

JOÁZ DORNELES JUNIOR

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE BACULOVÍRUS SPODOPTERA E
A COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS PARA O MANEJO
INTEGRADO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

Botucatu

2020

JOÁZ DORNELES JUNIOR

**CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE BACULOVÍRUS SPODOPTERA E
A COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS PARA O MANEJO
INTEGRADO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

Tese apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Doutor em Agronomia (Proteção de
Plantas)

Orientadora: Profa. Dra. Regiane Cristina
Oliveira de Freitas Bueno

Botucatu

2020

D713c Dorneles Junior, Joáz

Características físico-químicas de baculovírus spodoptera e a compatibilidade com produtos fitossanitários para o manejo integrado de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) / Joáz Dorneles Junior. -- , 2020
79 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara,
Orientadora: Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno

1. Entomologia. 2. Vírus. 3. Lagartas. 4. Milho. 5. Pragas agrícolas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE BACULOVÍRUS SPODOPTERA E A
COMPATIBILIDADE COM PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS PARA O MANEJO
INTEGRADO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)

AUTOR: JOAZ DORNELES JUNIOR

ORIENTADORA: REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA
(PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof.ª Dr.ª REGIANE CRISTINA OLIVEIRA DE FREITAS BUENO
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP

Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO
Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas - UNESP

Dr. CRISTIANE MÜLLER
Pesquisa / Corteva Agriscience

Prof. Dr. EVANDRO PEREIRA PRADO
Coordenadora do Curso de Engenharia Agrônoma / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de
Drcena

Prof.ª Dr.ª SIMONE SILVA VIEIRA
Pós-Doutoranda - Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu

Botucatu, 13 de outubro de 2020

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus queridos pais pelo apoio incondicional.

À Daiana pelo amor, carinho, dedicação e ajuda.

À Profa. Dra. Regiane C.O.F. Bueno pela orientação, ensinamentos e paciência.

Ao Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano pela orientação e auxílio.

À República Alagoas, meus amigos Rafael, Mateus, Vicente, Marcos, Valdeir, Heitor, Lucas e demais.

À Bruna, Vanessa e Felipe pela ajuda no projeto.

Ao pessoal da FEPE pelo auxílio e orientação.

À FCA – Unesp pela formação pessoal e profissional.

Ao pessoal do grupo de tecnologia de aplicação Matheus e Luciano pela grande ajuda.

Ao AGRIMIP pelo apoio e companheirismo.

Ao grupo Vitae pelo auxílio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

O baculovírus *spodoptera* SfMNPV-6nd é um vírus que infecta lagartas de *Spodoptera frugiperda* sendo considerado um inseticida biológico que contribui no equilíbrio ecológico no agrossistema. Além da baixa toxicidade a outros animais, pode também ser utilizado nos mesmos equipamentos de pulverização de inseticidas sintéticos garantindo praticidade no uso de equipamentos de pulverização. Contudo devem ser observadas as especificações e características do produto na aplicação em campo para obter máxima eficiência desejável. Assim o presente trabalho teve como objetivo estudar a tecnologia de aplicação do SfMNPV-6nd no controle de *S. frugiperda* em laboratório, em estufa e seu uso no manejo integrado de pragas na cultura de milho (transgenia Bt e não Bt) em campo. Estudos de compatibilidade entre o baculovírus SfMNPV-6nd, substâncias marcadoras (ABA e OC) e surfatantes (PSO e AFE) foram realizados junto com observação da taxa de mortalidade larval de *S. frugiperda*. Também foram realizadas análises do pH das soluções desses produtos com o baculovírus *spodoptera* em diferentes períodos após o preparo. Também foram conduzidas avaliações com pontas de pulverização sobre plantas de milho não Bt com avaliação de cobertura, DMV, dispersão de gotas e mortalidade larval de *S. frugiperda*. Avaliação em campo da produção de grãos em áreas de milho transgênico (RR) Bt e não Bt no manejo de inseticidas sintéticos (clorantraniliprole e espinetoram), o uso do baculovírus (SfMNPV-6nd) e a mistura desse vírus com inseticidas sintéticos (1/6 dose do sintético). Todos os produtos em teste apresentaram compatibilidade com o vírus. OC foi escolhido como substância marcadora e AFE como surfatante por apresentar maior mortalidade de *S. frugiperda*. Ambas as misturas apresentaram compatibilidade no controle de *S. frugiperda* tendo como consequência alta mortalidade larval. O pH da solução de água e baculovírus pode inativar o vírus devido ao pH básico oriundo de sua formulação (argila caulínítica) sendo necessário um acidificante à calda. A utilização de ambas as pontas de pulverização não apresentou diferença na cobertura, DMV, dispersão de gotas e mortalidade de *S. frugiperda*. Em campo, só houve diferenças entre os tratamentos e a testemunha na produção de grãos, sem diferenças entre os tratamentos, nas áreas de milho transgênico RR com expressão de proteína Bt e sem expressão de proteína Bt.

Palavras-chave: Vírus entomopatogênicos. Tecnologia de aplicação. Lagarta-do-cartucho.

ABSTRACT

The baculovirus *spodoptera* SfMNPV-6nd is a virus that infects caterpillars of *Spodoptera frugiperda* and is considered a biological insecticide that contributes to the ecological balance in the agrosystem. In addition to the low toxicity to other animals, it can also be used in the same spraying equipment for synthetic insecticides, ensuring practicality in the use of spraying equipment. However, the specifications and characteristics of the product must be observed in the field application to obtain maximum desirable efficiency. Thus, this study aimed to study the application technology of SfMNPV-6nd in the control of *S. frugiperda* in the laboratory, in the greenhouse and its use in integrated pest management in corn (Bt and non-Bt transgenics) in the field. Compatibility studies between the baculovirus SfMNPV-6nd, marker substances (ABA and OC) and surfactants (PSO and AFE) were performed together with observation of the larval mortality rate of *S. frugiperda*. Analyzes of the pH of the solutions of these products with baculovirus *spodoptera* were also carried out in different periods after preparation. Evaluation of spray nozzles on non-Bt corn plants through spray coverage, DMV, droplet dispersion and larval mortality of *S. frugiperda* were conducted. Field evaluation of grain production in Bt and non-Bt transgenic (RR) corn areas in the management of synthetic insecticides (chloranthranilprole and espinetoram), the use of baculovirus (SfMNPV-6nd) and the mixture of this virus with synthetic insecticides (1 / 6 dose of synthetic). All products used were compatible with the virus. OC was chosen as a marker substance and AFE as a surfactant due to the higher mortality of *S. frugiperda*. Both mixtures showed synergism in the control of *S. frugiperda*, resulting in high larval mortality. The pH of the water and baculovirus solution can inactivate the virus due to the basic pH from its formulation (kaolinitic clay) requiring an acidifier to the spray solutions. The use of both spray nozzles showed no difference in coverage, DMV, droplet dispersion and mortality from *S. frugiperda*. In the field, there were only differences between treatments and control in grain production, with no differences between treatments, in the areas of transgenic RR corn with Bt protein expression and without Bt protein expression.

Keywords: Entomopathogenic viruses. Application technology. Fall armyworm.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	13
CAPÍTULO 1 – A IMPORTÂNCIA DA LAGARTA-DO-CARTUCHO NAS PRÁTICAS DE MIP COM A UTILIZAÇÃO DE BACULOVÍRUS E O SEU USO NA TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO.....	15
1.1 INTRODUÇÃO.....	15
1.2 CULTURA DO MILHO.....	16
1.3 COMPLEXO DE LAGARTAS NO MILHO.....	16
1.4 LAGARTA-DO-CARTUCHO, <i>Spodoptera frugiperda</i>	18
1.5 MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS.....	19
1.5.1 CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS.....	20
1.5.2 USO DE VÍRUS NO CONTROLE DE PRAGAS.....	22
1.6 TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS.....	24
1.6.1 TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE VÍRUS NA AGRICULTURA.....	26
Referências.....	29
CAPÍTULO 2 - FERRAMENTAS NA TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO PARA O SFMNPV-6ND NO CONTROLE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO.....	36
2.1 INTRODUÇÃO.....	36
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	38
2.2.1 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
2.2.2 Plantas de milho como substrato alimentar.....	39
2.2.3 Estudo de compatibilidade de marcadores e surfatantes com SfMNVP-6nd.....	39
2.2.4 Avaliação do potencial hidrogeniônico (pH) das soluções de SfMNPV-6nd.....	41
2.2.5 Avaliação da cobertura da pulverização, gotas e tipo de pontas na mortalidade de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de milho sob ambiente protegido.....	41
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
2.3.1 Compatibilidade de marcadores e surfatantes com SfMNVP-6nd.	42

2.3.2	Potencial hidrogeniônico (pH) das soluções de SfMNPV-6nd	45
2.3.3	Cobertura da pulverização, gotas e tipo de pontas na mortalidade de <i>S. frugiperda</i>	47
2.4	CONCLUSÕES	51
2.5	AGRADECIMENTOS.....	51
	Referências bibliográficas.....	52
	CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DO BACULOVÍRUS SPODOPTERA NO SISTEMA DE MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS NA CULTURA DO MILHO, COM ÊNFASE NO CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	55
3.1	INTRODUÇÃO.....	56
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	57
3.2.1	Características da área	57
3.2.2	Flutuação populacional da praga.....	58
3.2.3	Produtos e aplicações	59
3.2.4	Análise nas espigas verdes.....	59
3.2.5	Análise nos grãos secos.....	60
3.3	RESULTADOS.....	62
3.3.1	Área de milho sem tecnologia Bt.....	62
3.3.1.1	Análise nas espigas verdes	62
3.3.1.2	Análise nos grãos secos.....	62
3.3.2	Área de milho com tecnologia Bt.....	63
3.3.2.1	Análise nas espigas verdes	63
3.3.2.2	Análise nos grãos secos.....	63
3.4	DISCUSSÃO.....	68
3.5	CONCLUSÃO.....	71
	Referências bibliográficas	73
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
	REFERÊNCIAS	79

INTRODUÇÃO GERAL

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) se destaca por ser praga chave na cultura do milho causando danos na gema apical, nas folhas e nas espigas das plantas, reduzindo área fotossintética podendo até impedir o desenvolvimento, queda de produção e a morte da planta. Além do milho, a lagarta-do-cartucho é encontrada atacando mais de 30 espécies de plantas (POGUE, 2002), disseminadas em mais de 20 famílias de vegetais (praga polífaga) (CRUZ, 1995). Essa praga é encontrada em diversas regiões globais (BALOCH et al., 2020), recentemente vem ocasionando grandes danos econômicos na cultura do milho no continente africano, após sua descoberta em 2016 (TAMBO et al., 2020). O controle da lagarta-do-cartucho no Brasil é realizado basicamente com inseticidas sintéticos e plantas transgênicas com expressão de proteínas (Bt).

Contudo, com a seleção de indivíduos resistentes aos inseticidas utilizados e também resistência a plantas transgênicas, outras táticas de controle de pragas devem ser abordadas e utilizadas. Dentro do Manejo Integrado de Pragas, o controle biológico com o uso de agentes microbianos pode contribuir no controle de lagartas-pragas no milho. O uso de baculovírus, um vírus de poliedrose nuclear (VPN) no controle de lagartas, foi estudado em diversas espécies de lepidópteros-praga, sendo mais utilizado o vírus que infecta a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) (MOSCARDI; SOSA-GÓMEZ, 1993), e a lagarta-do-cartucho-do-milho *S. frugiperda* (VALICENTE; CRUZ, 1991).

Os trabalhos com o baculovírus *spodoptera* iniciaram na década de 80 com coletas de lagartas mortas (*S. frugiperda*) em campo. Após o isolamento desse vírus, iniciaram os trabalhos no desenvolvimento de criação massal do hospedeiro, a lagarta-do-cartucho, para a produção do baculovírus *spodoptera* e o seu uso como um inseticida biológico (VALICENTE; CRUZ, 1991).

O uso do baculovírus *spodoptera* (SfMNPV como produto registrado no Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento) no controle da lagarta-do-cartucho, está disponível no mercado, contudo são escassos os estudos da tecnologia de aplicação, que auxiliam a eficácia desse inseticida no campo, para efetiva inserção no manejo de pragas. Para tornar esse vírus um inseticida biológico com alta eficácia no campo,

cobertura uniforme nos alvos, e a possibilidade de mistura com outros defensivos (adjuvantes e inseticidas) são necessários estudos com a tecnologia de aplicação.

Os produtos agrícolas quando aplicados devem apresentar boa cobertura sobre o alvo, para garantir eficácia de controle. Para isso, são utilizados marcadores (produtos químicos), que informam a respeito do tamanho de gota e a distribuição sobre o alvo, os adjuvantes que são responsáveis em auxiliar características físico-química dos produtos (tensão superficial, cobertura, pH) e as diferentes pontas de pulverização (pressões, tamanho de gotas, vazões, diferentes distribuições) são outras ferramentas utilizadas garantir alto controle dos alvos (ANTUNIASSI; BOLLER, 2011).

A tecnologia de aplicação tem como objetivo transportar o produto comercial do tanque de pulverização até o alvo de forma eficaz, sem perdas e com baixo risco ambiental (MATUO, 1990).

Assim, o desenvolvimento de um aparato de tecnologias de aplicação, para tornar aplicável um produto em campo no Manejo Integrado de Pragas (MIP) requer maiores estudos.

Diante disso, objetivou-se estudar o controle de *S. frugiperda* com a pulverização de baculovírus *spodoptera* visando aprimorar a tecnologia de aplicação para ser utilizado no manejo integrado de pragas na cultura do milho.

CAPÍTULO 1 – A IMPORTÂNCIA DA LAGARTA-DO-CARTUCHO NAS PRÁTICAS DE MIP COM A UTILIZAÇÃO DE BACULOVÍRUS E O SEU USO NA TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO.

1.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de milho e o segundo maior exportador, com área plantada de 17,5 milhões de hectares e produtividade média de 5.610 kg/ha (CONAB 2019). A produção e a produtividade de milho são afetadas por condições climáticas e por ações de micro-organismos, como as pragas agrícolas.

As principais lagartas que atacam o milho são *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) e a *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae). A lagarta-do-cartucho (*S. frugiperda*) além do milho é encontrada atacando mais de 30 espécies de plantas (POGUE, 2002), disseminadas em mais de 20 famílias de vegetais (praga polífaga) (CRUZ, 1995).

Os prejuízos da lagarta-do-cartucho são acentuados em plantas de milho. A lagarta se alimenta das folhas e seus danos na gema podem causar a morte das plantas em fase inicial de desenvolvimento e em plantas maiores pode ocasionar redução na produção e peso de grãos. O controle dessa praga é feito através de agentes de controle biológico (macro e micro agentes) e através da aplicação de inseticidas sintéticos.

As lagartas são pragas-chave no milho, pois atacam diretamente e indiretamente as sementes e as folhas, respectivamente (GALLO et al., 2002). O conjunto de técnicas necessárias no controle de *S. frugiperda* são englobadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Dentre as principais táticas utilizadas no MIP, o uso de defensivos químicos é a prática mais utilizada, contudo o uso de agentes de controle biológico também é eficiente.

Dentre os principais inseticidas biológicos o uso de baculovírus é uma ferramenta promissora pois não apresenta riscos ao homem, baixa contaminação ambiental e animal, alta eficiência no controle da praga além de ser específica no controle da espécie alvo. Além disso, os baculovírus podem ser utilizados nos mesmos equipamentos de pulverização utilizados no uso de inseticidas sintéticos. Contudo,

deve ser observado as características na tecnologia de aplicação específicas para essa classe de inseticida para obter máxima eficiência em campo no controle de *S. frugiperda*.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo observar na literatura as principais informações a respeito do controle e uso de baculovírus no controle de lagarta-do-cartucho na cultura do milho e seu uso na tecnologia de aplicação.

1.2 CULTURA DO MILHO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial do grão e o segundo maior exportador, com área plantada de 17,5 milhões de hectares e produtividade média de 5.610 kg/ha (CONAB 2019). O milho representa 28 % da área plantada no Brasil e o aumento da produtividade está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo, eficiência dos produtores e pesquisadores em gerar novas tecnologias. O milho é matéria prima essencial nas rações animais, na alimentação humana, na produção de álcool e adoçantes no Brasil e no mundo (CONAB, 2019; USDA, 2019).

As exportações de milho pelo Brasil foram de 34 milhões de toneladas em 2019, caracterizando como o segundo maior exportador de milho do mundo atrás dos Estados Unidos da América com 55 milhões de toneladas, sendo o Japão o principal comprador de milho no mundo (USDA, 2019).

O milho na safra 2019/20 teve produção de 98.389,9 mil toneladas, 1,7 % a menos que a safra anterior (100.046,3 mil toneladas), com produtividade de 5.610 kg/ha, ou seja, 1,9 % inferior aos valores da safra 2018/19 (5.718 kg/ha) em área de 17.538 mil hectares, 0,2 % a mais que na safra anterior (17.496,2 mil hectares) (CONAB, 2019).

1.3 COMPLEXO DE LAGARTAS NO MILHO

Dentre as principais lagartas que atacam o milho, as que merecem destaque são *S. frugiperda* atacando as folhas da gema apical (cartucho), *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) atacando as espigas e os grãos de milho, a *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) atacando folhas e espigas/sementes.

A *H. zea* conhecida como lagarta-da-espiga é uma das pragas de maior importância econômica na cultura do milho, apresentando ataque intensos em espigas de milho doce, por exemplo (CRUZ, 2008). A mariposa apresenta 40 mm de envergadura, com as asas anteriores de coloração amarelo-parda, com faixa transversal mais escura e manchas escuras nas asas. A fêmea tem preferência em ovipositar nos estiloestigmas na espiga, podendo ser depositados individualmente ou agrupados. O tamanho dos ovos é de um milímetro de diâmetro, de forma hemisférica e com saliências laterais. Cada fêmea oviposita em média 1.000 ovos durante sua fase adulta (GALLO et al. 2002).

A fase de ovo tem duração de três a quatro dias com as lagartas após a alimentação do cório dos ovos se alimentam dos estilo-estigmas, indo em direção ao interior da espiga com a destruição dos grãos ainda em formação. A lagarta no último ínstar apresenta 35 mm de comprimento. O período larval é de 13 a 25 dias. A fase de pupa ocorre no solo e apresenta duração de 10 a 15 dias (CRUZ, 2009).

A *H. armigera* é um inseto com grande capacidade de dispersão e sobrevivência em condições adversas do ambiente, além de praga em diversas culturas e cosmopolita (FITT, 1989). No Brasil é encontrada nas culturas de algodão, soja, milho, milheto, tomate, trigo, citros e forrageiras (BUENO; SOSA-GÓMEZ, 2014; BUENO et al., 2014; ÁVILA et al., 2013). O adulto apresenta, asas anteriores de coloração marrom e posteriores claras. Os adultos apresentam dimorfismo sexual, onde os machos apresentam o primeiro par de asas de cor cinza esverdeado e as fêmeas pardo alaranjado. A fêmea oviposita em média 730 a 1.702 ovos ao longo de 10 a 23 dias (KING, 1994). A fase de ovo a adulto é de 45 dias, onde no desenvolvimento larval, pode variar de 14 a 18 dias (CABI, 2003). As lagartas recém-eclodidas alimentam-se primeiramente da casca do ovo e posteriormente de folhas ou de estruturas florais. Durante o desenvolvimento da lagarta sua alimentação pode variar tanto dos órgãos reprodutivos quanto de estruturas vegetativas (LAMMERS; MACLEOD, 2007). No último ínstar, antes de formar a pupa, as lagartas cessam a alimentação e se deslocam para o solo, enterrando-se abaixo da superfície (KING, 1994). Nessa fase, o período pupal leva em torno de 10 a 14 dias (RIJAL, 2006).

1.4 LAGARTA-DO-CARTUCHO, *SPODOPTERA FRUGIPERDA*

A *Spodoptera frugiperda* é um lepidóptero da família dos noctuideos, conhecida popularmente como lagarta-do-cartucho. Esse nome se dá devido ao hábito de se alimentar e desenvolver na gema apical da cultura do milho, cartucho, hospedeiro natural. Contudo, além do milho, a lagarta-do-cartucho é encontrada atacando mais de 30 espécies de plantas (POGUE, 2002), disseminadas em mais de 20 famílias de vegetais (praga polífaga) (CRUZ, 1995).

Os adultos são mariposas que mede cerca de 3,5 cm de envergadura e coloração das asas anteriores parda-escuras e posteriores branco-acinzentadas, com pontos claros na região central das asas. As mariposas da família noctuide, como a *S. frugiperda*, apresentam hábito noturno. A longevidade das mariposas é de cerca de 12 dias e a pré-oviposição é de três a quatro dias. O desenvolvimento de ovo-adulto é de aproximadamente 30 dias (CRUZ, 1995).

A média de postura das fêmeas de *S. frugiperda* é de 100 ovos por postura com no máximo treze posturas durante sua vida, podendo ser dispersos ou agrupados em várias camadas, com adição de escamas das asas sobre os ovos. Os ovos da lagarta-do-cartucho apresentam coloração verde-clara passando a alaranjado após 12 a 15 horas de desenvolvimento do embrião. Próximo a eclosão das lagartas os ovos apresentam coloração escura devido a cápsula da lagarta (CRUZ, 1995).

As neonatas (lagartas jovens) apresentam cores claras e com o desenvolvimento tornam-se pardo escuro a esverdeada até quase preta. A alimentação inicia pelo cório e depois raspam as folhas da planta. As neonatas apresentam a capacidade de tecer teia usando como meio de dispersão e/ou escape de predadores e de condições adversas, sendo que essa capacidade ocorre nos primeiros instares, sendo perdida nos instares seguintes. As lagartas apresentam alta capacidade de dispersão chegando até 47 metros desde o ponto inicial (CRUZ, 1995). No último ínstar as lagartas podem atingir cerca de cinco cm de comprimento, sua cápsula cefálica apresenta um “Y” invertido. Essas lagartas apresentam hábito canibal (esse hábito não é observado em laboratório), sendo encontradas na maioria das vezes, uma lagarta por cartucho de milho. O período larval pode variar de 12 a 30 dias (FIGUEIREDO et al., 2002). Após atingir o completo desenvolvimento larval, as lagartas empupam no solo, a pupa apresenta coloração marrom-avermelhada e de tamanho de 15 mm, com duração média de 10 a 12 dias (FIGUEIREDO et al., 2002).

Os prejuízos da lagarta-do-cartucho são intensos quando a lagarta se instala no cartucho do milho, gema apical. A lagarta após a eclosão do ovo raspa as folhas em direção a gema apical, onde posteriormente se instala. Os danos na gema podem destruí-los totalmente, fazendo furos nas folhas jovens. O controle da praga é feito através de agentes de controle biológico (macro e micro agentes) e através da aplicação de defensivos químicos (GALLO et al., 2002).

1.5 MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) apresenta diversas definições, para Kogan (1998) o MIP é um sistema de decisão para o uso de táticas de controle, de forma isolada ou associadas harmoniosamente, numa estratégia de manejo baseada em análises de custo benefício que levam em conta o interesse e/ou impacto nos produtores, sociedade e ambiente. O termo manejo traduz a ideia do uso de um conjunto de regras baseadas em princípios ecológicos, considerações econômicas e sociais para a tomada de decisão sobre o controle de uma praga como o uso de inseticidas e de produtos de uso do controle biológico. O termo Integrado significa o uso harmonioso de diferentes métodos para o controle de uma determinada espécie de organismo (BUENO et al., 2013).

Esse sistema prioriza a integração de todas as técnicas de manejo apropriadas com a regulação natural e limitação dos elementos do ambiente, como uso de inseticidas químicos, uso de controle biológico, uso de plantas resistentes, manipulação do ambiente, uso de feromônios e a manipulação genética de pragas (DHALIWAL et al., 2004). O controle biológico foi integrado ao controle químico com uso de produtos que agem como inseticidas químicos no campo, reduzindo drasticamente o nível populacional das pragas, posteriormente outros métodos de controle foram se desenvolvendo e sendo incorporados ao manejo. A tecnologia de aplicação é uma ferramenta muito importante na manutenção da eficiência de algumas táticas do MIP (controle biológico, inseticidas e feromônios, por exemplo) aplicados no campo.

Os fundamentos do Manejo Integrado de Pragas baseiam-se em quatro elementos: na exploração do controle natural, nos níveis de tolerância das plantas aos

danos das pragas, no monitoramento das populações para tomadas de decisão e no conhecimento da biologia e ecologia da cultura e de suas pragas (KOGAN, 1998).

Estas premissas implicam no conhecimento dos fatores naturais de mortalidade, nas definições das densidades populacionais ou da quantidade de danos causados pelas espécies-alvo equivalente ao nível de dano econômico (NDE) e de controle (NC). Outra variável importante seria o levantamento do nível de equilíbrio (NE) das espécies que habitam o agroecossistema em questão (KOGAN, 1998).

O MIP pode ser adotado para todos os tipos de culturas sejam elas anuais, semi-perenes, frutíferas ou na silvicultura. Para isso estudos básicos devem ser feitos para se implementar o programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP) reunindo o conhecimento teórico das suas bases de aplicação, do entendimento das relações econômicas entre a cultura e a praga, do grau de capacitação técnica do produtor, além de um planejamento antecipado, estabelecendo-se pontos críticos para a cultura a ser explorada economicamente (BUENO et al., 2013).

Dentre as principais táticas utilizadas no MIP, o uso de agentes de controle biológico está aumentando novamente. Desde o descobrimento dos diversos agentes de controle biológico, o uso desses agentes decrescera com o surgimento de moléculas químicas, inseticidas, mais efetivos e de menor impacto ambiental, como os piretróides e neonicotinóide frente aos antigos e mais danosos ao meio ambiente como os organoclorados (DDT).

1.5.1 CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS

O controle de pragas mais utilizado ultimamente é através do uso de inseticidas químicos. O manejo de pragas na agricultura é realizado com o intuito de reduzir os danos econômicos ocasionados pelos danos gerados pelas pragas e devem minimizar os efeitos adversos nos organismos não alvos na lavoura, no ambiente circundante e nos consumidores do produto agrícola (ALTIERI, 1991).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) visa a utilização de diversas táticas no controle de pragas, sendo o uso de inseticidas químicos e também o uso de agentes benéficos (inimigos naturais e microrganismos entomopatogênicos) entre outras táticas. A regulação da abundância e a distribuição das espécies são fortemente influenciadas pelas atividades dos agentes benéficos, como os predadores e parasitoides (macro agentes) e patógenos das pragas (micro agentes).

Na agricultura, após a intervenção humana deliberada, a utilização dos agentes benéficos tenta restaurar algum equilíbrio com a introdução desses organismos no controle de pragas. Uma das vantagens dos inimigos naturais (macro agentes, ou seja, insetos) é a capacidade de busca das pragas (hospedeiros/presas) e uma desvantagem é a não erradicação dos insetos-praga (PARRA et al., 2002). Desse modo, deve se ater ao fato que o controle biológico com macro agentes em si, sozinho, não consegue aliviar todas as consequências econômicas das pragas, mas contribui na redução dos níveis populacionais dessas através de um controle ecológico, ou seja, sem contaminação ambiental e humana.

Os micros agentes (microrganismos) como bactéria, fungos, nematoides e vírus podem contribuir para um melhor controle das pragas agrícolas, pois apresentam características parecidas com os inseticidas químicos e também podem ser aplicados através de pulverizadores agrícolas.

Dentre as características do uso de patógenos (microrganismos) em insetos existem vantagens e desvantagens. Das principais vantagens a especificidade apresenta ação somente no alvo de controle, como ocorre com os vírus de insetos, além disso doses elevadas do produto não causam desequilíbrios ambientais devido a seletividade dos vírus, por exemplo. Os microrganismos apresentam um controle mais duradouro em relação a instalação do patógeno em uma determinada área, isso ocorre, pois, os patógenos conseguem se reproduzir dentro dos hospedeiros e liberar novos microrganismos no ambiente auxiliando no controle mais efetivo da praga. A aplicação dos microrganismos é outro benefício do uso dessas tecnologias pois é realizada com os mesmos equipamentos utilizados nas aplicações de defensivos químicos. Outra característica importante é a quebra de resistência, pois como as pragas, os patógenos são também organismos vivos e assim sofrem mutações e podem se readaptar novamente para controlar pragas que anteriormente se tornaram resistentes tanto a inseticidas químicos, por exemplo (ALVES, 1998), como com os próprios inseticidas biológicos.

Dentre as desvantagens as condições favoráveis ambientais e o modo que os produtos alcançam o alvo (tecnologia de aplicação ineficiente) determinam a instalação, desenvolvimento e eficiência do patógeno no campo. Dentre os fatores a temperatura, umidade, luminosidade, radiação solar e a tecnologia de aplicação são fatores determinantes para o uso de microrganismos no controle de pragas. Sendo

necessários mais estudos em cada segmento, desvantajoso, para assim tornar esses agentes mais eficientes no campo.

1.5.2 USO DE VÍRUS NO CONTROLE DE PRAGAS

Dentre os grupos de vírus, os baculovírus (Família Baculoviridae) são os mais estudados e empregados para o controle de pragas agrícolas (MOSCARDI, 1998). Os principais baculovírus são divididos em vírus de poliedrose nuclear (VPN) e granulose (VG). Quando utilizados no campo os baculovírus podem ser introduzidos nas táticas de controle de pragas, pois existem diversos tipos de vírus atacando insetos entre lepidópteros, coleópteros e dípteros (POSSEE, 1993).

O uso do vírus, baculovírus, no campo apresentam diferentes estratégias como a introdução e colonização do vírus onde não ocorre naturalmente, uso de liberações periódicas, epizootias sem controle permanente da praga, manipulação do ambiente com o emprego de aplicações inoculativas na área favorecendo a sua disseminação e por fim, a mais utilizada, o uso como inseticida. Essa última funciona como na aplicação de um inseticida químico, com aplicações frequentes de altas concentrações do vírus, para controlar a praga antes de atingir o nível de dano econômico da cultura (MOSCARDI, 1998).

Os principais fatores relacionados as epizootias de doenças virais em insetos estão relacionadas a migração dos insetos, os níveis populacionais do hospedeiro, velocidade de reprodução do hospedeiro, ecologia e biologia do inseto. Esses fatores podem ser observados na escala de dispersão e da persistência do vírus dentro e fora do hospedeiro, como em larvas mortas, dispersão das partículas virais nas fezes de predadores e pássaros, a contaminação e disseminação através de estruturas de oviposição de parasitoides e principalmente o solo como reservatório viral na forma dormente (CASTRO et al., 2020).

Os baculovírus apresentam ação via oral, possuindo dois tipos de corpos infecciosos. Uma forma é oclusa do vírus, sendo responsável pela transmissão de inseto para inseto e outra forma não oclusa que se transmite de célula para célula do indivíduo hospedeiro (GRANADOS; FEDERICI, 1986). A infecção se dá nas células epiteliais do intestino médio dos insetos alvos, onde a matriz proteica é quebrada devido ao pH básico dos insetos (pH 8). Após a quebra da matriz proteica, ocorre a

liberação das partículas do vírus (vírions) no lúmen digestivo que penetram nas células do intestino, através de receptores específicos. Ao entrar em contato com as células se dá a infecção, onde o vírus libera seu DNA dentro do núcleo celular do inseto. A partir disso inicia a replicação viral com formação de estruturas não oclusas. No final da infecção se dá a produção das partículas oclusas, quando são produzidos os poliedros, a partir disso, as células infectadas são rompidas sob efeito em cadeia e ocorrem a liberação dos poliedros que ocasiona a morte do inseto (FEDERICI, 1999).

Dentre os principais sintomas estão a redução alimentar, diminuição do crescimento, descoloração da epiderme e rompimento da cutícula da lagarta com a liberação das partículas virais.

Dentro dos principais vírus utilizados no controle de pragas, o uso do baculovírus anticarsia (AgNPV) no controle da lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatilis* (Hueb, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) foi altamente realizado na década de 80 no Brasil, resultando em aplicações de mais de 1 000 000 ha de área tratada com esse vírus (MOSCARDI; SOSA-GÓMEZ, 1993).

Outro vírus promissor é o baculovírus spodoptera é registrado no Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) no controle da lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*. A partir da década de 90 iniciou-se os trabalhos com um isolado encontrado em Minas Gerais, que na dose de $8,75 \times 10^{11}$ CIP/ha (corpos poliédricos de inclusão por hectare) teve mesma eficiência que os inseticidas químicos no controle da lagarta-do-cartucho (VALICENTE; CRUZ, 1991).

O baculovírus spodoptera é um vírus do gênero nucleopoliedrovirus (NPV) do tipo múltiplo nucleocapsídeos (MNPV) onde vários nucleocapsídeos são encontrados em um envoltório comum. Com o desenvolvimento de cepas, como o SfMNPV-6nd que não produz as enzimas catepsina e quitinase, que degradam a cutícula das lagartas. o processo de produção do vírus tornou-se mais eficiente com a não degradação da epiderme do inseto facilitando o manuseio e o processamento do produto. Essa característica da cepa SfMNPV-6nd não atrapalha a virulência e o controle da lagarta no campo. A maior eficiência do produto (90 % de mortalidade) ocorre com lagartas de tamanho menor, comparadas a lagartas grandes. Esse tamanho é de 1,5 cm de comprimento (sete dias de idade) (VALICENTE; TUELHER, 2009).

A alta aceitação e também a eficiência do uso do baculovírus anticarsia e o potencial do baculovírus spodoptera se devem a ótima aplicação desses e de outros

(vírus) nas pragas, isso graças a disponibilidade de utilizar o vírus nos equipamentos de pulverização que também são utilizados com uso de inseticidas químicos e suas tecnologias de aplicação.

1.6 TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE PRODUTOS FITOSSANITÁRIOS

No controle de pragas é necessário conhecer aspectos relacionados ao alvo biológico (biologia, comportamento ou estágio de desenvolvimento do alvo) e o processo de aplicação de produtos fitossanitários, sempre deve buscar a eficiência, economia e segurança. A tecnologia de aplicação dos produtos fitossanitários é um conjunto de conhecimentos que acomodem a correta colocação do produto no alvo, em quantidade necessária e com o mínimo de contaminação de outras áreas (MATUO, 1990).

O principal objetivo da pulverização é geração de gotas por um processo mecânico, onde um volume de líquido, é fracionar em gotas. O processo ocorre através da pressurização do líquido na saída da ponta de pulverização. O formato da ponta faz o líquido emergir em lâmina líquida ao encontrar a resistência do ar em gotas. O tamanho da gota pode ser classificado em muito fina, fina, média, grossa e muito grossa. Além do formato do orifício da ponta (tipo, vazão e ângulo do jato), outras características determinam o tamanho das gotas, sendo as propriedades do líquido (viscosidade, densidade e tensão superficial) e a pressão de trabalho (MATTHEWS, 2000).

A partir da ponta de pulverização é determinado a vazão e a qualidade da aplicação. A ponta determina o padrão de gota e também o volume e a uniformidade de distribuição do líquido pulverizado (BAUER; RAETANO, 2004).

O tamanho das gotas é a forma de alterar a cobertura de um produto fitossanitário no seu alvo. Cada agrotóxico apresenta um tamanho de gota ideal para cobrir com eficiência seu alvo biológico, plantas daninhas, fungos, bactérias, insetos, nematoides etc. Dentre os diferentes tamanhos de gotas, essas podem ser classificadas como extremamente fina 60 μm , muito fina 61 - 105 μm , fina 106 – 235 μm , média 236 - 340 μm , grossa 341 – 403 μm , muito grossa 404 – 502 μm , extremamente grossa 503 – 665 μm e ultra grossa > 665 μm (ASABE, 2009).

As pontas de pulverização apresentam diferentes tipos de distribuição da vazão, sendo elas tipo cônico vazio ou cheio e jato plano. As pontas de jato cônico vazio

apresentam distribuição do produto de forma circular com pouca presença de gotas no centro do cone, com ângulos que variam de 60 a 100°, com formação de gotas finas. As pontas de jato cônico cheio distribuem as gotas em toda projeção do cone com ângulos de 20 a 60 ° e geram gotas médias para grossas. As pontas de jato plano distribuem o líquido com maior quantidade no centro do jato em comparação as extremidades (MATTHEWS, 2000).

Os adjuvantes são produtos químicos que modificam as características físico-químicas das caldas de pulverização visando melhorar o desempenho dos produtos fitossanitários. Existem diversos produtos para o uso agrícola que são indicados para atuar junto à calda de pulverização. A calda de pulverização é composta pelos veículos água ou óleo com o agrotóxico e adjuvantes. Dentre os adjuvantes, existem os quelatizantes, acidificantes, tamponantes, surfatantes, ativadores nitrogenados, antiespumantes, anti-evaporantes, espessantes, redutores de deriva e filtro solar, além dos adjuvantes complexos que possuem múltiplas funções (KISMANN, 1997).

Dentre os adjuvantes, os surfatantes tem o objetivo de quebrar a tensão superficial da água, principal diluente das caldas de pulverização. O objetivo de quebrar essa tensão é facilitar o contato entre os diversos componentes de um produto formulado em contato com a superfície do alvo. Esses produtos devem promover diluição em água e aumentar a estabilidade da solução obtida (BIANCO, 1985; MACIEL, 2010). Os surfatantes, com a diminuição da tensão da calda promovem maior área de contato no alvo, e assim contribuem para o controle de doenças e pragas na agricultura.

Contudo para determinar a eficiência da cobertura existem vários métodos para avaliar a disposição das gotas, dentre eles a avaliação do tamanho das gotas, avaliação da mortalidade do alvo e a técnica do uso de marcadores juntos à calda de pulverização. Os marcadores são substâncias utilizadas para estudar a dinâmica das pulverizações com produtos fitossanitários no Brasil

A análise da quantidade dos depósitos da calda sobre o alvo com substâncias marcadoras oferece informações necessárias na escolha de técnicas de aplicação e equipamentos de pulverização. A análise da deposição desses produtos é fundamentada na detecção e recuperação das substâncias, presentes na própria superfície das plantas ou em alvos artificiais, através de técnicas e equipamentos específicos (COATES; PALUMBO, 1997).

A marcação das caldas de pulverização antes da dispersão, com marcadores facilmente detectáveis, tem se tornado uma prática largamente empregada pela

facilidade de sua visualização e/ou remoção das folhas ou alvos coletores diretamente pela utilização de água. Essa ferramenta é importante no estudo de deposição de caldas pois cada substrato apresenta características físicas e químicas diferentes que podem influenciar na eficiência do controle do alvo. O custo das análises, a disponibilidade de equipamento analítico e a precisão desejada para os resultados representam fatores importantes na escolha de um determinado marcador para realização dos ensaios (CHAIM et al., 1999).

Dentre os principais marcadores os corantes de alimentos (PALLADINI et al., 2005) e os marcadores de íons metálicos como os fungicidas cúpricos (CHRISTOVAM et al., 2010) podem ser detectados por espectrofotometria, apresentam ótima sensibilidade e baixo custo de análise.

1.6.1 TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO DE VÍRUS NA AGRICULTURA

A tecnologia de aplicação tem como objetivo manter a alta qualidade do produto aplicado desde a sua mistura no tanque de pulverização, na sua circulação no sistema pressurizado do trator, na saída das pontas de pulverização e, por fim, em atingir o alvo (MATUO, 1990) sendo as folhas principal alvo dos vírus de insetos.

No caso da aplicação de baculovírus, o alvo são os insetos. O modo de ação dos baculovírus é via oral (ingestão do material pelo inseto), assim a boa cobertura do substrato alimentício do inseto está relacionada no controle eficiente da praga. Vários fatores estão relacionados a cobertura eficiente no controle de pragas. Entre eles, o tipo e arquitetura da planta, volume de calda, tamanho de gota, tipo de veículo como água ou óleo na calda, equipamento de aplicação, formulação, viscosidade da calda, velocidade do vento, umidade relativa, temperatura, precipitação pluviométrica entre outros (SMITH; BOUSE, 1981).

Na aplicação de baculovírus deve-se elaborar trabalhos científicos em relação à tecnologia de aplicação para o uso dos vírus utilizando os mesmos equipamentos usados nas pulverizações de inseticidas químicos devido a praticidade em não ter que adquirir equipamentos específicos para aplicação. Esse benefício torna os vírus atrativos na utilização como inseticidas, mas são necessários estudos com esses equipamentos para obter as características necessárias na manutenção ou até na melhoria de sua eficiência no campo.

O alvo no controle de *S. frugiperda* são as folhas de milho. A aplicação do baculovírus *spodoptera* deve cobrir a folha de milho, depositando o vírus na concentração ideal durante a raspagem da folha (momento vulnerável da lagarta ao vírus) para um alto controle de lagartas em campo. As lagartas jovens (neonatas) após a eclosão raspam as folhas em direção ao colmo do milho. Após atingir a gema apical do milho, cartucho, as lagartas podem ocasionar sérios danos a cultura, resultando em morte apical e da planta. Assim a tecnologia de aplicação deve fornecer boa cobertura tanto nas folhas, início da infestação, como também dentro do cartucho para controle desejável da praga (VALICENTE; TUELHER, 2009).

A aplicação terrestre é uma das mais comuns e mais eficientes para aplicação de baculovírus, pois a aplicação aérea apresenta alto índice de deriva (deslocamento das gotas fora do alvo) do produto (ALVES, 1998). Moscardi e Sosa-Gómez (1993) em estudos com baculovírus *anticarsia* (VPN) observaram que para o melhor controle das lagartas-da-soja as gotas devem apresentar tamanho de 100 a 150 μm . Em estudo, o tamanho de gotas que apresentaram eficiente controle de lagartas de *Heliothis* spp. foram de 90 a 150 μm , na concentração de $1,27 \times 10^{10}$ corpos de inclusão (CIP) no algodão, com o baculovírus específico para essa praga (BELL; KANAVEL 1977).

Esse tamanho de gota é classificado como muito fina e fina (ASABE, 2009) gotas finas apresentam maiores áreas de cobertura, maiores quantidades de gotas por centímetro quadrado, mas também apresenta mais chances de sofrer deriva e evaporação sendo necessário maior controle desse fator para minimizar essas perdas (BAESSO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2012; BAYER et al., 2012).

Uma das táticas utilizadas na tecnologia de aplicação minimizar a evaporação (antes de atingir o alvo) e a deriva é a utilização de adjuvantes. A mistura de inseticidas com adjuvantes é bastante estudada na literatura (ANTUNIASI; BOLLER, 2011) contudo pouco se sabe a respeito da compatibilidade (mistura sem afetar nenhuma propriedade física ou química) de adjuvantes na mistura com inseticidas biológicos (ALMEIDA et al., 2007). Esses produtos podem ou não afetar a virulência dos baculovírus, assim sendo necessários mais estudos a respeito dessa mistura.

A tecnologia de aplicação de agentes biológicos apresenta grande dificuldade quando os agentes liberados são macro, ou seja, inimigos naturais das pragas, como ácaros e insetos. Contudo, com os micros agentes biológicos, ou seja, microrganismos, a dificuldade é reduzida pois esses produtos podem ser utilizados

em pulverizadores agrícolas, usados nas aplicações de defensivos químicos. A partir disso, com os estudos das ferramentas de tecnologia de aplicação, pode-se tornar o uso de baculovírus *spodoptera* mais efetivo no campo.

Referências

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2020. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 14 fev. 2020.

ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A.; COSTA, E. A. D. Efeito de adjuvantes em associação com thiamethoxam 250 wg e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin no controle de cigarrinha-da-raiz da cana-de-açúcar *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae). **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 135-140. 2007.

ALTIERI, M. A. Classical biological control and social equity. **Bulletin of Entomological Research**, Londres, v. 81, p. 365-369. 1991.

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2 ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

ALVES, S. B. et al. Equipamentos para aplicação de inseticidas microbianos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 269-287.

ANTUNIASI, U.R.; BOLLER, W. **Tecnologia de aplicação para cultura anuais**. Passo Fundo: Aldeia Norte; Botucatu: FEPAF, 2011. 279p.

ASABE. **Spray Nozzle Classification by Droplet Spectra (S572.1)**. The American Society of Agricultural and Biological Engineers, Niles Road, St. Joseph, MI, 2009. 4p.

ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. Dourados: Embrapa, **Circular Técnica**, v. 23, 12 p. 2013.

BAESSO, R. C. E. Tecnologias de aplicação de agrotóxicos. **Revista Ceres**, Viçosa MG, v. 61, Suplemento, p. 780-785. 2014.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**, London, v. 160, p. 268-282. 1937.

BAUER, F. C.; RAETANO, C. G. Distribuição volumétrica de calda produzida pelas pontas de pulverização XR, TP e TJ sob diferentes condições operacionais. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 275-284. 2004.

BAYER, T.; ARRUE, A.; COSTA, I. F. D.; LENZ, G.; CORADINI, C.; SARI, B. G.; PES, M. P. Aplicação aérea de fungicidas na cultura do arroz irrigado com diferentes bicos de pulverização. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 12, p. 2185-2191. 2012.

BELL, M. R.; KANAVEL, R. F. Field tests of a nuclear polyhedrosis virus in a bait formulation for control of pink bollworm and *Heliothis* spp. on cotton in Arizona. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 70, p. 625-629. 1977.

BIANCO, C. A. Tensão superficial e estado físico. In: ENCONTRO NACIONAL DE FORMULAÇÕES DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS, 1. 1985, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Biológico de São Paulo, 1985. p. 161-172.

BUENO, A. F., SOSA-GÓMEZ, D. R. The old world bollworm in the Neotropical region: the experience of Brazilian growers with *Helicoverpa armigera*. **Outlook Pest Management**, Hertforshire, v. 25, p. 261-264. 2014.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; XAVIER, M. F. C.; CARVALHO, M. M. *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) parasitism on eggs of *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidae) compared with its natural host *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Oxford, v. 107, n. 4, p. 799-808. 2014.

BUENO, A. F. et al. Histórico e evolução do manejo integrado de pragas da soja no Brasil. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Brasília: Embrapa, 2013. p. 37-74.

CABI. Crop protection compendium: global module. Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureau International, 2003. Disponível em:< www.cabi.org/cpc>. Acesso em: 20 de abr. 2019.

CASTRO, M. E. B. RIBEIRO, B. M.; CRAVEIRO, S. R.; IGLIS, P. W.; VALICENTE, F. H. Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Controle biológico de pragas na agricultura**. Brasília: Embrapa, 2020. p 238 – 273.

CHAIM, A. et al. Método para monitorar perdas na aplicação de agrotóxicos na cultura de tomate. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 741-747. 1999.

CHRISTOVAM, R. S. et al. Effect of nozzle angle and air-jet parameters in air assisted sprayer on biological effect of soybean asian rust chemical protection. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 3, p. 347-353. 2010.

COATES, W.; PALUMBO, J. Deposition, off-target movement and efficacy of Capture and Thiodam applied to cantaloupes using five sprayers. **Applied Engineering in Agriculture**, Saint Joseph, v. 13, n. 2, p. 181-188. 1997.

CONAB. Companhia nacional de abastecimento: Acompanhamento da safra brasileira: grãos. Brasília, 2019. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> > Acesso em: 20 mai. 2019.

CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A.; MAGALHÃES, P. C. **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2008. cap. 12, ed. 1, p. 302-362.

CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: SIMPÓSIO GRANDES CULTURAS: MILHO, 2, 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2009.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas, EMBRAPACNPMS. 1995. 45p. (Circular Técnica 21)

DHALIWAL, G. S.; KOUL, O.; ARORA, R. Integrated pest management: Retrospect and prospect. In: KOUL, O.; DHALIWAL, G. S.; CUPERUS, G. W. **Integrated Pest Management: Potential, Constraints and Challenges**. CAB International, 2004. p. 1-18.

FEDERICI, B. A. Naturally occurring baculoviruses for insect pest control. In: HALL, F. R.; MENN, J. J. **Methods in biotechnology: biopesticides, use and delivery**. Totowa: Humana Press, 1999. p. 301-320.

FIGUEIREDO, M.L.C.; DELLA LUCIA, T.M.C.; CRUZ, I. Effect of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) density on control of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses upon release in maize field. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 12-19. 2002.

FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 17-53. 1989.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. 10 ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GRANADOS, R. R.; FEDERICI, B. A. **The biology of baculoviruses**. Boca Raton: CRC, v.1.1986.

KING, A. B. S. *Heliothis/Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). In: MATTHEWS, G. A.; TUNSTALL J.P. [ed.], **Insect Pests of Cotton**. CABI International, Wallingford, p. 39-106, 1994.

KISSMANN, K.G. Adjuvantes para caldas de produtos fitossanitário. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 21, 1997, Caxambu, MG. **Palestras...** Caxambu, MG: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 1997.p. 61-77.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology**, Califórnia, v. 43, p. 243-270. 1998.

LAMMERS, J. W.; MACLEOD, A. Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808). 2007. Disponível em: <<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pdf>>. Acesso em: 10 mai. 2017.

MACIEL, C. D. G. et al. Tensão superficial estática de misturas em tanque de glyphosate + chlorimuron-ethyl isoladas ou associadas com adjuvantes. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 673-685. 2010.

MATUO, T. **Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas**. Jaboticabal: Funep, 1990. 139 p.

MATTHEWS, G. A. **Pesticide application methods**. London: Blackwell, 2000. 448 p.

MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. A case study in biological control: soybean defoliating caterpillars in Brazil. In: BRUXON, D. R. et al. **International crop science I**. Madison: Crop Science Society of America, 1993. p. 115-119.

MOSCARDI, F. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 509-539.

NASCIMENTO, A. B.; OLIVEIRA, G. M.; BALAN, M. G.; HIGASHIBARA, L. R.; SAAB, O. J. G. A. Deposição de glifosato e utilização de adjuvante para diferentes pontas de pulverização e horário de aplicação. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**, Guarapuava, v. 5, n. 2, p. 105-110, mai/ago. 2012.

PALLADINI, L. A.; RAETANO, C. G.; VELINI, E. D. Choice of tracers for the evaluation of spray deposits. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 62, n. 5, p. 440-445, out. 2005.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Editora Manole, 2002. 609p.

POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, Filadélfia, v. 43, p. 1–202. 2002.

POSSEE, R. D. Viral approaches for insect control. In: KIM, L. **Advanced engineered pesticides**. New York: Marcel Dekker, 1993. p. 99-112.

RIJAL, J. P. **Monitoring and management of *Helicoverpa armigera* (Hübner) with native isolates of insect pathogenic fungi**. 2006. 129p. Dissertação (Master of Sciences in Agriculture - Entomology) - Tribhuvan University Institute of Agriculture and Animal Sciences, Rampur, Chitwan, Nepal, 2006.

RODRIGUES, A. C. P.; MARTINS, D.; COSTA, N. V.; CARDOSO, L. A.; DOMINGOS, V. D. Variáveis qualitativas da pulverização em feijão, *Bidens pilosa* e *Brachiaria plantaginea*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 698-707. 2010.

SMITH, D. B.; BOUSE, L. F. Machinery and factors that affect the application of pathogens. In: BURGESS, H. D. **Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980**. New York: Academic Press, 1981. p. 635-653.

USDA. United States Department of Agriculture Oilseeds: World Markets and Trade. Foreign Agricultural Service. June 2019. Disponível em: < <https://usda.library.cornell.edu/> >. Acesso em: 20 de mai. 2019.

VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. **Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus**. Sete-Lagoa, Centro Nacional de Milho e Sorgo, Circular Técnica, v. 15. 1991. 23 p.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S. **Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com Baculovírus**. Sete-Lagoa, Centro Nacional de Milho e Sorgo, Circular Técnica, v. 114. 2009. 14 p.

CAPÍTULO 2 - FERRAMENTAS NA TECNOLOGIA DE APLICAÇÃO PARA O SFMNPV-6ND NO CONTROLE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO

Joáz Dorneles Junior¹, Carlos Gilberto Raetano¹ e Regiane Cristina Oliveira de Freitas Bueno¹

¹ Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Ciências Agronômicas – FCA, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Botucatu – São Paulo, Brasil. E-mail: joaz.dorneles@gmail.com, carlos.raetano@unesp.br, regiane.bueno@unesp.br

Abstract – Tank mixtures with different active ingredients or chemicals associated with biological products can be an important tool in integrated pest management. Thus, this work aimed to evaluate the application technology and the compatibility of the baculovirus SfMNPV-6nd with other products in the control of *Spodoptera frugiperda*. Caterpillars were raised on artificial diets. The compatibility studies were carried out with marker substances and surfactants next to the baculovirus. Droplet dispersion evaluations were carried out with flat fan and hollow conic jet spray nozzles using baculovirus solution on corn plants and the parameters evaluated were: spray coverage, volumetric median diameter (VMD), droplet dispersion, solution pH and mortality of *S. frugiperda*. The mixed products have been shown to be compatible with the virus. The mixtures of the marker and surfactant showed synergism in the control of *S. frugiperda*, making it necessary to observe the pH value of the SfMNPV-6nd solution to avoid inactivating the product before its action on the caterpillar. There was no influence of the spray nozzles on spray coverage, VMD and droplet density, and in the mortality of *S. frugiperda*, which was over 60%.

Index terms: Biological control, virus, fall-armyworm.

Ferramentas na tecnologia de aplicação para o SfMNPV-6ND no controle da lagarta-do-cartucho

Resumo – Misturas em tanque com diferentes ingredientes ativos ou de produtos químicos associados aos produtos biológicos podem constituir ferramenta importante no manejo integrado de pragas. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a tecnologia de aplicação e a compatibilidade do baculovírus SfMNPV-6nd com outros produtos no controle de *Spodoptera frugiperda*. As lagartas foram criadas em dietas artificiais. Os estudos de compatibilidade foram realizados com substâncias marcadoras e surfatantes junto ao baculovírus. Avaliações da dispersão de gotas foram realizadas com pontas de pulverização de jato plano e cônico vazio utilizando solução de baculovírus sobre plantas de milho e os parâmetros avaliados foram: cobertura da pulverização, diâmetro mediano volumétrico (DMV), dispersão das gotas, pH da solução e mortalidade de *S. frugiperda*. Os produtos em mistura demonstraram serem compatíveis com o vírus. As misturas do marcador e surfatante apresentaram compatibilidade no controle de *S. frugiperda*, sendo necessário a observação do valor de pH da solução de SfMNPV-6nd para evitar a inativação do produto antes da sua ação sobre a lagarta. Não houve influência das pontas de pulverização na cobertura da pulverização, DMV e densidade de gotas e na mortalidade de *S. frugiperda*, que foi superior a 60%.

Termos para indexação: Controle biológico, vírus, lagarta-do-cartucho.

2.1 INTRODUÇÃO

Os vírus entomopatogênicos são inseticidas biológicos utilizados nos programas de Manejo Integrado de Pragas com ênfase ao uso do controle biológico de pragas agrícolas. Dentre os vírus que controlam insetos-praga, os baculovírus compreendem o grupo mais estudado e difundido na agricultura. Entre os benefícios do seu uso estão a não contaminação de outros microrganismos, artrópodes e ao homem, sendo considerados produtos seletivos (HERNIOU et al., 2011). Além disso, esses produtos podem também ser utilizados em equipamentos de pulverização que aplicam inseticidas sintéticos, sendo necessário algumas observações sobre o uso

como compatibilidade com outros produtos fitossanitários sem interferir nas características químicas e físicas dos produtos em mistura, o pH da solução de aplicação (calda de pulverização) e sua forma de distribuição sobre a planta.

A respeito da forma de distribuição, os baculovírus infectam os insetos-praga por via oral, pela ingestão do alimento contaminado. No caso das lagartas, o vírus na forma ocluída (vírus encapsulado) quando alcançam o ambiente alcalino do intestino médio é dissolvido, com a liberação das partículas infectantes nas células da parede do intestino do inseto causando úlceras no sistema digestivo dos insetos, que morrem por septicemia (VOLKMAN; KEDDIE, 1990). O pH das caldas de pulverização em que os baculovírus são utilizados devem apresentar pH ácido, com o intuito das formas ocluídas do baculovírus não se dissolverem e serem inativadas nos equipamentos de pulverização, tornando o produto ineficaz contra a praga.

O Brasil possuiu o maior programa de uso de baculovírus (AgNPV) no controle da lagarta *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Eriidae) sendo utilizada em cerca de um milhão de hectares, graças aos estudos de diversos fatores relacionados ao baculovírus dessa lagarta (MOSCARDI; SOSA-GÓMEZ, 1993).

Em destaque está o uso do nucleocapsídeo múltiplo SfMNPV-6nd isolado 6 sem degradação da cutícula da lagarta após a morte (6nd) (VIEIRA et al., 2012) no controle da *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Essa lagarta ataca diversas culturas como soja, algodão, tomate e milho, sendo praga-chave nessa última cultura. Há várias populações de *S. frugiperda* resistentes a inseticidas sintéticos (ALMEIDA et al., 2017) e plantas transgênicas com expressão de proteínas Bt (*Bacillus thuringiensis*) utilizados no controle (BERNARDI et al., 2016). Assim, o uso de outras formas eficazes de controle dessa praga torna-se necessário para garantir níveis aceitáveis de produção agrícola.

O baculovírus SfMNPV-6nd é uma variedade que apresenta alta eficiência na eliminação de lagartas de até 1,5 cm de comprimento (VIEIRA et al., 2012). A utilização da tecnologia de aplicação fornece ferramentas (cobertura da pulverização, DMV e dispersão de gotas) que contribuem para melhor controle desse inseto-praga, com a deposição do baculovírus ativo e em quantidade suficiente. A compatibilidade entre produtos é importante fator na potencialização de produtos químicos no controle de pragas, ela não deve atrapalhar as características físicas ou químicas entre os produtos em mistura. Os produtos utilizados para melhorar o desempenho dos produtos fitossanitários junto à calda de pulverização são classificados como

adjuvantes, dentre os principais adjuvantes os surfatantes são responsáveis por quebrar a tensão entre as moléculas da água e aumentar cobertura sobre o alvo (KISMANN, 1997).

Desse modo, o trabalho teve por objetivo avaliar a ação de ferramentas da tecnologia de aplicação com o uso do baculovírus SfMNPV-6nd no controle de *S. frugiperda* sem afetar a virulência desse inseticida biológico.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório do Grupo de Pesquisa em Manejo Integrado de Pragas na Agricultura (AGRIMIP) e no Laboratório de Tecnologia de Aplicação de Defensivos Agrícolas do Departamento de Proteção Vegetal da Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCA/UNESP), Campus de Botucatu-SP, Brasil.

2.2.1 Criação de *Spodoptera frugiperda*

As mariposas de *S. frugiperda* foram mantidas em gaiolas de tubos de PVC (10 cm de diâmetro x 21,5 cm de altura) para obtenção dos ovos. As gaiolas foram mantidas cobertas na parte superior com tecido tipo voil e revestidas internamente com folhas de papel tipo pardo na coloração marrom para a oviposição. Para a alimentação dos adultos foi fornecido por algodão umedecido solução de mel a 10%, os quais foram substituídos a cada 48 horas. As massas de ovos foram removidas diariamente, acondicionadas em copos plásticos de 300 ml e mantidas em sala climatizada ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$, fotoperíodo de 12 horas).

As lagartas de *S. frugiperda* recém eclodidas foram individualizadas e transferidas para cápsulas de plástico com cinco gramas de dieta e mantidas em sala climatizada ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas) até a formação das pupas. As pupas foram mantidas em gaiolas de tubo de PVC para a emergência e postura dos ovos. A dieta artificial utilizada foi à base de feijão, germe de trigo e levedo de cerveja, adaptada de Kasten Jr. et al. (1978).

2.2.2 Plantas de milho como substrato alimentar

As sementes de milho utilizadas apresentavam transgenia para RR2b587 (herbicida glyphosate - Roundup Ready) e não para proteína Bt (inseticida *Bacillus thuringiensis*). A semeadura foi realizada em vasos com capacidade de 3,8 L contendo o substrato resultante da mistura de solo, esterco curtido de gado e areia (proporção 1:1:1). Os vasos foram acondicionados em casa-de-vegetação. A adubação realizada foi apenas de semeadura (nitrogênio, fosforo e potássio - NPK) que seguiu as necessidades da cultura do milho e pelas exigências estipuladas pela análise de solo.

2.2.3 Estudo de compatibilidade de marcadores e surfatantes com SfMNPV-6nd

Foram utilizados dois marcadores, sendo o corante Azul Brilhante alimentício (ABA) na concentração de 1500 ppm (PALLADINI et al., 2005) e o oxicloreto de cobre (OC) na concentração de 2500 ppm (CHRISTOVAM et al., 2010). Foram utilizados dois surfatantes, o polimetilsiloxano organossilicone modificado (PSO) e alquil fenól etoxilado (AFE) na concentração de 0,5 % do volume de calda. O baculovírus utilizado foi o baculovírus *S. frugiperda*, SfMNPV-6nd (pó molhável) na concentração de 2300 ppm.

Os estudos de compatibilidade do corante, surfatantes e a mistura do corante, surfatante e SfMNPV-6nd foram realizados separadamente avaliando o efeito sobre a mortalidade larval de *S. frugiperda*. Primeiramente foi conduzido o estudo de compatibilidade do corante, seguido do estudo dos surfatantes e selecionado o surfatante com melhor compatibilidade, ambos em mistura com o baculovírus *Spodoptera*. Por fim, a avaliação do surfatante mais compatível em mistura com o corante no teste de compatibilidade deles com o SfMNPV-6nd sobre a mortalidade da lagarta-do-cartucho.

Para o estudo da compatibilidade dos marcadores, foram quatro tratamentos, sendo a testemunha (sem aplicação), somente a aplicação do SfMNPV-6nd com água destilada, a mistura do marcador ABA com o baculovírus *Spodoptera* em água destilada e a mistura do OC com o baculovírus *Spodoptera* em água destilada. Ambos os marcadores utilizados não alteram a tensão superficial da água, são estáveis, não

fotossensíveis e recomendados na avaliação de deposição de pulverizações agrícolas (SALYANI; WHITNEY, 1988).

Na avaliação da compatibilidade dos surfatantes foram quatro tratamentos, sendo a testemunha (sem aplicação), com a aplicação do SfMNPV-6nd com água destilada, mistura do PSO com SfMNPV-6nd em água destilada, mistura de AFE com SfMNPV-6nd em água destilada. Os surfatantes escolhidos não apresentam ação inseticida somente ação na quebra de tensão superficial da água (AGROFIT, 2020).

Para avaliação da compatibilidade entre o marcador e o surfatante escolhidos foram utilizados quatro tratamentos: testemunha (sem aplicação), a solução de SfMNPV-6nd em água destilada, mistura de SfMNPV-6nd com AFE em água destilada e a mistura de SfMNPV-6nd com AFE e OC em água destilada.

As folhas de milho de plantas em estágio de desenvolvimento V3 foram cortadas e lavadas em hipoclorito de sódio e depois em água destilada. A calda de cada tratamento foi inoculada sobre folha de milho (EVANS; SHAPIRO, 1997) (2 cm de comprimento) armazenadas sob algodão branco embebido com água destilada, em tubo de vidro de fundo chato (2 cm x 8 cm). Após a inoculação foi adicionada uma lagarta de *S. frugiperda* de sete dias de idade (tamanho menor que 1,5 cm de comprimento e 2º ínstar) sobre as folhas de milho. Os tubos foram fechados com tecido do tipo voil. Cada tratamento foi composto por 40 repetições (tubo de vidro com uma folha e uma lagarta). Após dois dias da inoculação, essas lagartas foram retiradas dos tubos e acondicionadas em cápsulas plásticas com cinco gramas de dieta (VIEIRA et al., 2012).

As lagartas de *S. frugiperda* mortas em cada ensaio foram contabilizadas. Os tratamentos com maiores níveis de mortalidade foram escolhidos para estudo da compatibilidade entre surfatante e marcador. Os dados de mortalidade de *S. frugiperda* foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA ou Test H (Kruskal-Wallis) e análise das médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) ou Dunn ($p \leq 0,05$) com auxílio do software R® 3.2.5.

2.2.4 Avaliação do potencial hidrogeniônico (pH) das soluções de SfMNPV-6nd

Os valores de pH foram mensurados por medidor de pH de bancada modelo DM-20 (Digimed®). Os tratamentos foram: água; SfMNPV-6nd (2300 ppm) com água; SfMNPV-6nd (2300 ppm) com o surfatante alquilfenóletoxilado (AFE) (0,5%) em água; SfMNPV-6nd (2300 ppm) com AFE (0,5%), marcador oxicloreto de cobre (OC) (2500 ppm) em água, com cinco repetições cada. As soluções foram preparadas em beckers de 50 mL e as avaliações foram nos intervalos 0 (no momento do preparo), 2, 4 e 6 horas após o preparo. A análise estatística foi fatorial duplo (4 tratamentos x 4 tempos de avaliação). Os valores de pH foram submetidos às análises exploratórias de pressuposições de normalidade dos resíduos, a aditividade do modelo para aplicação da ANOVA e a análise das médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) com auxílio do software R® 3.2.5.

2.2.5 Avaliação da cobertura da pulverização, gotas e tipo de pontas na mortalidade de *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho sob ambiente protegido

Nos ensaios foram utilizadas lagartas de *S. frugiperda* de sete dias de idade (1,5 cm de comprimento). Para pulverização dos tratamentos foi utilizado um sistema de pulverização com controle de velocidade de deslocamento e pressão de trabalho, equipado com barra de três metros e seis pontas de pulverização espaçadas de 0,5 m. A calda de pulverização foi preparada com a mistura de SfMNPV-6nd, OC, AFE em água destilada para uma taxa de aplicação de 110 L/ha utilizando as pontas de pulverização de jato plano e jato cônico vazio, submetidas às pressões de 207 e 414 kPa (30 e 60 psi), respectivamente, e na velocidade de deslocamento do pulverizador de 7 km/h. Duas pulverizações foram realizadas com intervalo de 7 dias sobre as plantas.

Foram utilizados três tratamentos com 25 repetições cada. As repetições foram compostas de uma planta de milho com uma lagarta-do-cartucho. Os tratamentos foram: pulverização com a ponta de jato plano, pulverização com a ponta de jato cônico vazio e a testemunha (sem pulverização). As plantas de milho estavam no

estádio de desenvolvimento vegetativo V3 (três folhas completamente formadas) e as lagartas-do-cartucho utilizadas eram de tamanho inferior a 1,5 cm. Após a pulverização das plantas foi adicionada uma lagarta de *S. frugiperda* sobre as plantas de milho e essas foram acondicionadas em gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro x 21,5 cm de altura) sobre o vaso e fechadas com tecido do tipo voil na abertura superior do PVC com goma plástica.

As gaiolas foram acondicionadas em casa de vegetação, com irrigação diária e temperatura média de $25\pm4^{\circ}\text{C}$. Na segunda pulverização, após sete dias, o procedimento foi o mesmo da primeira aplicação, contudo a aplicação foi realizada sobre as plantas de milho com a lagarta-do-cartucho. Após a pulverização, observou-se a presença das lagartas (vivas ou mortas) e posteriormente as gaiolas foram acopladas ao PVC cobertas com tecido do tipo voil e goma elástica.

As avaliações da quantidade da calda depositada ($\mu\text{l}/\text{cm}^2$) foram realizadas através da metodologia descrita por Christovam (2010) durante a primeira e segunda pulverização. A densidade de gotas (gotas/cm^2) e diâmetro mediano volumétrico (DMV) (μm) foram realizados com auxílio de papel hidrossensível e do software gotas[®] durante a primeira e segunda aplicação. As avaliações da mortalidade da lagarta-do-cartucho foram realizadas aos seis dias após a primeira pulverização e aos seis dias após a segunda pulverização.

Os dados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA ou Test H (Kruskal-Wallis). As mortalidades das lagartas foram avaliadas pelos testes de Tukey ($p\leq 0,05$) e Dunn ($p\leq 0,05$), quantidade da calda depositada, DMV e tamanho de gotas pelo teste Tukey ($p\leq 0,05$), ambos com auxílio do software R[®] 3.2.5.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Compatibilidade de marcadores e surfatantes com SfMNPV-6nd

Na avaliação da compatibilidade dos marcadores ABA e OC com SfMNPV-6nd houve diferença nos níveis de mortalidade larval de *S. frugiperda* ($F=5,33$; $p=0,01$). A testemunha apresentou a menor mortalidade entre os tratamentos (17,5%) enquanto

o tratamento com apenas SfMNPV-6nd a mortalidade foi de 62,5%. O tratamento com OC e SfMNPV-6nd apresentou 42,5% de mortalidade das lagartas e o tratamento SfMNPV-6nd com ABA com média de mortalidade de 35% (Figura 1). Na avaliação da compatibilidade dos surfatantes PSO e AFE com SfMNPV-6nd também foram obtidas diferenças significativas entre tratamentos ($F=27,9$; $p=0,001$). Os valores médios de mortalidade foram 80, 85, 55 e 25% para os tratamentos AFE + SfMNPV-6nd, PSO + SfMNPV-6nd, somente SfMNPV-6nd e testemunha (sem aplicação) respectivamente (Figura 1).

Assim o marcador e surfatante escolhidos foram OC e AFE, respectivamente, pelos maiores valores de mortalidade obtidos quando comparados aos outros produtos. Na avaliação da mortalidade da lagarta-do-cartucho com SfMNPV-6nd, AFE e OC os tratamentos apresentaram diferenças nos níveis de mortalidade ($H=11,45$, $p=0,009$). A testemunha apresentou o menor nível de mortalidade 15%, o tratamento com apenas SfMNPV-6nd apresentou 64,4% a segunda menor taxa de mortalidade e o tratamento com SfMNPV-6nd com AFE e a mistura de SfMNPV-6nd, AFE e OC apresentaram os maiores valores de mortalidade, ambos com 87,5% (Figura 1).

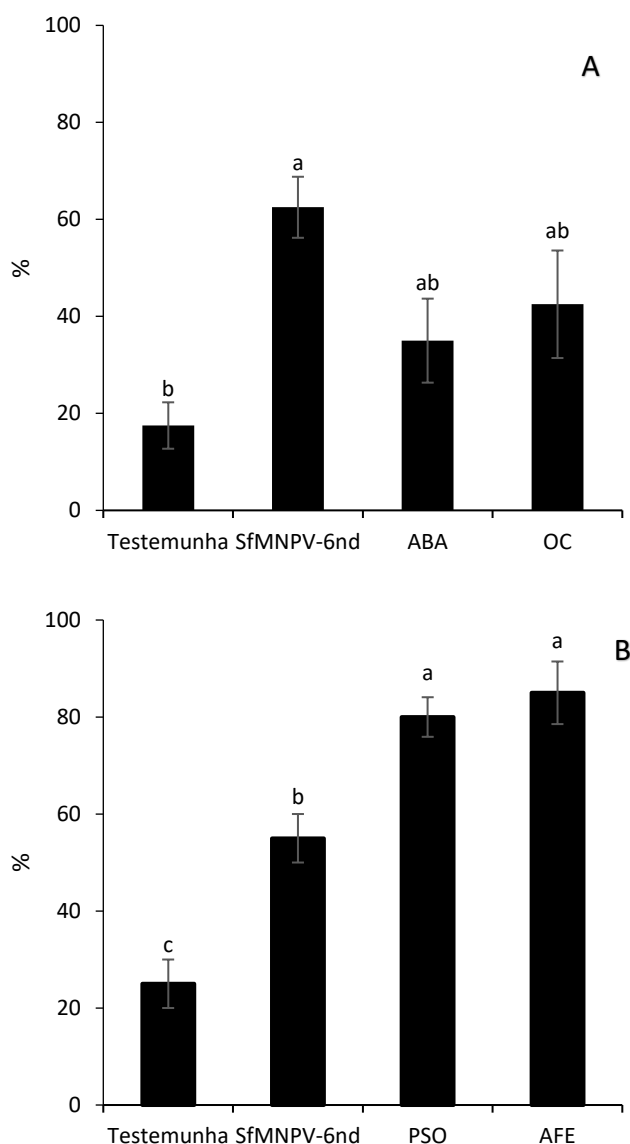
A mistura do baculovírus *Spodoptera* com os produtos ABA e OC não apresentaram diferenças na mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* e também não diferiram da utilização do SfMNPV-6nd isolado. A escolha do OC como produto utilizado para os estudos seguintes de compatibilidade está relacionada ao maior número médio de lagartas mortas em relação à mistura do vírus com ABA.

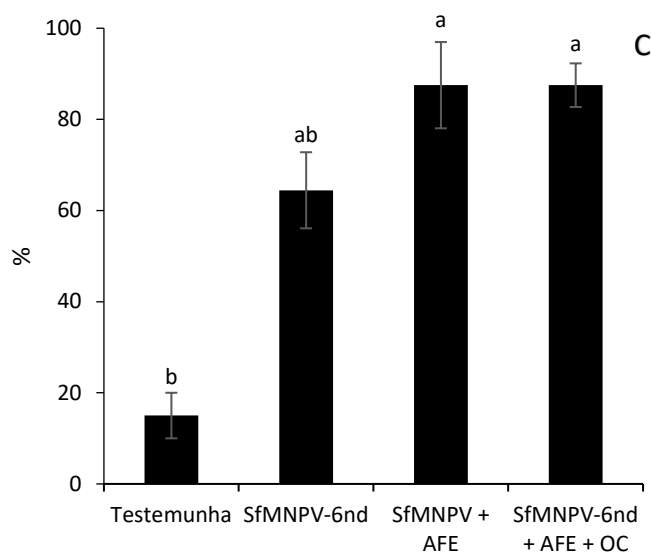
No estudo seguinte, a utilização dos dois tipos de surfatantes, PSO e AFE, evidenciaram a importância da utilização destes produtos junto ao baculovírus em relação à mortalidade de lagartas-do-cartucho. A principal função, dos surfatantes, é quebrar a tensão superficial da água e assim aumentar a cobertura sobre o substrato (DURIGAN, 1993). O alvo do SfMNPV-6nd são as lagartas de *S. frugiperda* e a principal forma de infecção é via oral onde uma alta taxa de cobertura sobre o substrato alimentar contribui com maior disponibilidade de aquisição e infecção do vírus na praga. Essa mistura foi potencializada, o surfatante associado com o vírus proporcionou maior cobertura sobre o alvo, resultando em maiores taxas de mortalidade quando comparados à testemunha e a utilização somente do vírus, sem surfatante, na calda de pulverização.

No último teste pode-se observar que a mistura da substância OC, utilizada no teste de cobertura da pulverização não afetou a ação entre baculovírus *Spodoptera* e

o surfatante AFE, pois ambos apresentaram mesmos níveis de mortalidade larval de *S. frugiperda*. O OC é um fungicida inorgânico cúprico de ação de contato com classificação toxicológica pouco tóxico (IV), não demonstrou incompatibilidade (não afetou as características físicas e químicas) com o baculovírus observado anteriormente e tampouco em mistura com o surfatante, demonstrando a sua possível utilização em mistura com esse inseticida no controle de pragas e doenças nas plantas cultivadas (AGROFIT, 2020).

Figura 1 - Valores médios da mortalidade (%) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* em diferentes testes de compatibilidade de mistura de produtos





(A) mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* em teste de compatibilidade com marcadores. (B) mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* em teste de compatibilidade com surfatantes. (C) mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* em teste de compatibilidade com mistura de marcador, surfatante e baculovírus. Letras iguais não diferem estatisticamente entre os tratamentos. Foi utilizado testes de Tukey ($p \leq 0,05$) nas avaliações de compatibilidade de marcadores e surfatantes e teste Dunn ($p \leq 0,05$) na avaliação de mistura do OC + AFE + SfMNPV-6nd.

2.3.2 Potencial hidrogeniônico (pH) das soluções de SfMNPV-6nd

Na avaliação do pH, os tratamentos ($F=42860$, $p=0,001$), os intervalos de tempo ($F=1613$, $p=0,001$) e a interação entre tratamentos e intervalos de tempo ($F=902$, $p=0,001$) apresentaram diferenças significativas (Figura 2). Em relação aos tratamentos, a solução com somente baculovírus *Spodoptera* em água foi a que apresentou o maior valor de pH (7,11), quando comparado aos demais tratamentos; seguido pelo pH da testemunha (água) (5,5), do tratamento com SfMNPV + AFE (4,61) e do tratamento com SfMNPV + AFE + OC (4,39) (Figura 2).

Em relação aos intervalos de tempo, o início do experimento, 0 horas, foi o que apresentou o maior valor de pH (5,71) comparado aos demais tratamentos, seguido pelos valores de pH às 2 horas (5,47) e dos valores de pH às 4 horas (5,21) e 6 horas (5,21), os quais não apresentaram diferença significativa (Figura 2).

O baculovírus *Spodoptera* é um vírus envolvido por uma proteína simples denominada poliedrina. Essa proteína é ativada somente em meio alcalino ($pH \geq 8$) que

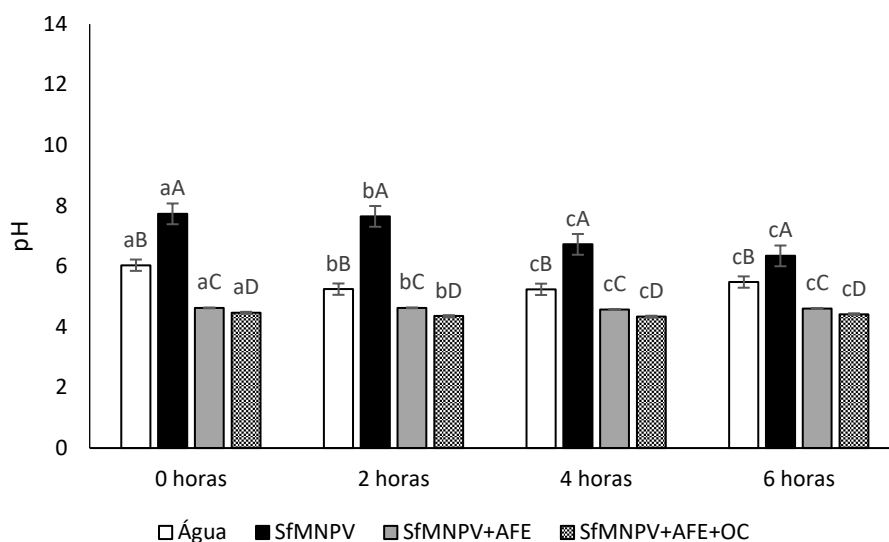
ocasionalmente ocorre no intestino médio das lagartas (TANADA, 1993). Nesse meio alcalino, a poliedrina é rapidamente dissolvida e as partículas virais, responsáveis pela infecção no inseto, são liberadas dando início à infecção das células da lagarta (VOLKMAN; KEDDIE, 1990). O pH das soluções de preparo das caldas de pulverização é um importante fator relacionado a eficiência de qualquer baculovírus, inclusive do baculovírus *Spodoptera*, em campo no controle de pragas.

Nesse estudo foi observado que a solução de SfMNPV-6nd em água resulta em pH neutro (pH = 7,0) devido à base da formulação do produto (pó molhável) ser rocha alcalina torna esse fator destaque devido à proximidade com o pH básico que é responsável pela ativação do inseticida. As águas mais básicas também podem proporcionar um pH mais alcalino nas soluções com baculovírus, resultando na dissolução da poliedrina e consequentemente desativação da capacidade viral do SfMNPV-6nd com a sua exposição as condições ambientais. Assim, a importância da observação do pH das caldas de pulverização é primordial na tecnologia de aplicação desse inseticida biológico para melhor eficiência em campo.

As soluções de SfMNPV-6nd com AFE e SfMNPV-6nd com AFE e OC apresentaram pH próximos a quatro durante todo o intervalo de tempo avaliado (Figura 2). No Brasil, existem grandes áreas agrícolas em extensão territorial que quando são pulverizadas para o controle de pragas necessitam de longos períodos com a utilização de pulverizadores. Esses equipamentos apresentam tanques de armazenamento de caldas com capacidade para longas áreas, para cada tipo de aplicação (volume de calda, taxa de aplicação, pressão e velocidade de pulverização).

Assim, a importância de estudar o pH em intervalos de tempo longos é devido a necessidade em observar o efeito tampão, uma vez que as soluções pulverizadas mantenham ao longo do tempo necessário à aplicação. O efeito tampão representa a capacidade de uma solução manter o pH estável (não variar ao longo do tempo). Nesse estudo, foi observado redução do pH das soluções de SfMNPV-6nd; SfMNPV-6nd e AFE; SfMNPV-6nd com AFE e OC ao longo do tempo. Como o problema na utilização do baculovírus *Spodoptera* é a alcalinidade da calda, o decréscimo do pH ao longo do tempo não afeta a dissolução da poliedrina e a virulência do SfMNPV-6nd.

Figura 2 - Potencial hidrogeniônico (pH) das soluções de baculovírus *Spodoptera* (SfMNPV-6nd) com adjuvantes em diferentes intervalos de tempo. Potencial hidrogeniônico (pH) das soluções nos intervalos de tempo de 0, 2, 4 e 6 horas após o preparo das soluções



Letras maiúsculas são os grupos dos tratamentos e as letras minúsculas são os grupos entre intervalos de tempo. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

2.3.3 Cobertura da pulverização, gotas e tipo de pontas na mortalidade de *S. frugiperda*

Na avaliação da deposição da pulverização, não houve diferença entre os tratamentos nas duas pulverizações. Na primeira pulverização ($F=0,918$; $p=0,35$) os valores médios de depósito foram $0,268 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ e $0,22 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ para as pontas de jato plano e cônico vazio, respectivamente. Na segunda pulverização ($F=0,04$; $p=0,82$) os valores médios de depósito foram $0,36 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ e $0,37 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, para as pontas de jato plano e cônico vazio, respectivamente (Figura 3).

Na avaliação do número de gotas/ cm^2 depositadas no cartão hidrossensível denota-se que não houve diferenças tanto na primeira ($F=0,42$; $p=0,52$) quanto na segunda pulverização ($F=0,73$; $p=0,4$) entre os tratamentos com pontas de jato plano e cônico vazio (Figura 3). Os valores médios com a ponta de jato plano foram 97,2 e 97,6 gotas/ cm^2 , na primeira e segunda pulverização, respectivamente. Já os valores

médios da densidade de gotas com a ponta de jato cônico vazio foram 102, e 109,7 gotas/cm² na primeira e segunda pulverização, respectivamente.

O diâmetro mediano volumétrico (DMV) também não apresentou diferenças na primeira ($F=0,02$; $p=0,87$) e segunda ($F=3,32$; $p=0,08$) pulverização entre tratamentos com pontas de jato plano e cônico vazio (Figura 3). Os valores de DMV com a ponta de jato plano foram 149,6 μm e 138 μm na primeira e segunda pulverização, respectivamente. Os valores de DMV com a ponta de jato cônico vazio foram 147,5 μm e 167,5 μm , na primeira e segunda pulverização, respectivamente.

A mortalidade de *S. frugiperda* apresentou diferenças entre os tratamentos na primeira pulverização ($F=7,35$; $p=0,008$) e na segunda pulverização ($H=9,84$; $p=0,01$). Na primeira pulverização as pontas de jato plano (52%) e cônico vazio (44%) apresentaram diferenças quando comparadas à testemunha (8%), mas não apresentaram diferenças entre si. Na segunda pulverização, o efeito das pontas sobre a mortalidade das lagartas foi semelhante; as pontas de jato plano (80%) e cônico vazio (60%) também apresentaram diferenças, quando comparadas à testemunha (12%), porém não apresentaram diferenças entre si (Figura 3).

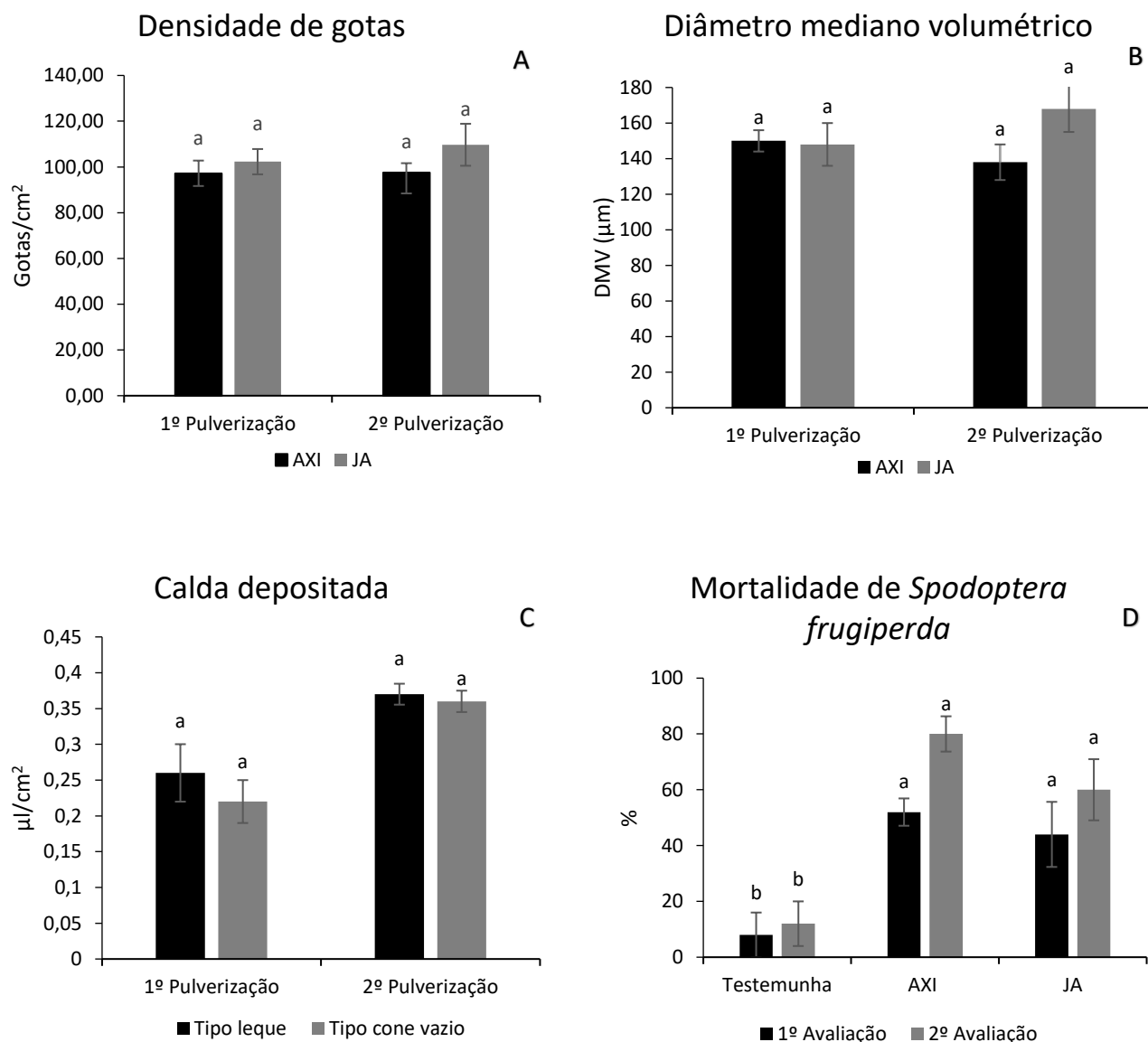
As ferramentas de análise da pulverização como cobertura e depósito, densidade e tamanho de gotas não demonstraram diferenças entre as pontas de jato plano e jato cônico vazio. Considerando diferente a dispersão das gotas provenientes dessas pontas, ambas apresentaram valores qualitativos da pulverização (DMV, gotas/cm² e $\mu\text{l}/\text{cm}^2$) estatisticamente iguais. Fato também ocorrido para os valores de mortalidade da lagarta-do-cartucho com ambas as pontas de pulverização nos dois momentos avaliados nesse estudo. Provavelmente isso ocorreu devido a quantidade e a forma como a calda de pulverização contribuiu na deposição das partículas virais necessárias para efetivo controle da praga. Quanto maior a cobertura e a distribuição do vírus sobre a planta, maiores são as chances de infecção quando o inseto-alvo se alimentar.

Devido à elevada tensão superficial da água pura (72,6 mN m⁻¹) essa apresenta baixa capacidade de retenção quando aplicada à cutícula das plantas sendo necessário o uso de surfatantes. As aplicações com vírus entomopatogênicos devem apresentar alta taxa de cobertura sobre os vegetais que servem de alimento para as lagartas-praga. Aplicações eficientes de vírus observados na literatura legitimam que a cobertura é diretamente afetada pela tecnologia de aplicação e outros fatores (SMITH; BOUSE, 1981).

As ferramentas da tecnologia de aplicação (DMV e gotas/cm²) observados nesse trabalho foram semelhantes aos encontrados em outros trabalhos com vírus entomopatogênicos que apresentaram alta eficiência no controle da praga, corroborando à necessidade de alta taxa de cobertura dos vírus aplicados (BELL; KANAVAL, 1977; ENTWISTLE et al., 1990). Esses autores trabalharam com outros tipos de vírus de insetos, mas ambos constataram que a utilização de gotas finas proporciona maior número de gotas por área. O DMV entre 90 e 150 µm são responsáveis por altas epizootias em insetos (BELL; KANAVAL, 1977; ENTWISTLE et al., 1990), sendo essas epizootias responsáveis pela manutenção e propagação do vírus na área.

A quantidade de calda, depositada sobre as plantas de milho, através da análise de absorbância, demonstrou que não houve diferenças na quantidade de cobre com o marcador OC entre as pontas de pulverização. Logo, a quantidade de vírus que estava em mistura com a solução de água e OC que foi depositada pelas duas pontas foi igual, pois não houve também diferenças na distribuição das gotas (cobertura) e, isso, poderia alterar a porcentagem de mortalidade da praga dependendo de sua mobilidade no alvo. Como demonstrado nesse trabalho, tanto pontas de jato plano quanto àsquelas de jato cônico proporcionaram níveis de mortalidade acima de 60% de *S. frugiperda* podendo ser utilizadas no controle desse inseto-praga.

Figura 3. Parâmetros de tecnologia de aplicação e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* com a utilização da solução de baculovírus *Spodoptera SfMNPV-6nd* em diferentes pontas de pulverização



(A) densidade de gotas (gotas/cm²) em papel hidrossensível com pontas de jato plano e cônico vazio em duas pulverizações. (B) diâmetro mediano volumétrico (DMV) em papel hidrossensível com pontas de jato plano e cônico vazio em duas pulverizações. (C) depósito de calda (µl/cm²) sobre papeis filtro com pontas de jato plano e cônico vazio em duas pulverizações. (D) mortalidade larval de *S. frugiperda* em plantas de milho. Letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) e teste Dunn ($p \leq 0,05$).

2.4 CONCLUSÕES

Os marcadores a base de corante Azul Brilhante alimentício (ABA) e oxicloreto de cobre (OC) apresentam compatibilidade (não interfere nas características físicas e químicas da solução) com baculovírus SfMNVP-6nd;

Os surfatantes polimetilsiloxano organomodificado (PSO) e alquil fenol etoxilado (AFE) apresentam compatibilidade (não interfere nas características físicas e químicas da solução) com o baculovírus SfMNPV-6nd e potencializam seu controle sobre *Spodoptera frugiperda*;

O monitoramento do pH das soluções de baculovírus SfMNPV-6nd como ferramenta de tecnologia de aplicação é necessária a fim de manter o produto ativo, em pH ácido, no controle de *Spodoptera frugiperda*;

A qualidade da pulverização (densidade de gotas, DMV e depósito) com pontas de jato plano e cônico vazio não diferem com a utilização de baculovírus SfMNPV-6nd;

As pontas de jato plano e cônico vazio podem ser utilizadas com baculovírus SfMNPV-6nd no controle de *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho.

2.5 AGRADECIMENTOS

Agradeço aos funcionários da FCA – Unesp, Botucatu, a Profa. Dra. Regiane, C.O.F. Bueno e ao Prof. Dr. Carlos G. Raetano. Agradeço também a Capes pelo auxílio. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências bibliográficas

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2020. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 14 fev. 2020.

ALMEIDA, L. G. D.; MORAES, L. A. B. D.; TRIGO, J. R.; OMOTO, C.; CONSOLI, F. L. The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: A potential source for biotechnological exploitation. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3. e0174754. 2017. DOI: doi.org/10.1371/journal.pone.0174754

BELL, M. R.; KANAVAL, R. F. Field tests of a nuclear polyhedrosis virus in a bait formulation for control of pink bollworms and *Heliothis* spp. in cotton in Arizona. **Journal of Economic Entomology**, v. 70, p.625-629. 1977.

BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; HORIKOSHI, R. J.; SALMERON, E.; OKUMA, D. M.; OMOTO, C. Biological activity of Bt proteins expressed in different structures of transgenic corn against *Spodoptera frugiperda*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 6, p.1019-1024. 2016. DOI:[dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20150047](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150047)

CHRISTOVAM, R. S.; RAETANO, C. G.; de AMARAL DAL POGETTO, M. H. F.; PRADO, E. P.; JUNIOR, H. O. A.; GIMENES, M. J.; SERRA, M. E. Effect of nozzle angle and air-jet parameters in air assisted sprayer on biological effect of soybean asian rust chemical protection. **Journal of Plant Protection Research**, v. 50, n. 3, p. 347-353. 2010.

DURIGAN, J. C. **Efeitos de adjuvantes na aplicação e eficácia dos herbicidas**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 42 p.

ENTWISTLE, P. F.; EVANS, H. F.; CORY, J. S.; DOYLE, C. Questions on the aerial application of microbial pesticides to forest. In: PROCEEDINGS INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE PATHOLOGY AND MICROBIAL CONTROL, 5 ed.1990, Adelaide. **Invertebrate Pathology and Microbial Control**. Brighton: Society for Invertebrate Pathology. p. 159-163.

EVANS, H. F.; SHAPIRO, M. Viruses. In: LACEY, L. (ed.): **Manual of Techniques in Insect Pathology**. London: Academic Press, 1997. p. 17–54.

HERNIOU, E. A.; ARIF, B. M.; BECNEL, J. J.; BLISSARD, G. W.; BONNING, B.; HARRISON, R.; JEHLE, J. A.; THEILMANN, D. A.; VLAK, J. M. Baculoviridae. In: KING, A. M. Q.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. **Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses**. Oxford: Elsevier Academic Press, 2011. p. 163-173.

KASTEN, Jr. A. A.; PRECETTI, C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v. 53, n. 1, p. 68-78. 1978.

KISSMANN, K. G. Adjuvantes para caldas de produtos agrotóxicos. In: **Congresso brasileiro de ciência das plantas daninhas**, 1997, Caxambu. Palestras e mesas redondas... Viçosa: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 1997. p. 61-77.

MATUO, T. **Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas**. Jaboticabal: Funep, 1990. 139 p.

MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. A case study in biological control: soybean defoliating caterpillars in Brazil. In: BRUXON, D. R. et al. **International Crop Science I**. Madison: Crop Science Society of America, 1993. p. 115-119.

PALLADINI, L. A.; RAETANO, C. G.; VELINI, E. D. Choice of tracers for the evaluation of spray deposits. **Scientia Agricola**, Piracicaba v. 62, n. 5, p. 440-445. 2005.

SALYANI, M.; WHITNEY, J.D. Evaluation of methodologies for field studies of spray deposition. **Transactions of the ASAE**, v. 31, p. 390-395. 1988.

SMITH, D. B.; BOUSE, L. F. Machinery and factors that affect the application of pathogens, p.635-653. In: BURGESS, H. D. **Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980**. New York: Academic Press, 1981. p 635-653.

TANADA, Y. K. H. K. **Insect Pathology**. San Diego: Academic Press, 1993. 508 p.

VIEIRA, C. M.; TUELHER, E. S.; VALICENTE, F. H.; WOLFF, J. L. C. Characterization of a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolate that does not liquefy

the integument of infected larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, p. 189-192. 2012. DOI: doi.org/10.1016/j.jip.2012.07.010

VOLKMAN, L. E.; KEDDIE, B. A. Nuclear polyhedrosisvirus pathogenesis. **Seminars Virology**, v. 1, p. 249-256. 1990.

CAPÍTULO 3 - AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DO BACULOVÍRUS SPODOPTERA NO SISTEMA DE MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS NA CULTURA DO MILHO, COM ÊNFASE NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Joáz Dorneles Junior, Carlos Gilberto Raetano, Regiane C.O.F. Bueno

Resumo:

A utilização de baculovírus como inseticida biológico é considerado atualmente não mais uma simples tática alternativa no controle de pragas agrícolas, mas sim uma ferramenta eficiente e sustentável utilizada contra pragas não controladas pelos métodos usuais. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar o uso do baculovírus *spodptera* SfMNPV-6nd no controle da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* no manejo integrado de pragas na cultura do milho transgênico Bt e não Bt. O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Edgardia, Botucatu - SP, em duas áreas com milho transgênico RR com expressão de proteína Bt e milho RR sem expressão da proteína. Os tratamentos foram testemunha sem aplicação de inseticida; aplicação de SfMNPV-6nd; inseticidas sintéticos clorantianiliprole e espinetoram; mistura de SfMNPV-6nd com dose reduzida de clorantianiliprole/espinetoram. Foram avaliadas a flutuação populacional de adultos de *S. frugiperda* em armadilhas com feromônios sexual; escala de notas de danos em espigas verdes de milho; presença de lagartas de *S. frugiperda* e *Helicoverpa zea* nas espigas verdes; produção total de grãos (kg), produtividade (kg/ha), peso de mil grãos (g) e sacas (60kg/ha) para os em teste. A presença da praga *S. frugiperda* foi acima do nível de ação durante todo o período de amostragem. Foram realizadas ao todo quatro pulverizações que resultou em diferenças de produção somente entre os tratamentos e a testemunha, ou seja, sem diferenças entre os tratamentos em ambas as áreas (Bt e não Bt). Não houve diferenças na escala de notas de danos nas espigas verdes de milho e na presença de lagartas de *H. zea* (Bt e não Bt). A presença de *S. frugiperda* nas espigas de milho verde nas plantas não Bt e Bt apresentaram diferenças entre os tratamentos, onde as plantas aplicadas com somente SfMNPV-6nd apresentaram os maiores valores de lagartas encontradas. A utilização de baculovírus *spodoptera* com ou sem mistura com inseticidas sintéticos contribuem no controle de *S. frugiperda* em plantas de milho Bt e não Bt.

Palavras-chave: SfMNPV-6nd. Transgênicos. Manejo de inseticidas.

3.1 INTRODUÇÃO

A utilização de novas táticas no controle de pragas agrícolas é o caminho que muitos agricultores estão buscando devido a ineficácia dos velhos métodos de controle de insetos. O uso de baculovírus, inseticidas biológicos, no combate de pragas não é uma técnica nova, foi utilizada no Brasil em larga escala no controle de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja (MOSCARDI et al., 2011). Contudo com o surgimento de outras moléculas sintéticas e a mudança do panorama da importância dessa praga se reduziu drasticamente a utilização desse tipo de inseticida biológico em campo.

O uso de baculovírus está crescente novamente devido à dificuldade encontrada pelos produtores agrícolas no controle de insetos-praga, por causa principalmente das lagartas resistentes a inseticidas sintéticos e a plantas transgênicas (Bt) como a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (ALMEIDA et al., 2017; HORIKOSHI et al., 2016). A lagarta-do-cartucho é praga primária encontrada em diversas culturas sendo na cultura do milho (*Zea mays* L.) onde resulta em maiores perdas produtivas (CRUZ, 2008). O controle dessa lagarta no milho é dificultado devido à resistência que essa praga adquire à inseticidas mal manejados e sistemas mal dimensionados (plantas transgênicas).

A utilização de baculovírus no controle de lagartas é uma ferramenta promissora no manejo da *S. frugiperda*. O baculovírus *spodoptera*, SfMNPV-6nd, é um inseticida biológico registrado no Brasil utilizado no controle de lagartas do gênero *Spodoptera* (AGROFIT, 2020). O baculovírus apresenta modo de ação via oral que resulta em septicemia nas lagartas, apresenta alta especificidade e rápida epizootia em campo (VIEIRA et al., 2012).

As lagartas são pragas-chave no milho, pois atacam diretamente e indiretamente as sementes e as folhas, respectivamente (GALLO et al., 2002). O conjunto de técnicas necessárias no controle de *S. frugiperda* são englobadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Dentre as principais táticas utilizadas no MIP, o uso de defensivos químicos é a prática mais utilizada, contudo o uso de agentes de controle biológico também é eficiente.

Devido à sua especificidade, os baculovírus eliminam somente a praga alvo preservando outros insetos não alvos. Esses insetos não alvos são outras pragas e também inimigos naturais de pragas. O equilíbrio ecológico é quando os níveis populacionais de pragas são mantidos baixos graças as medidas de controle (inseticidas) e também pela ação dos inimigos naturais sobre as pragas. Assim, mesmo que o baculovírus *spodoptera* não controle outras pragas presentes na área onde foi aplicado, a preservação dos insetos benéficos (inimigos naturais) pode auxiliar tanto o controle da *S. frugiperda* como também de outras pragas como a *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae), responsável por danos as espigas de milho.

Outros fatores também destacam o potencial do baculovírus *spodoptera* como não apresentar toxidez humana e animal (PAYNE, 1986; MONOBRULLAH; NAGATA, 1999) ainda, a praticidade de poder-lo utilizar nos mesmos pulverizadores agrícolas que aplicam os inseticidas sintéticos.

No manejo integrado de pragas a utilização de monitoramento dos insetos em campo é primordial para a efetividade da medida de controle das pragas. Com a utilização do baculovírus *spodoptera* o melhor momento é quando as lagartas são de tamanho menor, pois a eficiência do produto é maior em lagartas até o terceiro instar (1,5 cm de comprimento) e menos eficiente em lagartas maiores. A utilização da mistura de baculovírus com inseticidas sintéticos pode ser utilizado quando os níveis populacionais de lagartas estão altos e quando há lagartas de diferentes tamanhos (MOSCARDI; SOSA-GÓMEZ, 1992).

Contudo, se não utilizados de modo criterioso e científico quanto ao momento de aplicação (amostragem) e a compatibilidade com outros inseticidas (para controle de diferentes faixas etárias de lagartas) o uso do baculovírus pode não demonstrar o potencial benéfico no controle da lagarta-do-cartucho. Assim o presente trabalho teve como objetivo estudar o manejo de baculovírus e/com inseticidas sintéticos no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho com transgenia Bt e não Bt.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Características da área

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Edgardia das Fazendas de Ensino, Pesquisa e Extensão – FEPE, da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Campus de Botucatu - SP.

Foram utilizadas duas áreas com a semeadura de sementes de milho (2b587) RR sem transgenia para *Bacillus thuringiensis* (nBt) e sementes de milho (2a521) RR com transgenia para *Bacillus thuringiensis* (Bt) distanciadas em 100 metros. A semeadura foi realizada em 22 de novembro de 2018 e a colheita foi em 30 de março de 2019. Ambas as áreas foram semeadas em espaçamento de 0,85 entre linhas com parcelas de 5 metros x 5 metros, totalizando 20 parcelas por área.

O solo das áreas é do tipo latossolo vermelho distroférico de textura médio/argilosa, sistema de plantio convencional. A área apresenta histórico de plantio de milho em primeira safra anualmente. A adubação de semeadura e de cobertura seguiu recomendação para a cultura do milho, com utilização do formulado NPK (8-28-16) e ureia de cobertura (120 kg/ha) em ambas as áreas (nBt e Bt).

3.2.2 Flutuação populacional da praga

Para o monitoramento da praga *S. frugiperda* foi utilizado uma unidade da armadilha do tipo delta com folha adesiva para apreensão e feromônios sexual para atração de adultos dessa praga. O raio de cobertura da armadilha de feromônios é de cinco hectares. O nível de ação utilizado foi de três adultos coletados na armadilha (CRUZ, 2012). As avaliações da armadilha ocorriam uma vez por semana, como também a troca da folha adesiva, e caso o nível de ação fosse atingido, a aplicação era realizada ao entardecer (depois das 17 horas) do mesmo dia.

Os dados meteorológicos como temperatura média e índice pluviométrico foram coletados durante o período de avaliação da armadilha de feromônios através da estação meteorológica da Universidade. Esses dados são determinantes no desenvolvimento da *S. frugiperda* desde a eclosão até a emergência dos insetos. A flutuação populacional de adultos da lagarta-do-cartucho, temperatura e índice pluviométrico estão presentes na figura 1.

Foram utilizados em cada área (nBt e Bt) quatro tratamentos e cinco repetições, sendo a testemunha sem pulverização de nenhum produto, o tratamento com somente SfMNPV-6nd, o tratamento com inseticidas sintéticos (clorantraniliprole nas três

primeiras pulverizações e o espinetoram na última pulverização) e o tratamento com a mistura do SfMNPV-6nd com 1/6 da dose do inseticida sintético utilizado no mesmo momento em que foi utilizado no tratamento anterior (cinco repetições em cada tratamento).

3.2.3 Produtos e aplicações

Os produtos utilizados foram um inseticida biológico baculovírus de multi-poliedrose para a lagarta *S. frugiperda* (SfMNPV-6nd, 50 gramas por hectare) com quatro pulverizações ao longo do ciclo em ambas as áreas (nBt e Bt), dois inseticidas sintéticos, sendo o clorantraniliprole com 200 g/l de ingrediente ativo (i.a.) e dose de 125 ml/ha do produto com três pulverizações em ambas as áreas (nBt e Bt) e o espinetoram com 120 g/l (i.a.) e dose de 100 ml/ha do produto em somente uma pulverização. A janela de aplicação dos produtos foi da emergência das plantas até a polinização (estádio V1 até R2). Os produtos utilizaram um volume de calda de pulverização de 110 l/ha e a escolha das doses seguiu orientação dos fabricantes decorrente de alta infestação da praga nas áreas.

O pulverizador utilizado foi costal pressurizado por CO₂ e equipado com barra de 2 metros, quatro pontas de jato plano (120° de ângulo de pulverização) espaçadas a 0,50 cm e na pressão de 30 psi (207 kPa) para proporcionar o volume de calda de 110 L/ha. Todos os tratamentos receberam junto à calda de pulverização o surfatante alquil fenol etoxilado na concentração de 0,5 % do volume de calda para melhor cobertura dos produtos sobre as folhas de milho. Esse surfatante não apresenta ação inseticida em sua formulação.

3.2.4 Análise nas espigas verdes

Foram coletadas cinco espigas (estágio grão pastoso R3) por repetição em cada tratamento e em cada área (nBt e Bt). As áreas são distintas e não foram comparadas. As avaliações eram compostas pela escala de notas de Widstrom (1967) onde nota 0 representa a espiga onde não existe a presença de *H. zea*, nota 1, o inseto penetrou na espiga comendo o estilograma sem atingir a ponta do sabugo; nota 2, o inseto penetrou até o sabugo não se aprofundando mais que 1 cm; nota 3, o inseto

penetrou mais que 1 cm; a classe de nota é acrescida de uma unidade para cada centímetro adicional.

As avaliações foram realizadas em ambas as áreas, com distinção de ambas, a observação da presença e a quantidade de lagartas de *S. frugiperda* nas espigas em estágio reprodutivo R3 (grão pastoso) do milho e a presença e a quantidade de lagartas *H. zea*. Os dados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (F) ou Kruskal-Wallis (H). As notas de espigas e quantidade de *H. zea* nas espigas nBt e Bt (F) foram avaliadas pelos testes de Tukey ($p \leq 0,05$), a quantidade de lagartas de *S. frugiperda* nas espigas nBt e Bt (H) foram avaliadas pelo teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

3.2.5 Análise nos grãos secos

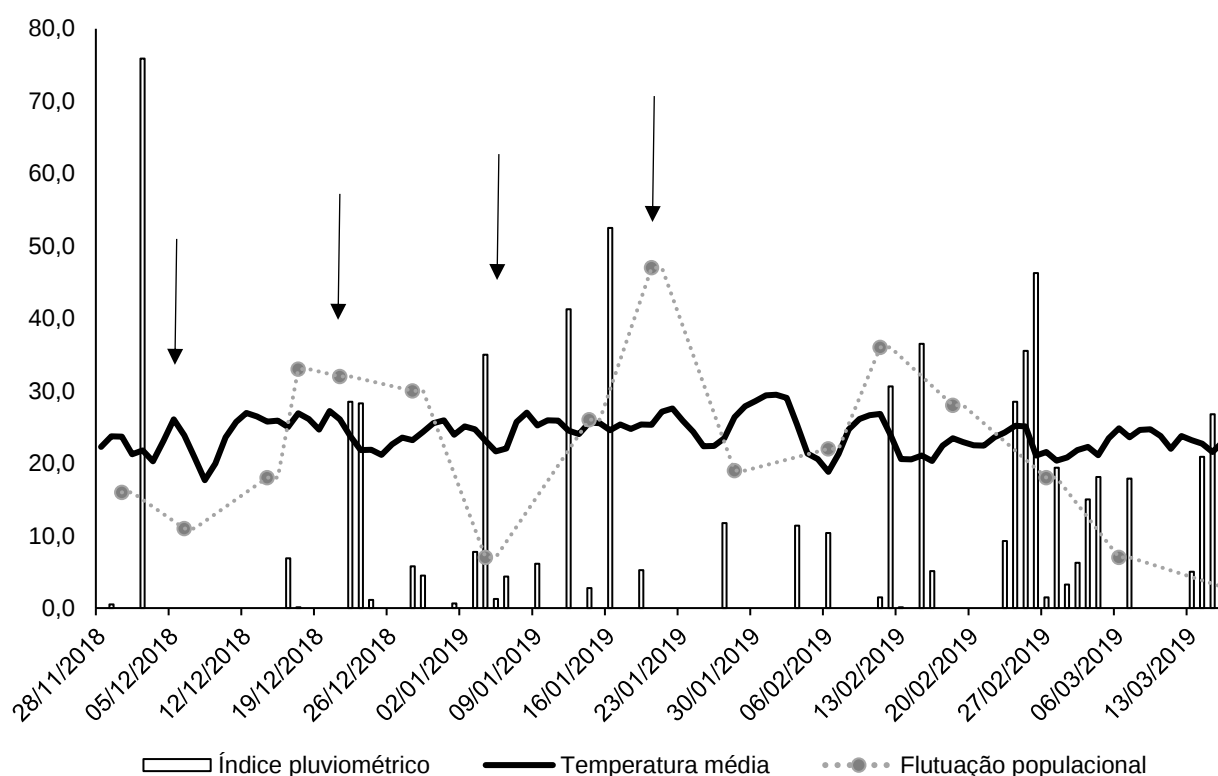
Amostras foram coletadas em um metro linear de plantas por repetição em cada tratamento nas duas áreas nBt e Bt. As avaliações de produção foram distintas entre uma área e outra. As plantas estavam em maturação fisiológica (R6), as espigas amostradas foram trilhadas (sementes retirada do sabugo), os grãos de milho foram alocados em sacos de papel e levadas para secagem em estufa, com fluxo de ar, na temperatura de 60 °C por cinco horas até alcançar a umidade de 13% nos grãos. Após a secagem, os grãos foram pesados em balança semi-analítica, os valores do peso de cada repetição foram corrigidos para se obter a estimativa de produção (kg) e da produtividade (kg/ha), considerando 1 ha = 11.764,7 metros lineares, no espaçamento de 0,85 m.

Após a obtenção da produtividade (kg/ha) os valores dos tratamentos foram corrigidos para obtenção dos valores de sacas de milho (60 kg), em cada tratamento nas áreas nBt e Bt. Os grãos de cada tratamento e de cada área (nBt e Bt) também foram utilizados na análise de peso de mil grãos, os quais foram contados e pesados em balança semi-analítica.

Os dados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (F) ou Kruskal-Wallis (H). As produções por hectare, sacas e peso de mil grãos da área Bt (F) foram avaliadas pelos testes de Tukey ($p \leq 0,05$)

enquanto na área nBt a produção, sacas e peso de mil grãos (H) foram avaliadas pelo teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Figura 1 - Flutuação populacional de adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) coletados em armadilha do tipo delta com feromônios sexuais, instalada na semeadura das plantas de milho transgênico RR com expressão (Bt) e sem (nBt) de proteínas (*Bacillus thuringiensis*)



Temperatura média (°C) e índice pluviométrico durante o período amostrado de adultos de *S. frugiperda* coletadas em armadilhas de feromônio do tipo delta. Setas indicam pulverizações realizadas (quatro pulverizações) em intervalos de 14 dias entre cada pulverização, respeitando o intervalo de aplicação dos produtos. Nível de ação de três mariposas/semana nas armadilhas delta com feromônios sexual. Semeadura das plantas de milho nBt e Bt 22/11/2018 e colheita em 30/03/2019.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Área de milho sem tecnologia Bt

3.3.1.1 Análise nas espigas verdes

Na escala de notas de danos da *H. zea* encontradas nas espigas de milho em R4 (grão pastoso) não houve diferença entre os tratamentos (F:2,29; p:0,11). A testemunha apresentou nota 7, o tratamento SfMNPV-6nd sozinho a nota foi 7,64, o tratamento sintético a nota foi 5,12 e o tratamento SfMNPV-6nd com sintético a nota foi 6,6 (Figura 2).

A presença de lagartas de *S. frugiperda* no momento da avaliação das espigas verdes apresentou diferenças (H:11,79; p:0,01). A testemunha, tratamento com inseticida sintético e tratamento SfMNPV-6nd com sintético apresentaram ambas em média 0,2 lagartas por espigas sendo os tratamentos com menor índice, enquanto o tratamento com somente SfMNPV-6nd apresentou a maior média de lagartas-do-cartucho, com três lagartas (Figura 2).

A presença de lagartas *H. zea* no momento da avaliação das espigas verdes não apresentou diferenças (F:1,41; p:0,27). A testemunha apresentou 1,2 lagartas, o tratamento SfMNPV-6nd com 1,8 lagartas, o tratamento sintético com 2 lagartas e SfMNPV-6nd com sintético apresentou 2,6 lagartas em média (Figura 2).

3.3.1.2 Análise nos grãos secos

A produção apresentou diferenças (H:11,43; p:0,01). A testemunha foi a menor produtividade entre os tratamentos com 5675,1 kg/ha, o tratamento SfMNPV-6nd (7526,8 kg/ha); sintético (7913,3 kg/ha) e SfMNPV-6nd com sintético (8089,7 kg/ha) apresentaram ambos os maiores valores de produtividade de milho (Figura 3).

A quantidade de sacas (60 kg) apresentou diferenças (H:11,43; p:0,01). A testemunha foi a menor quantidade de sacas com 94,5. Os tratamentos SfMNPV-6nd (125,4 sacas); sintético (131,8 sacas) e SfMNPV-6nd com sintético (134,8 sacas) apresentaram ambos os maiores valores de sacas de milho (Figura 3).

O peso de mil grãos também apresentou diferenças (H:11,67; p:0,01). A testemunha com o menor valor de peso (298,88 g) e os tratamentos SfMNPV-6nd (339,09 g), sintético (343,09 g) e SfMNPV-6nd com sintético (348,8 g) apresentaram ambos os maiores valores de peso de mil grãos (Figura 3).

3.3.2 Área de milho com tecnologia Bt

3.3.2.1 Análise nas espigas verdes

A escala de notas de danos da *H. zea* encontradas nas espigas de milho em R4 não houve diferença entre os tratamentos (F:0,16; p:0,91). A testemunha apresentou nota 4,64; o tratamento SfMNPV-6nd sozinho a nota foi 3,68; o tratamento sintético a nota foi 4,28 e o tratamento SfMNPV-6nd com sintético a nota foi 4 (Figura 2).

Na avaliação da presença de lagartas *S. frugiperda* no momento da avaliação das espigas verdes apresentou diferenças (H:9,13; p:0,03). A testemunha apresentou 0,6 lagartas, o tratamento com SfMNPV-6nd com maior número de lagartas 0,8 e o tratamento sintético e mistura SfMNPV-6nd com sintético ambos os menores índices com zero lagartas (Figura 2).

A presença de lagartas *H. zea* no momento da avaliação das espigas verdes não apresentou diferenças (F:0,22; p:0,87). A testemunha e o tratamento SfMNPV-6nd apresentaram ambas com 2,4 lagartas, o tratamento sintético com 2 lagartas e SfMNPV-6nd com sintético apresentou 2,8 lagartas em média (Figura 2).

3.3.2.2 Análise nos grãos secos

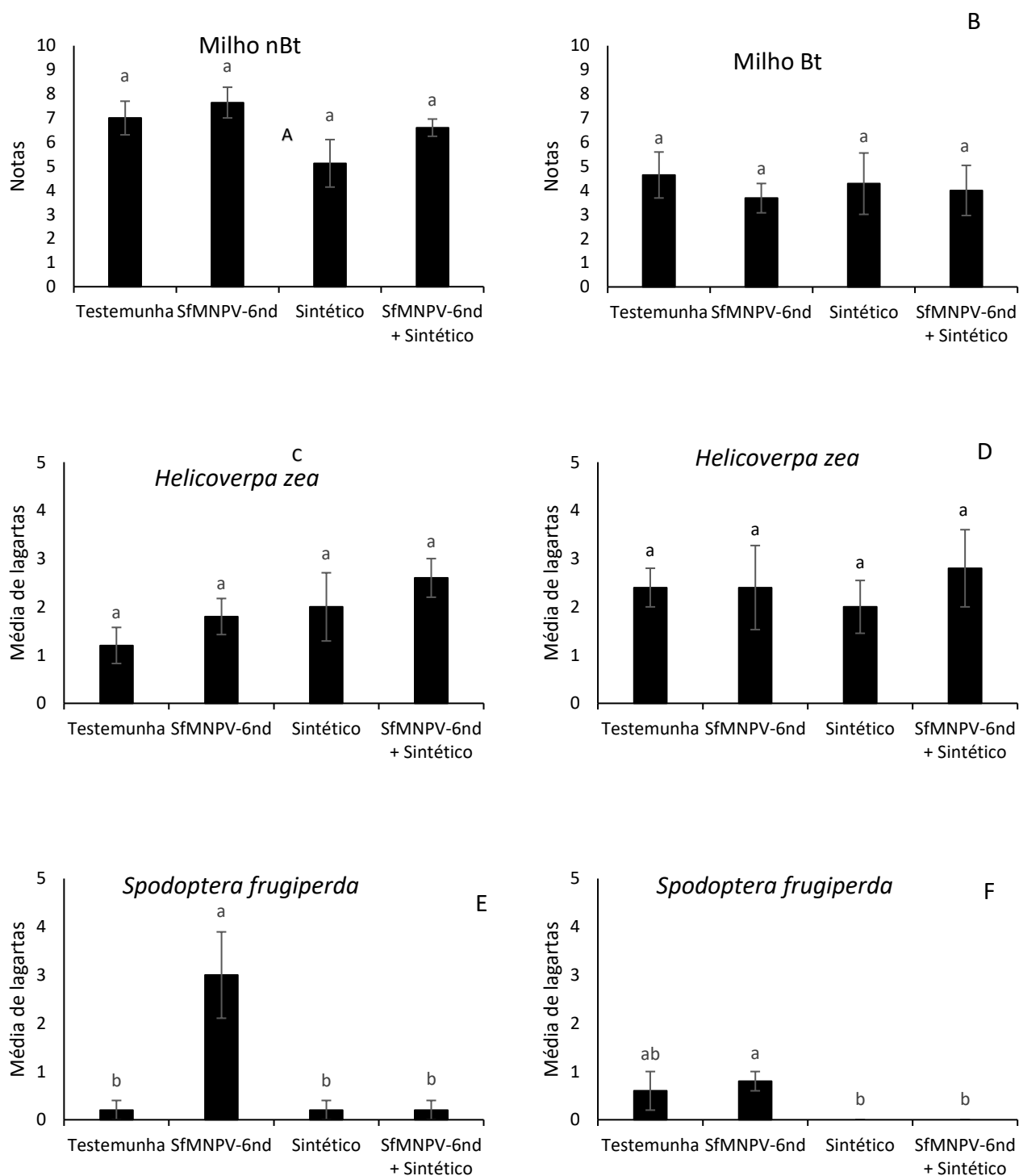
Na produção de grãos secos houve diferenças (F:8,2; p:0,001). A testemunha foi a menor produtividade entre os tratamentos (1752,1 kg/ha) e os tratamento SfMNPV-6nd (3467 kg/ha), sintético (3458,6 kg/ha) e SfMNPV-6nd com sintético (3505,4 kg/ha) apresentaram ambos os maiores valores de produtividade de milho, (Figura 3).

A quantidade de sacas (60 kg) apresentou diferenças (F:8,2; p:0,001). A testemunha foi a menor quantidade de sacas com 29,2; os tratamentos SfMNPV-6nd

(57,78 sacas), sintético (57,64 sacas) e SfMNPV-6nd com sintético (58,42 sacas) apresentaram ambos os maiores valores de sacas de milho, (Figura 3).

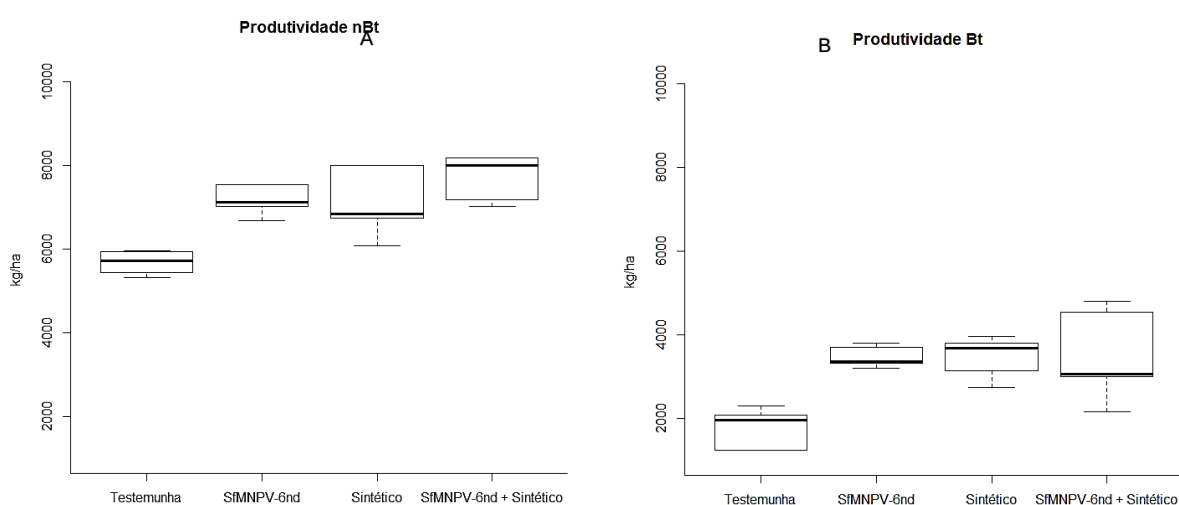
O peso de mil grãos também apresentou diferenças ($F:6,6$; $p:0,008$). A testemunha com o menor valor de peso (168,32 g) e os tratamentos SfMNPV-6nd (289,96 g), sintético (290,6 g) e SfMNPV-6nd com sintético (295,68 g) apresentaram ambos os maiores valores de peso de mil grãos em gramas (Figura 3).

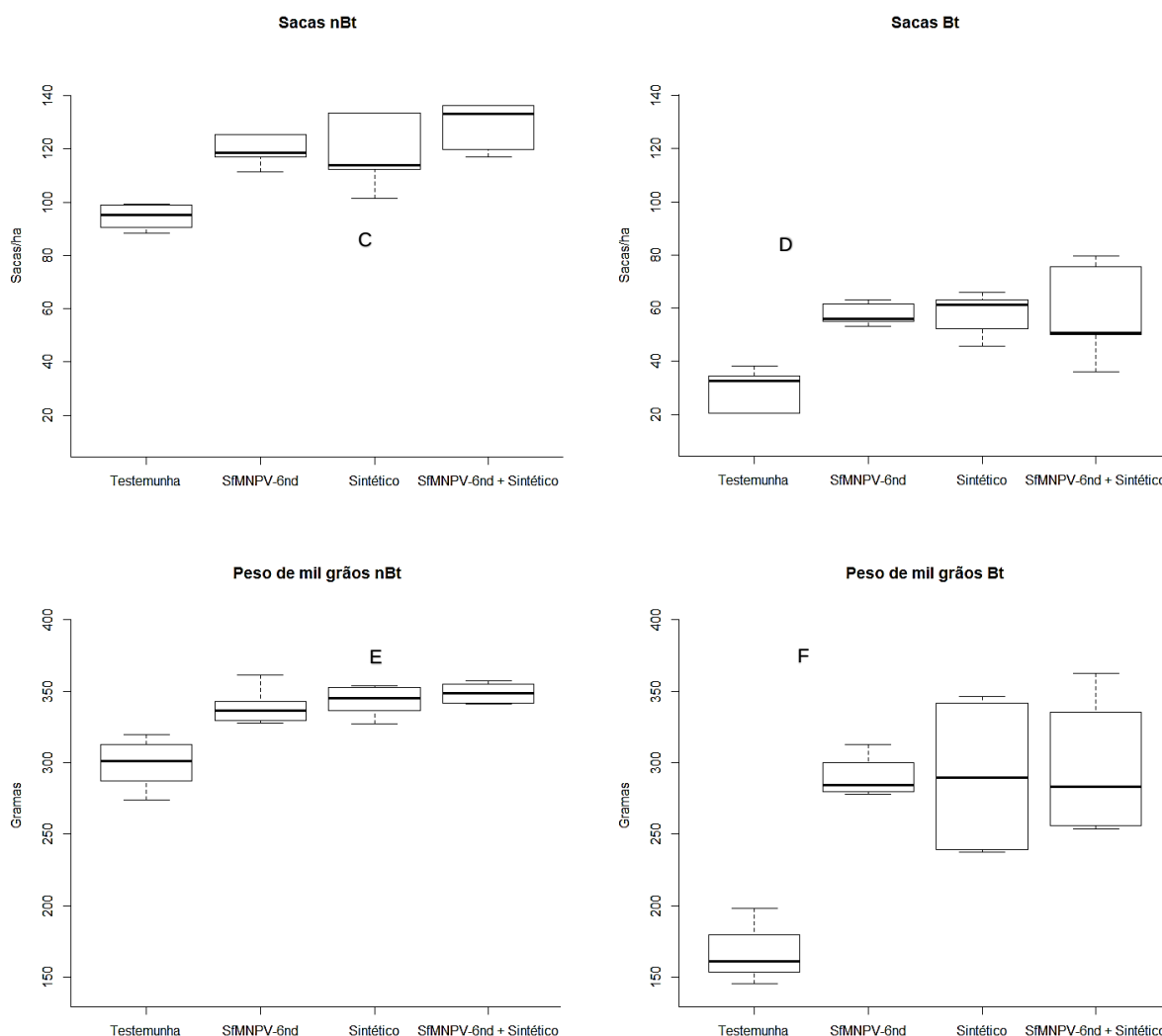
Figura 2 – Médias de notas de danos em espigas de milho (*Zea mays* L.) transgênico RR com expressão (Bt) e sem (nBt) de proteínas (*Bacillus thuringiensis*), médias de lagartas de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) presentes em espigas de milho verde Bt e não Bt



Escala de notas de danos em espigas de milho verde (R3) de plantas transgênicas RR sem expressão de proteínas Bt (A) e com expressão de proteínas Bt (B). Número médio de lagartas de *Helicoverpa zea* encontradas nas espigas verdes de milho (R3) transgênicos RR sem expressão de proteínas Bt (C) e com expressão de proteínas Bt (D). Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* encontradas nas espigas verdes de milho (R3) transgênicos RR sem expressão de proteínas Bt (E) e com expressão de proteínas Bt (F). Os tratamentos são testemunha sem aplicação, SfMNPV-6nd aplicação de baculovírus *spodoptera*, sintético com aplicações de clorantraniliprole/espinetoram e SfMNPV-6nd + sintético (mistura de 1/6 de clorantraniliprole/espinetoram com baculovírus). Tratamentos seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente. As notas de espigas e quantidade de *H. zea* nas espigas nBt e Bt foram avaliadas pelos testes de Tukey ($p \leq 0,05$), a quantidade de lagartas de *S. frugiperda* nas espigas nBt e Bt (H) foram avaliadas pelo teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

Figura 3 – Médias de produtividade, sacas e peso de mil grãos de milho (*Zea mays* L.) transgênico RR com expressão (Bt) e sem (nBt) de proteínas (*Bacillus thuringiensis*)





Produtividade (kg/ha) de plantas transgênicas RR sem expressão de proteínas Bt (A) e com expressão de proteínas Bt (B). Número médio de sacas (60kg/ha) em plantas de milho transgênicos RR sem expressão de proteínas Bt (C) e com expressão de proteínas Bt (D). Peso médio de mil grãos de plantas de milho transgênicos RR sem expressão de proteínas Bt (E) e com expressão de proteínas Bt (F). Os tratamentos são testemunha sem aplicação, SfMNPV-6nd aplicação de baculovírus *spodoptera*, sintético com aplicações de clorantraniliprole/espinetoram e SfMNPV-6nd + sintético (mistura de 1/6 de clorantraniliprole/espinetoram com baculovírus). Os tratamentos não apresentaram diferenças entre si, somente entre tratamentos e testemunha (A, B, C, D, E, F). As produções por hectare, sacas e peso de mil grãos da área Bt (F) foram avaliadas pelos testes de Tukey ($p \leq 0,05$) enquanto na área nBt a produção, sacas e peso de mil grãos (H) foram avaliadas pelo teste de Dunn ($p \leq 0,05$).

3.4 DISCUSSÃO

A *S. frugiperda* nas plantas de milho é uma praga altamente voraz e de rápido crescimento atacando folhas e grãos em espigas sendo encontrada na maioria das áreas do Brasil causando altos danos na produção (BUSATO et al., 2005). Os atributos necessários para esse status são observados na sua biologia, no hábito alimentar, na resistência a inseticidas e em plantas transgênicas. Sistemas de cultivos mal manejados, ou seja, sem critérios técnicos/científicos na utilização e manejo dos inseticidas para o controle da lagarta-do-cartucho contribuem para o aumento de perdas devido ao uso exagerado de inseticidas, aplicações em momentos errados, doses maiores ou menores as recomendadas que tornam sua ação ineficaz e também geram perdas de produção agrícola.

No presente trabalho o manejo dos inseticidas foi realizado observando os casos existentes de resistência da *S. frugiperda* nas áreas experimentais e também os observados na literatura. O manejo das moléculas de clorantraniliprole e espinetoram, produtos sintéticos, e baculovírus *spodoptera* (SfMNPV-6nd), produto biológico, foi utilizado devido aos baixos índices de resistência da *S. frugiperda* observadas nesses produtos (IRAC, 2019).

Graças a isso os resultados de produtividade (kg/ha), produção (kg), sacas por hectare e peso de mil grãos observados nesse trabalho foram diferentes dos valores encontrados nas plantas testemunha (Bt e nBt). Os tratamentos diferiram da testemunha, sem aplicação, e apresentaram valores superiores as médias encontradas no levantamento de grãos da Conab, primeira safra, (2019) para cultura do milho (nBt). O peso de mil grãos, responsável por determinar a densidade dos grãos confirma os dados de produtividade, produção e sacas, onde as plantas que tiveram tratamento para o controle de *S. frugiperda* apresentaram densidades superiores aos grãos sem tratamento, testemunha.

Contudo, deve-se notar que nas áreas de milho Bt a produção foi baixa comparada à média nacional. Vários fatores podem estar relacionados a essa baixa produção, como baixo índice pluviométrico, falhas de semeadura, outras pragas e doenças. Mas nessa área, os tratamentos apresentaram diferenças quando comparadas à a testemunha, no que tange aos valores de produção como observado nas áreas nBt. Assim, pode-se comprovar que a baixa produção não estava

relacionada ao ataque da lagarta-do-cartucho, mas sim a outros fatores possíveis mencionados anteriormente.

A mistura de inseticidas sintéticos com baculovírus foi uma ferramenta utilizada no Brasil para potencializar o controle de pragas em altas infestações (MOSCARDI et al., 2011) e não afeta a atividade biológica do patógeno (JAQUES; MORRIS, 1981). Essa técnica é pouco utilizada ultimamente, contudo pode apresentar maiores níveis de controle quando as populações de lagartas apresentam tamanhos diferentes. O uso de inseticidas neurológicos em mistura com baculovírus, de ação no sistema digestivo, reduz o consumo foliar e potencializa o controle ao longo prazo de lagartas devido as epizootias desse patógeno na área (MÉNDEZ et al., 2002).

O isolado SfMNVP-6nd, produzido e registrado no Brasil, apresenta maior tempo letal, ou seja, o tempo que resulta na morte da lagarta comparado ao SfMNPV-19, um isolado desse mesmo vírus (baixa eficiência na produção massal “in vivo” devido a degradação da cutícula da lagarta morta) mas ambos apresentam níveis de mortalidade iguais (VIEIRA et al., 2012; VALICENTE et al., 2008). A partir disso, a utilização em mistura de SfMNPV-6nd com inseticida sintético neurológico poderia potencializar o uso desse baculovírus em campo, principalmente em altas infestações de lagarta-do-cartucho. Lembrando que as misturas de inseticidas de quaisquer tipos devem ser avaliadas quanto a sua sinergia, antagonismo e/ou efeito aditivo (TRISYONO; WHALON, 1999; HUMMELBRUNNER; ISMAN, 2001). Nesse estudo, porém não foi observado diferenças de produção e produtividade quando houve a mistura de clorantraniliprole/espinetoram com o SfMNPV-6nd comparado a produção nas plantas sem a mistura.

A utilização de produtos menos nocivos aos inimigos naturais e ao agrossistema contribui para o controle das pragas de maneira mais sustentável devido a conservação e o incremento da atividade desses inimigos naturais preservados, fazendo do manejo de inseticidas um elemento-chave da produção agrícola sustentável (EKSTRÖM; EKBOM, 2011).

A dinâmica dos fatores de mortalidade de *S. frugiperda* estão relacionados à inviabilidade, precipitação pluviométrica e a predação (VARELLA et al., 2015). Os índices pluviométricos contribuíram para a redução dos adultos coletados nas armadilhas de feromônios, onde após as chuvas a flutuação populacional de adultos era reduzida (Figura 1). Dentre os principais inimigos naturais das pragas encontrados nos agrossistemas são os parasitoides e os predadores. Para isso a escolha do

inseticida clorantianiliprole (diamidas) foi devido à baixa toxicidade a parasitoides e o inseticida espinetoram (spinosinas) à baixa toxicidade a predadores (AMARASEKARE et al., 2016; MILLS et al., 2016). Além disso são produtos recomendados no controle de *S. frugiperda* no Brasil (AGROFIT, 2020) e também não apresentam relatos de resistência a essa praga (IRAC, 2019).

Os resultados presentes nesse trabalho (produtividade, saca e peso de mil grãos) demonstraram que a utilização do manejo correto de inseticidas pode contribuir no controle da praga e possivelmente não afetar potencialmente o equilíbrio ecológico no agrossistema. Os valores de produção observados nos tratamentos sintéticos foram semelhantes aos valores de produção do tratamento com utilização somente de inseticida biológico, SfMNPV-6nd. A escolha de inseticidas sintéticos que não apresentam resistência a praga, com a utilização da dose correta, respeitando os intervalos de aplicação e também o número máximo de aplicações (por safra) de cada produto são benéficos e produtivos comparados a utilização de produtos biológicos.

Os inseticidas clorantianiliprole e espinetoram não apresentam registro para controle da lagarta-da-espiga *H. zea* (AGROFIT, 2020), mas os inimigos naturais preservados por inseticidas seletivos podem auxiliar no seu controle (ROUBOS et al., 2014). Contudo, os níveis populacionais de *H. zea* não tiveram efeito com a utilização desses produtos, pois a escala de notas e a presença dessa lagarta nas espigas foi igual em todos os tratamentos e na testemunha. Provavelmente, a preservação e ação dos inimigos naturais não foram suficientes para se observar diferenças entre os tratamentos e testemunha, outra hipótese seria devido ao ciclo de vida dessa praga, onde maior parte do seu desenvolvimento larval ocorre dentro da espiga do milho (GRÜTZMACHER et al. 2000), conferindo proteção aos inimigos naturais (CRUZ; MONTEIRO, 2004).

A lagarta-do-cartucho apresenta hábito alimentar nas folhas do milho e também nos grãos da espiga (GRÜTZMACHER et al. 2000). Foi observado no presente estudo que nas plantas de milho nBt pulverizadas com somente SfMNPV-6nd houve um maior ataque e presença de *S. frugiperda* nas espigas de milho, comparadas aos demais tratamentos (Figura 2). Esse fato também foi observado em plantas de milho Bt, onde as espigas dos tratamentos SfMNPV-6nd e testemunha apresentaram as maiores presenças de lagarta-do-cartucho comparadas aos demais tratamentos, contudo em menor escala comparada as plantas nBt.

Uma hipótese é que nas plantas nBt e Bt a pulverização final do baculovírus *spodoptera*, foi realizada quando a planta finalizava o período de polinização (R5) não sendo suficiente para depositar quantidade necessária do vírus sobre folhas da espiga do milho devido a aplicação ter sido direcionada a parte superior da planta, o que resultou em baixo contato do produto (SfMNPV-6nd) nas lagartas que se movimentaram ou perfuraram as folhas da espiga.

Contudo, em valores de produção de grãos a maior presença de lagartas-do-cartucho nas espigas não refletiu em menor produtividade no tratamento com somente SfMNPV-6nd nas áreas nBt e Bt. A presença observada de *S. frugiperda* nas espigas de milho Bt dos tratamentos SfMNPV-6nd e testemunha podem estar relacionadas a não expressão de genes Bt que ocorre quando plantas transgênicas de milho estão sob estresse hídrico (DONG; LI, 2007). Outra hipótese seria a incompatibilidade entre as partículas virais do baculovírus em aplicação isolada em plantas que expressam proteínas inseticidas Cry resultando em ineficiência da ação da mistura dos produtos devido a competição entre esses inseticidas biológicos nas células internas da lagarta-do-cartucho (BERNARDI et al., 2014).

A utilização de baculovírus *spodoptera* é uma ótima ferramenta do manejo integrado de pragas, contudo é extremamente importante a realização do controle no momento inicial de infestação das lagartas nas plantas hospedeiras. A fase larval com lagartas pequenas (<1,5 cm) é o melhor alvo para medidas de controle, porque um maior efeito populacional pode ser alcançado com um pequeno incremento de mortalidade (VARELLA et al., 2015) onde a máxima eficiência do baculovírus *spodoptera* é corroborada com menores perdas foliares causadas por lagartas menores, recém eclodidas, que são eliminadas antes de causar altos danos as plantas.

3.5 CONCLUSÃO

- O uso do baculovírus *spodoptera* SfMNPV-6nd não afeta a quantidade presente de lagartas e o dano causado pela *Helicoverpa zea* nas espigas verdes (R3) em milho transgênico RR com e sem expressão de proteína Bt;

- O uso de baculovírus *spodoptera* SfMNPV-6nd reduz perdas de produção de grãos em plantas milho transgênico RR com expressão de proteína Bt e sem expressão de proteína Bt causadas pelas lagartas de *Spodoptera frugiperda*;
- A mistura de baculovírus *spodoptera* SfMNPV-6nd com inseticidas sintéticos clorraniliprole e espinetoram não diferiram da aplicação desse vírus isolado na produção de grãos;

Referências bibliográficas

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2020. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 14 fev. 2020.

ALMEIDA, L. G.; MORAES, L. A. B.; TRIGO, J. R.; OMOTO, C.; CÔNSOLI, F. L. The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: A potential source for biotechnological exploitation. **Plos One**, v. 12, n. 3, e0174754. 2017. DOI: doi.org/10.1371/journal.pone.0174754

AMARASEKARE, K. G.; SHEARER, P. W.; MILLS, N. J. Testing the selectivity of pesticide effects on natural enemies in laboratory bioassays. **Biological Control**, v. 102, p. 7-16. 2016. DOI: doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.015

BERNARDI, O.; SORGATTO, R. J.; BARBOSA, A. D.; DOMINGUES, F. A.; DOURADO, P. M., CARVALHO, R. A.; OMOTO, C. Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection**, v. 58, p. 33-40. 2014. DOI: doi.org/10.1016/j.cropro.2014.01.001

BUSATO, G. R.; GRÜTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; STEFANELLO JÚNIOR, G. Biologia comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 743-750. 2005.

CRUZ, I.; MONTEIRO, M. A. R. **Controle biológico da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum***. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 4p. (Comunicado Técnico 98) (2004).

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; SILVA, R. B.; SILVA, I. F.; PAULA, C.; FOSTER, J. Using sex pheromone traps in the decision-making process for chemical application against *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in maize. **International Journal of Pest Management**, v. 58, n. 1, p. 83-90. 2012. DOI: [10.1080/09670874.2012.655702](https://doi.org/10.1080/09670874.2012.655702)

CRUZ I. Manejo de pragas da cultura do milho. In: GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. **Tecnologias de produção do milho**. Viçosa: UFV, p. 311–366. 2008.

DONG, H. Z.; LI, W. J. Variability of endotoxin expression in Bt transgenic cotton. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 193, n. 1, p. 21–29. 2007. DOI: doi.org/10.1111/j.1439-037X.2006.00240.x

EKSTRÖM, G.; EKBOM, B. Pest control in afro-ecosystems: an ecological approach. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 30, p. 74-94. 2011. DOI: doi.org/10.1080/07352689.2011.554354

GRÜTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. S. & DA CUNHA, U. S. Insetos-pragas das culturas do milho e sorgo no agroecossistema de várzea. In: PARFITT, J. M. B (Coord.). **Produção de milho e sorgo em várzea**. Brasília: Embrapa, 2000. p. 87-102.

HORIKOSHI, R. J.; BERNARDI, D.; BERNARDI, O.; MALAQUIAS, J. B.; OKUMA, D. M.; MIRALDO, L. L.; AMARAL, F. S. A.; OMOTO, C. Effective dominance of resistance of *Spodoptera frugiperda* to Bt maize and cotton varieties: implications for resistance management. **Scientific Reports**, 6, 34864. 2016. DOI: 10.1038/srep34864

HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 715-720. 2001. DOI: 10.1021/jf000749t

IRAC. Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Inseticidas. Disponível em: <<https://www.irac-br.org/>>. Acesso em: 14 de set. 2019.

JAQUES, R. P.; MORRIS, O. N. Compatibility of pathogens with other methods of pest control and with different crops, p. 695-715. In: BURGESS, H. D. (eds.). **Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980**. New York, Academic Press, 1981. 949 p.

MÉNDEZ, W. A.; VALLE, J.; IBARRA, J. E.; CISNEROS, J.; PENAGOS, D. I.; WILLIAMS, T. Spinosad and nucleopolyhedrovirus mixtures for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. **Biological Control**, v. 25, p. 195-206. 2002. DOI: 10.1016/S1049-9644(02)00058-0

MILLS, N. J.; BEERS, E. H.; SHEARER, P. W.; UNRUH, T. R.; AMARESEKARE, K. G. Comparative analysis of pesticide effects on natural enemies in western orchards: a synthesis of laboratory bioassay data. **Biological Control**, v. 102, p. 17–25. 2016. DOI: doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.05.006

MONOBRULLAH, M.; NAGATA, M. Immunity of lepidopteran insects against baculoviruses. **Journal of the Entomological Research**, v. 23, p. 185-194. 1999.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. de; CASTRO, M. E. B. de; MOSCARDI, L. M.; SZEWCZYK, B. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: AHMAD, I.; AHMAD, F.; PICHTEL, P. (Ed.). **Microbes and microbial technology**. New York: Springer, 2011. p. 415-445. DOI: 10.1007/978-1-4419-7931-5_16

MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil, p. 98-109. In: COPPING, I. G.; GREEN, M. B.; RESS, R. T. (eds.). **Pest management in soybean**. London, Elsevier Applied Science, 1992. p 98-109.

PAYNE, C. C. Insect pathogenic viruses as pest control agents. **Fortschritteder Zoologie**, v. 32, p. 183-200. 1986.

ROUBOS, C. R.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; ISAACS, R. Mitigating the effects of insecticides on arthropod biological control at field and landscape scales. **Biological Control**, v. 75, p. 28-38. 2014. DOI: doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.01.006

TRISYONO, A.; WHALON, M. E. Toxicity of neem applied alone and in combinations with *Bacillus thuringiensis* to colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 92, p. 1281-1288. 1999. DOI: doi.org/10.1093/jee/92.6.1281

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S.; PAIVA, C. E. C.; GUIARÃES, M. R. F.; MACEDO, C. V.; WOLFF, L. C. A new baculovirus isolate that does not cause the liquefaction of the integument in *Spodoptera frugiperda* dead larvae. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 7, n. 1, p. 77-82. 2008.

VARELLA, A. C.; MENEZES-NETO, A. C.; ALONSO, J. D. S.; CAIXETA, D. F.; PETERSON, R. K. D.; FERNANDES, O. A. Mortality dynamics of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) immatures in maize. **Plos One**, v. 10, n. 6, e0130437. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0130437

VIEIRA, C. M.; TUELHER, E. S.; VALICENTE, F. H.; WOLFF, J. L. C. Characterization of a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolate that does not liquefy the integument of infected larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 111, p. 189-192. 2012. DOI: doi.org/10.1016/j.jip.2012.07.010

WIDSTROM, N. W. An evaluation of methods for measuring corn earworm injury. **Journal of Economic Entomology**, v. 60, p. 791-794. 1967.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A utilização de marcadores azul alimentício e oxicloreto de cobre apresentam compatibilidade, ou seja, não interfere as características físicas e químicas do SfMNPV-6nd;
- A utilização de surfatantes polimetil siloxano organomodificado e alquil fenol etoxilado apresentam compatibilidade (não afeta características físicas e químicas da solução) e potencializam ação do SfMNPV-6nd;
- A mistura de alquil fenol etoxilado, oxicloreto de cobre e SfMNPV-6nd pode ser utilizada em estudos com tecnologia de aplicação no controle de *Spodoptera frugiperda*;
- O pH da solução de alquil fenóis etoxilado, oxicloreto de cobre, SfMNPV-6nd e água apresentam estabilidade na calda de pulverização por período de seis horas;
- A utilização de pontas de pulverização de jato plano e cônico vazio na produção de gotas finas são recomendadas na aplicação de baculovírus *spodoptera* em milho no controle de *Spodoptera frugiperda*;
- O baculovírus SfMNPV-6nd é recomendado para o controle de *Spodoptera frugiperda* em plantas de milho transgênico RR com e sem expressão de proteínas Bt;

REFERÊNCIAS

- ANTUNIASI, U.R.; BOLLER, W. **Tecnologia de aplicação para cultura anuais**. Botucatu: FEPAF, 2011. 279p.
- BALOGH, M. N.; FAN, J.; HASEEB, M.; ZHANG, R. Mapping Potential Distribution of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Central Asia. **Insects**, v. 11, p. 1-10. 2020. DOI:doi.org/10.3390/insects11030172
- CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, EMBRAPACNPMS. 1995. 45p. (Circular Técnica 21)
- MATUO, T. **Técnicas de aplicação de defensivos agrícolas**. Jaboticabal: Funep, 1990. 139 p.
- MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. A case study in biological control: soybean defoliating caterpillars in Brazil. In: BRUXON, D. R. et al. **International crop science I**. Madison: Crop Science Society of America, 1993. p. 115-119.
- POGUE, G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, Filadélfia, v. 43, p. 1–202. 2002.
- TAMBO, J. A.; DAY, R. K.; LAMONTAGNE-GODWIN, J.; SILVESTRI, SILVIA S.; BESEH, P. K.; OPPONG-MENSAH, B. Tackling fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) outbreak in Africa: an analysis of farmers' control actions. **International Journal of Pest Management**, v. 66, p. 298-310. 2020. DOI: doi.org/10.1080/09670874.2019.1646942
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. **Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus**. Sete Lagoa, Centro Nacional de Milho e Sorgo, Circular Técnica, v. 15. 1991. 23 p.