

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Dissertação

Efeitos letais e subletais de ChinNPV em *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)

João Pedro Escher

Pelotas, 2024

João Pedro Escher

Efeitos letais e subletais de ChinNPV em *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fitossanidade (Área de Conhecimento: Entomologia).

Orientador: Dr. Anderson Dionei Grützmacher

Coorientador: Dr. Daniel Bernardi

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

E74e Escher, João Pedro

Efeitos letais e subletais de ChinNPV em *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) [recurso eletrônico] / João Pedro Escher ; Anderson Dionei Grützmacher, Daniel Bernardi, orientadores. — Pelotas, 2024.

74 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Plusiinae. 2. Baculovírus. 3. Controle biológico. 4. Toxicidade. 5. Soja. I. Grützmacher, Anderson Dionei, orient. II. Bernardi, Daniel, orient. III. Título.

CDD 632.96

João Pedro Escher

Efeitos letais e subletais de ChinNPV em *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre(a) em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa:

01 de março de 2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Anderson Dionei Grützmacher (Orientador)

Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Daniel Bernardi

Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Dori Edson Nava

Doutor em Entomologia pela Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Jader Ribeiro Pinto

Doutor em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico esse trabalho a meus pais, João e Jacinta, por todo o apoio, incentivo, compreensão, ensinamentos e cuidados que tiveram por mim ao longo de minha trajetória.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me proporcionado força, saúde e sabedoria para passar por todos obstáculos nessa minha trajetória.

A toda minha família, em especial aos meus pais, que me deram educação, apoio, incentivo, sendo minha fortaleza nos momentos difíceis.

A cada professor que tive ao longo de minha vida, especialmente aos meus orientadores que me ajudaram na elaboração do trabalho e me deram todo o apoio necessário.

Aos meus amigos e colegas.

A todo o grupo do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LabMIP).

A Universidade Federal de Pelotas (UFPel), com destaque para a Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade (PPGFs) pela oportunidade e ensinamentos transmitidos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado.

Resumo

ESCHER, João Pedro. **Efeitos letais e subletais de ChinNPV em *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2024. 74 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Os efeitos do bioinseticida Chrysogen® (ChinNPV) na biologia de *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) são conhecidos. No entanto, para *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae), outra lagarta da subfamília Plusiinae, não há estudos testando essa espécie de vírus. A lagarta-falsa-medideira, *R. nu*, tem causado danos em lavouras de soja brasileiras, especialmente na região sul do país, sendo que ambas podem ocorrer em conjunto nos agroecossistemas e são muito semelhantes morfológicamente. Devido a isso, esse trabalho teve o objetivo de avaliar os efeitos letais e subletais de ChinNPV em *C. includens* e *R. nu*. Para isso, cubos de dieta artificial foram contaminados com seis diferentes concentrações do bioinseticida e fornecidos para neonatas dessas espécies. A partir disso, foi avaliado a sobrevivência, assim como os parâmetros de desenvolvimento, reprodução e crescimento populacional. Através dos resultados encontrados, Chrysogen® mostrou ser virulento para *R. nu* e *C. includens*. Além de causar a mortalidade de insetos, também apresentou efeitos subletais em ambas espécies. Nos estágios imaturos, ocorreu efeitos negativos no desenvolvimento larval, diminuindo o peso médio das lagartas e aumentando o intervalo de tempo necessário para os insetos chegarem à fase adulta. Em adultos, ChinNPV afetou principalmente a reprodução, diminuindo o período de oviposição e a fecundidade. Em adição a isso, subdoses acima de 50% da dose recomendada causaram um decréscimo populacional das pragas, diminuindo o número de gerações anuais e a proporção de fêmeas na população de insetos. Diante disso, é demonstrado que ChinNPV pode ser uma importante estratégia utilizada no manejo integrado e manejo de resistência de *C. includens* e *R. nu*.

Palavras-chave: Plusiinae; baculovírus; controle biológico; toxicidade; soja.

Abstract

ESCHER, João Pedro. **Lethal and sublethal effects of ChinNPV on *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) and *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2024. 74 p. Dissertation (Master's). Graduate Program in Phytosanitary. Federal University of Pelotas, Pelotas.

The effects of the bioinsecticide Chrysogen[®] (ChinNPV) on the biology of *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) are known. However, for *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae), another caterpillar of the subfamily Plusiinae, there are no studies testing this species of virus. The soybean looper, *R. nu*, has caused damage in Brazilian soybean crops, especially in the southern region of the country, both can occur together in agroecosystems and are morphologically very similar. Therefore, this work aimed to assess the lethal and sublethal effects of ChinNPV on both *C. includens* and *R. nu*. For this purpose, artificial diet cubes were contaminated with six different concentrations of the bioinsecticide and provided to neonates of these species. Subsequently, survival was evaluated, as well as the parameters of development, reproduction, and population growth. Based on the results, Chrysogen[®] proved to be virulent to *R. nu*, causing not only insect mortality but also sublethal effects. In immature stages, there was suppression of larval development, reducing the average weight of the caterpillars and increasing the time required for insects to reach the adult stage. In adults, ChinNPV mainly affected reproduction, reducing the oviposition period and female fecundity. In addition, subdoses above 50% of the recommended dose caused population suppression of the pest reducing the number of annual generations and the proportion of females in the insect population. Thus, it is shown that ChinNPV can be an important strategy used in the integrated management and resistance management of both *C. includens* and *R. nu*.

Keywords: Plusiinae; baculovirus; biological control; toxicity; soybean.

Lista de figuras

- Figura 1** Fases do desenvolvimento de *Chrysodeixis includens*, com destaque para a fase larval (A), pupal (B) e adulto (C). 18
- Figura 2** Face interna da mandíbula de lagartas de *Chrysodeixis includens* (A) e *Rachiplusia nu* (B), destacando os dentes internos..... 19
- Figura 3** Fases de desenvolvimento de *Rachiplusia nu* com destaque para a fase larval (A), pupal (B) e adulta (C). 20
- Figura 4** Sintoma da morte causada por baculovírus em lagartas pequenas (A), grandes (B) e detalhe da dissolução do tegumento larval (C). . 28
- Figura 5** Metodologia de criação de Plusiinae, com destaque para os tubos de vidro contendo as lagartas (A), recipiente de pupas (B) e gaiola de criação de adultos (C). 31
- Figura 6** Montagem do ensaio. Cubos de dieta (A) e tubos de vidro contendo a dieta contaminada juntamente com a lagarta Plusiinae (B)..... 32
- Figura 7** Vista frontal da balança (A) utilizada para pesar lagartas (B) e pupas (C) de Plusiinae..... 34
- Figura 8** Gaiolas de plástico contendo casais de *Rachiplusia nu* (A) e *Chrysodeixis includens* (B). 35
- Figura 9** Viabilidade larval de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%). 38

Figura 10 Peso larval de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%)..... 39

Figura 11 Adultos de *Chrysodeixis includens* (A) e *Rachiplusia nu* (B) deformados. 42

Figura 12 Fecundidade total de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%). 45

Figura 13 Viabilidade total de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%). 46

Listas de tabelas

- Tabela 1** Parâmetros biológicos dos estágios imaturos de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV..... 41
- Tabela 2** Parâmetros biológicos do estágio adulto de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV.
..... 44
- Tabela 3** Tabela de vida e de fertilidade de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV.
..... 47

Sumário

1	Introdução	10
2	Revisão de literatura	14
2.1	Cultura da soja	14
2.2	Complexo de lagartas Plusiinae	15
2.2.1	<i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	16
2.2.2	<i>Rachiplusia nu</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	18
2.3	Métodos de controle	20
2.3.1	Controle químico	21
2.3.2	Plantas transgênicas: Soja <i>Bt</i>	22
2.3.3	Baculovírus	24
2.3.3.1	Chrysogen®	29
3	Metodologia	30
3.1	Criação de insetos	30
3.2	Toxicidade de Chrysogen®	31
3.2.1	Efeitos letais	32
3.2.2	Efeitos subletais	33
3.3	Análise estatística	36
4	Resultados	37
4.1	Sobrevivência	37
4.2	Desenvolvimento	38
4.3	Reprodução e crescimento populacional	45
5	Discussão	48
5.1	Sobrevivência	48
5.2	Desenvolvimento	49
5.3	Reprodução e crescimento populacional	56
6	Conclusões	61
7	Referências	62

1 Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de grãos com uma produção estimada de 317,5 milhões de toneladas na safra 2023/24. O destaque é para a soja, onde o país ocupa a posição de maior produtor e exportador mundial de grãos da oleaginosa, contribuindo para o aumento da renda dos agricultores e também influenciando positivamente na balança comercial da economia brasileira (CONAB, 2023; REIS; LEAL; THOMÉ, 2023).

Entre os diversos desafios encontrados na produção de soja, o manejo de insetos-praga é um dos principais e que pode afetar diretamente sua produção. Existem várias espécies de insetos que atacam a cultura, podendo ocorrer desde a emergência até o final do ciclo. Entre eles, as lagartas desfolhadoras ocupam uma posição de destaque, ocasionando elevados prejuízos nas plantas, reduzindo a área foliar fotossinteticamente ativa e, por consequência, diminuindo o potencial produtivo (NARDON *et al.*, 2021; CONTINI *et al.*, 2022).

O complexo de lagartas Plusiinae são pragas importantes na cultura da soja, sendo que as principais espécies componentes desse grupo são *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae). A lagarta-falsa-medideira, *C. includens*, é considerada a principal praga da cultura (MURARO *et al.*, 2019), enquanto que *R. nu* é uma praga secundária em lavouras de soja brasileiras; no entanto, sua infestação está aumentando nos últimos anos, sendo que já foi detectado surtos populacionais dessa espécie em lavouras de soja *Bt* na safra 2020/21 (BARRIONUEVO *et al.*, 2012; ROLIM *et al.*, 2013; HORIKOSHI *et al.*, 2021b; NARDON *et al.*, 2021; PERINI *et al.*, 2021).

Os principais métodos de controle das lagartas Plusiinae são através do uso de inseticidas químicos e também de cultivares de soja *Bt*. No entanto, a elevada pressão de seleção e a não adoção, em muitos casos, de estratégias de manejo da resistência tem contribuído para o desenvolvimento da resistência desse grupo de insetos, diminuindo a eficiência das estratégias de controle comumente utilizadas e agravando os danos à produção (JAKUBOWICZ *et al.*, 2019; STACKE *et al.*, 2020; CONTINI *et al.*, 2022).

Além disso, o controle químico de *C. includens* é dificultado pela sua característica de habitar o terço inferior das plantas, minimizando o contato com os produtos fitossanitários durante as pulverizações, e pela sua maior tolerância natural contra os inseticidas. Isso resulta no aumento do número de aplicação e também na escolha de produtos cada vez mais tóxicos e menos seletivos. Mediante a isso, acentua-se os problemas ambientais e de saúde pública ocasionados pelo uso excessivo e incorreto de inseticidas químicos. Isso tem causado uma alteração nos agroecossistemas, já que com a aplicação de produtos não seletivos ocorre a eliminação de inimigos naturais e redução da regulação populacional natural das pragas agrícolas (STACKE *et al.*, 2019; CAMARGO *et al.*, 2020).

Outro ponto que merece destaque são as questões ambientais, através das quais se busca aliar a produção econômica com a preservação da natureza. É crescente a demanda por alimentos seguros, com a diminuição da aplicação de pesticidas. Essa forma de produção mais sustentável está se tornando uma exigência de alguns mercados consumidores. Com isso, fica evidente a necessidade de implementação de outras alternativas para o manejo fitossanitário na agricultura (DÁDER *et al.*, 2020; VALDEZ-RAMIREZ *et al.*, 2023).

Dentro deste contexto, novas opções de controle devem ser implementadas para diminuir os impactos negativos de pragas nos cultivos agrícolas brasileiros. O controle biológico com a utilização de baculovírus vem se mostrando uma ótima alternativa para implantação do Manejo Integrado de Pragas (MIP), principalmente para aquelas que não estão sendo controladas facilmente com inseticidas, já que apresenta um modo de ação distinto (Grupo 31) (IRAC, 2018), sendo uma importante ferramenta para o Manejo de Resistência de Insetos (MRI). Além de proporcionar um controle eficiente, é específico para a praga alvo e proporciona baixo risco ambiental e na saúde humana (BOTELHO; SILVA; ÁVILA, 2018; JAKUBOWICZ *et al.*, 2019; TRENTIN *et al.*, 2019; LANDWEHR, 2021).

O uso de vírus entomopatogênico na agricultura não é algo recente no Brasil. Esse método foi amplamente utilizado durante as décadas de 1980 a 2000 para o controle de lagartas desfolhadoras na cultura da soja, através de

um amplo programa de controle biológico de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Erebidae) com a utilização de *Anticarsia gemmatalis* nucleopoliedrovírus (AgNPV); no entanto, com o advento do controle químico reduziu-se sua adoção, sendo novamente integrado nos programas de manejo de pragas atuais (MURARO *et al.*, 2019; MENDES *et al.*, 2022).

Os baculovírus são um grupo de vírus patógenos a insetos, que utilizam a maquinaria celular de seu hospedeiro para se multiplicar, levando-o a morte. O gênero Alphabaculovirus compreende os principais grupos de vírus que acometem lepidópteros, possuindo seus corpos de oclusão em formato de poliedros. A nomenclatura de cada espécie do vírus é dada pelo nome científico do hospedeiro em que foi primeiramente descrito, seguido pelo tipo de corpo de oclusão formado (ROHRMANN, 2019; FERRELLI; SALVADOR, 2023). Com isso, o vírus que infecta a lagarta-falsa-medideira é chamado de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV), integrante do gênero Alphabaculovirus (GODOY *et al.*, 2019; MORGADO *et al.*, 2020; FÜHR *et al.*, 2021).

Para o vírus estabelecer uma infecção ocorrem diferentes etapas. Após ingeridos com a alimentação, os corpos de oclusão são dissolvidos no ambiente alcalino do intestino médio dos insetos, liberando as partículas virais. Ao passarem a membrana peritrófica, ocorre a fusão entre o envelope viral e a membrana das células epiteliais do intestino médio, liberando as partículas virais. Para que isso ocorra é necessário a presença de proteínas denominadas de “PIFs” (per os infectivity factors) que estão presentes na membrana das partículas virais e irão auxiliar no reconhecimento, ligação e fusão do vírus em receptores específicos da célula hospedeira. Em seguida, ocorre a migração dos nucleocapsídeos para o núcleo da célula, liberando seu genoma e iniciando a replicação viral (ZHENG *et al.*, 2017; NUGNES *et al.*, 2021; FERRELLI; SALVADOR, 2023).

Uma das características dos baculovírus é sua especificidade. Esta característica é, muito provavelmente, resultante da resistência imposta pelo intestino dos insetos as infecções virais (MARZBAN, 2012; MORGADO *et al.*, 2020). Em relação a isso, os insetos podem ser classificados, quanto a suscetibilidade, em três diferentes grupos: Totalmente permissivos,

semipermissivos e não permissivos. Quando o vírus infecta um hospedeiro e consegue se multiplicar, esse organismo é considerado permissivo, podendo ser totalmente ou apenas parcialmente. Por outro lado, quando o vírus não se replica no organismo, os insetos são denominados de não permissivos (PAN *et al.*, 2021; TSAI *et al.*, 2022).

Embora ChinNPV seja específico para *C. includens*, compreender sua patogenicidade em *R. nu* é um conhecimento fundamental para o manejo de lagartas do complexo Plusiinae na cultura da soja. Isso se deve ao fato de ambas espécies poderem ocorrer juntas nos agroecossistemas e serem muito semelhantes morfológicamente entre si, o que dificulta sua correta identificação na lavoura. Além disso, os efeitos subletais, mesmo não levando a morte dos indivíduos, podem aumentar sua suscetibilidade a inseticidas sintéticos e também influenciar nas interações patógenos-hospedeiros, potencializando o controle biológico natural (GODOY *et al.*, 2019; MURARO *et al.*, 2019; PERINI *et al.*, 2021; FERRELLI; SALVADOR, 2023).

Os efeitos subletais ocorrem quando os insetos são submetidos a doses de inseticidas abaixo daquela necessária para sua morte. Através disso, ocorrem alterações metabólicas que afetam características de sua história de vida. No campo é muito comum que indivíduos sejam submetidos a contaminações de subdoses de produtos fitossanitários. Isso ocorre por diversos motivos, entre os quais pode-se citar falhas durante a aplicação ou influência de fatores bióticos e abióticos que resultam na degradação das moléculas (agentes biológicos) e também pela menor exposição da praga alvo (CABODEVILLA *et al.*, 2011; LU *et al.*, 2023).

Com isso, esse trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade do bioinseticida Chrysogen® (ChinNPV) para *C. includens* e *R. nu*, analisando os efeitos letais e subletais e suas implicações para o manejo integrado e manejo de resistência das pragas. Cubos de dieta artificial foram contaminados com seis diferentes concentrações de ChinNPV e fornecidos para neonatas. A partir daí, foi analisado a sobrevivência, assim como parâmetros de desenvolvimento, reprodução e crescimento populacional.

2 Revisão de literatura

2.1 Cultura da soja

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é uma planta leguminosa, com centro de origem na China e que foi trazida ao Brasil devido sua importância como fonte alimentar (BENGYELLA *et al.*, 2018). A cultura é uma importante *commodity* mundial, com uma produção prevista de cerca de 400 milhões de toneladas em todo o mundo, sendo o Brasil um dos destaque na cadeia produtiva da oleaginosa (USDA, 2023). Essa relevância brasileira ocorre por um conjunto de fatores, dentre os quais pode-se citar condições climáticas favoráveis, expansão da fronteira agrícola, menores custos de produção em comparação a outros países produtores (REIS; LEAL; THOMÉ, 2023). Com isso, o país torna-se muito competitivo no mercado mundial de grãos de soja.

O Brasil se destaca como o maior produtor e exportador mundial da cultura, com uma produção estimada de 162 milhões de toneladas para a safra 2023/24 em uma área de aproximadamente 45,2 milhões de hectares. O Estado do Rio Grande do Sul está entre os quatro maiores produtores nacionais com mais de 29 milhões de toneladas produzidas na safra passada (CONAB, 2023).

A cultura é fundamental para a segurança alimentar da população mundial, já que pode ser utilizada em diferentes formas, seja como componente da ração animal, contribuindo para produção de carne e leite, ou também para o consumo humano, tanto diretamente dos grãos ou através de seu processamento industrial e produção de derivados, como leite de soja, proteína de soja texturizada, óleo vegetal e outros subprodutos (SHEA; SINGER; ZHANG, 2020; CHEN *et al.*, 2022; QIN; WANG; LUO, 2022). Seus grãos possuem altos teores de proteína e óleo, com valores médios de 40% e 20%, respectivamente. (AMIN *et al.*, 2022). Devido a isso, alimentos derivados de soja, podem ser ótimas alternativas proteicas como substitutos de produtos de origem animal na dieta humana (CHEN *et al.*, 2022; QIN; WANG; LUO, 2022).

No entanto, aproximadamente 85% de toda soja produzida no Brasil é destinada a indústria de esmagamento para a produção de óleo vegetal e de farelo. O óleo é utilizado tanto para a produção de óleo refinado, gorduras hidrogenadas, margarinas, assim como para a produção de biodiesel. Por outro lado, o farelo destina-se principalmente a alimentação de aves, suínos e bovinos (CHEN *et al.*, 2022).

Lavouras de soja apresentam uma elevada importância para os sistemas de rotação de culturas. Por ser uma leguminosa, possui a capacidade de fazer a fixação biológica de nitrogênio, através da simbiose que desenvolve em suas raízes com bactérias do gênero *Rhizobium*, contribuindo para a melhoria da qualidade do solo (AMIN *et al.*, 2022). Além disso, a demanda aquecida pelos grãos e os preços elevados tornam-a uma ótima fonte de renda para os produtores rurais (ANDRADE *et al.*, 2022).

Por outro lado, um dos maiores entraves na cadeia produtiva da cultura é a limitada capacidade de armazenamento da produção e também problemas logísticos, muito associados aos precários meios de transporte disponível em território brasileiro (REIS; LEAL; THOMÉ, 2023). Além disso, entre os principais desafios na produção de soja, o manejo de pragas é um dos mais graves e que podem causar elevados prejuízos na produtividade e aumentar os custos da lavoura (BUSS *et al.*, 2022; CONTINI *et al.*, 2022). A incidência de pragas na soja ocorre em todo seu ciclo, desde a emergência quando ocorre ataque das pragas de solo, passando pela fase vegetativa, em que ocorrem as lagartas desfolhadoras, até a fase reprodutiva, atuando principalmente os percevejos. Diante disso, a cultura sofre muitos danos fitossanitários causados pela incidência de insetos. Segundo estudos de Rahman *et al.* (2023), cerca de 25% é a diminuição média de rendimento anual devido ao ataque de insetos-praga na cultura.

2.2 Complexo de lagartas Plusiinae

As lagartas da subfamília Plusiinae são conhecidas como falsas-medideiras, isso se deve ao fato de caminharem como se estivessem medindo palmo, já que possuem somente dois pares de falsas pernas abdominais e um

par de falsas pernas anais. São pragas associadas a cultura da soja, onde causam sérios prejuízos. As principais espécies componentes desse grupo são a *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) e a *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (BARRIONUEVO *et al.*, 2012; PERINI *et al.*, 2021).

Esse grupo de lagartas era considerado pragas de menor importância na cultura da soja, sendo classificado como secundárias. No entanto, pelo uso excessivo de produtos químicos, especialmente fungicidas para o controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), seus inimigos naturais, os fungos entomopatogênicos de ocorrência natural, foram sendo eliminados dos agroecossistemas e as populações tiveram um forte aumento, agravando os danos agrícolas. Além disso, outros fatores com a expansão de áreas de cultivo de soja, o uso indiscriminado de inseticidas químicos e as condições climáticas favoráveis contribuíram para o aumento da incidência desse inseto-praga em território brasileiro (RETELATTO *et al.*, 2021; BUSS *et al.*, 2022).

2.2.1 *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)

A lagarta-falsa-medideira, *C. includens*, é uma espécie polífaga que se alimenta de diversas plantas incluindo algumas de importância agrícola como feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.). No entanto, tem preferência por plantas de soja, nas quais ganha o status de ser a principal praga da cultura (MURARO *et al.*, 2019), ocasionando elevados danos na produção. Esta praga tem ocorrência restrita ao hemisfério ocidental, estando presente desde a América do Norte até a América do Sul, sendo que no Brasil há relatos em todas regiões produtoras de soja (BARRIONUEVO *et al.*, 2012; STACKE *et al.*, 2020; PERINI *et al.*, 2021).

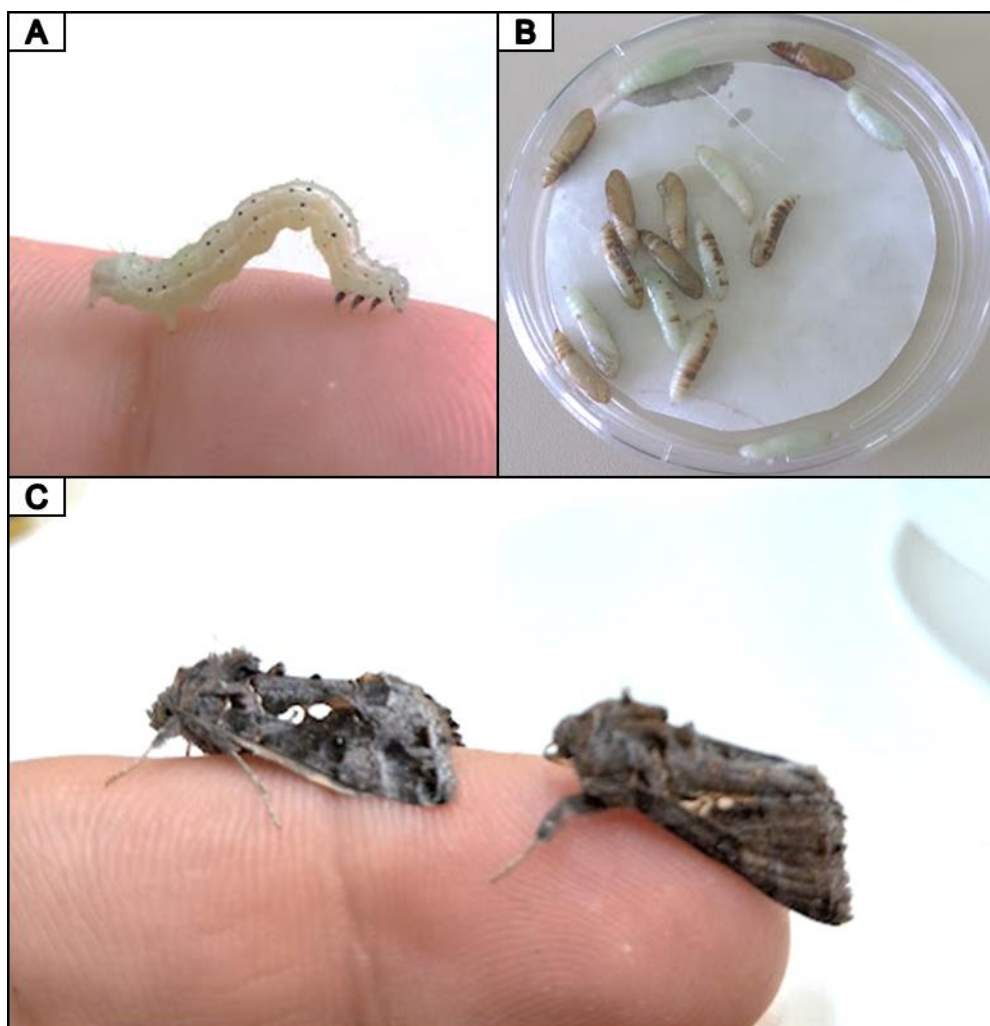
As lagartas têm coloração verde-clara, com listras longitudinais brancas e pontuações pretas, apresentando 3 pares de falsas pernas abdominais, o que resulta em um movimento como se estivesse medindo palmos com seu deslocamento (Figura 1A). Ao se alimentar, as lagartas não consomem toda a folha, deixando-as com aspecto rendilhado, já que não se alimenta das nervuras, sendo um importante sinal da presença dessa espécie na lavoura. O

consumo foliar médio é de 60 a 200 cm² ao longo do seu ciclo de vida, sendo que essa espécie tem maior preferência por habitar o terço inferior das plantas, o que dificulta seu controle. O período larval leva entre 13 e 20 dias para ser completo, muito influenciado pelas condições ambientais e qualidade do alimento disponível (MOSCARDI *et al.*, 2012; STACKE *et al.*, 2019; CAMARGO *et al.*, 2020)

As pupas são de coloração verde brilhante apresentando manchas escuras na parte dorsal e, com o passar do tempo, tornam-se mais escuras (Figura 1B). O período pupal vai de 7 a 9 dias. A pupação ocorre nas folhas de soja, onde as lagartas tecem um casulo de fios de seda para sua proteção (MOSCARDI *et al.*, 2012; BARRIONUEVO; SAN BLAS, 2016).

Os indivíduos adultos são mariposas que possuem asas anteriores de coloração escura com duas manchas prateadas na parte central, enquanto que as posteriores são de coloração marrom, características que podem ser utilizadas para a identificação da espécie (Figura 1C). Além disso, possuem tufo de pelos próximos à cápsula cefálica. Os ovos são depositados de maneira isolada, na face inferior das folhas, sendo que cada fêmea é capaz de ovipositar em média 700 ovos em todo seu ciclo de vida de aproximadamente 15 dias (MOSCARDI *et al.*, 2012; BARRIONUEVO; SAN BLAS, 2016).

Figura 1 – Fases do desenvolvimento de *Chrysodeixis includens*, com destaque para a fase larval (A), pupal (B) e adulto (C).



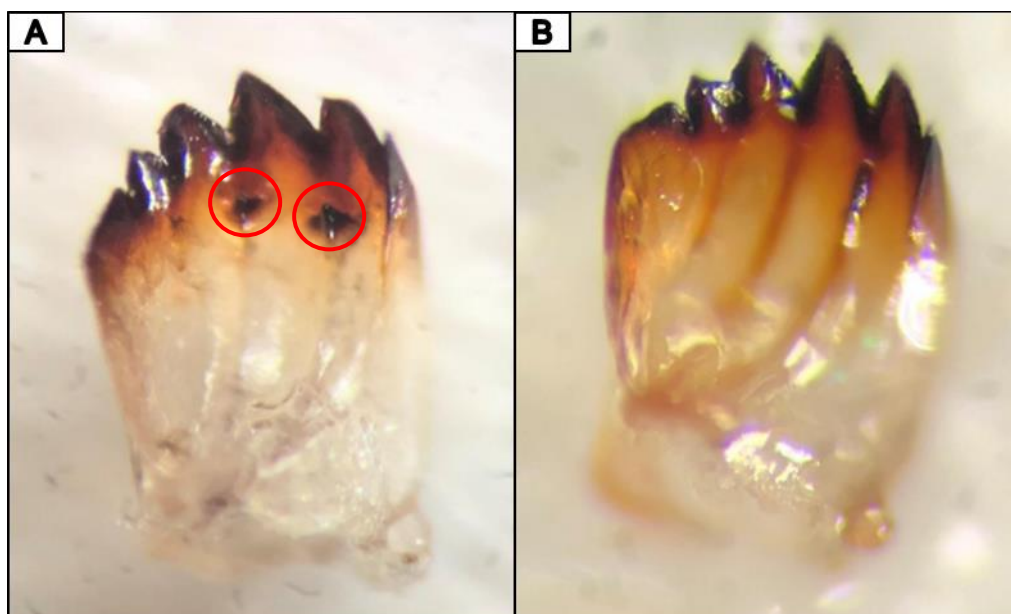
Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

2.2.2 *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae)

A lagarta-falsa-medideira, *R. nu*, é uma espécie polífaga, que se alimenta de diversas plantas como alfafa (*Medicago sativa* L.), linhaça (*Linum usitatissimum* L.), girassol (*Helianthus annuus* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e soja (*Glycine max* L.). Sua distribuição geográfica é restrita a América do Sul, já que é considerada como uma espécie adaptada a regiões mais frias, ocorrendo desde a região sul do Brasil, Paraguai, Bolívia, Argentina, Chile e Uruguai, sendo uma das principais pragas de soja no território argentino (JAKUBOWICZ *et al.*, 2019; SPECHT *et al.*, 2019).

A identificação das lagartas dessa espécie é complexa, já que é muito semelhante morfológicamente com *C. includens*. A principal característica de diferenciação entre as duas espécies é através da observação da parte interna da mandíbula. Lagartas de *C. includens* possuem dois dentes internos e carenas que não convergem para a margem distal da mandíbula (Figura 2A), enquanto que lagarta de *R. nu* não possuem dentes nas mandíbulas e as carenas são contínuas até suas bordas externas (Figura 2B) (BARRIONUEVO, 2011; MOSCARDI *et al.*, 2012).

Figura 2 - Face interna da mandíbula de lagartas de *Chrysodeixis includens* (A) e *Rachiplusia nu* (B), destacando os dentes internos.



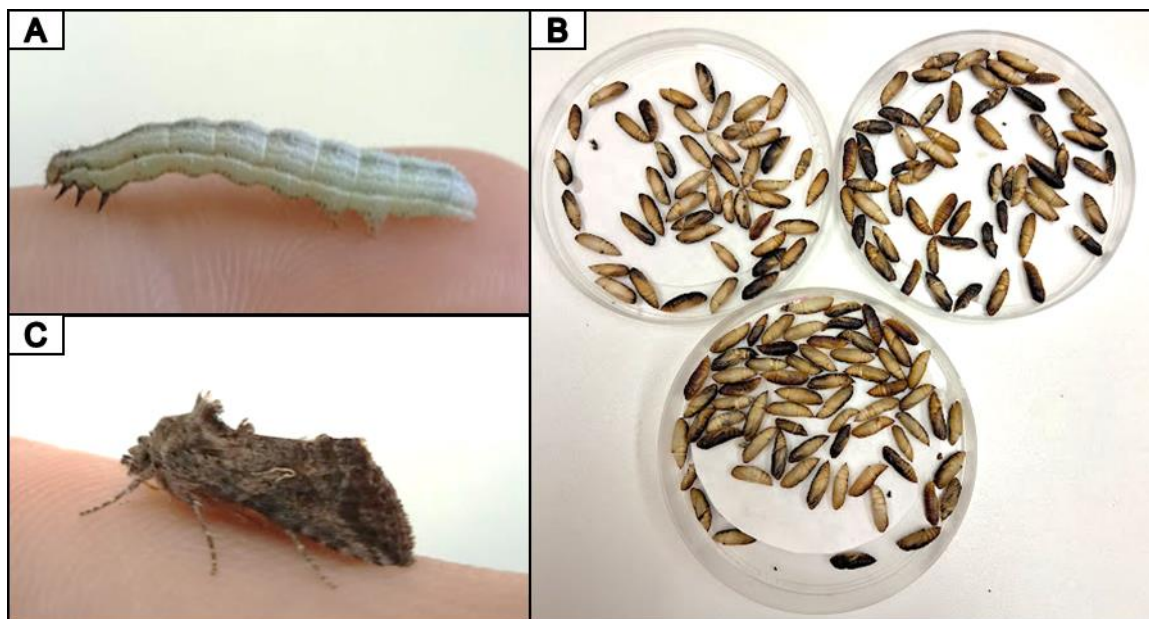
Fonte: SOSA-GÓMEZ *et al.* (2023).

As lagartas possuem geralmente coloração verde intenso com listras longitudinais brancas ao longo do corpo (Figura 3A). Uma característica da espécie é a presença de microespinhos, principalmente na região superior à inserção das pernas torácicas. Assim como *C. includens*, lagartas de *R. nu* somente se alimentam do parênquima foliar, deixando também as folhas com aspecto rendilhado, já que permanecem as nervuras (BARRIONUEVO, 2011; MOSCARDI *et al.*, 2012). Estima-se que lagartas de *R. nu* consomem aproximadamente 100 cm² de área foliar de soja em todo seu ciclo larval (BARRIONUEVO *et al.*, 2012).

A coloração das pupas dessa espécie também pode ser utilizada como ferramenta de identificação. Pupas de *R. nu* apresentam uma coloração mais escura, com um tom marrom escuro na parte dorsal e marrom claro a avermelhado ventralmente (Figura 3B), enquanto que pupas de *C. includens* tem um aspecto marrom-esverdeado (BARBUT, 2008; BARRIONUEVO, 2011).

Os insetos adultos são mariposas de coloração escura, apresentando asas anteriores castanho-claro com duas manchas prateadas unidas, enquanto que em adultos de *C. includens*, as manchas encontram-se separadas, podendo ser utilizada para diferenciação das espécies (Figura 3C). Os ovos são de coloração branco-amarelados, sendo ovipositados nas folhas das plantas hospedeiras, de maneira isolada (BARBUT, 2008; MOSCARDI *et al.*, 2012).

Figura 3. Fases de desenvolvimento de *Rachiplusia nu* com destaque para a fase larval (A), pupal (B) e adulta (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

2.3 Métodos de controle

Uma tendência global que está cada vez mais ganhando destaque é a produção de alimentos sem o uso de produtos químicos de origem sintética. Isso fica mais evidente quando o assunto envolve os agrotóxicos, pelo fato de causarem problemas para a saúde humana e ambiental (VALDEZ-RAMIREZ *et al.*, 2023); contudo, os inseticidas sintéticos ainda continuam sendo

fundamentais para a proteção dos cultivos agrícolas contra infestações de pragas (IRSAD *et al.*, 2023; VALDEZ-RAMIREZ *et al.*, 2023).

As principais ferramentas de controle das lagartas Plusiinae têm sido a utilização de inseticidas químicos e variedades geneticamente modificadas com genes *Bt*. No entanto, a intensa pressão de seleção ocasionada por essas tecnologias tem favorecido o surgimento de populações de pragas resistentes, originando falhas de controle. Além disso, o uso indiscriminado de inseticidas afeta diretamente o meio ambiente e a saúde humana (IRSAD *et al.*, 2023). Com isso, novas alternativas devem ser estudadas para a implantação do manejo integrado e manejo de resistência dessas pragas (BARRIONUEVO *et al.*, 2012; RIMOLDI *et al.*, 2012; GODOY *et al.*, 2019; DECKER-FRANCO *et al.*, 2021).

O uso de entomopatógenos é uma alternativa para o controle de pragas agrícolas. Entre os organismos mais frequentemente utilizados destacam-se fungos, bactérias, vírus e nematoides. Esses organismos têm por características possuírem baixa toxicidade, serem mais seletivos e ocasionarem menores impactos ambientais e na saúde humana. Devido a isso, podem compor ótimas opções para serem inseridos nos programas de MIP (TRENTIN *et al.*, 2019; STACKE *et al.*, 2020; IRSAD *et al.*, 2023).

2.3.1 Controle químico

O controle químico é tradicionalmente o método mais utilizado para o manejo de pragas na cultura da soja, sendo de fácil aplicação, efetivo e de resposta rápida (BUENO *et al.*, 2021). No entanto, deve ser empregado com critério, baseado no monitoramento das pragas, onde o nível de controle econômico (NCE) vai indicar a necessidade ou não do tratamento. Para lagartas desfolhadoras, o nível de controle é de 20 lagartas maiores de 1,5 cm capturadas por pano de batida ou 30% de desfolha durante a fase vegetativa enquanto que na fase reprodutiva esse valor cai para 15% (BUENO *et al.*, 2010).

A escolha do inseticida a ser utilizado é uma etapa fundamental para o manejo de insetos-praga, devendo sempre priorizar produtos seletivos, que não afetem os insetos não alvo. O uso inadequado de inseticidas, com aplicações

de produtos não seletivos, tem ocasionado um desequilíbrio ambiental nos agroecossistemas (PARRA; COELHO, 2019). Muitos inimigos naturais foram sendo eliminados, reduzindo o controle biológico natural e agravando os danos das pragas nas culturas agrícolas. Populações de insetos que antes estavam em equilíbrio, sem a presença de seus inimigos naturais aumentaram sua infestação, passando a causar maiores danos nos cultivos (CONTINI *et al.*, 2022; BARATHI *et al.*, 2024).

O controle químico da lagarta-falsa-medideira, *C. includens*, é complexo. Devido suas características, como a preferência em habitar o terço médio das plantas, dificultando que o produto atinge o alvo, e também pela sua maior tolerância natural contra inseticidas, é comum que ocorram baixas taxas de efetividade nos tratamentos, resultando no aumento do número de aplicações e utilização de produtos cada vez mais tóxicos e menos seletivos (STACKE *et al.*, 2020). Segundo Bortolotto *et al.* (2015) frequentemente ocorrem entre duas a seis pulverizações de inseticidas contra insetos-praga em lavouras de soja brasileiras. Isso pode aumentar as chances no desenvolvimento de resistência dessas pragas contra inseticidas químicos, já que estão em maior contato com esses produtos, elevando a pressão de seleção (CAMARGO *et al.*, 2020).

A resistência de insetos pode ser definida como uma característica herdável, onde a suscetibilidade de uma população de pragas a determinado produto é reduzida, não proporcionando um controle eficiente, mesmo utilizando as recomendações de aplicação do fabricante (BAUDROT *et al.*, 2023). Esse processo é natural, mas está sendo agravado pela intensa pressão de seleção que os insetos-praga estão sujeitos. Com a adoção sucessiva de mesmas táticas de controle, alguns indivíduos, que não são afetados, sobrevivem. Ao passar do tempo, se reproduzem, transferindo esses genes de resistência para seus descendentes e, com isso, diminuindo a efetividade daquela ferramenta de controle (BERNARDI *et al.*, 2016; HELPS *et al.*, 2020).

2.3.2 Plantas transgênicas: Soja *Bt*

O *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915) (*Bt*) é uma bactéria que ocorre naturalmente no solo. Na sua fase de esporulação tem a capacidade de

produzir cristais proteicos com ação inseticida e, através da engenharia genética, esses genes podem ser inseridos no genoma das plantas, originando a soja geneticamente modificada que expressa proteínas com ação inseticida (BERRETTA *et al.*, 2020; TALAKAYALA; KATTA; GARLADINNE, 2020; SCHMITZ *et al.*, 2022)

As plantas transgênicas *Bt* são uma importante estratégia para o manejo de insetos-praga. O Brasil foi um dos primeiros países a adotar a tecnologia *Bt*, na cultura da soja, no ano de 2013, e em pouco tempo essa tecnologia tornou-se dominante no comércio nacional de sementes, ocupando aproximadamente 80% da área cultivada com a leguminosa no Brasil na safra 2020/21 (HORIKOSHI *et al.*, 2021b). Seu uso traz a grande vantagem de reduzir o número de aplicações de inseticidas na cultura, tornando a produção mais sustentável e diminuindo os impactos negativos do controle químico, por ser seguro ambientalmente e específico para insetos-praga mastigadores (HORIKOSHI *et al.*, 2022; GAN *et al.*, 2023).

Contudo, um dos principais problemas dessa tecnologia é a capacidade de desenvolvimento de resistência das pragas. Isso ocorre pelo fato de as proteínas tóxicas serem expressas continuamente nas células das plantas, fornecendo uma enorme pressão de seleção e caso não adotadas adequadas estratégias de manejo de resistência, a eficiência dessa tecnologia tende a diminuir ao longo do tempo (HORIKOSHI *et al.*, 2021a).

O manejo de resistência de insetos (MRI) é um conjunto de medidas que devem ser adotadas para evitar ou mesmo retardar a seleção de insetos-praga resistentes as estratégias de controle utilizadas. Para o MRI de plantas *Bt*, as principais técnicas empregadas são a expressão de altas doses de proteína inseticida, áreas de refúgio e a piramidação de genes (BERNARDI *et al.*, 2016; HORIKOSHI *et al.*, 2021b).

O refúgio é uma área correspondente a 20% da lavoura, reservada para a semeadura de soja não *Bt*, com isso as pragas não estarão submetidas a pressão de seleção das proteínas inseticidas (ABBATE *et al.*, 2023). Esses indivíduos, que são totalmente suscetíveis às toxinas *Bt*, ao cruzarem-se com aqueles que estão apresentando resistência, originam pragas heterozigotas.

Isso associado ao emprego de plantas que expressam altas doses de proteínas inseticidas, resulta na menor sobrevivência de indivíduos heterozigotos (ABBATE *et al.*, 2023). Dessa forma, menores são as chances de surgimento de pragas resistentes na lavoura. Já a piramidação de genes consiste no emprego de eventos *Bt* que expressam duas ou mais proteínas de grupos distintos, apresentando alta toxicidade sobre os alvos de controle e que se liguem em diferentes receptores no organismo dos insetos. Então, caso o inseto-praga apresente resistência a uma proteína inseticida, seria controlado facilmente pela ação da outra (BERNARDI *et al.*, 2016; HORIKOSHI *et al.*, 2021b).

2.3.3 Baculovírus

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios que utilizam a maquinaria da célula do hospedeiro para se replicar, não possuindo metabolismo próprio. O baculovírus é o grupo de vírus mais estudado e com maior potencial para o uso no controle biológico de insetos-praga, recebendo esse nome pelo formato em bastão de seus nucleocapsídeos. Pertence à família Baculoviridae e foi inicialmente dividido em dois gêneros: Nucleopolyhedrovírus composto pelos Vírus da Poliedrose Nuclear (NPV), e Granulovírus, compreendendo os Vírus da Granulose (GV). No entanto, com estudos mais avançados, essa família recebeu uma nova classificação, a qual foi baseada em critérios com a relação entre proteínas-genes, estudos filogenéticos, análises morfológicas do vírion e a relação de hospedeiros. Devido a isso, a família baculoviridae atualmente é classificada em quatro gêneros distintos: Alphabaculovirus (NPVs de lepidópteros), Betabaculovirus (GVs de lepidópteros), Gammabaculovirus (NPVs de himenópteros) e Deltabaculovirus (NPVs de dípteros) (ROHRMANN, 2019; CASTRO *et al.*, 2020; CERRUDO *et al.*, 2023; IRSAD *et al.*, 2023).

A estrutura do baculovírus é constituída por uma fita dupla de DNA circular, envolto em uma capa proteica que origina o nucleocapsídeo em formato de bastão. Os nucleocapsídeo são envelopados para formar os vírions derivados de oclusão (ODVs), compondo sua unidade infectiva. Existem dois

tipos de baculovírus conforme a morfologia dos corpos de oclusão (OBs), sendo eles os nucleopoliedrovírus (NPV) e granulovírus (GV). Os OBs de NPV são em formato de poliedros e constituídos por proteínas chamadas de poliedrinas. Por outro lado, os OBs de GV são em forma de grânulos e contém granulinas (CHATEIGNER *et al.*, 2015; ROHRMANN, 2019; DECKER-FRANCO *et al.*, 2021; CERRUDO *et al.*, 2023; WILLIAMS, 2023).

Ao analisar os ODVs é possível haver uma classificação quanto ao número de nucleocapsídeo presentes em cada uma dessas estruturas. Os NPVs podem conter um ou mais nucleocapsídeo, sendo chamado respectivamente de single nucleopoliedrovírus (SNPV) ou multiple nucleopoliedrovírus (MNPV); contudo, os GVs geralmente possuem apenas um nucleocapsídeo por ODVs (ROHRMANN, 2019; DECKER-FRANCO *et al.*, 2021; CERRUDO *et al.*, 2023; WILLIAMS, 2023).

A nomenclatura de cada espécie do vírus é baseada pelo nome científico do hospedeiro em que foi primeiramente descrito, seguido pelo tipo de corpo de inclusão formado (ROHRMANN, 2019). Com isso, o vírus que infecta a lagarta-falsa-medideira é chamado de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV), integrante do gênero Alphabaculovirus (GODOY *et al.*, 2019; CASTRO *et al.*, 2020).

No ciclo de replicação dos baculovírus, há a formação de dois fenótipos distintos, mas morfologicamente idênticos, do vírus. O primeiro consiste em uma forma oclusa em cristais proteicos (ODV), sendo a responsável pela infecção primária dos insetos na lavoura. A outra forma é a não oclusa (BV), sendo a responsável pela transmissão de célula para célula do mesmo hospedeiro (MOSCARDI *et al.*, 2011; BOTELHO; DA SILVA; ÁVILA, 2018; JIANG; GOLDSMITH; XIA, 2021; FERRELLI; SALVADOR, 2023).

O baculovírus se encontra na natureza na forma de corpos de oclusão (OBs). A oclusão das partículas virais em uma matriz proteica é uma característica muito importante, sendo sua estrutura de resistência. Ao aplicar um bioinseticida a base de baculovírus sobre uma cultura, os OBs ficaram expostos as condições ambientais adversas, comprometendo sua virulência; contudo, através das quedas das folhas, ação da chuva, entre outros fatores,

esses OBs podem chegar ao solo. Estudos indicam que o solo é uma das principais reservas de vírus no ambiente (GEORGIEVSKA *et al.*, 2010; MOSCARDI *et al.*, 2011; WILLIAMS, 2023).

As lagartas-praga são infectadas ao se alimentarem de partes de folhas contaminadas. Ao serem ingeridos, os poliedros encontram um pH extremamente alcalino no intestino médio, onde se dissolvem, liberando as partículas virais, conhecidas como vírions. Então, penetram nas células epiteliais do intestino médio, libertando seu material genético e iniciando a replicação viral. Após isso, as partículas virais são transmitidas para outras células, através da forma não oclusa, até chegar ao sistema traqueal e hemolinfa, originando infecções sistêmicas. Entretanto, nos estágios finais da infecção são novamente produzidas as formas virais oclusas (MOSCARDI *et al.*, 2011; ROHRMANN, 2019; DECKER-FRANCO *et al.*, 2021; FERRELLI; SALVADOR, 2023).

O uso de baculovírus já foi uma estratégia amplamente adotada para o controle de insetos-praga em lavouras de soja brasileiras, compondo um programa de reconhecimento mundial. Estima-se que, durante a safra 2003/2004, aproximadamente dois milhões de hectares de soja tenham sido pulverizadas com *Anticarsia gemmatalis* nucleopoliedrovírus (AgNPV), para o controle da lagarta-da-soja, *A. gemmatalis*; contudo, com o passar do tempo, seu uso reduziu-se drasticamente. Nos dias atuais, esse entomopatógeno novamente está ganhando destaque, principalmente pelo desenvolvimento de resistência das pragas aos métodos de controle adotados (MOSCARDI *et al.*, 2011; BEAS-CATENA *et al.*, 2014; GODOY *et al.*, 2019; MENDES *et al.*, 2022).

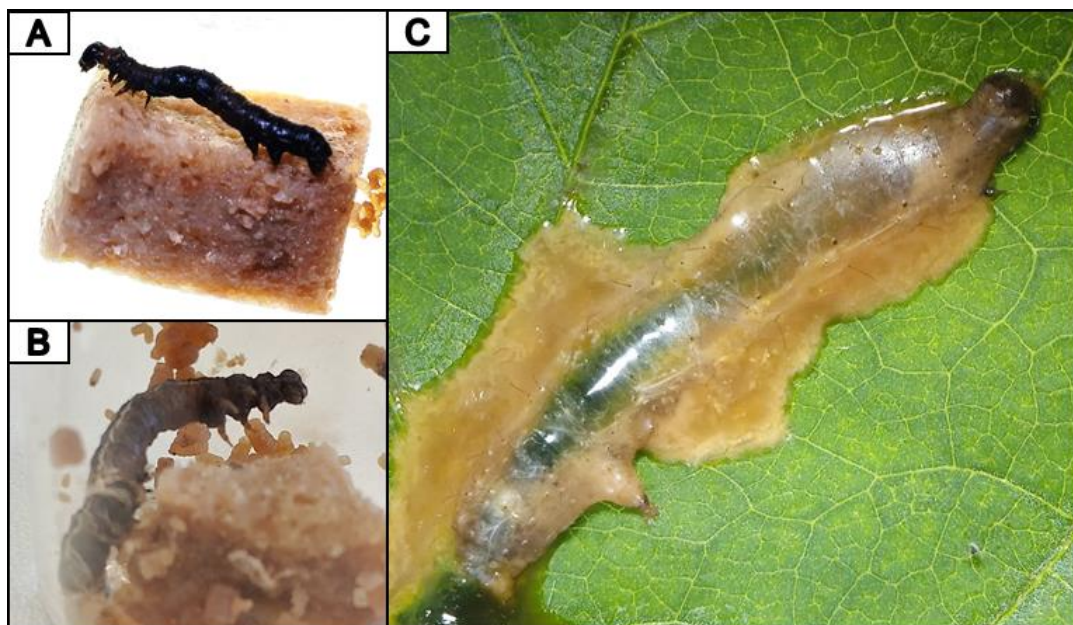
Inseticidas biológicos à base de baculovírus são ótimas opções para a implantação do MIP em lavouras de soja. Isso se deve ao fato de proporcionar um controle eficiente das lagartas, com alta especificidade à praga e, por isso, de baixo risco ambiental e na saúde humana. Além disso, pode ser uma alternativa efetiva para o manejo de pragas que estão apresentando resistência as tecnologias de controle comumente utilizadas. De acordo com o Comitê de Ação de Resistência a Inseticidas (IRAC, 2018), o baculovírus é classificado no Grupo 31 e atua diretamente nas células epiteliais do intestino médio. Não há relatos de haver resistência cruzada entre o entomopatógeno e inseticidas

químicos, apresentando um elevado potencial para ser utilizado nos programas de MRI (BEAS-CATENA *et al.*, 2014; GODOY *et al.*, 2019; MURARO *et al.*, 2019; DÁDER *et al.*, 2020; MASSON *et al.*, 2021; MURARO *et al.*, 2022).

Um dos principais fatores que determinam a suscetibilidade de um hospedeiro às infecções pelo baculovírus é o intestino médio. As enzimas presentes no intestino médio podem facilmente degradar as partículas virais. Além disso, a membrana peritrófica (MP) exerce uma barreira física que deve ser rompida para que o vírus encontre as células epiteliais do intestino. A MP é uma camada protetora, formada predominantemente por quitina e proteínas, que atua como um filtro, permitindo a passagem do alimento digerido, mas sendo um obstáculo a entrada de patógenos. Para o vírus romper essa barreira é necessário abrir poros em sua estrutura, propiciando sua passagem. Isso pode ocorrer pela atuação de proteínas chamadas “enhancers”, presentes em alguns baculovírus, e também com o auxílio de enzimas proteases e quitinases. Por fim, há receptores nas células epiteliais do intestino onde as proteínas “PIFs” (per os infectivity factors), presentes nos baculovírus, devem se ligar para estabelecer a contaminação (MOSCARDI *et al.*, 2011; ZHENG *et al.*, 2017; ROHRMANN, 2019; MORGADO *et al.*, 2020; NUGNES *et al.*, 2021; DONKERSLEY *et al.*, 2023; FERRELLI; SALVADOR, 2023).

Depois de infectada, a lagarta fica debilitada, com aspecto esbranquiçado, diminui muito a alimentação e a mobilidade, vindo a morrer cerca de sete dias após a aplicação do produto. Lagartas mortas por baculovírus apresentam como sintoma típico a coloração escura do corpo (Figura 4A e 4B). Em seguida, geralmente ocorre a liquefação e rompimento da cutícula da praga (Figura 4C), liberando as partículas virais, em forma de corpos de oclusão, no ambiente, sendo importante fonte de inóculos para novas contaminação na lavoura (MOSCARDI *et al.*, 2011; TRENTIN *et al.*, 2019; IRSAD *et al.*, 2023).

Figura 4 - Sintoma da morte causada por baculovírus em lagartas pequenas (A), grandes (B) e detalhe da dissolução do tegumento larval (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Por se tratar de um produto biológico, deve-se ter maior atenção no momento de aplicação. A eficiência do controle biológico com uso de baculovírus é influenciada pela idade da praga alvo, quantidade de vírus ingerida, virulência do patógeno, distribuição na planta e pelas condições climáticas no momento da aplicação (BEAS-CATENA *et al.*, 2014; SANCHES *et al.*, 2021; SOUKHOVOLSKY *et al.*, 2023).

A pulverização das partículas virais na lavoura deve ocorrer no aparecimento dos primeiros sinais da praga, ou seja, quando as folhas começarem a serem raspadas. Isso garante que as lagartas estejam pequenas, nos primeiros instares, e, com isso, mais suscetíveis a ação do vírus. A medida que aumentam de tamanho torna-se mais difícil o controle, necessitando maiores doses do bioinseticida. Outro cuidado é evitar aplicar nos momentos mais quentes do dia, já que pode comprometer a estabilidade do vírus, pela ação dos raios ultravioletas, dando preferência para o final da tarde. A aplicação é semelhante aos outros produtos químicos tradicionalmente empregados, podendo ser mediante a água de irrigação, pulverização costal ou tratorizada (MOSCARDI, 1999; MOSCARDI *et al.*, 2011; BEAS-CATENA *et al.*, 2014).

2.3.3.1 Chrysogen®

Chrysogen® é um inseticida microbiológico recomendado para o uso no controle de *C. includens*, em lagartas de primeiro ao terceiro instar, em todas as culturas de ocorrência da praga (AGBITECH, 2023). Sua composição é constituída através de uma suspensão concentrada do vírus *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV: Baculoviridae: Alphabaculovirus) na concentração mínima de $7,5 \times 10^9$ corpos de oclusão (OBs.mL⁻¹), equivalente a 34,2 % de sua composição total (AGBITECH, 2023).

Esse bioinsumo se destaca como o primeiro produto comercial à base de ChinNPV que obteve registro para o uso no campo (FÜHR *et al.*, 2021). Em território brasileiro sua comercialização iniciou no ano de 2018 (FÜHR *et al.*, 2021). É produzido pela empresa AgBiTech, localizada em Fort Worth, Texas, U.S.A. (AGBITECH, 2023).

Devido sua elevada especificidade para a praga-alvo, o produto é pouco perigoso ao meio ambiente (Classe IV) (AGBITECH, 2023). Seu mecanismo de ação é por meio da ingestão e está classificado no Grupo 31 (disruptores virais da membrana peritrófica do intestino médio) (IRAC, 2018).

3 Metodologia

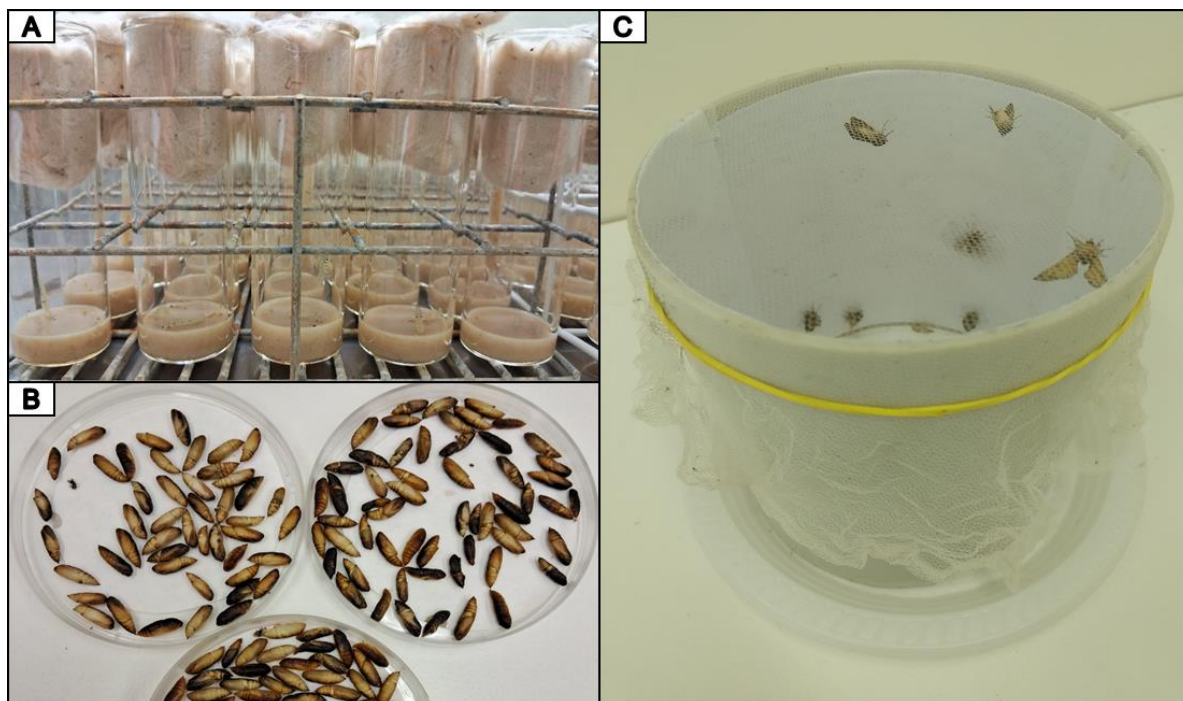
Os experimentos foram realizados no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LabMIP), pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), localizado no Campus Capão do Leão, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Foram utilizadas diferentes concentrações de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV) para analisar os efeitos letais e subletais em *C. includens* e *R. nu*.

3.1 Criação de insetos

A população de *C. includens* foi obtida de insetos coletados no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul. A criação foi estabelecida no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (LabMIP). Já a população de *R. nu* foi adquirida junto ao Laboratório de Entomologia, Centro de Ciências Rurais (CCR) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, sob a responsabilidade do professor Dr. Oderlei Bernardi.

Os insetos foram mantidos em salas de criação climatizadas, com temperatura média de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. As lagartas de ambas espécies foram criadas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura) contendo 2 indivíduos, sendo utilizado algodão hidrofóbico para fechá-los e contendo dieta artificial adaptada para as espécies (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976) (Figura 5A). Ao fim do período larval, as pupas foram coletadas e acondicionadas em placas de Petri (12 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) forradas com papel filtro (Figura 5B) e colocadas em gaiolas de criação, constituídas de tubos de PVC de 24,0 cm de altura por 14,5 cm de diâmetro, revestidas internamente com papel sulfite, substrato para oviposição, sendo fechados na parte superior com tecido *voil* (Figura 5C).

Figura 5 - Metodologia de criação de *Plusiinae*, com destaque para os tubos de vidro contendo as lagartas (A), recipiente de pupas (B) e gaiola de criação de adultos (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O alimento dos insetos adultos foi composto por uma solução formada por mel, açúcar, cerveja, ácido sórbico e nipagin (RIGUETTI *et al.*, 2019). Esta solução foi fornecida em recipientes contendo algodão hidrofílico. A cada 2 dias os ovos foram coletados e acondicionados em copos plásticos de 500 mL, em sala climatizada. Ao atingirem o segundo instar, as lagartas foram transferidas para os tubos de criação contendo a dieta artificial.

3.2 Toxicidade de Chrysogen®

Cubos de dieta artificial de 1 cm³ (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976) (Figura 6A) foram imersos por 5 segundos em uma calda formada por seis diferentes doses do produto comercial Chrysogen® (ChinNPV: Baculoviridae: Alphabaculovirus), contendo $7,5 \times 10^9$ corpos de oclusão (OBs.mL⁻¹). O bioinseticida é classificado no Grupo 31 (disruptores virais da membrana peritrófica do intestino médio) (IRAC, 2018) e foi produzido pela empresa AgBiTech, Fort Worth, TX, U.S.A. As concentrações utilizadas foram baseadas pela maior dose recomendada pelo fabricante (200 mL.ha⁻¹ Chrysogen® / 100 L água, equivalente a $1,5 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹), sendo elas 200%

($3,00 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹), 100% ($1,50 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹), 75% ($1,13 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹), 50% ($7,50 \times 10^9$ OBs.L⁻¹), 25% ($3,75 \times 10^9$ OBs.L⁻¹) e 10% ($1,50 \times 10^9$ OBs.L⁻¹). O tratamento controle foi água destilada. Após imersos na calda, os cubos foram retirados e deixados secar em um papel filtro durante 30 min. Posteriormente, foram acondicionados dentro de tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura), onde foi repicada uma neonata de *C. includes* ou *R. nu* de dois dias. Após a inoculação os tubos foram vedados com algodão hidrofóbico e mantidas em sala climatizada com temperatura de $27 \pm 1^\circ$ C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h (Figura 6B).

Figura 6 - Montagem do ensaio. Cubos de dieta (A) e tubos de vidro contendo a dieta contaminada juntamente com a lagarta *Plusiinae* (B).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Mortes observadas um dia após a infecção (d.p.i.), foram classificadas como decorrentes da manipulação e não devido ao tratamento, sendo desconsideradas. No terceiro d.p.i., os cubos de dieta contaminada foram retirados e adicionados cubos não tratados, repetindo o procedimento conforme a necessidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 12 repetições, sendo cada repetição formada por 10 lagartas, totalizando 120 lagartas para cada tratamento (concentração).

3.2.1 Efeitos letais

Para a determinação dos efeitos letais das diferentes concentrações de ChinNPV utilizadas, foram quantificadas o número de lagartas mortas em cada

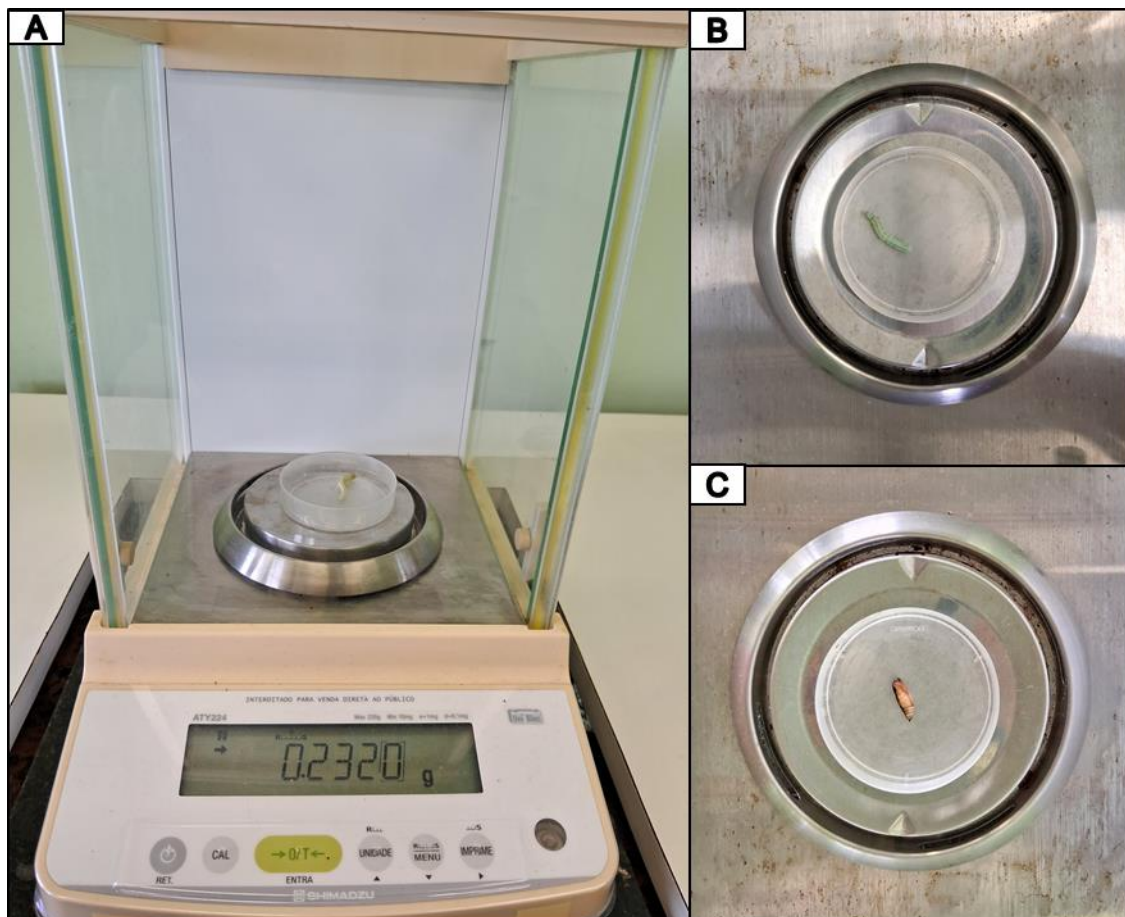
tratamento até o final do período larval. A partir disso, foi estabelecido a sobrevivência (%) de lagartas para cada dose de vírus. Com isso, foi possível comparar a patogenicidade de ChinNPV para ambas espécies de Plusiinae.

3.2.2 Efeitos subletais

A partir dos indivíduos sobreviventes foram analisados os parâmetros de desenvolvimento, reprodução e crescimento populacional de *C. includens* e *R. nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV.

Para fins didáticos, as características de desenvolvimento foram divididas de acordo com o estágio de desenvolvimento dos insetos. Nos estágios imaturos foram analisados os seguintes parâmetros: peso larval (mg) aos 10 d.p.i., período larval (dias), peso pupal (mg) (24 h após a formação da pupa), período (dias) e viabilidade (%) pupal. Na fase adulta foram analisados os períodos (dias) de pré e pós-oviposição, assim como o período (dias) de oviposição, a longevidade (dias), a razão sexual e as deformações (%). Para a determinação dos pesos foi utilizado uma balança analítica com quatro casas decimais de precisão (Figura 7).

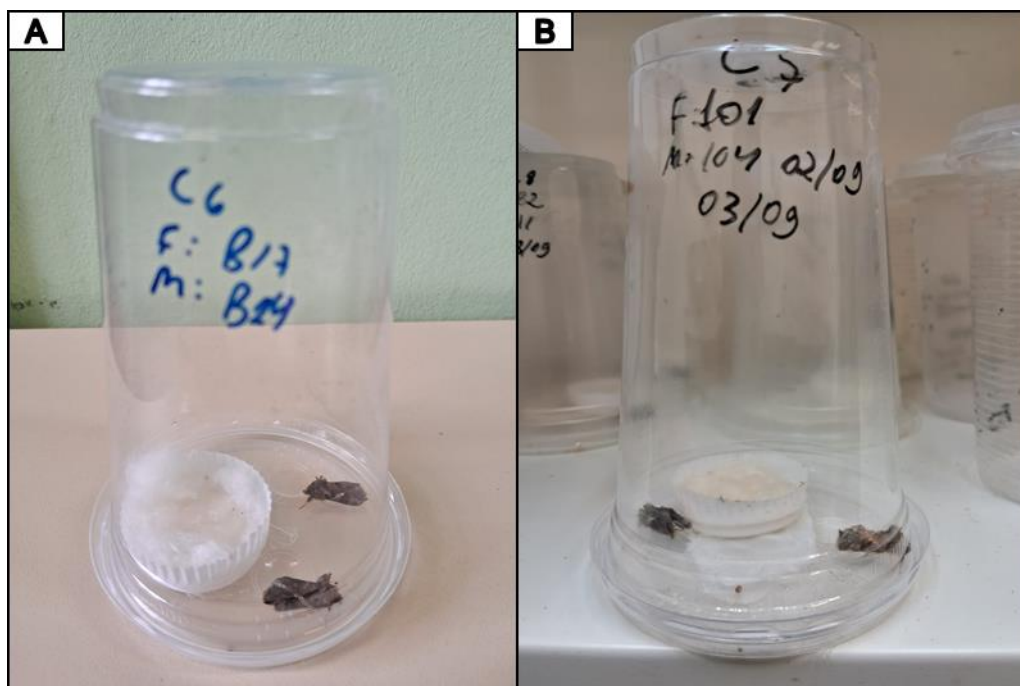
Figura 7 - Vista frontal da balança (A) utilizada para pesar lagartas (B) e pupas (C) de Plusiinae.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A influência das diferentes concentrações de ChinNPV em parâmetros reprodutivos de insetos foi obtida através da avaliação da fecundidade e fertilidade dos insetos. Para isso, foram formados entre 8 a 20 casais para cada tratamento (Figura 8). A fertilidade foi estimada quantificando o número de ovos da segunda postura de cada casal.

Figura 8 – Gaiolas de plástico contendo casais de *Rachiplusia nu* (A) e *Chrysodeixis includens* (B).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Os parâmetros de crescimento populacional foram obtidos a partir da construção da tabela de vida e de fertilidade, determinando o tempo médio de geração (T) (dias), taxa de reprodução líquida (R_0 - número médio de fêmeas) e taxa intrínseca de aumento (r_m - taxa de aumento natural de uma população), pelas equações 1, 2 e 3, respectivamente. Entre 8 a 20 casais de cada tratamento foram selecionados, determinando diariamente o número de ovos e a longevidade de cada indivíduo. Por fim, foi estabelecida a viabilidade total dos insetos em cada tratamento, através da multiplicação entre as viabilidades larvais, pupais e de ovos.

O tempo médio de geração (T):

$$T = \ln R_0 / r \quad (1)$$

A taxa de reprodução líquida (R_0):

$$R_o = \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x \quad (2)$$

A taxa intrínseca de aumento (r_m):

$$\sum_{x=0}^{\infty} e^{-r(x+1)} l_x m_x = 1 \quad (3)$$

3.3 Análise estatística

Os dados de todos os parâmetros biológicos avaliados foram submetidos a ANOVA usando o procedimento PROC GLM no SAS[®] 9.1 (SAS INSTITUTE INC, 2011). As diferenças de tratamento foram determinadas com uma Declaração de Médias Mínimas Quadradas (opção LSMEANS de PROC GLM) usando um ajuste post hoc de Tukey (P <0,05) no SAS[®] 9.1 (SAS INSTITUTE INC, 2011). As diferenças ao comparar as duas espécies dentro de cada dose foram obtidas pelo teste de t de Student (P <0,05). A razão sexual foi analisada pelo teste de qui-quadrado. Sobrevivência, tempo de desenvolvimento e dados reprodutivos foram usados para estimar parâmetros de crescimento populacional, como duração média de uma geração (T), taxa reprodutiva líquida (R_o) e taxa intrínseca de aumento populacional (r_m - produção diária de fêmeas por fêmea parental). Os parâmetros da tabela de vida de fertilidade foram estimados pela técnica jackknife utilizando o protocolo "lifetable.sas" desenvolvido por Maia, Luiz e Campanhola (2000) no SAS[®] 9.1 (SAS INSTITUTE INC, 2011).

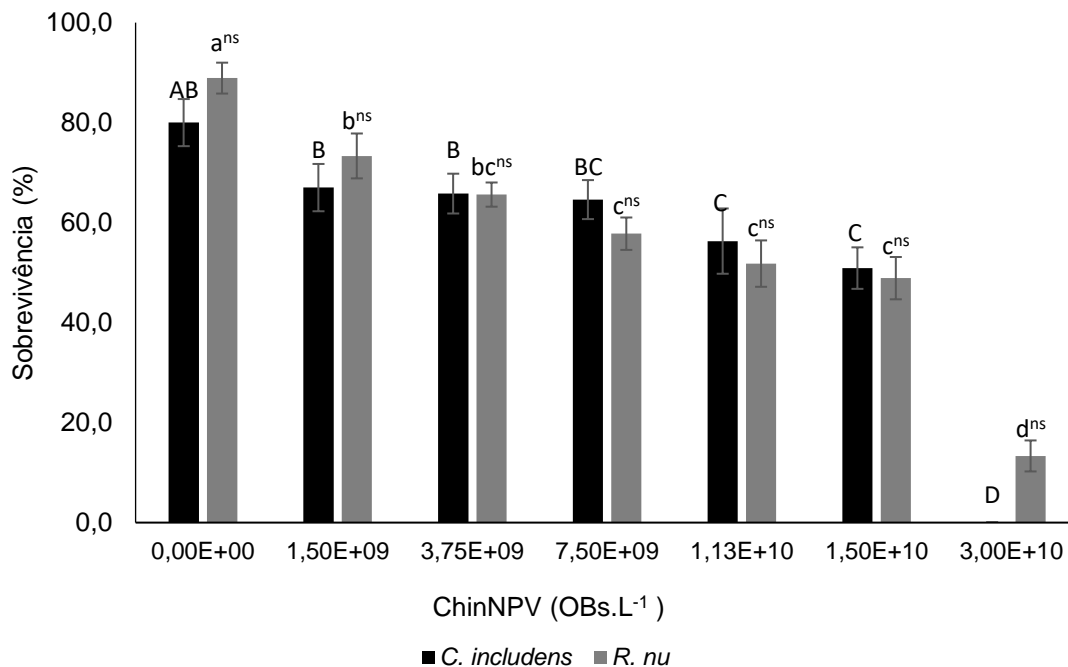
4 Resultados

4.1 Sobrevivência

A sobrevivência larval foi afetada diretamente com o incremento da dose de vírus (Figura 9). Além disso, ChinNPV causou uma mortalidade estatisticamente igual, em cada tratamento, para ambas espécies de lagartas. Em *C. includens* o tratamento controle obteve viabilidade de 80%, não diferindo estatisticamente das subdoses de 10, 25 e 50%. Por outro lado, o emprego da dose recomendada ($1,50 \times 10^{10}$) não diferiu dos valores encontrados nas subdoses de 50 e 75%. A mortalidade máxima foi observada com a utilização do dobro da dose recomendada ($3,00 \times 10^{10}$).

Para *R. nu* os resultados seguiram o mesmo padrão encontrado em *C. includens*. As subdoses menores de 10 e 25% obtiveram a mesma sobrevivência larval. O aumento da dose acima de 25% não afetou estatisticamente a sobrevivência, somente com o dobro da dose ($3,00 \times 10^{10}$) (Figura 9).

Figura 9 - Viabilidade larval de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%).



Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (barra de coloração preta) ou minúsculas (barra de coloração cinza) não diferem significativamente entre si (GLM com distribuição quase binomial seguida pelo teste post hoc de Tukey a 5%).

Os asteriscos indicam diferenças significativas dentro de cada dose de ChinNPV quando comparado *C. includens* e *R. nu* de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$) e ns indica não significativo de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

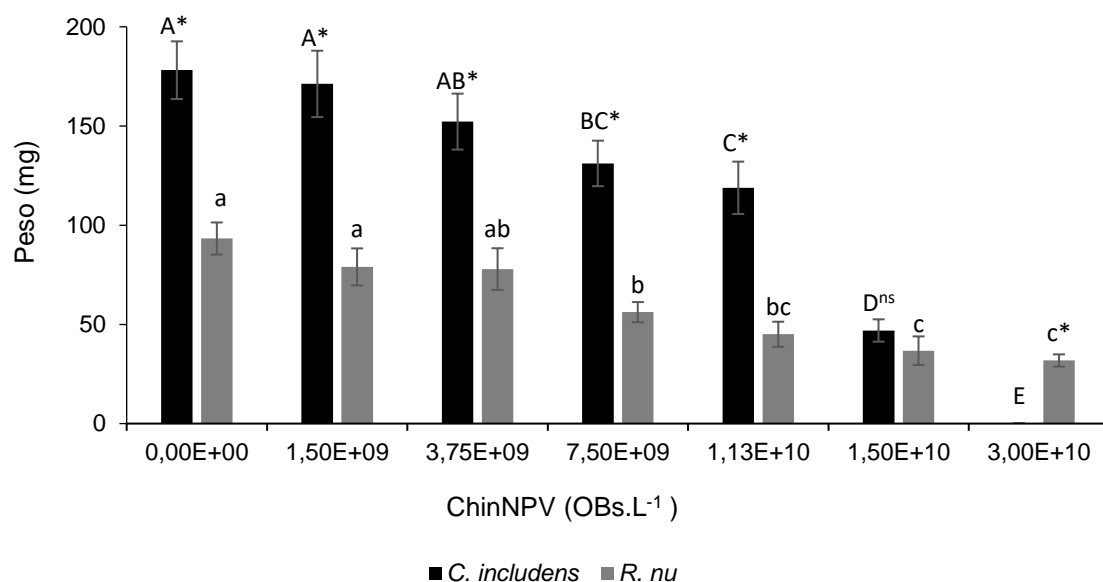
4.2 Desenvolvimento

O peso larval apresentou uma relação inversa com o aumento da dose de vírus utilizada (Figura 10). As lagartas de *C. includens* obtiveram um maior peso em comparação às de *R. nu*, não havendo diferença entre o peso das duas espécies somente na dose de 100% ($1,50 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹).

As lagartas contaminadas com subdoses de 10 e 25% apresentaram um peso larval semelhante ao controle. Concentrações acima de 25% de ChinNPV ($3,75 \times 10^9$ OBs.L⁻¹) causaram uma redução no peso larval. A elevação das doses teve um maior efeito na diminuição do peso de lagartas de *C. includens*, sendo que a dose de 100% obteve o menor valor, diferindo de todas as

demais. Por outro lado, não afetou o peso de lagartas de *R. nu*, já que as doses de 75, 100 e 200% não difeririam de peso entre si (Figura 10).

Figura 10 - Peso larval de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%).



Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (barra de coloração preta) ou minúsculas (barra de coloração cinza) não diferem significativamente entre si (GLM com distribuição quase binomial seguida pelo teste post hoc de Tukey a 5%).

Os asteriscos indicam diferenças significativas dentro de cada dose de ChinNPV quando comparado *C. includens* e *R. nu* de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$) e ns indica não significativo de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Ao analisar a Tabela 1, o tempo de desenvolvimento sofreu influência da dose de vírus para as duas espécies de lagartas. O período larval de *C. includens* foi antecipado em todas subdoses, não havendo diferença entre si. No entanto, a dose de 100% obteve um período larval maior, semelhante ao valor da testemunha. O período pupal de *C. includens* não sofreu influência das doses de vírus. Com isso, o período larva-adulto dessa espécie teve uma redução significativa com o emprego das subdoses, apenas apresentando um aumento na dose de 100%.

O período larval de *R. nu* nas subdoses de 10 e 25% foi estatisticamente igual ao da testemunha. Doses acima de 25% proporcionaram um prolongamento do estágio larval, porém não diferindo entre si. O período pupal

sofreu uma antecipação com as infecções por baculovírus, com exceção dos tratamentos de 50 e 200% da dose recomendada que apresentaram um período semelhante ao da testemunha. O menor tempo necessário para a emergência do adulto foi nas subdoses de 10 e 25%. As doses de 50, 75 e 100% proporcionaram um tempo de desenvolvimento mediano, sendo estatisticamente iguais ao da testemunha. Lagartas submetidas a maior dose ($3,00 \times 10^{10}$) apresentaram o mais longo período larva-adulto (Tabela 1).

O peso das pupas de *C. includens* infectadas com vírus foi menor em comparação às livres de infecção; contudo, o aumento da dose não causou efeito na redução do peso pupal. Para *R. nu*, o efeito causado pelo vírus no peso das pupas foi baixo, sendo que somente as doses de 50 e 100% obtiveram um peso significativamente menor que os demais tratamentos (Tabela 1).

A viabilidade das pupas apresentou baixa relação com a infecção pelo vírus. Para *C. includens* não houve diferença. Por outro lado, para *R. nu* somente diferiram as doses de 50 e 200%, as quais também apresentaram significância entre si (Tabela 1).

Tabela 1 - Parâmetros biológicos dos estágios imaturos de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV.

Dose de ChinNPV (OBs.L ⁻¹)	Tempo de desenvolvimento (dias)			Pupa		
	Larva	Pupa	Larva-adulto	Peso (mg)	Viabilidade (%)	
<i>Chrysodeixis includens</i>						
0 (controle)		17,94 ± 0,41 A	8,98 ± 0,13 A	29,07 ± 0,32 A	237,75 ± 4,44 A	84,7 ± 5,84 A
10 % dose completa	(1,50 × 10 ⁹)	14,55 ± 0,35 B	7,97 ± 0,14 A	24,63 ± 0,43 B	210,74 ± 3,19 B	95,6 ± 3,39 A
25 % dose completa	(3,75 × 10 ⁹)	15,64 ± 0,29 B	7,20 ± 0,08 A	24,75 ± 0,26 B	204,78 ± 4,18 B	91,5 ± 5,06 A
50 % dose completa	(7,50 × 10 ⁹)	15,73 ± 0,34 B	7,34 ± 0,11 A	25,13 ± 0,39 B	215,14 ± 5,51 B	94,2 ± 3,33 A
75 % dose completa	(1,13 × 10 ¹⁰)	16,12 ± 0,17 B	7,69 ± 0,15 A	25,66 ± 0,44 B	207,58 ± 9,03 B	87,1 ± 5,29 A
100 % dose completa	(1,50 × 10 ¹⁰)	18,92 ± 0,41 A	8,07 ± 0,13 A	29,05 ± 0,51 A	203,17 ± 9,79 B	91,1 ± 4,16 A
200 % dose completa	(3,00 × 10 ¹⁰)*	-	-	-	-	-
<i>Rachiplusia nu</i>						
0 (controle)		18,54 ± 0,72 B	9,52 ± 0,33 AB	29,54 ± 1,33 B	132,25 ± 4,10 A	81,9 ± 5,60 A
10 % dose completa	(1,50 × 10 ⁹)	16,89 ± 0,31 B	7,71 ± 0,15 C	26,31 ± 0,43 C	130,17 ± 2,09 A	84,7 ± 4,19 A
25 % dose completa	(3,75 × 10 ⁹)	16,77 ± 0,39 B	7,54 ± 0,13 C	26,04 ± 0,47 C	130,29 ± 4,46 A	91,6 ± 3,47 A
50 % dose completa	(7,50 × 10 ⁹)	20,02 ± 0,17 A	8,85 ± 0,16 BC	30,09 ± 0,37 B	122,96 ± 5,14 B	77,60 ± 4,06 B
75 % dose completa	(1,13 × 10 ¹⁰)	21,32 ± 0,48 A	7,47 ± 0,13 C	30,90 ± 0,50 B	126,96 ± 3,41 A	80,60 ± 5,56 A
100 % dose completa	(1,50 × 10 ¹⁰)	21,11 ± 0,54 A	7,65 ± 0,11 C	31,26 ± 0,51 AB	125,47 ± 4,25 B	85,40 ± 7,78 A
200 % dose completa	(3,00 × 10 ¹⁰)	20,02 ± 0,38 A	10,40 ± 0,39 A	32,50 ± 0,89 A	127,80 ± 7,05 A	40,70 ± 13,42 C

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna dentro da mesma espécie não diferem significativamente entre si (GLM com distribuição quase binomial seguida pelo teste post hoc de Tukey a 5%).

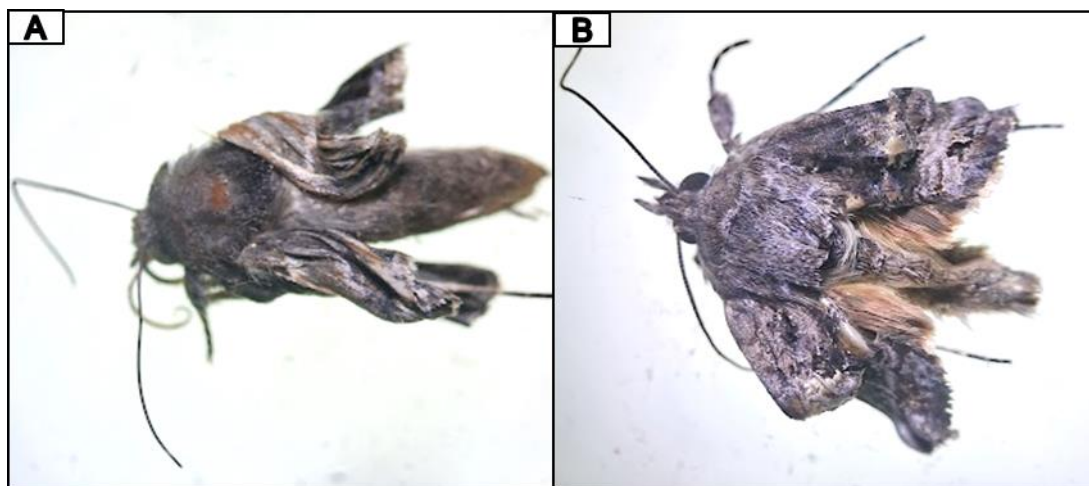
*Dados não entraram na análise estatística.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Ao analisar os dados da Tabela 2, a razão sexual de lagartas infectadas por ChinNPV não sofreu alterações em relação a testemunha, com exceção da dose de 200% em lagartas de *R. nu*. A infecção pelo vírus aumentou a incidência de adultos deformados de *C. includens*; porém, o aumento da dose não apresentou efeito nas deformações. Para *R. nu* as subdoses de 10 e 25% provocaram maior deformação em adultos, sendo que as demais doses, com exceção de 200%, obtiveram a mesma proporção em relação a testemunha.

Em *C. includens* as infecções por ChinNPV aumentaram a proporção de insetos adultos deformados (Figura 11A). Contudo, em *R. nu* as maiores deformações ocorreram nas menores doses de vírus (Figura 11B). O aumento das doses não causou a elevação do número de indivíduos deformados (Tabela 2).

Figura 11 - Adultos de *Chrysodeixis includens* (A) e *Rachiplusia nu* (B) deformados.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O período de pré-oviposição não sofreu influência com as infecções de vírus nas duas espécies. No entanto, ocorreu um decréscimo no número de dias de oviposição das fêmeas. Para *C. includens* a subdose de 10% obteve valores semelhantes ao encontrado na testemunha, enquanto que as demais doses proporcionaram um período de oviposição estatisticamente iguais entre si. Para *R. nu* somente a dose de 100% obteve um período de oviposição menor que a testemunha (Tabela 2).

O período pós-oviposição mostrou ser pouco dependente das infecções por ChinNPV. Para *C. includens* somente as doses de 10 e 100%

apresentaram um período maior em comparação com a testemunha. Já para *R. nu* não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 2).

De maneira geral os adultos do sexo feminino sobreviveram por um maior número de dias em comparação com os machos. Em *C. includens* a longevidade das fêmeas não sofreu influência com as contaminações pelo ChinNPV. Contudo, os machos obtiveram um menor tempo de vida nas subdoses de 25, 50 e 75%, não diferindo da testemunha (Tabela 2).

Em *R. nu* as fêmeas dos tratamentos de 50 e 100% apresentaram uma menor sobrevivência em relação a testemunha, não diferindo das doses de 10 e 75%. O tempo de sobrevivência dos machos teve uma redução com a infecção pelo vírus, não sofrendo influência pelas doses (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros biológicos do estágio adulto de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV.

Dose de ChinNPV (OBs.L ⁻¹)	Razão sexual	Deformações (%)	Períodos (dias)			Longevidade (dias)		
			Pré-Oviposição	Oviposição	Pós-Oviposição	Fêmea	Macho	
<i>Chrysodeixis includens</i>								
0 (controle)		0,56 ± 0,04 A	6,67 ± 1,88 B	3,18 ± 0,42 A	8,33 ± 0,69 A	0,92 ± 0,23 B	11,75 ± 0,54 A	10,33 ± 1,14 AB
10 % dose completa (1,50 × 10 ⁹)		0,52 ± 0,06 A	19,00 ± 4,33 A	2,91 ± 0,39 A	7,09 ± 0,98 AB	2,00 ± 0,49 A	11,64 ± 0,66 A	10,64 ± 0,81 A
25 % dose completa (3,75 × 10 ⁹)		0,52 ± 0,06 A	20,00 ± 2,75 A	4,00 ± 0,31 A	6,86 ± 1,14 BC	0,71 ± 0,47 B	11,14 ± 0,99 A	8,71 ± 0,57 B
50 % dose completa (7,50 × 10 ⁹)		0,48 ± 0,06 A	19,09 ± 4,63 A	4,43 ± 0,37 A	5,57 ± 1,11 C	0,57 ± 0,30 B	10,00 ± 1,00 A	9,57 ± 1,13 B
75 % dose completa (1,13 × 10 ¹⁰)		0,43 ± 0,07 A	15,00 ± 4,63 A	3,67 ± 0,67 A	5,17 ± 0,95 C	1,17 ± 0,31 B	9,67 ± 0,92 A	9,50 ± 1,45 B
100 % dose completa (1,50 × 10 ¹⁰)		0,42 ± 0,06 A	14,55 ± 2,47 A	3,90 ± 0,31 A	5,00 ± 0,75 C	2,10 ± 0,60 A	10,30 ± 0,65 A	11,30 ± 0,50 A
200 % dose completa (3,00 × 10 ¹⁰)*		-	-	-	-	-	-	-
<i>Rachiplusia nu</i>								
0 (controle)		0,39 ± 0,06 A	8,00 ± 1,33 B	2,00 ± 0,30 A	8,58 ± 1,15 A	1,08 ± 0,45 A	12,17 ± 1,22 A	10,25 ± 1,45 A
10 % dose completa (1,50 × 10 ⁹)		0,50 ± 0,07 A	12,50 ± 3,29 A	2,22 ± 0,36 A	6,76 ± 0,48 AB	1,12 ± 0,33 A	10,29 ± 0,60 AB	8,19 ± 0,77 B
25 % dose completa (3,75 × 10 ⁹)		0,43 ± 0,05 A	17,78 ± 3,64 A	3,00 ± 0,24 A	6,33 ± 0,53 AB	1,56 ± 0,63 A	11,00 ± 0,60 A	8,56 ± 0,67 B
50 % dose completa (7,50 × 10 ⁹)		0,58 ± 0,07 A	7,78 ± 2,22 B	2,43 ± 0,25 A	6,93 ± 0,71 AB	0,57 ± 0,20 A	9,71 ± 0,70 B	8,00 ± 0,50 B
75 % dose completa (1,13 × 10 ¹⁰)		0,53 ± 0,08 A	4,55 ± 2,47 BC	2,73 ± 0,30 A	7,54 ± 0,56 A	0,54 ± 0,22 A	10,31 ± 0,75 AB	8,00 ± 1,07 B
100 % dose completa (1,50 × 10 ¹⁰)		0,53 ± 0,06 A	5,56 ± 2,42 B	3,00 ± 0,49 A	5,43 ± 1,02 B	1,00 ± 0,44 A	8,43 ± 1,19 B	7,86 ± 1,10 B
200 % dose completa (3,00 × 10 ¹⁰)		0,30 ± 0,10 B	3,33 ± 1,88 C	-*	-*	-*	-*	-*

Razão sexual analisado pelo método de qui-quadrado.

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna dentro da mesma espécie não diferem significativamente entre si (GLM com distribuição quase binomial seguida pelo teste post hoc de Tukey a 5%).

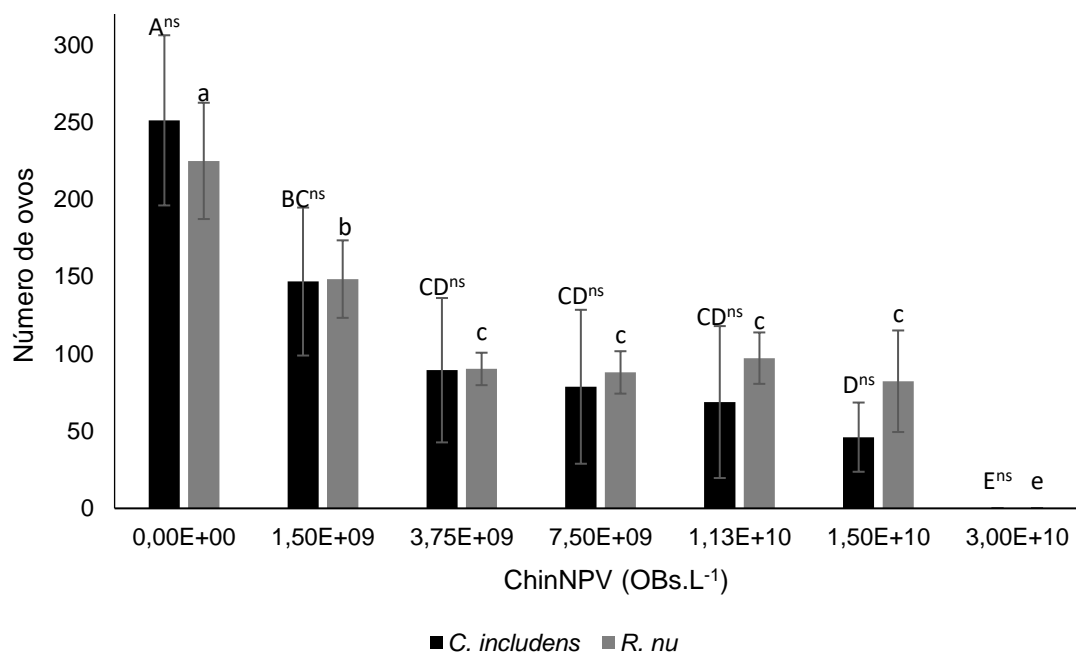
*Dados não entraram na análise estatística.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

4.3 Reprodução e crescimento populacional

O número de ovos de cada fêmea sofreu uma redução com as infecções por ChinNPV (Figura 12). Não houve diferença na fecundidade entre as espécies para cada dose. Em *C. includens* as subdoses proporcionaram uma redução na oviposição proporcionais entre si e a dose completa ($1,50 \times 10^{10}$) somente diferiu em relação a menor subdose utilizada. Por outro lado, em *R. nu* o aumento da dose acima de 10% causou uma supressão semelhante no número de ovos ovipositados em cada fêmea.

Figura 12 - Fecundidade total de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%).



Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (barra de coloração preta) ou minúsculas (barra de coloração cinza) não diferem significativamente entre si (GLM com distribuição quase binomial seguida pelo teste post hoc de Tukey a 5%).

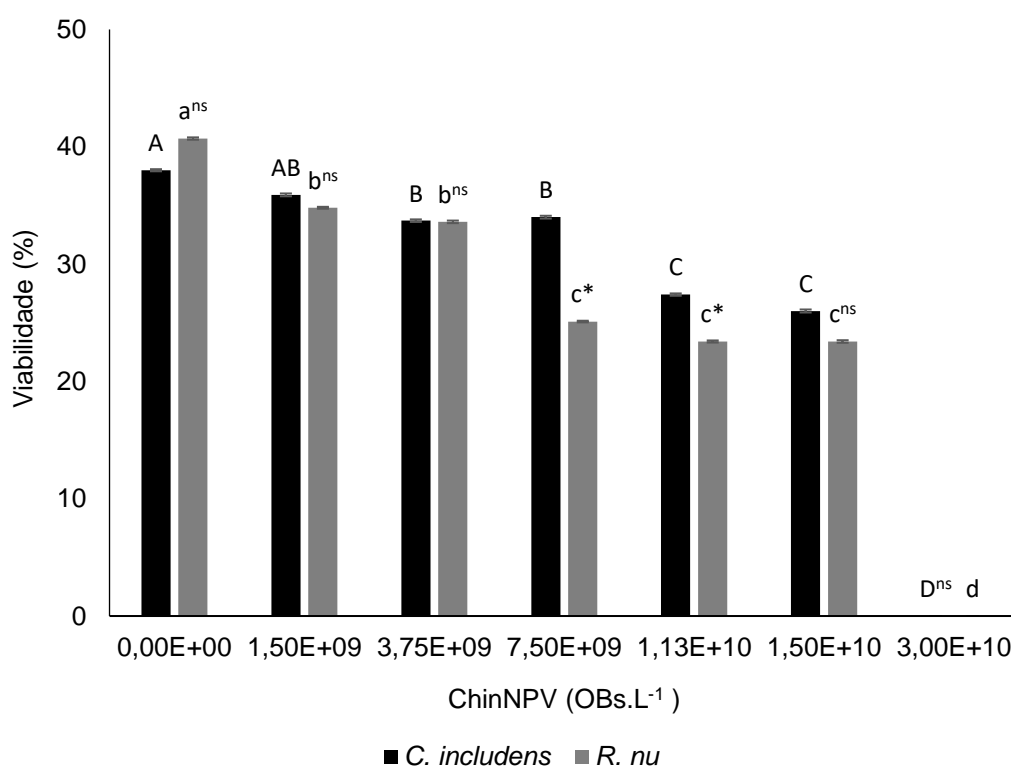
Os asteriscos indicam diferenças significativas dentro de cada dose de ChinNPV quando comparado *C. includens* e *R. nu* de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$) e ns indica não significativo de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

A Figura 13 comprova que a viabilidade total dos insetos sofreu uma queda com o aumento da dose de vírus utilizada. Ao comparar as duas espécies, apenas houve diferença em suas viabilidades nas doses de 50 e 75%. Para *C. includens* a menor dose ($1,50 \times 10^9$) não afetou a viabilidade total

dos insetos. Por outro lado, doses acima desta ocasionaram uma supressão populacional. O aumento da dose acima de 50% não causou uma redução significativa na viabilidade da espécie. Em *R. nu* as infecções por ChinNPV ocasionaram uma redução na viabilidade em comparação com a testemunha; contudo, o emprego de doses acima de 50% não causou uma redução significativa na viabilidade. A maior dose ($3,00 \times 10^{10}$) ocasionou a morte total dos insetos nas duas espécies.

Figura 13 - Viabilidade total de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV, sendo elas: 0,00E+00 (controle); 1,50E+09 (10%); 3,75E+09 (25%); 7,50E+09 (50%); 1,13E+10 (75%); 1,50E+10 (100%) e 3,00E+10 (200%).



Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (barra de coloração preta) ou minúsculas (barra de coloração cinza) não diferem significativamente entre si (GLM com distribuição quase binomial seguida pelo teste post hoc de Tukey a 5%).

Os asteriscos indicam diferenças significativas dentro de cada dose de ChinNPV quando comparado *C. includens* e *R. nu* de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$) e ns indica não significativo de acordo com o teste t de Student ($P < 0,05$).

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Ao analisar os parâmetros da tabela de vida de *C. includens* e *R. nu* observa-se a ocorrência de um mesmo padrão de resultados para as duas espécies de Plusiinae, em cada dose de ChinNPV utilizada. Há um aumento no

tempo para completar cada geração em doses de 75 e 100%. Subdoses de 10 e 25% não afetaram a taxa reprodutiva líquida. Por outro lado, doses acima de 50% proporcionaram uma redução do número de fêmeas em cada geração, sendo que 100% causou a maior redução, diferindo das demais. Devido isso, a taxa intrínseca de aumento da população sofreu uma queda em doses acima de 50% e a dose completa ocasionou a maior supressão no crescimento populacional, diferindo dos outros tratamentos. O tratamento que utilizou o dobro da dose recomendada causou a mortalidade total dos insetos em ambas espécies (Tabela 3).

Tabela 3 - Tabela de vida e de fertilidade de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu* submetidas a diferentes concentrações de ChinNPV.

Dose de ChinNPV (OBs.L ⁻¹)	Parâmetros da tabela de vida de fertilidade			
	T (dias)	R _o (♀/♀)	r _m (♀/♀*dia)	
<i>Chrysodeixis includens</i>				
0 (controle)		36.1 ± 0,44 b	55,0 ± 2,44 a	1,17 ± 0,002 a
10 % dose completa (1,50 × 10 ⁹)		36,9 ± 1,61 b	58,1 ± 2,79 a	1,19 ± 0,001 a
25 % dose completa (3,75 × 10 ⁹)		36,3 ± 2,81 b	52,8 ± 1,12 a	1,19 ± 0,002 a
50 % dose completa (7,50 × 10 ⁹)		36,5 ± 1,29 b	22,5 ± 0,98 b	0,096 ± 0,003 b
75 % dose completa (1,13 × 10 ¹⁰)		39,7 ± 0,52 a	24,9 ± 0,11 b	0,074 ± 0,001 b
100 % dose completa (1,50 × 10 ¹⁰)		39,8 ± 0,98 a	3,8 ± 0,67 c	0,032 ± 0,002 c
200 % dose completa (3,00 × 10 ¹⁰)		*	*	*
<i>Rachiplusia nu</i>				
0 (controle)		35,1 ± 0,35 b	45,4 ± 0,36 a	1,18 ± 0,002 a
10 % dose completa (1,50 × 10 ⁹)		34,3 ± 1,44 b	48,7 ± 0,45 a	1,14 ± 0,001 a
25 % dose completa (3,75 × 10 ⁹)		35,8 ± 0,80 b	46,4 ± 0,23 a	1,10 ± 0,002 a
50 % dose completa (7,50 × 10 ⁹)		35,2 ± 0,29 b	30,5 ± 0,34 b	0,044 ± 0,003 b
75 % dose completa (1,13 × 10 ¹⁰)		39,2 ± 0,52 a	21,5 ± 0,36 b	0,032 ± 0,001 b
100 % dose completa (1,50 × 10 ¹⁰)		38,3 ± 0,98 a	10,2 ± 0,36 c	0,023 ± 0,002 c
200 % dose completa (3,00 × 10 ¹⁰)		*	*	*

T = duração média de uma geração (dias); R_o = taxa reprodutiva líquida (fêmeas por fêmea por geração); e r_m = taxa intrínseca de aumento populacional (por dia).

Médias ± SE seguidas pela mesma letra em cada coluna são significativamente diferentes (teste t para comparações de grupos pareados, P > 0,05).

*Nenhum inseto sobreviveu até a fase adulta.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

5 Discussão

5.1 Sobrevivência

Uma das principais características dos baculovírus é sua elevada especificidade, possuindo geralmente uma gama restrita de hospedeiros (DECKER-FRANCO *et al.*, 2021; FERRELLI; SALVADOR, 2023). Apesar disso, os resultados encontrados nesse trabalho comprovam que *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV) é capaz de infectar e ser letal a lagartas de *R. nu*, apresentando uma patogenicidade semelhante com a que ocorre em *C. includens*, praga alvo desse vírus.

Recentemente foi realizada a descrição biológica e molecular de uma espécie de baculovírus que infecta lagartas de *R. nu*. Através de análises filogenéticas, *Rachiplusia nu* nucleopoliedrovírus (RanuNPV) foi classificado como uma nova espécie do gênero Alphabaculovirus sendo agrupado em um subclado formado com outras espécies patogênicas a lagartas Plusiinae, sendo elas: *Trichoplusia ni* single nucleopoliedrovírus (TnSNPV), *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV) e *Chrysodeixis chalcites* nucleopoliedrovírus (ChchNPV) (JAKUBOWICZ *et al.*, 2019; TRENTIN *et al.*, 2019).

Devido essa relativa proximidade evolutiva, provavelmente essas diferentes espécies de vírus tenham surgido a partir de especializações nas relações patógeno-hospedeiro em um ancestral comum (JAKUBOWICZ *et al.*, 2019; TRENTIN *et al.*, 2019). Isso explica a patogenicidade apresentada por ChinNPV em lagartas de *R. nu*.

O gênero Alphabaculovirus agrupa as espécies de vírus que são específicas para insetos da ordem Lepidoptera. Devido a isso, testes sobre a patogenicidade de diferentes espécies de vírus em um hospedeiro são importantes, uma vez que as populações de insetos estão constantemente em contato com entomopatógenos na natureza. Decker-Franco *et al.* (2021) realizaram um estudo comparando infecções de *R. nu* utilizando dois baculovírus desse gênero. Para isso compararam *Rachiplusia nu* nucleopoliedrovírus (RanuNPV), específico da praga, e *Autographa californica*

multiple nucleopoliedrovírus (AcMNPV), generalista. Como resultados obtiveram que ambas espécies de vírus foram eficientes no controle de *R. nu*; entretanto, AcMNPV apresentou maior patogenicidade, o que comprova a importância de analisar os efeitos causados por outras espécies de baculovírus em um hospedeiro.

Ao analisar a toxicidade de ChinNPV para as espécies de Plusiinae, fica evidente um aumento da mortalidade larval que ocorre com as elevações das doses de vírus utilizadas, conforme também observado por outros autores (GEORGIEVSKA *et al.*, 2010; FÜHR *et al.*, 2021; ZAKSESKI *et al.*, 2021). No entanto, nesse estudo a dose máxima recomendada pelo fabricante ($1,5 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹) resultou em uma baixa taxa de controle. Por outro lado, ao aumentar a dose para $3,00 \times 10^{10}$ OBs.L⁻¹ todos insetos morreram. Führ *et al.* (2021) realizaram um estudo similar ao testar a toxicidade de Chrysogen® para lagartas de *C. includens*, no qual a máxima dose recomendada pelo fabricante causou uma mortalidade quase total dos insetos. Todavia, cabe ressaltar que a suscetibilidade de lagartas a um bioinseticida à base de vírus está muito relacionada com o método do teste utilizado, população de insetos, número de gerações criadas em laboratório, estágio larval no momento da infecção, condições ambientais, variação natural da patogenicidade entre os diferentes isolados de vírus, dentre outros fatores (MURARO *et al.*, 2019; DONKERSLEY *et al.*, 2023).

É importante destacar que a população utilizada no presente trabalho foi coletada recentemente do campo, diferente do que ocorreu nos estudos de Führ *et al.* (2021). Com isso, é esperado que uma população de insetos com pouco tempo de laboratório seja mais resistente a atuação do vírus por haver um processo natural de coevolução. Diante disso, levanta-se a necessidade de novos estudos com o objetivo de estabelecer uma dosagem mais adequada para o manejo da *C. includens* na cultura da soja

5.2 Desenvolvimento

Hospedeiros não permissivos e semipermissivos desenvolveram diferentes estratégias para impedir infecções causadas por baculovírus, sendo

principalmente através da ativação do seu sistema imunológico (PAN *et al.*, 2021). Esse custo adaptativo exige a alocação de boa parte da sua energia metabólica para fortalecer suas defesas, ocasionando alterações no seu ciclo biológico. Devido a isso, é comum que lagartas sobreviventes a infecções por viroses apresentem um desenvolvimento prejudicado (MILKS; MYERS; LEPTICH, 2002; BOUWER; NARDINI; DUNCAN, 2009; CABODEVILLA *et al.*, 2011; TSAI *et al.*, 2022).

Uma característica do baculovírus é o seu maior tempo necessário até a morte dos insetos, o que poderia aumentar os danos econômicos devido ao ataque das pragas; no entanto, as lagartas infectadas apresentam uma redução acentuada no consumo alimentar e no ganho de peso (ALI; WERF; VLAK, 2019; DÁDER *et al.*, 2020). Esse conhecimento é importante para analisar os dados da Figura 10, na qual observa-se uma redução do peso larval com o incremento da dose de vírus utilizada, como também foi relatado em outros estudos (FUXA, 2004; KUMAR; MURUGAN; ZHANG, 2008; FÜHR *et al.*, 2021).

Para entender os motivos da redução do peso das lagartas é necessária uma análise mais detalhada da fisiologia do aparelho digestivo. O processo de digestão e posterior absorção dos nutrientes ocorre principalmente na região mediana no tubo digestivo dos insetos, chamada de mesêntero, no qual estão presentes as enzimas digestivas (LOBO-DA-CUNHA; CASARTELLI; TETTAMANTI, 2023). O vírus pode afetar o sistema digestivo através de duas formas distintas. A primeira consiste em danos na integridade das células epiteliais, haja vista que é nessa região onde ocorrem as infecções primárias. Além disso, foi relatado uma redução do pH intestinal com as infecções por baculovírus. Dessa forma, é provável que ocorram prejuízos na digestão e absorção de nutrientes, afetando inclusive a atuação das enzimas digestivas (HOOVER; WASHBURN; VOLKMAN, 2000; MARZBAN, 2012).

A compreensão do modo de ação do vírus no organismo dos hospedeiros está muito relacionada a atuação do sistema endócrino. O ciclo biológico dos insetos é controlado por diversas vias hormonais que interagem entre si. Entre os principais hormônios envolvidos nesses processos estão os ecdisteróides e o hormônio juvenil (HJ). Os ecdisteróides são um

grupo de neuropeptídios produzidos nas glândulas protorácicas e estão envolvidos nas mudanças de instares larvais, enquanto o HJ é um sesquiterpeno responsável por manter os caracteres imaturos, impedindo que o inseto sofra uma metamorfose precoce. Na fase adulta esses hormônios também desempenham importantes funções, especialmente relacionados a reprodução (HAMAIDIA; SOLTANI, 2021; AMARO-SÁNCHEZ *et al.*, 2023; IZADPANA; MIKANI; MOHARRAMIPOUR, 2023).

No último instar larval de insetos em desenvolvimento normal, ocorre um pico de ecdisônio seguido por uma redução acentuada de HJ na hemolinfa, sendo estes os estímulos para a formação da pupa. A redução do HJ é resultado tanto da sua menor produção pelos corpos alados, como também através da sua metabolização. A enzima HJ esterase é a responsável por degradar esse composto, tornando-o inativo (SAITO *et al.*, 2015; NAKAI *et al.*, 2016; HUTFILZ, 2022; LU *et al.*, 2023).

Diversos estudos comprovam alterações endocrinológicas em larvas infectadas por baculovírus. De modo geral, ocorre uma redução na produção de ecdisteróides e um aumento nas concentrações de HJ na hemolinfa de lagartas contaminadas. Essa desregulação hormonal afeta diretamente o desenvolvimento dos estágios imaturos dos insetos (CORY; HAILS, 2004; NAKAI; SHIOTSUKI; KUNIMI, 2004; NAKAI *et al.*, 2016).

No genoma dos baculovírus há um gene chamado de ecdisteróide udp-glicosiltransferase (egt). Esse gene codifica uma enzima que catalisa a ligação entre um monossacarídeo (UDP-glicose ou UDP-galactose) e ecdisteróides, inativando-os. Além disso, é relatado que ocorre uma inibição na enzima HJ esterase, mantendo os níveis elevados de HJ na hemolinfa. Isso pode ser o motivo do prolongamento que ocorre no estágio larval dos insetos com o aumento da dose de vírus utilizada (CORY; HAILS, 2004; NAKAI *et al.*, 2016; JIANG; GOLDSMITH; XIA, 2021).

Um maior período larval favorecerá a multiplicação do vírus no metabolismo do hospedeiro, sendo uma característica evolutiva de alguns isolados; contudo, isso não é interessante para o uso no controle de pragas. É comprovado na literatura que ao inativar o gene EGT ocorre uma redução no

tempo necessário para a morte do inseto, podendo ser uma alternativa para a produção de vírus recombinantes, através da engenharia genética, que causem a morte mais rápida do inseto-praga (MATTHEWS; SMITH; EDWARDS, 2002; CORY; HAILS, 2004; ALI; WERF; VLAK, 2019).

Um ponto que requer uma análise mais detalhada é o fato de os tratamentos com menores subdoses de vírus terem apresentado um período larva-adulto menor em comparação com a testemunha. Uma explicação para isso que vem ganhando força na literatura é que a suscetibilidade das lagartas às contaminações por baculovírus está diretamente ligada a capacidade de descamação das células alvo das infecções primárias no epitélio do intestino médio. Insetos com um metabolismo mais rápido são capazes de eliminar as células epiteliais com uma maior velocidade, podendo ser uma característica de resistência contra a entrada do vírus em seu organismo (HOOVER; WASHBURN; VOLKMAN, 2000; MILKS; MYERS; LEPTICH, 2002).

Pan *et al.* (2021) obtiveram resultados semelhantes. Ao analisar a resposta imune de duas diferentes espécies de vírus para *Helicoverpa zea*, descobriram que lagartas infectadas com *Helicoverpa zea* single nucleopoliedrovírus (HzSNPV), específica para a praga, apresentou um prolongamento do tempo para a emergência do adulto com o aumento das doses de vírus. Contudo, ao realizar a mesma análise em indivíduos infectados com *Autographa californica* multiple nucleopoliedrovírus (AcMNPV), obtiveram um resultado no qual as subdoses proporcionaram um menor período até a emergência do adulto em comparação com a testemunha.

AcMNPV é uma espécie de baculovírus generalista com aproximadamente 39 diferentes hospedeiros, sendo que *H. zea* é considerado parcialmente permissivo a sua multiplicação (CHATEIGNER *et al.*, 2015; PAN *et al.*, 2021; TSAI *et al.*, 2022). Com isso, os mecanismos de defesa do hospedeiro podem sofrer alterações de acordo com a especificidade do vírus. No entanto, existem outros fatores que podem influenciar diretamente nos resultados, como por exemplo o modo de contaminação que o alimento é submetido, as metodologias de infecção das lagartas e mecanismos endócrinológicos (HOOVER; WASHBURN; VOLKMAN, 2000; HUDSON *et al.*, 2016; MURARO *et al.*, 2019; JIANG; GOLDSMITH; XIA, 2021). Devido a isso,

os resultados encontrados na literatura são conflitantes. Alguns estudos relatam não haver diferença estatística do tempo de desenvolvimento de acordo com as doses de vírus empregadas (HATEM; ALDEBIS; OSUNA, 2011; FÜHR *et al.*, 2021), enquanto que outros comprovam um prolongamento no período larval e pupal (KUMAR; MURUGAN; ZHANG, 2008; CABODEVILLA *et al.*, 2011; HATEM; ALDEBIS; OSUNA, 2011).

O período pupal é um estágio no qual o metabolismo dos insetos está sofrendo fortes transformações (GAO *et al.*, 2022). Nessa fase somente ocorre gastos energéticos das reservas corporais e não há nenhuma forma de reposição proveniente da dieta. Freitag *et al.* (2003) comprovaram um aumento na atividade metabólica de pupas submetidas a um implante de nylon em seu corpo. Isso pode ser usado para simular a presença de um agente estranho no organismo, como por exemplo partículas virais, e as respostas desencadeadas em seu sistema imunológico.

Em adição a isso, infecções por baculovírus afetam o metabolismo energético dos indivíduos. Lagartas infectadas apresentam um baixo conteúdo de glicogênio, lipídios totais e proteínas solúveis na hemolinfa (MILKS; MYERS; LEPTICH, 2002; MARZBAN, 2012; PAN *et al.*, 2021). Devido a esses fatores, as reservas energéticas das pupas tendem a ser menores. Isso pode ser um dos motivos da redução do peso das pupas de *C. includens* contaminadas com ChinNPV, como também é relatado por outros autores (CABODEVILLA *et al.*, 2011; PAN *et al.*, 2021; SOUKHOVOLSKY *et al.*, 2023). Porém, em alguns estudos não houve efeitos subletais em pupas (FÜHR *et al.*, 2021), corroborando os dados encontrados em *R. nu*, que mesmo havendo tratamentos com redução significativa de peso, pupas submetidas ao dobro da dose de vírus não diferiram de peso em relação a testemunha, o que indica baixa influência de ChinNPV para esse parâmetro.

A viabilidade das pupas de *C. includens* não foi afetada pelas infecções por ChinNPV. Ao analisar a resposta de *R. nu*, houve uma redução da viabilidade na dose de 50% que, no entanto, não deve ser consequência do entomopatógeno pelo fato de doses maiores não apresentarem essa mesma tendência de queda. Todavia, o tratamento que utilizou 200% da dose recomendada de vírus obteve uma redução acentuada na viabilidade, muito

provavelmente pela influência no metabolismo energético dos insetos (NAKAI; SHIOTSUKI; KUNIMI, 2004; CABODEVILLA *et al.*, 2011).

Nos insetos adultos os efeitos do vírus ainda são consequências dos impactos causados nas lagartas, já que é nesse estágio onde o entomopatógeno age mais pronunciadamente (NAKAI *et al.*, 2016). Existem diversas evidências que relatam a influência do baculovírus em insetos adultos, principalmente devido a alterações endocrinológicas e redução dos conteúdos de reservas energéticas corporais (MATTHEWS; SMITH; EDWARDS, 2002; KUMAR; MURUGAN; ZHANG, 2008; LENAERTS *et al.*, 2019).

A determinação das características sexuais dos insetos ocorre pela atuação de um grupo de hormônios esteróides secretados pelas gônadas. Enquanto o estrogênio é produzido pelo ovário, a testosterona é gerada nos testículos. Os ecdisteróides são outro grupo de hormônios esteróides. Existem indícios que mostram a relação dos níveis desse hormônio com a diferenciação sexual durante a embriogênese (MATSUSHIMA *et al.*, 2019).

Apesar disso, a razão sexual dos insetos sobreviventes a infecções de baculovírus parece ser pouco afetada pelo patógeno; contudo, lagartas de *R. nu* submetidas ao dobro da dose recomendada de ChinNPV apresentaram uma maior proporção de machos. Por outro lado, Führt *et al.* (2021) obtiveram um aumento na proporção de fêmeas com as infecções por baculovírus. No entanto, as alterações no balanço hormonal dos insetos adultos sobreviventes ao vírus podem influenciar a proporção sexual em seus descendentes, afetando o crescimento populacional das espécies.

Efeitos adicionais de infecções por baculovírus em insetos são deformações. Isso está muito ligado a alteração da homeostase corporal, já que ocorrem alterações fisiológicas e morfológicas em seu organismo (KUMAR; MURUGAN; ZHANG, 2008; SAITO *et al.*, 2015; TSAI *et al.*, 2022). No presente estudo ocorreu um aumento na incidência de adultos deformados de *C. includens* com infecções por ChinNPV. Para *R. nu* os tratamentos com subdoses de 10 e 25% resultaram em maior proporção de adultos deformados. Ao analisar o tratamento que utilizou o dobro da dose recomendada ocorreu uma menor incidência de deformações que, no entanto, pode ser explicada

pelo baixo número de indivíduos que chegaram à fase adulta nesse grupo de insetos. Contrastando a isso, Führ *et al.* (2021) não encontraram alterações nas deformações em insetos sobreviventes a infecções por ChinNPV.

Os hormônios afetam outras características da história de vida dos insetos, como por exemplo desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, atração sexual, processos fisiológicos relacionados a reprodução, desenvolvimento embrionário (KUMAR; MURUGAN; ZHANG, 2008; SAITO *et al.*, 2015; TSAI *et al.*, 2022). Devido a isso, é esperado que ocorram efeitos em parâmetros reprodutivos. Ao analisar os dados encontrados nesse estudo, não houve uma alteração do período de pré-oviposição com as infecções de ChinNPV, vindo de encontro com outros trabalhos (HATEM; ALDEBIS; OSUNA, 2011). Contudo, alguns autores afirmam haver um aumento no período que antecede o início da oviposição com infecções por baculovírus (CABODEVILLA *et al.*, 2011).

Um dos parâmetros mais afetados pelo vírus no metabolismo reprodutivo dos insetos é o período de oviposição (FUXA, 2004; FÜHR *et al.*, 2021; ZAKSESKI *et al.*, 2021). É notório uma redução no tempo de oviposição das fêmeas com o aumento das doses de ChinNPV. Há algumas explicações para isso, principalmente pelas alterações fisiológicas, morfológicas e comportamentais que o vírus causa no metabolismo do hospedeiro (HATEM; ALDEBIS; OSUNA, 2011; SAITO *et al.*, 2015; GAO *et al.*, 2020; TSAI *et al.*, 2022).

O período pós-oviposição mostrou uma tendência de aumento com as elevações das doses de ChinNPV, especialmente para *C. includens*. Este parâmetro está muito relacionado com o tempo de oviposição e também com a longevidade das fêmeas (LI *et al.*, 2018). Como as diferenças nesses parâmetros são maiores para *C. includens* em comparação a *R. nu* é compreensível que ocorram maiores discrepâncias para esta espécie.

A expectativa de vida dos adultos é uma característica muito importante para o sucesso reprodutivo dos organismos. Os ecdisteróides foram relatados como fundamentais na determinação da longevidade de insetos adultos. Como os ovários são órgão responsáveis por produzir este hormônio, um maior nível

desse composto poderia ser a explicação para que tanto em *C. includens* como em *R. nu* as fêmeas apresentassem, em geral, uma maior longevidade em comparação com os machos (TRICOIRE *et al.*, 2009; SCHWEDES; CARNEY, 2012; BADISCO *et al.*, 2013; BELLES; PIULACHS, 2015; KHALID *et al.*, 2021; HUTFILZ, 2022). Outra consequência das infecções é a supressão da imunidade de adultos, o que pode afetar na sua expectativa de vida (SCHWEDES; CARNEY, 2012; LI *et al.*, 2018; PAN *et al.*, 2021).

5.3 Reprodução e crescimento populacional

A fisiologia reprodutiva em insetos envolve diversas etapas desde a formação dos órgãos sexuais até o acasalamento (KHALID *et al.*, 2021). A formação dos gametas femininos é denominada de oogênese e ocorre nos ovários. É iniciada com a divisão e diferenciação das células tronco na região do germário, finalizando com a ovulação. Algumas de suas etapas possuem controle endócrino, como é relatado para a vitelogênese e o desenvolvimento do córion. A vitelogênese é uma fase do desenvolvimento do ovócito, onde ocorre o acúmulo de reservas nutritivas para o futuro embrião. Os ecdisteróides e o HJ têm a função de estimular a síntese de vitelogeninas nos corpos gordurosos. Estas lipoglicoproteínas são liberadas na hemolinfa e, então captadas pelos ovócitos em desenvolvimento, sendo armazenadas na forma de vitelinas (AZEVEDO *et al.*, 2016; LENAERTS *et al.*, 2019; HAMAIDIA; SOLTANI, 2021; KHALID *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2021; IZADPANAH; MIKANI; MOHARRAMIPOUR, 2023).

Os baculovírus causam uma supressão da oviposição (MATTHEWS; SMITH; EDWARDS, 2002; FÜHR *et al.*, 2021; ZAKSESKI *et al.*, 2021). Esse efeito pode ser explicado por uma combinação de fatores fisiológicos, morfológicos e comportamentais. A influência do vírus na fisiologia dos insetos está muito relacionada com o desbalanço hormonal em seu organismo. É comum ocorrer a interrupção da vitelogênese, resultando na reabsorção do óvulo em desenvolvimento. Há relatos também de afetar a produção e deposição do córion do ovo, tornando-o frágil e facilmente causando seu

rompimento (KUMAR; MURUGAN; ZHANG, 2008; BELLES; PIULACHS, 2015; LENAERTS *et al.*, 2019; GAO *et al.*, 2020; JU *et al.*, 2023).

Ao analisar os padrões morfológicos é frequente que ocorram alterações nos conteúdos de reservas corporais em insetos adultos (TSAI *et al.*, 2022). Além disso, outro efeito subletal do vírus envolve deformações nos órgãos reprodutivos, muito provavelmente devido aos desbalanços hormonais. Hatem, Aldebis e Osuna (2011) realizaram um teste da atividade inseticida de *Spodoptera littoralis granulovirus* (SpliGV) para lagartas de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae), comprovando alterações no aparelho reprodutor masculino, mas não encontraram efeitos para as fêmeas.

Por outro lado, Izadpanah, Mikani e Moharramipour (2023) relataram que o uso de inseticidas análogos ao hormônio juvenil em lagartas de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) causou efeitos subletais em fêmeas ao reduzir os teores de ecdisteróides. Isso resultou na diminuição da fecundidade, fertilidade, expressão de vitelogenina e do tamanho dos oócitos. Uma vez que o vírus afeta a produção desses hormônios é possível que cause efeitos semelhantes.

Além disso, o vírus afeta questões comportamentais de insetos. Um comportamento muito frequentemente observado nas lagartas infectadas em estágios avançados é a hiperatividade (HIKIDA; KATSUMA, 2021). Com isso, os insetos são estimulados a se direcionarem para partes mais altas do dossel das plantas, onde acabam por morrerem, facilitando a propagação viral no ambiente. Contudo, insetos adultos também podem ser afetados. Foi relatado que indivíduos sobreviventes a infecções podem ter alterações no comportamento sexual, principalmente na atração entre machos e fêmeas. Isso pode estar relacionado a supressão da produção de feromônios sexuais em fêmeas (CABODEVILLA *et al.*, 2011; GAO *et al.*, 2020; AMARO-SÁNCHEZ *et al.*, 2023).

O acasalamento resulta em várias alterações fisiológicas e comportamentais no organismo de fêmeas. No ato da cópula, o macho libera secreções produzidas nas glândulas acessórias do sistema reprodutivo para a fêmea. Gao *et al.* (2020) descobriram que essas secreções estimulam o

desenvolvimento dos ovos e também a oviposição. Além disso, estão diretamente relacionadas com a diminuição da expectativa de vida feminina, já que aumenta a alocação de recursos para a reprodução e diminui para outros processos metabólicos.

Outro parâmetro que contribui para a supressão do número de ovos depositado por cada fêmeas é o menor período de oviposição (FÜHR *et al.*, 2021). Este se caracteriza pelo intervalo de tempo que a fêmea realiza posturas e é diretamente afetado pelas infecções virais. A combinação de todos esses fatores é responsável por causar a redução da fecundidade de ChinNPV em fêmeas de *C. includens* e *R. nu*.

Ao analisar os dados da tabela de vida e fertilidade é possível observar que os efeitos subletais não ocorrem somente em insetos que foram contaminados com ChinNPV, mas também em seus descendentes, pelo fato de haver consequências transgeracionais (CABODEVILLA *et al.*, 2011; FÜHR *et al.*, 2021; ZAKSESKI *et al.*, 2021). Este estudo é uma importante ferramenta para fazer projeções sobre a dinâmica populacional das espécies de insetos, analisando padrões de sobrevivência, reprodução e crescimento populacional. O tempo médio de geração (T) é uma relação direta com a duração dos estágios imaturos dos insetos. Enquanto que a taxa reprodutiva líquida (R_0) e a taxa intrínseca de aumento da população (r_m) são afetados pelos parâmetros reprodutivos, como fecundidade, fertilidade e razão sexual.

Ao comparar os parâmetros de crescimento populacional das duas espécies de Plusiinae, é possível afirmar que *C. includens* tem um ciclo mais longo e uma maior capacidade de gerar descendentes do sexo feminino em comparação a *R. nu*. No entanto, a taxa de crescimento de ambas espécies é muito semelhante. Esse resultado vai ao encontro aos relatados por Specht *et al.* (2019); no entanto, utilizando soja como alimentação.

Ocorreu uma supressão populacional de *C. includens* e *R. nu* com o aumento da concentração de ChinNPV. Isso é resultado da combinação entre dois fatores principais. Primeiramente observa-se um prolongamento do ciclo biológico, o que reduz o número de gerações anuais das pragas. Além disso, houve uma menor proporção de fêmeas na população de insetos, afetando

diretamente sua capacidade reprodutiva. Contudo, esses efeitos são maximizados em subdoses acima de 50% da dose recomendada do bioinseticida. Importante também destacar que Führ *et al.* (2021) não encontraram um aumento no tempo de duração de cada geração com as subdoses de ChinNPV, no entanto, confirmaram ter ocorrido efeitos em parâmetros reprodutivos e a supressão populacional de *C. includens*.

Resultados muito semelhantes foram encontrados por Zakseski *et al.* (2021). Esses autores realizaram um teste para determinar os efeitos subletais de *Spodoptera frugiperda* múltiplos nucleopoliedrovírus (SfMNPV) em seu hospedeiro alvo. Ao analisar os dados, observaram que a subdose de 10% não causou um efeito significativo em parâmetros que influenciam o crescimento populacional da espécie. Contudo, com o aumento da dose utilizada ocorreu um prolongamento do tempo de duração de cada geração. Além disso, alterou parâmetros reprodutivos da espécie, com a diminuição da taxa reprodutiva líquida, ou seja, menor proporção de fêmeas para cada fêmea em uma geração, afetando diretamente a taxa intrínseca de aumento populacional.

Diante disso, ocorre uma redução da viabilidade do ciclo total de insetos submetidos a infecções pelo ChinNPV. Isso evidencia que o vírus causa efeitos subletais no desenvolvimento de *C. includens* e *R. nu.* Além de ocasionar a mortalidade de lagartas, ocorre também consequências no desenvolvimento de pupas e em parâmetros reprodutivos que afetam o desenvolvimento das próximas gerações das pragas (MATTHEWS; SMITH; EDWARDS, 2002; MILKS; MYERS; LEPTICH, 2002; CABODEVILLA *et al.*, 2011; HATEM; ALDEBIS; OSUNA, 2011; FÜHR *et al.*, 2021; ZAKSESKI *et al.*, 2021).

Em suma, o uso de ChinNPV pode ser uma boa estratégia para o manejo de lagartas Plusiinae na cultura da soja. Devido aos crescentes casos de resistência envolvendo diversos grupos de inseticidas sintéticos e também eventos de soja *Bt*, o controle biológico com baculovírus compõe uma ótima opção para ser inserido em programas de manejo integrado e manejo de resistência das lagartas falsas-medideiras. No entanto, trabalhos futuros devem ser executados com o objetivo de testar coinfeções entre diferentes espécies de vírus, principalmente do gênero Alphabaculovirus, assim como a determinação das doses recomendadas para a aplicação no campo. Outro

ponto que requer uma análise mais detalhada é a viabilidade da utilização de subdoses de baculovírus em associação com o controle químico e, dessa forma, a determinação dos possíveis efeitos sinérgicos dessa combinação e seus benefícios para o controle dos insetos-praga.

6 Conclusões

Chrysodeixis includens nucleopoliedrovírus (ChinNPV) é patogênico para lagartas de *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu*, apresentando efeitos letais e subletais.

A patogenicidade do bioinseticida Chrysogen[®] foi semelhante para *C. includens* e *R. nu*.

O peso, a viabilidade e o período larval são os principais parâmetros biológicos afetados pelas infecções de ChinNPV em ambas espécies de Plusiinae.

Na fase adulta, a maior influência do vírus foi sobre os períodos de oviposição e na fecundidade de fêmeas.

Subdoses acima de 50% causam efeitos negativos no crescimento populacional das espécies de Plusiinae, diminuindo o número de gerações anuais das pragas e a proporção de fêmeas na população de insetos.

7 Referências

ABBATE, L. S. *et al.* Refuge areas favor the presence of predators and herbivores in *Bt* soybean: a landscape perspective. **Journal of Pest Science**, v. 96, n. 1, p. 1133–1147, 2023.

AGBITECH, Controles Biológicos Ltda. **Bula Chrysogen**, v.1, n.1, p. 1-13, 2023. Disponível em: <https://www.adapar.pr.gov.br/sites/adapar/arquivos_restritos/files/documento/2023-10/chrysogen.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2023.

ALI, G.; WERF, W. V. D.; VLAK, J. M. Infection with *Spodoptera litura* NPV reduces food consumption and weight gain of *Spodoptera litura* larvae. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 51, n. 2, p. 495–501, 2019.

AMARO-SÁNCHEZ, T. *et al.* Effect of juvenile hormone on phenoloxidase and hemocyte number: the role of age, sex, and immune challenge. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 265, n. 1, p. 1–12, 2023.

AMIN, M. R. *et al.* The effect of thioredoxin-gene-expressed transgenic soybean on associated non-target insects and arachnids. **Plant Biotechnology Reports**, v. 16, n. 1, p. 79–90, 2022.

ANDRADE, J. F. *et al.* Field validation of a farmer supplied data approach to close soybean yield gaps in the US North Central region. **Agricultural Systems**, v. 200, n. 1, p. 1–10, 2022.

AZEVEDO, D. O. *et al.* Juvenile hormone downregulates vitellogenin production in *Ectatomma tuberculatum* (Hymenoptera: Formicidae) sterile workers. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. 1, p. 103–108, 2016.

BADISCO, L.; WIELENDAELE, P. V.; BROECK, J. V. Eat to reproduce: a key role for the insulin signaling pathway in adult insects. **Frontiers in Physiology**, v. 4, n. 202, p. 1–16, 2013.

BARATHI, S. *et al.* Present status of insecticide impacts and eco-friendly approaches for remediation-a review. **Environmental Research**, v. 240, n. 1, p. 1–12, 2024.

- BARBUT, J. Révision du genre *Rachiplusia* Hampson, 1913 (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Bulletin de la Société Entomologique de France**, v. 113, n. 4, p. 445–452, 2008.
- BARRIONUEVO, M. J. Redescrición de los estados preimaginales de *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 70, n. 4, p. 169–184, 2011.
- BARRIONUEVO, M. J. *et al.* Life table studies of *Rachiplusia nu* (Guenée) and *Chrysodeixis* (= *Pseudoplusia*) *includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) on artificial diet. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 4, p. 944–951, 2012.
- BARRIONUEVO, M. J.; SAN BLAS, G. Redescription of immature stages of the soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae: Plusiinae). **Canadian Entomologist**, v. 148, n. 3, p. 247–259, 2016.
- BAUDROT, V. *et al.* Managing pesticide resistance in *Spodoptera frugiperda*: a spatially explicit framework for identifying optimal treatment strategies. **Ecological Modelling**, v. 483, n. 1, p. 1–10, 2023.
- BEAS-CATENA, A. *et al.* Baculovirus biopesticides: an overview. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 24, n. 2, p. 362–373, 2014.
- BELLES, X.; PIULACHS, M. D. Ecdysone signalling and ovarian development in insects: from stem cells to ovarian follicle formation. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1849, n. 2, p. 181–186, 2015.
- BENGYELLA, L. *et al.* Global challenges faced by engineered *Bacillus thuringiensis* Cry genes in soybean (*Glycine max* L.) in the twenty-first century. **3 Biotech**, v. 8, n. 11, p. 1–15, 2018.
- BERNARDI, O. *et al.* **Manejo da Resistência de Insetos-Praga a Plantas Bt**. Ed. 1, p. 1-45, PROMIP, São Paulo, 2016. Disponível em: <www.promip.agr.br>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- BERRETTA, M. F. *et al.* Susceptibility of agricultural pests of regional importance in South America to a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ia protein. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 172, n. 1, p. 1–3, 2020.

BORTOLOTTO, O. C. *et al.* The use of soybean integrated pest management in Brazil: a review. **Agronomy Science and Biotechnology**, v. 1, n. 1, p. 25–32, 2015.

BOTELHO, A. B. R. Z.; SILVA, I. F.; ÁVILA, C. J. Effectiveness reduction of nucleopolyhedrovirus against *Chrysodeixis includens* days after application in soybean plants. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 4, p. 94–99, 2018.

BOUWER, G.; NARDINI, L.; DUNCAN, F. D. *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae that survive sublethal doses of nucleopolyhedrovirus exhibit high metabolic rates. **Journal of Insect Physiology**, v. 55, n. 4, p. 369–374, 2009.

BUENO, A. F. *et al.* Challenges for adoption of Integrated Pest Management (IPM): the soybean example. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 1, p. 5–20, 2021.

BUENO, R. C. O. F. *et al.* Lepidopteran larva consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science**, v. 67, n. 2, p. 170–174, 2010.

BUSS, N. *et al.* Comparative susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) and *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) to insecticides. **Ciência Rural**, v. 52, n. 8, p.1-6, 2022.

CABODEVILLA, O. *et al.* Intra- and intergenerational persistence of an insect nucleopolyhedrovirus: adverse effects of sublethal disease on host development, reproduction, and susceptibility to superinfection. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 9, p. 2954–2960, 2011.

CAMARGO, L. C. M. *et al.* Insecticide application speed in the control of lepidopteran pests in soybean. **Revista Caatinga**, v. 33, n. 1, p. 72–80, 2020.

CASTRO, M. E. B. *et al.* Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Eds.). **Controle biológico de pragas da agricultura**. ed. 1, p. 237-273. Embrapa, 2020.

CERRUDO, C. S. *et al.* Protein-gene orthology in baculoviridae: an exhaustive analysis to redefine the ancestrally common coding sequences. **Viruses**, v. 15, n. 5, p. 1-19, 2023.

CHATEIGNER, A. *et al.* Ultra deep sequencing of a baculovirus population reveals widespread genomic variations. **Viruses**, v. 7, n. 7, p. 3625–3646, 2015.

CHEN, S. P. J. *et al.* The seed quality assurance regulations and certification system in soybean production: a chinese and international perspective. **Agriculture**, v. 12, n. 5, p. 1-24, 2022.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. Brasília, DF, v. 11, n. 1, p. 1-118, 2023.

CONTINI, R. E. *et al.* Characterization of the resistance of *Chrysodeixis includens* to diamides. **Revista Caatinga**, v. 35, n. 2, p. 288–298, 2022.

CORY, J. S.; HAILS, R. S. Microparasite manipulation of an insect : the influence of the egt gene on the interaction between a baculovirus and its lepidopteran host. **Functional Ecology**, v. 18, n. 3, p. 443–450, 2004.

DÁDER, B. *et al.* Synergy of lepidopteran nucleopolyhedroviruses AcMNPV and SpliNPV with insecticides. **Insects**, v. 11, n. 5, p. 1–13, 2020.

DECKER-FRANCO, C. *et al.* Comparative pathogenesis of generalist AcMNPV and specific RanuNPV in larvae of *Rachiplusia nu* (Lepidoptera: Noctuidae) following single and mixed inoculations. **Journal of Economic Entomology**, v. 114, n. 2, p. 1009–1014, 2021.

DONKERSLEY, P. *et al.* Gut microbial community supplementation and reduction modulates African armyworm susceptibility to a baculovirus. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 99, n. 1, p. 1–11, 2023.

FERRELLI, M. L.; SALVADOR, R. Effects of mixed baculovirus infections in biological control: a comprehensive historical and technical analysis. **Viruses**, v. 15, n. 9, p. 1–24, 2023.

FREITAK, D. *et al.* Immune response is energetically costly in white cabbage butterfly pupae. **Royal Society of Chemistry**, v. 270, n. 2, p. 220–222, 2003.

FÜHR, F. M. *et al.* Lethal and sublethal effects of *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV)- based biopesticide infecting different larval ages of soybean looper. **Biocontrol Science and Technology**, v. 31, n. 6, p. 619–631, 2021.

FUXA, J. R. Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 103, n. 1, p. 27–43, 2004.

GAN, C. *et al.* *Helicoverpa armigera* ATP-binding cassette transporter ABCA2 is a functional receptor of *Bacillus thuringiensis* Cry2Ab toxin. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 197, n. 1, p. 1–11, 2023.

GAO, B. *et al.* Mating-induced differential expression in genes related to reproduction and immunity in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) female moths. **Journal of Insect Science**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2020.

GAO, X. *et al.* Conceptual framework for the insect metamorphosis from larvae to pupae by transcriptomic profiling, a case study of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **BMC Genomics**, v. 23, n. 591, p. 1–17, 2022.

GEORGIEVSKA, L. *et al.* Dose dependency of time to death in single and mixed infections with a wildtype and egt deletion strain of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 104, n. 1, p. 44–50, 2010.

GODOY, D. N. *et al.* No cross-resistance between ChinNPV and chemical insecticides in *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 164, n. 1, p. 66–68, 2019.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p. 487–488, 1976.

HAMAIDIA, K.; SOLTANI, N. Methoxyfenozide, a molting hormone agonist, affects autogeny capacity, oviposition, fecundity, and fertility in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 3, p. 1004–1011, 2021.

HATEM, A. E. S.; ALDEBIS, H. K.; OSUNA, E. V. Effects of the *Spodoptera littoralis* granulovirus on the development and reproduction of cotton leafworm *S. littoralis*. **Biological Control**, v. 59, n. 2, p. 192–199, 2011.

HELPS, J. C. *et al.* Determinants of optimal insecticide resistance management strategies. **Journal of Theoretical Biology**, v. 503, n. 1, p. 1-25, 2020.

HIKIDA, H.; KATSUMA, S. High-resolution analysis of baculovirus-induced host manipulation in the domestic silkworm, *Bombyx mori*. **Parasitology**, v. 148, n. 1, p. 105–109, 2021.

HOOVER, K.; WASHBURN, J. O.; VOLKMAN, L. E. Midgut-based resistance of *Heliothis virescens* to baculovirus infection mediated by phytochemicals in cotton. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, n. 6, p. 999–1007, 2000.

HORIKOSHI, R. J. *et al.* Large-scale assessment of lepidopteran soybean pests and efficacy of Cry1Ac soybean in Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021a.

HORIKOSHI, R. J. *et al.* Resistance status of lepidopteran soybean pests following large-scale use of MON 87701 × MON 89788 soybean in Brazil. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2021b.

HORIKOSHI, R. J. *et al.* Regional pest suppression associated with adoption of Cry1Ac soybean benefits pest management in tropical agriculture. **Pest Management Science**, v. 78, n. 10, p. 4166–4172, 2022.

HUDSON, A. I. *et al.* Genotype-by-genotype interactions between an insect and its pathogen. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 29, n. 12, p. 2480–2490, 2016.

HUTFILZ, C. Endocrine regulation of lifespan in insect diapause. **Frontiers in Physiology**, v. 13, n. 1, p. 1–18, 2022.

IRAC (COMITE DE AÇÃO À RESISTENCIA A INSETICIDAS). **Classificação do Modo de Ação de Inseticidas**. Ed. 9.1, 2018. Disponível em: < www.irac-br.org/>. Acesso em: 20 nov. 2023.

IRSAD *et al.* Entomopathogen-based biopesticides: insights into unraveling

their potential in insect pest management. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, n. 1, p. 1–24, 2023.

IZADPANA, A.; MIKANI, A.; MOHARRAMIPOUR, S. Sublethal effects of fenoxycarb on female reproduction in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Canadian Entomologist**, v. 155, n. 1, p. 1–12, 2023.

JAKUBOWICZ, V. *et al.* Biological and molecular characterization of *Rachiplusia nu* single nucleopolyhedrovirus, a promising biocontrol agent against the South American soybean pest *Rachiplusia nu*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 166, n. 1, p. 1-6, 2019.

JIANG, L.; GOLDSMITH, M. R.; XIA, Q. Advances in the arms race between silkworm and baculovirus. **Frontiers in Immunology**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2021.

JU, D. *et al.* Exposure to lambda-cyhalothrin and abamectin drives sublethal and transgenerational effects on the development and reproduction of *Cydia pomonella*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 252, n. 1, p. 1–14, 2023.

KHALID, M. Z. *et al.* Role of endocrine system in the regulation of female insect reproduction. **Biology**, v. 10, n. 7, p. 1–12, 2021.

KUMAR, N. S.; MURUGAN, K.; ZHANG, W. Additive interaction of *Helicoverpa armigera* Nucleopolyhedrovirus and Azadirachtin. **BioControl**, v. 53, n. 1, p. 869–880, 2008.

LANDWEHR, A. Benefits of baculovirus use in IPM strategies for open field and protected vegetables. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, n. 1, p. 1–7, 2021.

LENAERTS, C. *et al.* The ecdysone receptor complex is essential for the reproductive success in the female desert locust, *Schistocerca gregaria*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 15, p. 1–12, 2019.

LI, X. R. *et al.* LC 50 of lambda-cyhalothrin stimulates reproduction on the moth *Mythimna separata* (Walker). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 153, n. 1, p. 47–53, 2018.

LOBO-DA-CUNHA, A.; CASARTELLI, M.; TETTAMANTI, G. Editorial: Molecular physiology of invertebrate digestive system. **Frontiers in Physiology**, v. 14, n. 1, p. 1–3, 2023.

LU, Y. *et al.* Sublethal and transgenerational effects of lufenuron on biological characteristics and expression of reproductive related genes in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 196, n. 1, p. 1–11, 2023.

MAIA, A. D. H. N.; LUIZ, A. J. B.; CAMPANHOLA, C. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 511–518, 2000.

MARZBAN, R. Midgut pH profile and energy differences in lipid, protein and glycogen metabolism of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin and cypovirus-infected *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of the Entomological Research Society**, v. 14, n. 2, p. 45–53, 2012.

MASSON, T. *et al.* Genomic diversity in a population of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 90, n. 1, p. 1–9, 2021.

MATSUSHIMA, D. *et al.* Involvement of ecdysone signaling in the expression of the doublesex gene during embryonic development in the silkworm, *Bombyx mori*. **Sexual Development**, v. 13, n. 3, p. 151–163, 2019.

MATTHEWS, H. J.; SMITH, I.; EDWARDS, J. P. Lethal and sublethal effects of a granulovirus on the tomato moth *Lacanobia oleracea*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 80, n. 2, p. 73–80, 2002.

MENDES, R. *et al.* Mixture compatibility of *Anticarsia gemmatalis* nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) with pesticides used in soybean. **Ciência Rural**, v. 52, n. 2, p. 1–8, 2022.

MILKS, M. L.; MYERS, J. H.; LEPTICH, M. K. Costs and stability of cabbage looper resistance to a nucleopolyhedrovirus. **Evolutionary Ecology**, v. 16, n. 1, p. 369–385, 2002.

MORGADO, F. S. *et al.* *Trichoplusia ni* and *Chrysodeixis includens* larvae show

different susceptibility to *Chrysodeixis includens* single nucleopolyhedrovirus per os infection. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 3, p. 1019–1029, 2020.

MOSCARDI, F. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 44, n. 1, p. 257–289, 1999.

MOSCARDI, F. *et al.* Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: **Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications**. p. 415–445. Springer, 2011.

MOSCARDI, F. *et al.* Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN- CAMPOS, C. B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. (Eds.). **Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga**. Cap. 4, p. 213–334, Embrapa, 2012.

MURARO, D. S. *et al.* Baseline susceptibility of brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to *C. includens* Nucleopolyhedrovirus and diagnostic concentration for resistance monitoring. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 1, p. 349–254, 2019.

MURARO, D. S. *et al.* Baseline susceptibility and cross-resistance of HearNPV in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Insects**, v. 13, n. 9, p. 1–9, 2022.

NAKAI, M. *et al.* Entomopoxvirus infection induces changes in both juvenile hormone and ecdysteroid levels in larval *Mythimna separata*. **Journal of General Virology**, v. 97, n. 1, p. 225–232, 2016.

NAKAI, M.; SHIOTSUKI, T.; KUNIMI, Y. An entomopoxvirus and a granulovirus use different mechanisms to prevent pupation of *Adoxophyes honmai*. **Virus Research**, v. 101, n. 2, p. 185–191, 2004.

NARDON, A. C. *et al.* Primeiro registro de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) sobrevivendo em soja *Bt* no Brasil. **Entomological Communications**, v. 3, n. 1, p. 1-3, 2021.

NUGNES, M. V. *et al.* The membrane-anchoring region of the AcMNPV P74 protein is expendable or interchangeable with homologs from other species. **Viruses**, v. 13, n. 12, p. 1–17, 2021.

PAN, Q. *et al.* Host permissiveness to baculovirus influences time-dependent immune responses and fitness costs. **Insect Science**, v. 28, n. 1, p. 103–114, 2021.

PARRA, J. R. P.; COELHO, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, p. 1-6, 2019.

PERINI, C. R. *et al.* Genetic structure of two Plusiinae species suggests recent expansion of *Chrysodeixis includens* in the American continent. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 23, n. 3, p. 250–260, 2021.

QIN, P.; WANG, T.; LUO, Y. A review on plant-based proteins from soybean: health benefits and soy product development. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 7, n. 1, p. 1–8, 2022.

RAHMAN, S. U. *et al.* Improvement of soybean: a way forward transition from genetic engineering to new plant breeding technologies. **Molecular Biotechnology**, v. 65, n. 1, p. 162–180, 2023.

REIS, S. A.; LEAL, J. E.; THOMÉ, A. M. T. A two-stage stochastic linear programming model for tactical planning in the soybean supply chain. **Logistics**, v. 7, n. 3, p. 1–26, 2023.

RETELATTO, S. S. *et al.* Intraspecific variation in the *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) susceptibility to insecticides. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 51, n. 1, p. 2021, 2021.

RIGUETTI, A. B. *et al.* **Aspectos biológicos da lagarta-falsa-medideira e sua criação em laboratório com dieta artificial**. Circular técnica, n. 47, ed. 1, p. 1-24, Embrapa, 2019.

RIMOLDI, F. *et al.* Lethal and sublethal effects of cypermethrin and methoxyfenozide on the larvae of *Rachiplusia nu* (Guenee) (Lepidoptera: Noctuidae). **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 56, n. 3, p. 200–208, 2012.

ROHRMANN, G. **Baculovirus molecular biology**. 4. ed. p. 1-298. National Center for Biotechnology Information (US), 2019.

ROLIM, A. A. S. G. *et al.* Morphological and molecular characterization of the eggs of some noctuid species associated with soybean in Brazil.

Entomological Society of America, v. 106, n. 5, p. 643–651, 2013.

SAITO, Y. *et al.* Juvenile hormone (JH) esterase activity but not JH epoxide hydrolase activity is downregulated in larval *Adoxophyes honmai* following nucleopolyhedrovirus infection. **Journal of Insect Physiology**, v. 80, n. 1, p. 71–80, 2015.

SANCHES, M. M. *et al.* Optimization of large-scale production of *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus for its use as a biopesticide. **Neotropical Entomology**, v. 50, n. 4, p. 615–621, 2021.

SAS INSTITUTE INC. **Statistical analysis system: getting started with the SAS learning**. SAS Institute, Cary, NC, 2011.

SCHMITZ, A. *et al.* Design of a reconfigurable crop scouting vehicle for row crop navigation : a proof-of-concept study. **Sensors**, v. 22, n. 16, p. 1–14, 2022.

SCHWEDES, C. C.; CARNEY, G. E. Ecdysone signaling in adult *Drosophila melanogaster*. **Journal of Insect Physiology**, v. 58, n. 3, p. 293–302, 2012.

SHEA, Z.; SINGER, W. M.; ZHANG, B. Soybean production, versatility, and improvement. In: **Legume Crops - Prospects, Production and Uses**. p. 1-22. IntechOpen, 2020.

SOSA-GÓMEZ, D. R. *et al.* **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Ed. 4, n. 269, p. 1-104, Embrapa, 2023. Disponível em: < www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1152855>. Acesso em: 10 nov. 2023.

SOUKHOVOLSKY, V. G. *et al.* Insect mortality caused by baculovirus: a model of second-order phase transitions. **Biology Bulletin**, v. 50, n. 5, p. 1014–1024, 2023.

SPECHT, A. *et al.* Biotic potential and life tables of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), *Rachiplusia nu*, and *Trichoplusia ni* on soybean and forage turnip. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 4, p. 1-8, 2019.

STACKE, R. F. *et al.* Susceptibility of brazilian populations of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) to selected insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 3, p. 1378–1387, 2019.

STACKE, R. F. *et al.* Inheritance of lambda-cyhalothrin resistance, fitness costs and cross-resistance to other pyrethroids in soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 131, n. 1, p. 1-8, 2020.

TALAKAYALA, A.; KATTA, S.; GARLADINNE, M. Genetic engineering of crops for insect resistance: an overview. **Journal of Biosciences**, v. 45, n. 1, p. 1–12, 2020.

TRENTIN, L. B. *et al.* The complete genome of *Rachiplusia nu* nucleopolyhedrovirus (RanuNPV) and the identification of a baculoviral CPD-photolyase homolog. **Virology**, v. 534, n. 1, p. 64–71, 2019.

TRICOIRE, H. *et al.* The steroid hormone receptor EcR finely modulates *Drosophila* lifespan during adulthood in a sex-specific manner. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 130, n. 8, p. 547–552, 2009.

TSAI, C. H. *et al.* Carbohydrate metabolism is a determinant for the host specificity of baculovirus infections. **iScience**, v. 25, n. 1, p. 1–20, 2022.

USDA (United States Department of Agriculture). **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. n. 642, p. 1-40, 2023. Disponível em: <www.usda.gov/oce/commodity/wasde>. Acesso em: 28 nov. 2023.

VALDEZ-RAMIREZ, A. *et al.* A systematic review of the bioactivity of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) extracts in the control of insect pests. **Sustainability**, v. 15, n. 15, p. 1–26, 2023.

WILLIAMS, T. Soil as an environmental reservoir for baculoviruses: persistence, dispersal and role in pest control. **Soil Systems**, v. 7, n. 1, p. 1–23, 2023.

WU, Z. *et al.* Regulatory mechanisms of vitellogenesis in insects. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2021.

ZAKSESKI, M. R. *et al.* Pathogenic assessment of SfMNPV- based biopesticide on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) developing on transgenic soybean expressing Cry1Ac insecticidal protein. **Journal of Economic Entomology**, v. 114, n. 6, p. 2264–2270, 2021.

ZHENG, Q. *et al.* Protein–protein interactions of the baculovirus per os infectivity factors (PIFs) in the PIF complex. **Journal of General Virology**, v. 98, n. 4, p. 853–861, 2017.