controle de pragas. Com as crescentes restrições aos pesticidas químicos e as dificuldades com a aceitação pública de plantas geneticamente modificadas em algumas partes do mundo, os agentes patogênicos de insetos de ocorrência natural, como os Baculovirus, tornaram-se opções de controle de pragas mais populares e tem havido mais interesse recentemente no desenvolvimento comercial de pesticidas com base nesses patógenos. Espera-se que esta tendência conduza a um interesse renovado nos Baculovirus recombinantes que expressam proteínas inseticidas (KROEMER *et al.*, 2015).

Estratégias de Manejo Integrado de pragas (MIP) foram introduzidas na Austrália para gerenciar a resistência e fornecer alternativas aos controles químicos cada vez mais onerosos. MIP em algodão e grãos australianos incluem o uso de biopesticidas baseados em Baculovirus. Estes biopesticidas proporcionam uma gestão eficaz de pragas sem efeitos adversos na saúde humana e são ambientalmente seguros, isto é, específicos do inseto alvo (NOUNE, 2013).

3 CONSIDERAÇÕES

A partir da análise dos trabalhos relatados é possível levantar algumas considerações:

1. Apesar da existência de outros agentes bioinseticidas, o uso do *Baculovirus* como bioinseticida é um método de controle biológico eficaz.
2. Existem limitações de ordem técnica e econômica para a produção em escala industrial do Baculovirus.
3. As utilizações de técnicas inovadoras como o Baculovirus recombinante e o microencapsulamento do vírus tornaram o seu uso mais efetivo e seguro, capaz de substituir os pesticidas químicos no controle da *Spodoptera frugiperda*, aumentando a qualidade de vida das pessoas e contribuindo para a preservação do meio ambiente.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A.F. **Estratégias de produção *in vitro* de bioinseticida viral: Influências do isolado, da cinética e do modo de operação.** 133p *Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Rio Grande Do Norte*, Natal, 2010.
- ALVES, B.M.; CARGNELUTTI FILHO, A.; BURIN, C.; TOEBE, M.; SILVA, L.P. **Divergência genética de milho transgênico em relação à produtividade de grãos e à qualidade nutricional.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 45, n. 5, p. 884-891, 2015.
- ALVES, G.S. **A biotecnologia dos transgênicos: precaução é a palavra de ordem.** *Holos*, v.20, 2004.
- BARBOSA, M.A.P. **Estabilidade do *Baculovirus spodoptera* (SfMNPV) - 6NR na formulação de pó molhável.** (*Trabalho de Conclusão de Curso*) *Curso de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal de São João Del-Rei*, 2016.
- BARBOSA, T.J.A. **Efeito da aplicação de silicato de cálcio e magnésio no desenvolvimento biológico de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho (*Zea mays*) (Poaceae).** 66p *Dissertação (Pós-graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo*, 2011.
- BEAS-CATENA, A., A. SÁNCHEZ-MIRÓN, F. GARCÍA-CAMACHO and E. MOLINA-GRIMA. **Adaptation of the Se301 insect cell line to suspension culture. Effect of turbulence on growth and on production of nucleopolyhedrovirus (SeMNPV).** *Cytotechnology* 63(6): 543-552, 2011.
- BEDIN, F.A.; ASMANN, E.J.; POLO, L.R.T.; SCHUSTER, I. **Eficiência de eventos transgênicos de resistência a insetos em soja e milho.** , Volume 8 - n°2, p. 201 – 214, 2015.
- BEHLE, R.W.; POPHAM, H.J. **Laboratory and field evaluations of the efficacy of a fast-killing baculovirus isolate from *Spodoptera frugiperda*.** *J Invertebr Pathol.*109(2):194-200, 2012.
- BERNARDI, O.; ALBERNAZ, K. C.; VALICENTE, F. H.; OMOTO, C. **Resistência de insetos-praga a plantas geneticamente modificadas.** In: BORÉM, A.; DIAS, G. (Ed.). **Plantas geneticamente modificadas: desafios e oportunidades para regiões tropicais.** *Suprema*, cap. 9, p. 179-204, Visconde do Rio Branco, 2011.
- BESERRA, E.B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. **Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn.** *Florida Entomologist*, v.84, n.4, p. 588-593, 2002.
- BUENO, R. C. O. F.; T. R. CARNEIRO; A. F. BUENO; D. PRATISSOLI, O. A. FERNANDES & S. S. VIEIRA. **Parasitism capacity of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs.** *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 133–139, 2010.

CASTRO, M. E. B.; SANTOS, A. C.B.; RIBEIRO, Z. M. A.; SOUZA, M. L.; SOUSA, N. J. **Análise de Proteínas estruturais e de DNA do *Baculovirus Condylorrhiza vestigialis nucleopolyhedrovirus***. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004.

CIRA, N.D.G.; GUERRA, P.T.; MARTÍNEZ, M.M.; MENDOZA, J.M.V.; GARCÍA, N.M.R. **Activity of *Bacillus thuringiensis* – and Baculovirus – based formulations to *Spodoptera* species**. *Southwestern entomologist*, 1:42, 2017.

CORY, J.S. **Evolution and the microbial control of insects**. *Evolutionary applications*. 5: 455-469, 2012.

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

CRUZ, I. (Ed.). **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**; Sete Lagoas: *Embrapa Milho e Sorgo*, 192p. 2008

CRUZ, I. WAQUIL, J.M.; VIANA, P.A.; VALICENTE, F.H. **Pragas: Diagnóstico e controle**. 14p *Arquivo do Agrônomo nº 2 (Embrapa/Cnpms)* – Sete Lagoas, MG, 1995.

CUBILLOS, G.P.B. ***Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus: the basis for a biopesticide product in Colombia**. 169p. (*Tese Doutorado*) – *Universidad Pública de Navarra*, Pamplona, 2013.

CUSSI, M. **Uberaba recebe a primeira biofábrica que produzirá bioinseticida inédito no mundo**. *Jornal Jumbinho*. p. 3, 2017.

DANTAS, G.C. **Contribuição para a tecnologia de produção de corpos de oclusão do *Baculovirus spodoptera*: análise das proteínas virais e caracterização matemática**. 110p. *Tese (Programa de Pós-graduação em Engenharia Química)* – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

ELVIRA, S.; WILLIAMS, T.; CABALLERO, P. **Juvenile hormone analog technology: effects on larval cannibalism and the production of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrovirus**. *Journal of Economic Entomology* 103, 577-582, 2010.

FIGUEIREDO, M.L.C. de; MARTINS-DIAS, A.M.P.; CRUZ, I. **Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41: 1693-1698, 2006.

FIGUEIREDO, M. L. C.; CRUZ, I.; SILVA, R. B.; FOSTER, J. E. **Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%**. *Agronomy for Sustainable Development*, Paris, v. 35, n. 3, p. 1175-1183, 2015.

GRADES, Z.E. **Diversity of Baculoviruses isolated from Cutworms (*Agrotis* spp.)** 128p. (*Dissertação*) - *Johannes Gutenberg-Universität Mainz*, Mainz, 2014.

HAASE, S.; SCIOCCO-CAP, A.; ROMANOWSKI, V. **Baculovirus insecticides in Latin America: Historical overview, current status and future perspectives**. *Viruses*, 7, 2230-2267, 2015.

HARRAP, K.A. **The structure of nuclear polyhedrosis viruses. I. The inclusion body.** *Virology*, 50, 114–123, 1970.

HUANG F, QURESHI JA, MEAGHER RL JR, REISIG DD, HEAD GP, ANDOW DA, **Cry1F Resistance in Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda*: Single Gene versus Pyramided Bt Maize.** *PLoS One* 9(11): e112958. doi:10.1371/journal.pone.0112958, 2014.

IKEDA, M.; HAMAJIMA, R.; KOBAYASHI, M. **Baculoviruses: diversity, evolution and manipulation of insects.** *Entomological Science*, 18, 1–20, 2015.

IVAN, I.A.F.; SILVA, K.R.; LOBOSCHI, D.L.; ARAUJO JR, L.P.; SANTOS, A.J.P.S.; PINTO, A.S. **Número de liberações de *Telemonus remus* no controle de ovos de *Spodoptera frugiperda* em milho de segunda safra.** *Entomologia*, XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 284-288, 2016.

JUNG, M. P., J. Y.; CHOI, X. Y.; TAO, B. R.; JIN, Y. H.; PARK, H. H. **Insecticidal activity of recombinant baculovirus expressing both spider toxin isolated from *Araneus ventricosus* and *Bacillus thuringiensis* crystal protein fused to a viral polyhedrin.** *Entomol. Res.* 42(6): 339-346, 2012.

KOKUBU, H. **Brief overview of microorganisms used against agricultural insect pests.** *E-CUCBA*, 37-44, 2014.

KROEMER, J.A.; BONNING, B.C.; HARISSON, R.L. **Expression, Delivery and Function of Insecticidal Proteins Expressed by Recombinant Baculoviruses.** *Viruses* 7, 422-455, 2015.

MACHADO, R.C.M. **Interação inseto-planta e suas implicações no manejo integrado de pragas.** 53p *Dissertação (Pós-graduação lato sensu)* - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

MENEZES NETTO, A.C. **Fatores naturais e *Telemonus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) na mortalidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho.** *Dissertação (Entomologia Agrícola)* – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

MILLER, L.K.; LINGG, A.J.; BULLA, L.A., Jr. **Bacterial, viral, and fungal insecticides.** *Science*, 219, 715–721, 1983.

MORAES, A.R.A.; LOURENÇÃO, A.L.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. **Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Bragantia*, Campinas, v.74, n. 1, p. 50-57, 2015.

MORAES, R.F.O.; TOSCANO, L.C.; PEREIRA, M.F.A.; PIETROBOM, V.L.; BARBOZA, C.A.M.S.; MARUYAMA, W.I. ***Beauveria bassiana* em associação com milho geneticamente modificado no manejo de *Spodoptera frugiperda* e *Rhopalosiphum maidis*.** *Arquivos do Instituto de Biologia*, São Paulo, v.82, 1-7, 2015.

MOSCARDI, F. **Utilização do Baculovírus anticarsia o controle de *Anticarsia gemmatalis*.** *EMBRAPA/CNPSO*, 13p. *Comunicado Técnico*, 23, Londrina, 1983.

MOSCARDI, F. **Efeito de aplicações de *Bacillus thuringiensis* sobre populações de *Anticarsia gemmatilis*, em soja.** In: *Seminário Nacional de Pesquisa De Soja*, 3., Campinas, 1984. *Anais Londrina: EMBRAPA-CNPSO*, p.158-165, 1985.

MOSCARDI F., M. L. SOUZA, M. E. B. CASTRO, M. MOSCARDI AND B. SZEWCZYK. **Baculovirus pesticides: present state and future perspectives.** In: AHMAD, I., F. AHMAD AND J. PICHTEL (eds) *Microbes and Microbial Technology*. Springer, New York, USA, pp: 415-445, 2011.

NONINO, M. C.; PASINI, A.; VENTURA, M. U. **Atração do predador *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae) por estímulos olfativos de dietas alternativas em laboratório.** *Ciência Rural*, v. 37, n. 3, p. 623-627, 2007.

NOUNE, C. **Identifying Strain Diversity within Baculovirus Isolates.** A thesis submitted in partial fulfilment of the requirements of the degree of Bachelor of Applied Science (Honours) at the Queensland University of Technology, 2013.

OLIVEIRA, A.A.S. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) Lepidoptera: Noctuidae em milho doce tratado com fosfito de potássio.** 40p *Monografia (Graduação em Agronomia)* – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

OLIVEIRA, A.M.; MARACAJÁ, P.B.; FILHO, E.T.D.; LINHARES, P.C.F. **Controle biológico de pragas em cultivos comerciais como alternativa ao uso de agrotóxicos.** *Revista Verde*, v.1, p.01-09, 2006.

OMOTO, C.; BERNARDI, O.; SALMERON, E.; FARIAS, J.R. **Manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas e plantas *Bt*.** *ESALQ/USP*, 2013.

PERUCA, R.D. **Consumo alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Noctuidae) alimentada com folhas de soja, submetidas à herbivoria prévia.** *Dissertação programa de Pós-graduação stricto sensu Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária.* Universidade Católica Dom Bosco, 2015.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A. de O.; FONSECA, A.C.P.F. **Releasing number of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) against *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) in corn, cotton and soybean.** *Ciência Rural*, v.43, p.377-382, 2013.

RAMOS, V.O. **Inibidor de tripsina de *Spodoptera frugiperda*: extração de folhas de mamona, purificação, identificação e atividade biológica.** *Tese (Programa de Pós-graduação em Agroquímica)* – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

RESENDE, D.C.; MENDES, S.M.; WAQUIL, J.M.; DUARTE, J. de O.; SANTOS, F.A. **Adoção da área de refúgio e manejo de resistência de insetos em milho *Bt*.** *Revista de Política Agrícola*, ano 23, p.119128, 2014.

ROHRMANN, G. F. **Evolution of occluded baculoviruses.** In: GRANADOS, R. R e FEDERICI, B.. A. Editors. *The biology of baculoviruses*. Florida: Boca Raton, p.57-68, 1986.

ROSA, A.P.S.A. **Monitoramento da lagarta-do-cartucho do milho.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2011.

RUIZ, L. M. Q. **Uso de baculovirus como alternativa de control biológico de *Spodoptera frugiperda* en el cultivo del maíz: una revisión conceptual y de avances en su aplicación.** *Universidad Abierta y a Distancia*. Tese de Mestrado, 2015.

SARWAR M. **The Dangers of Pesticides Associated with Public Health and Preventing of the Risks.** *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*, 1(2): 130-136, 2015.

SECCHI, V. A. **Baculovirus, mais do que uma grande descoberta: uma revolucionária alternativa aos agrotóxicos.** *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, Porto Alegre, v.3, n.3, jul-set 2002.

SHIM, H. J. J. Y.; CHOI, Y.; WANG, X. Y.; TAO, Q.; LIU, J. Y.; ROH, J. S.; KIM, W. J.; KIM, S. D.; WOO, B. R.; JIN, Y. H. **NeuroBactrus, a novel, highly effective, and environmentally friendly recombinant baculovirus insecticide.** *Appl. Environ. Microbiol.* 79(1): 141-149, 2013.

SILVA, C.S.B. **Bioecologia de *Spodoptera frugiperda* e de seus parasitoides de ovos *Telemonus remus*, *Trichogramma atopovirilia* e *T. pretiosum*.** Tese (Doutoradum em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.

SILVA, D.R.; ALCÂNTARA, L.T.A.; MARTINS, E.S. **Baculovirus: uma ferramenta biotecnológica para controle biológico de pragas no Brasil.** *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.44, n.3, p.125-132, 2014.

SOUSA, W.B. **Caracterização do *Baculovirus spodoptera* quanto as variações de pH e temperatura.** 66p *Dissertação (Pós-graduação em Inovação Tecnológica)* – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2015.

TABASHNIK BE, BRÉVAULT T, CARRIÈRE Y. **Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres.** *Nat Biotechnol* 3: 510–521, 2013.

THOMPSON, C.G.; SCOTT, D.W.; WICKMAN, B.E. **Long-term persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera: Lymantriidae), in forest soil.** *Environ. Entomol.*, 10, 254–255, 1981.

TOONDERS, T.J.; SÁNCHEZ, J.L.C. **Evaluacion de la efectividad de *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en el combate de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) recomendaciones para su uso.** *Centr. Entomol. y Acar.*, p. 75-84, 1987.

VALICENTE, F. H. **Levantamento dos inimigos naturais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes regiões do estado de Minas Gerais.** *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 119-127, 1989.

VALICENTE, F. H.; COSTA, E. F. **Controle da lagarta do cartucho (J.E. Smith), com o *Baculovirus spodoptera*, aplicado via água de irrigação.** *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 61-67, 1995.

VALICENTE, F.H.; TUELHER, E.S.; BARROS, E.C. **Processo de Formulação do *Baculovirus Spodoptera* em Pó Molhável.** *Circular Tecnica 156*, 2010.

WAQUIL, J.M.; VILLELA, F.M.F.; FOSTER, J.E. **Resistência do milho (*Zea mays L.*) transgênico (Bt) à lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (*Lepidoptera: Noctuidae*).** *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.1, 2002.

WAQUIL, M.S.; PEREIRA, E.J.G.; CARVALHO, S.S.S.; PITTA, R.M.; WAQUIL, J.M.; MENDES, S.M. **Índice de Adaptação e Tempo Letal da Lagarta do cartucho em milho Bt.** *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.51, n.5, p.563-570, 2016.

ZHANG, X.; LIANG, Z.; YIN, X.; WANG, J.; SHAO, X. **Complete genome sequence of *Agrotis segetum* granulovirus Shanghai strain.** *Arch. Virol.*, doi:10.1007/s00705-014-2001-y., 2014.