

8

UTILIZAÇÃO DO *BACULOVÍRUS* NO CONTROLE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO DO MILHO, *SPODOPTERA FRUGIPERDA*

Ivan Cruz

INTRODUÇÃO

No Brasil, a *Spodoptera frugiperda* (Smith), conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma praga-chave da cultura do milho (*Zea mays* L.) e de outras culturas anuais (Cruz, 1995a). Larvas de primeiro instar geralmente consomem os tecidos verdes de um lado da folha, deixando a epiderme membranosa do outro lado intacta. Larvas mais desenvolvidas começam a fazer orifícios na folha, destruindo o cartucho da planta, podendo, inclusive, provocar a morte em plantas recém-nascidas (Cruz 1995b).

As perdas ocasionadas pela praga à cultura do milho são, geralmente, de maneira indireta, ou seja, através dos danos nas folhas, sem, no entanto, matar a planta, e variam com o estágio de desenvolvimento e do tipo de milho (Carvalho, 1970; Cruz, 1980; Cruz & Turpin, 1982, 1983; Cruz et al., 1996, 1999a). Estima-se que os danos provocados por essa praga ocasionam prejuízos acima de 400 milhões de dólares anuais à produção brasileira de milho (Cruz, 1999).

O controle de *S. frugiperda* na cultura do milho é baseado em produtos químicos, empregados quando aparecem os primeiros sintomas de danos na cultura. Entretanto, devido aos problemas acarretados pelo uso constante desses

produtos, especialmente em relação ao desenvolvimento de resistência e à redução da ocorrência de inimigos naturais (Cruz, 1997, 1999), ênfase tem sido dada a medidas de controle mais ecológicas (Cruz 1995a,b). Entre os agentes de controle biológico, os inseticidas à base de vírus, que são, na maioria, do grupo *Baculovirus*, têm sido apontados como os de maior potencial para o desenvolvimento como bioinseticidas, devido à especificidade, à alta virulência ao hospedeiro e à maior segurança proporcionada a vertebrados (Tanada & Reiner 1962, Ignoffo et al. 1965, Allen et al. 1966, Whitlock 1977, Klein & Podoler 1978, Burghes et al. 1980, Moscardi 1986). Para a lagarta-do-cartucho, têm-se estudado dois tipos de *Baculovirus*, ou seja, o vírus de granulose e o vírus de poliedrose nuclear. No entanto, este último tem sido apontado como de maior potencial de uso contra lagartas de *Spodoptera* spp. (Young & Hamm 1966, Garcia 1979, Gardner & Fuxa 1980, Hamm & Hare 1982, Fuxa 1982, Gardner et al. 1984, Moscardi & Kastelic 1985, Valicente et al. 1989, Valicente & Cruz 1991, Jones et al. 1994, Hamm & Carpenter 1997). As propriedades de alguns vírus de poliedrose nuclear, isolados de *S. frugiperda* (VPNSf), já foram estudadas tanto no exterior (Harrap et al. 1977), como no Brasil (Gerk et al., 1997).

O vírus é composto internamente pelo ácido nucléico, DNA, que representa a sua porção biológica do vírus. Envolvendo o DNA, existem proteínas compostas de subunidades denominadas capsômeros, as quais formam uma capa chamada capsídeo. O conjunto formado pelo capsídeo e ácido nucléico é conhecido por nucleocapsídeo (Alves, 1986). Este é envolvido por um envelope ou membrana, que é normalmente construído a partir do material celular do inseto-hospedeiro, formando a partícula infectiva do vírus, denominada vírion. Uma membrana protéica pode envolver um ou mais nucleocapsídeos, que, por sua vez, são envolvidos por uma matriz de natureza protéica, formando uma estrutura conhecida por corpos de inclusão poliédrica (CIP).

O vírus de poliedrose nuclear de *Spodoptera frugiperda* (VPNSf) é específico, isto é, só tem ação sobre a lagarta-do-cartucho. A larva é a fase mais suscetível à sua infecção. Em condições naturais, a praga é infectada mais comumente por via oral ao ingerir o alimento (folhas de milho) contaminado; no

entanto, é possível também a infecção através dos ovos, dos orifícios de respiração do corpo (espiráculos), ou mesmo através de insetos parasitóides contendo vírus. Uma vez ingerido, os corpos de inclusão poliédrica, encontrando condições alcalinas existentes no mesêntero são dissolvidos, liberando os vírions. O vírus começa a se multiplicar nos núcleos das células dos tecidos, espalhando-se por todo o corpo do inseto (tecido adiposo, epidérmico, matriz traqueal e mesmo glândulas salivares, tubo de Malpighi e células sangüíneas), provocando sua morte, geralmente de 6 a 8 dias após a ingestão. Uma lagarta infectada pelo vírus de poliedrose nuclear ingere apenas 7% do alimento normalmente ingerido por uma lagarta sadia (Valicente, 1988).

Os principais sintomas da doença são caracterizados pelo aparecimento de manchas no tegumento, amarelecimento e aparência oleosa da pele. Posteriormente, as lagartas perdem a mobilidade e tornam-se escuras, devido à desintegração dos tecidos internos. Gradativamente, elas param de se alimentar e dirigem-se para as partes mais altas da planta, ficando dependuradas de cabeça para baixo, fixadas à planta pelas patas traseiras. A partir daí, começam a soltar pela cavidade bucal um líquido rico em poliedros, os quais acabam sendo fonte de inócuo para novas contaminações do hospedeiro, que se encontra no cartucho da planta.

O tempo para o aparecimento dos primeiros sintomas da doença, bem como a morte do inseto infectado, são influenciados pela idade do hospedeiro em que ocorreu a infecção, pela quantidade ingerida do vírus, pela virulência do patógeno e pelas condições climáticas durante o período em que o inseto ficou infectado. Como consequência, esses fatores têm efeitos marcantes sobre a rapidez da ação do vírus, quando ele é aplicado no campo. Além disso, outros fatores, como a irradiação solar, a temperatura, a umidade, o hábito da praga, os equipamentos e a tecnologia para sua aplicação também influenciam na eficiência e na estabilidade do vírus, antes deste ser ingerido pela praga (Fuxa, 1991; Hamm et al., 1994).

Variabilidade genética

Estudos conduzidos com diferentes isolados de vírus mostram que existe variabilidade entre eles, especialmente em relação à virulência, indicando a possibilidade de se obter ganhos nos índices de mortalidade da praga de acordo com a origem do vírus (Valicente & Cruz, 1992a); no entanto, esse aumento depende muito da idade da lagarta por ocasião da ingestão do vírus (Tabela 1).

TABELA 1. Mortalidade da lagarta-do-cartucho com diversos isolados de vírus (Valicente e Cruz 1992a).

Origem do vírus	Tipo de vírus ¹	Idade da lagarta (dias)	Mortalidade (%)
Patos de Minas, MG	VPN	7	91,7
Sertaneja, PR	VPN	7	58,3
Carmo do Paraíba, MG	VG	7	77,1
Patos de Minas, MG	VG	7	87,5
Patos de Minas, MG	VPN	6	97,9
Sertaneja, PR	VPN	6	85,1

¹ VPN = Vírus de Poliedrose Nuclear; VG = Vírus de Granulose.

Sensibilidade de lagartas

Efeito de doses

Bioensaios realizados em laboratório (temperatura ambiente de $25 \pm 3^\circ\text{C}$), com o objetivo de estimar a melhor dose do vírus da poliedrose nuclear na mortalidade da lagarta-do-cartucho, foram conduzidos por Valicente & Cruz (1992b). Lagartas sadias com sete dias de idade (segundo instar) foram alimentadas com doses do vírus variando de 2×10^3 a 2×10^6 CIP, veiculadas juntamente com folhas de milho, por um período de 48 horas, findo o qual foram transferidas para dieta artificial. A mortalidade larval ultrapassou 71%, a partir de uma dose de 2×10^5 CIP, atingindo a totalidade na dose de 2×10^6 CIP, sendo esta última, portanto, a dose recomendada para o controle efetivo da praga.

Efeito da idade da lagarta

A taxa de mortalidade da lagarta-do-cartucho é influenciada tanto pela dose do vírus, como pela idade da lagarta no dia em que foi infectada. Para

doses acima de 4×10^6 CIP/lagarta, pode ser esperada uma mortalidade quase total em lagartas infectadas até sete dias de idade; no entanto, para lagartas maiores, começa a ocorrer redução na taxa de mortalidade (Figura 1). Essa queda é, inclusive, muito acentuada para doses inferiores a 4×10^6 CIP/lagarta.

Efeito de temperatura

A temperatura pode influenciar tanto a taxa de mortalidade quanto o tempo médio para ocorrer a morte da lagarta infectada com o *Baculovirus*. Esta influência foi demonstrada por Valicente & Cruz (1992e), avaliando o efeito de três temperaturas fixas de 15, 26 e 30°C (fotofase semelhante de 12 horas) na infectividade da lagarta-do-cartucho com o *Baculovirus*, utilizando lagartas de sete dias de idade contaminadas pelo vírus veiculado em folhas de milho ($3,8 \times 10^6$ CIP/ml). Não houve diferença significativa entre a mortalidade obtida, cuja média foi superior a 97,6% (Tabela 2). No entanto, quando as lagartas foram mantidas numa temperatura de incubação de 15°C, o pico de mortalidade ocorreu 12 dias após a infecção. Nas outras temperaturas, mais próximas àquelas observadas em condições de campo, a mortalidade ocorreu do quinto para o sexto dia após a infecção, não havendo diferença entre as duas temperaturas.

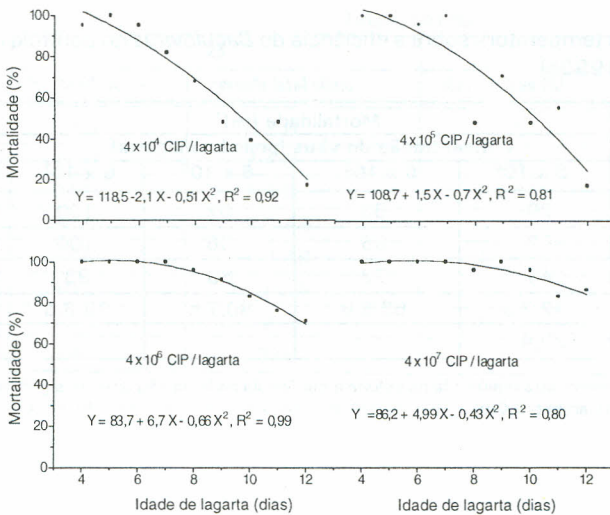


FIGURA 1. Relação entre idade de lagartas de *S. frugiperda* e mortalidade provocada por diferentes concentrações de *Baculovirus*.

TABELA 2. Efeito de três temperaturas de incubação no desempenho do *Baculovirus* ($3,8 \times 10^6$ CIP/ml) sobre lagartas de *S. frugiperda*.

Temperatura (°C)	Mortalidade larval (%)	Tempo letal médio (dias)
15	98,1	12
26	98,9	6
30	95,7	6

Cruz & Valicente (1992c) estudaram o efeito da temperatura, variando também a dose do *Baculovirus*. Utilizaram lagartas de oito e nove dias de idade, individualizadas em copos de 50ml, às quais foram oferecidas, por um período de 24 horas, doses variando de 6×10^4 a 6×10^7 poliedros. Após esse período, foi adicionada, em cada copo, uma dieta artificial. Foram utilizadas três repetições, sendo cada uma representada por 24 lagartas, mantidas em incubadoras com temperatura de 20, 25 e 30°C, e fotofase de 12 horas. De maneira geral, a mortalidade das larvas aumentou com o aumento da temperatura. Quando foi oferecida a concentração de 6×10^7 poliedros a cada larva, a mortalidade foi de 99,0% (Tabela 3). Em média, as lagartas morreram depois de 11, 8 e 6 dias após a ingestão do vírus, quando mantidas na temperatura de 20, 25 e 30°C, respectivamente.

TABELA 3. Efeito da temperatura sobre a eficiência do *Baculovirus* no controle de *S. frugiperda* (Cruz & Valicente 1992c).

Temperatura (°C)	Mortalidade (%) ¹				Média
	Concentração do vírus (poliedros/lagarta)				
	6×10^4	6×10^5	6×10^6	6×10^7	
20	29	63	67	100	64,8 A
25	53	55	86	100	73,4 A
30	46	72	89	98	76,2 A
Média	42,7 a	63,3 b	80,7 c	99,3 d	
CV (%)	20,4				

¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

Efeito da formulação pó-molhável

Experimentos iniciais com a formulação pó-molhável foram conduzidos por Cruz & Valicente (1992a) em laboratório, inoculando-se lagartas de *S. frugiperda*, com idades variando de cinco a dez dias. O *Baculovirus* formulado, contendo $2,5 \times 10^9$ poliedros por grama, suspenso em 100ml de solução tampão, foi oferecido às lagartas na base de 0,004ml da suspensão, isto é, 1×10^6 poliedros/lagarta. Essa quantidade foi colocada sobre uma seção de folha de milho de um centímetro de diâmetro, em copos de plástico de 50ml, contendo individualmente uma lagarta de cada idade correspondente. As lagartas foram mantidas em sala a 25°C. Após um período de 24 horas, foi adicionada a cada copo uma dieta artificial sem vírus. Daí em diante, os insetos foram distribuídos em incubadoras, com temperaturas fixas de 25 e 30°C e fotofase de 12 horas. Os resultados (Tabela 4) indicaram uma maior mortalidade na temperatura mais baixa, ou seja, 25°C. Nas duas temperaturas, tanto a mortalidade quanto o período letal (Figura 2) tiveram relação linear com o aumento da idade da lagarta.

TABELA 4. Efeito do *Baculovirus* formulado em pó-molhável sobre lagartas de *S. frugiperda* de diferentes idades, em duas temperaturas (Cruz & Valicente 1992a).

Idade das lagartas (dias)	Temperatura (°C) ¹			
	25		30	
	Mortalidade (%)	Período letal (dias)	Mortalidade (%)	Período letal (dias)
5	99 A	6.8 B	93 A	5.0 B
6	85 B	7.4 B	86 A	5.6 B
7	81 B	7.5 B	93 A	5.4 B
8	64 C	8.4 AB	57 B	7.0 AB
9	67 C	8.9 AB	43 B	9.0 A
10	46 D	10.0 A	44 B	8.2 A
Média	73	8.2	64	6.7
CV (%)	7.4	20.0	8.8	22.2

¹ Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

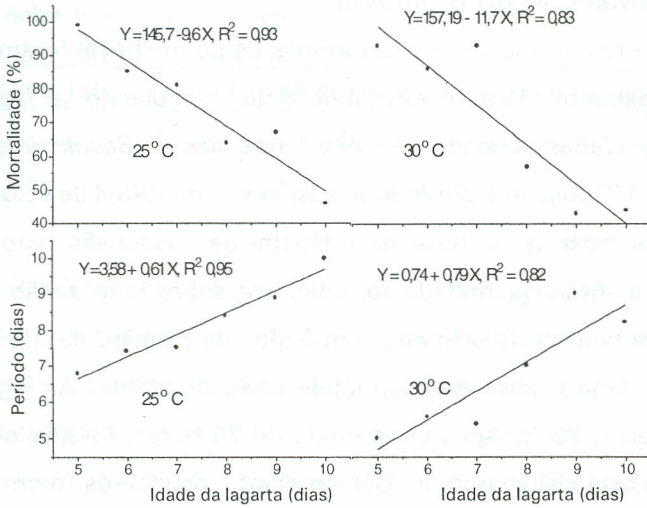


FIGURA 2. Retas ajustadas de mortalidade (%) e período letal (dias) em relação a lagartas de *S. frugiperda*, de diferentes idades, sujeitas ao *Baculovírus* formulação pó-molhável.

Armazenamento do *Baculovírus*

Um dos problemas relacionados com a perda de eficiência do *Baculovírus* diz respeito à condição de armazenamento. Valicente & Cruz (1992c,d) conduziram estudos com o objetivo de determinar a perda de viabilidade do *Baculovírus* na mortalidade de *S. frugiperda*, em uma solução de vírus armazenada em temperatura ambiente ou sujeita a altas temperaturas. No primeiro ensaio, uma solução contendo 2×10^6 CIP/ml foi retirada do armazenamento a baixa temperatura (*freezer*) e deixada em temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$). Em diferentes intervalos de tempo, larvas de seis dias de idade foram alimentadas com folhas de milho contendo o vírus, por um período de 48 horas. Depois desse período, as larvas foram transferidas para dieta artificial e observadas diariamente. Os resultados (Figura 3) mostraram que a mortalidade diminuiu à medida que o tempo de exposição do vírus, fora do freezer, aumentou, porém com reduções mais significativas a partir de dez dias de armazenamento à temperatura ambiente, indicando que, para melhor conservação, devem-se manter as soluções do vírus em baixa temperatura, como aquelas encontradas dentro do freezer ou congelador de uma geladeira, o que já é relatado por vários autores.

No segundo ensaio, foi demonstrado que períodos curtos de alta temperatura praticamente não apresentam efeitos deletérios ao vírus. Mesmo colocando uma solução de vírus numa temperatura de 45 ou até 50°C, por duas horas, a mortalidade média provocada em lagartas de seis dias de idade, alimentadas com o vírus veiculado a folhas de milho, manteve-se acima de 96,9% (Valicente & Cruz, 1992d).

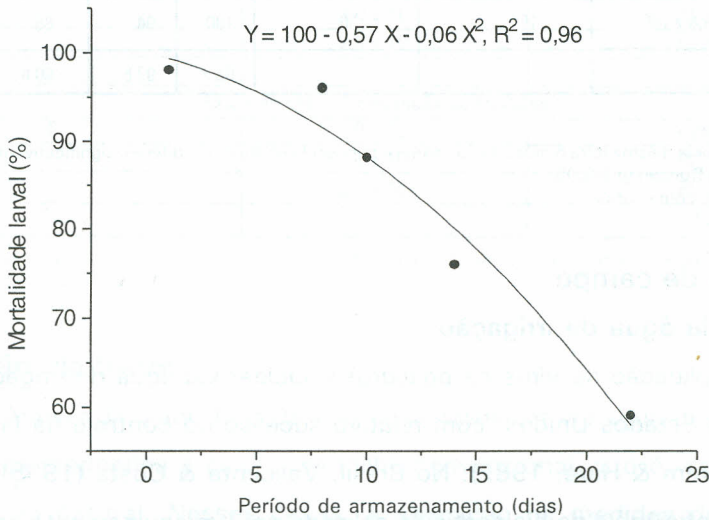


FIGURA 3. Mortalidade da lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda* provocada por uma solução de *Baculovirus* armazenada em temperatura ambiente até por 22 dias.

Cruz & Valicente (1992b) compararam dois lotes de *Baculovirus* formulado em pó-molhável, armazenados em sacos de plástico transparente deixados em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), um deles por um período de 30 e o outro por 60 dias, com outra formulação líquida (macerado de lagartas) e mantida a baixa temperatura, no freezer (-15°C), utilizando-se lagartas com idades variando de seis a oito dias. De acordo com a Tabela 5, o *Baculovirus* formulado em pó-molhável apresentou-se tão estável quanto o vírus preparado apenas por maceração da lagarta, pois, mesmo deixado em condição ambiente por um período de até 60 dias, não perdeu a viabilidade, provocando mortalidade acima de 90%.

TABELA 5. Eficiência da formulação pó-molhável do *Baculovirus* sobre lagartas de *S. frugiperda*, após diferentes períodos e condições de armazenamento à temperatura ambiente (Cruz & Valicente, 1992b).

Formulação ¹	Dose (CIP/lagarta)	Armazenamento		Mortalidade (%) ²			
				Idade da lagarta (dias) ³			
		Temperatura (°C)	Tempo (dias)	6	7	8	Média
PM	2,1 x 10 ⁶	25	60	94	88	98	93,3 A
PM	7,6 x 10 ⁶	25	30	100	95	87	94,0 A
Macerado	8,8 x 10 ⁶	-15	30	100	94	85	93,0 A
Média				98 a	92 b	90 b	

¹ PM = pó-molhável.

² Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

³ No dia da infecção com o vírus.

Resultados de campo

Aplicação via água de irrigação

A aplicação de vírus de poliedrose nuclear via água de irrigação já foi realizada nos Estados Unidos, com relativo sucesso no controle da lagarta-do-cartucho (Hamm & Hare, 1982). No Brasil, Valicente & Costa (1995) também estudaram a eficiência do bioinseticida aplicado por um equipamento acoplado à rede de irrigação (Costa & Brito, 1988). Foram conduzidos dois experimentos, sendo, no primeiro, utilizadas diferentes lâminas de água (3, 5 e 7mm) e também diferentes doses do vírus, obtidas de macerados de lagartas infectadas (Tabela 6). No segundo experimento, foi utilizada apenas uma lâmina de água (6mm) para veicular o produto formulado em pó-molhável. No primeiro experimento, independente da lâmina de água aplicada, não houve diferença significativa na mortalidade da lagarta-do-cartucho causada por *Baculovirus*. Entretanto, no segundo experimento, a mortalidade foi diretamente proporcional à dose do produto (Tabela 6). Deve ser considerado, inclusive, que a mortalidade média nesse segundo experimento foi maior do que aquela obtida no primeiro, mesmo utilizando doses menores. Provavelmente, tais diferenças sejam devidas à maior estabilidade do vírus formulado em pó-molhável. Os resultados desses experimentos evidenciam que a aplicação via água de irrigação pode ser uma

alternativa no manejo da praga, especialmente em áreas onde o sistema irrigado já é uma prática comum, seja através da irrigação convencional ou mesmo através do uso de pivô central.

TABELA 6. Mortalidade de *S. frugiperda* por *Baculovirus* aplicado via água de irrigação (adaptado de Valicente & Costa, 1995).

Lâmina de água (mm)	Dose de <i>Baculovirus</i> (CIP/ha)	Mortalidade de lagartas (%) ¹
Experimento 1 (formulação líquida)		
3	$3,0 \times 10^{12}$	77,5 A
5	$3,0 \times 10^{13}$	79,0 A
7	$2,8 \times 10^{12}$	78,8 A
CV		12,3%
Experimento 2 (formulação pó-molhável)		
6	$2,0 \times 10^{11}$	62,6 B
	$10,0 \times 10^{11}$	90,7 A
	$2,0 \times 10^{12}$	89,4 A
CV		18,5%

¹ Médias seguidas pela mesma letra, para cada experimento, não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p £ 0,05).

Aplicação via trator

Apesar da viabilidade do uso do *Baculovirus* via água de irrigação, no Brasil ainda predomina o cultivo de milho convencional, isto é, dependente da precipitação natural. Nesses casos, a aplicação de medidas de controle é geralmente realizada através do pulverizador costal ou do pulverizador acoplado ao trator. Portanto, atualmente predomina no Brasil o controle da lagarta-do-cartucho através de pulverizações tratorizadas. Considerando esse aspecto, Cruz et al. (1997) avaliaram diferentes concentrações da formulação pó-molhável do vírus de poliedrose nuclear aplicadas em suspensão aquosa, através de um pulverizador acoplado a um trator ou através de um pulverizador costal manual. A mortalidade de lagartas variou de acordo com o equipamento de aplicação (Tabela 7). Na aplicação via trator, foi necessária uma dose de pelo menos $2,5 \times 10^{12}$ corpos de inclusões poliédricas (CIP)/ha para se ter uma eficiência comparável à que se obteve com o pulverizador manual-costal (70,2%). Para esse tipo de pulverizador, pode-se usar $2,5 \times 10^{11}$ CIP/ha, porém o efeito residual é curto (Tabela 8). Maior persistência é obtida com doses acima de $1,25 \times 10^{12}$ CIP/ha (93,4% de mortalidade larval). Nos Estados Unidos, Hamm et al. (1994), aplicando

o *Baculovirus* na dose de 3×10^{12} CIP/ha, veiculando o produto com 246 litros de água por hectare, obtiveram apenas 58,9% de mortalidade provocada pelo vírus. Segundo esses autores, muitos fatores são importantes para garantir o sucesso no controle da lagarta-do-cartucho com o *Baculovirus*. O vírus precisa ser colocado onde a larva está se alimentando e numa concentração suficiente para que o inseto ingira uma dose letal. A mortalidade larval aumentou com o aumento da concentração do vírus até a dose máxima utilizada ($7,41 \times 10^{12}$ CIP/ha). O aumento do volume de água, até o máximo avaliado de 936 litros por hectare, ajudou a colocar as partículas de vírus bem no interior do cartucho, local onde se encontra a praga.

TABELA 7. Mortalidade larval (%) de *S. frugiperda* causada por diferentes concentrações de *Baculovirus*, em três intervalos de amostragem após a pulverização (Cruz et al., 1997).

Doses (poliedros/ha)	Método de aplicação	Mortalidade larval (%) em diferentes períodos (dias) de amostragem ¹			
		3	6	9	Média
$2,50 \times 10^{11}$	Trator	30,5 d	35,7 c	31,2 bc	32,5 c
$1,25 \times 10^{12}$	Trator	42,1 c	41,5 c	47,8 ab	43,8 b
$2,50 \times 10^{12}$	Trator	63,9 b	62,3 b	55,7 ab	60,6 a
$5,00 \times 10^{12}$	Trator	65,4 b	79,4 a	60,3 a	68,3 a
$2,50 \times 10^{11}$	Costal	74,0 a	66,8 b	69,9 a	70,2 a
Testemunha		3,7 e	7,0 d	18,8 c	9,8 d
CV (%)		13,5	21,4	23,7	26,1

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

TABELA 8. Percentagem de mortalidade larval de *S. frugiperda* causada por diferentes concentrações de *Baculovirus*, aplicadas por pulverizador manual-costal e persistência do vírus em plantas de milho (Cruz et al., 1997).

Doses de <i>Baculovirus</i> (Poliedros/ha)	Mortalidade larval (%) ¹			
	Curativo	Residual de 1 dia	Residual de 2 dias	Residual de 3 dias
$2,50 \times 10^{11}$	90,5 B,a	71,5 B,ab	74,5 AB,ab	57,8 B,b
$1,25 \times 10^{12}$	97,3 A,a	92,9 A,a	96,3 A,a	87,3 A,a
$2,50 \times 10^{12}$	99,2 A,a	93,4 A,a	80,4 A,a	93,1 A,a
$1,25 \times 10^{13}$	97,8 A,a	100,0 A,a	95,9 A,a	100,0 A,a
$2,50 \times 10^{13}$	98,6 A,a	98,1 A,a	100,0 A,a	100,0 A,a
Testemunha	15,6 C,b	42,0 C,a	50,1 B,a	52,5 B,a
CV (%)	6,2	15,3	30,1	27,0

¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, ou minúscula, na linha, não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan ($p \leq 0,05$).

Distribuição do *Baculovirus* em diferentes partes da folha

Em função do hábito da lagarta de se alojar dentro do cartucho, é necessário que as aplicações sejam sempre dirigidas para essa parte da planta, visando a colocar o máximo de produto o mais próximo possível da praga. Com esse objetivo, Cruz & Valicente (1992e) realizaram pesquisas aplicando o *Baculovirus* através de um pulverizador costal com bico leque e pressão de 40PSI. Vinte e duas horas após a pulverização, houve coleta, na altura do cartucho, de plantas pulverizadas e não-pulverizadas, que foram trazidas para o laboratório, onde tiveram tratamentos diferentes. Foram separadas as três folhas mais internas do cartucho e cada uma foi dividida em três partes, sendo oferecida cada parte a lagartas de nove dias de idade, por 48 horas. Lagartas infectadas ou não, findo o período de alimentação na folha, foram transferidas para uma dieta artificial. Os resultados evidenciaram que, na base da folha, concentra-se a maior quantidade de vírus, pois a mortalidade larval foi alta, principalmente nas folhas centrais e na primeira folha (Tabela 9), o que é, em termos práticos, um fator positivo, pois, pelo comportamento da praga, ela se aloja exatamente entre essas folhas.

TABELA 9. Efeito da parte e da posição da folha de milho na eficiência do *Baculovirus* ($7,4 \times 10^{12}$ CIP/hectare) sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Posição da folha	Parte da folha	Mortalidade (%) ¹	Período letal (dias) ¹
Central	Base	90 A	8.6 B
	Média	68 B	9.7 A
	Ponta	46 BC	8.6 B
Primeira	Base	100 A	7.6 C
	Média	83 A	8.8 B
	Ponta	25 C	10.5 A
Segunda	Base	63 B	9.3 AB
	Média	63 B	9.7 A
	Ponta	41 C	10.4 A

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

Efeito do estágio de desenvolvimento da planta, da dose e do intervalo de aplicação

Experimentos conduzidos por Cruz et al. (1999b) evidenciaram boa eficiência do *Baculovirus* quando aplicado sobre plantas de milho, nos estádios de seis a oito ou oito a dez folhas, para o controle de *S. frugiperda*, com um pulverizador costal-manual (Tabela 10). O vírus foi aplicado 24 horas após a infestação artificial, com dez larvas recém-nascidas/planta, usando variações de uma dose padrão de 50 gramas do produto formulado em pó-molhável ($2,5 \times 10^{11}$ CIP/ha), aplicado de uma só vez ou com intervalo de uma semana. Numa primeira avaliação, realizada sete dias após a aplicação do vírus, obteve-se mortalidade larval mínima, de 79,2 a 97,2, quando a aplicação foi feita sobre plantas no estágio de 6 a 8 folhas. Numa segunda avaliação, realizada três dias após a segunda aplicação do vírus, a mortalidade variou, respectivamente, de 86,6 a 100% e de 84,1 a 99,3%. A eficiência do vírus praticamente não variou entre os dois estádios de crescimento da planta. No entanto, deve ser salientado que a aplicação do vírus foi sobre lagartas de primeiro instar e, portanto, bem suscetíveis a ele.

TABELA 10. Efeito da dose e do intervalo de aplicação de *Baculovirus* sobre a mortalidade média (%)¹ de lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Dose (g/ha)	Amostragem sete dias após a primeira aplicação do vírus			Amostragem três dias após a segunda aplicação do vírus		
	Estádio de crescimento da planta (número de folhas abertas)					
	6-8	8-10	Média	6-8	8-10	Média
50	95,5 A	93,6 A	94,6 A	96,1 A	88,2 B	92,2 B
25 + 25	81,1 B	76,4 B	78,8 B	86,6 B	84,1 B	85,3 C
25 + 50	79,2 B	76,5 B	77,8 B	88,5 B	87,0 B	87,7 C
50 + 25	95,5 A	91,4 A	93,5 A	100,0 A	99,3 A	99,6 A
50 + 50	97,2 A	90,9 A	94,1 A	100,0 A	98,2 A	99,1 A
100	96,5 A	93,4 A	95,0 A	99,4 A	98,5 A	99,0 A
Testemunha	1,2 C	3,2 C	2,2 C	0,0 C	1,0 C	0,5 D
Média	78,0 a	75,1 a		81,5 a	79,5 b	
CV	4,95%	5,21%	6,2%	5,24%	3,71%	4,40%

¹ Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna ou minúscula na linha não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

Resistência ao vírus

Boots & Begon (1993) descreveram o desenvolvimento de resistência de *Plodia interpunctella* à infecção do vírus de granulose (Baculoviridae), após exposição prolongada a ele em culturas de laboratório. No entanto, os insetos resistentes apresentavam desenvolvimento mais lento e também menor viabilidade dos ovos produzidos. Esses resultados foram interpretados como sendo os efeitos pleiotrópicos da seleção nos locos controladores da resistência. Resultados semelhantes tinham sido descritos anteriormente por Fuxa & Richter (1989), usando a seleção artificial para aumentar a resistência de *S. frugiperda* à infecção do vírus de granulose (também Baculoviridae). O ganho de resistência foi interpretado como aumento da frequência dos alelos. Também com a *S. frugiperda*, os insetos resistentes apresentavam desvio em relação aos insetos normais, como menor longevidade, menor número de ovos produzidos e menor viabilidade dos ovos. Nesses estudos, sugere-se que a seleção de indivíduos sem aqueles desvios resultaria na diminuição do nível de resistência. Isso foi demonstrado por Fuxa & Richter (1989) e Boots & Begon (1993). Goulson & Hauxwell (1995) propuseram uma outra interpretação para o fato baseado no conhecimento existente sobre o *Baculovirus*. Segundo esses autores, a transmissão do vírus (vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose) pelos insetos sobreviventes via ovo e/ou via ovário para as gerações seguintes é bem documentada para vários insetos, incluindo *S. frugiperda* (Neelgund & Mathad, 1978; Melamed-Madjar & Raccah, 1979; Young & Yearian, 1982; Shapiro & Robertson, 1987; Smits & Vlak, 1988; Fuxa & Richter, 1991; Fuxa et al., 1992). Segundo Goulson & Hauxwell (1995), a infecção por *Baculovirus* pode ser transmitida verticalmente de geração para geração, sem que a infecção seja letal. Embora os efeitos subletais das infecções transmitidas verticalmente não tenham sido examinados, sabe-se que a inoculação de larvas com doses subletais pode produzir efeitos que incluem alterações na taxa de desenvolvimento e redução na fecundidade. Portanto, as populações aparentemente resistentes apontadas por Boots & Begon (1993) e Fuxa & Richter (1989) podem estar carregando infecções subletais, as quais resultam nos sintomas observados. A volta rápida à situação de normalidade de

insetos selecionados decorre do fato de indivíduos não-infectados, presentes dentro da população, produzirem uma descendência maior do que os indivíduos infectados e porque nem toda a descendência de insetos infectados está também infectada. Dessa maneira, a frequência de infecção subletal verticalmente transmitida declinaria nas gerações seqüenciais, como demonstrado em populações infectadas de *S. frugiperda* (Fuxa & Richter, 1992). Segundo a hipótese de Goulson & Hauxwell (1995), as infecções subletais conferem um grau de resistência a novas infecções, como já tinha sido proposto por Fuxa (1993). Embora existam boas evidências da existência de resistência, a base genética para explicar tanto o desvio da normalidade, quanto a reversão da resistência, ainda não está estabelecida de maneira convincente. É, portanto, fundamental confirmar para cada caso se os insetos aparentemente resistentes estão carregando infecções subletais ou exibem resistência genética (Goulson & Hauxwell, 1995).

Melhoramento da eficácia de *Baculovirus*

O melhoramento genético de viroses do grupo *Baculovirus* para o controle de insetos tem sido considerado uma área importante de pesquisa nos últimos anos (Fuxa et al., 1994). Para melhorar sua eficácia, as baculoviroses podem ser artificialmente selecionadas pelo método clássico de manipulação genética dos caracteres, tais como maior virulência e resistência à radiação ultravioleta (Aizawa, 1971; Brassel & Benz, 1979; Shapiro & Bell, 1984).

Fuxa & Richter (1991) também consideram a possibilidade de se ter ganhos significativos na eficiência do controle pelo *Baculovirus* através da transmissão vertical, ou seja, a passagem do vírus dos pais para os descendentes. Na verdade, a transmissão vertical de *Baculovirus* já tinha sido detectada em diversos insetos (Bird, 1961; Swaine, 1966; Neelgund & Mathad, 1978; Abul-Nasr et al., 1979; Melamed-Madjar & Raccah, 1979; Shapiro & Robertson, 1987; Smiths & Vlak, 1988). Fuxa & Richter (1991) selecionaram uma raça de vírus de poliedrose nuclear de *S. frugiperda* com uma alta taxa de transmissão vertical, pelo isolamento do vírus a partir de pupas que tinham sido infectadas através de

transmissão vertical. Os autores argumentaram que a raça melhorada poderia ser muito útil no controle das populações avançadas da praga, porque haveria uma melhor eficiência no transporte do vírus para as partes mais altas das plantas, o que não acontece normalmente, quando a fonte de infecção é baseada somente no reservatório natural, que é o solo. Estudos complementares sobre biologia, interações com hospedeiro e caracterização de DNA da raça selecionada foram posteriormente realizados (Fuxa & Richter, 1992; Fuxa et al., 1992, 1994).

Segundo Hamm et al. (1994), uma das razões da baixa eficiência do *Baculovirus* aplicado no campo, descrita em trabalhos prévios (Hamm & Young, 1971; Hamm & Hare, 1982), era a falta de inclusão de adjuvantes para proteger o vírus dos raios solares ou mesmo para aumentar sua infectividade. A importância do assunto foi demonstrada por Shapiro (1992) e Shapiro & Robertson (1992), usando uma série de protetores fluorescentes contra os raios ultravioletas. Em alguns casos, houve aumento da infectividade do vírus de poliedrose nuclear em lagartas de *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae), mesmo quando este não era exposto aos raios UV. Dentro dessa linha de raciocínio, Hamm & Shapiro (1992) demonstraram, inicialmente em laboratório, o aumento da eficiência do vírus de poliedrose nuclear de *S. frugiperda*, utilizando o protetor *Tiponal*. Em função da qualidade desse produto, eles obtiveram, nos Estados Unidos, sua patente, em 1992 (Shapiro et al., 1992). Em condições de campo, Hamm et al. (1994) aplicaram o VPN de *S. frugiperda* em combinação com o produto para o controle da praga na cultura de milho, em concentrações variadas, tanto do vírus quanto do protetor UV. Observaram que o protetor interagiu significativamente, tanto com a concentração do vírus quanto com o volume de água aplicado (234 a 926 litros/ha), aumentando a eficiência do vírus.

Mais recentemente, o melhoramento genético das Baculoviroses tem sido realizado através de técnicas de DNA-recombinante (Wood & Granados, 1991). Com essa tecnologia, novas perspectivas têm surgido para aumentar a eficiência dos inseticidas virais (Gerk et al., 1997). Segundo Hawtin & Possee (1993), o principal objetivo do uso da engenharia genética em *Baculovirus* é aumentar a sua velocidade de ação, colocando-o em igualdade de condições

com um produto químico. Tem sido proposto que a inserção de genes modificados levando toxinas específicas para determinada praga, seguida por sua expressão dentro do organismo do inseto hospedeiro, pode aumentar a taxa de mortalidade ou pelo menos inibir a alimentação e, conseqüentemente, reduzir os danos à planta (Bishop et al., 1989; Federici, 1993; Vlaskov, 1993; Corsaro et al., 1993; Cory et al., 1994; Wood et al., 1994; Gopalakrishnan et al., 1995; Miller, 1995; Lee et al., 1997). É possível, inclusive, aumentar o espectro de ação do vírus, fazendo com que ele seja eficiente para diferentes pragas. Nesse caso, isso poderia ser realizado através da introdução de determinados genes de um *Baculovirus* dentro do genoma de outro, como proposto por Kondo & Maeda (1991).

Produção do *Baculovirus*

Além dos diferentes fatores que afetam a eficiência do *Baculovirus*, uma vez que este já foi aplicado no campo para o controle da lagarta-do-cartucho, um dos principais entraves à sua efetiva utilização no Brasil é, sem dúvida, a produção em larga escala. O grupo *Baculovirus* possui um ciclo de multiplicação bifásico característico (Faulkner, 1981; Kelly, 1982). Inicialmente, as partículas viróticas são secretadas no meio na forma de vírus não-occlusos. Essas partículas são infecciosas para as células dos insetos. Posteriormente, no ciclo de duplicação, as partículas do vírus são oclusas em cristais protéicos, chamados poliedros, os quais são letais para os insetos. Tanto os poliedros quanto as partículas não oclusas são parâmetros-chaves na determinação da eficiência do processo contínuo de produção do *Baculovirus*.

Apesar do grande potencial de uso do *Baculovirus*, a maioria das produções comerciais são ainda realizadas *in vivo*. Nesse tipo de produção, deve-se considerar duas fases bem distintas e importantes. Na primeira delas, tem-se o maior desafio para se garantir o sucesso de um programa de controle biológico da lagarta-do-cartucho na cultura do milho: obtenção de grande quantidade de insetos a um custo competitivo. Uma vez que se tem os insetos, a segunda fase, que é a multiplicação e formulação do vírus, é relativamente mais fácil.

Fase 1: criação artificial do hospedeiro

O *Spodoptera frugiperda* é um inseto cuja criação no laboratório já está bem documentada, podendo todo o seu processo ser mecanizado (Shorey & Hale, 1965; Burton & Cox, 1966; Burton, 1967; Bowling, 1967; Bailey & Chada, 1968; Snow, 1968; Harrell et al., 1968; Ignoffo & Boening, 1970; Perkins & Young, 1972; McMillian & Wiseman, 1972; Vasquez et al., 1975; Sparks & Harrell, 1976; Mihm, 1983; Ferguson et al., 1994; 1997). Na Embrapa Milho e Sorgo, o inseto vem sendo criado, há mais de 20 anos, em dieta artificial à base de feijão, germe de trigo e levedo de cerveja (Cruz, 1992a,b).

Os adultos, na proporção de um macho para uma fêmea, são colocados em gaiolas com capacidade para 2.000 adultos por quinzena. A gaiola é feita de metalão, com 16 lados removíveis, de 30 por 30cm. A parte superior da gaiola é confeccionada com acrílico, para facilitar a inspeção. A parte inferior é feita com chapa galvanizada em formato trapezoidal, com abertura na base, para descarte de adultos mortos. No interior da gaiola existem coxos para colocação de alimento (solução açucarada a 10%, enriquecida com ácido ascórbico a 0,5%). Como sítio de postura, são colocadas, no teto da gaiola, folhas de papel, em forma de chapéu. Já nos lados removíveis, são colocados guardanapos brancos. Normalmente, 48 horas após a emergência dos adultos, começam a ser observadas as primeiras posturas, que são retiradas de dois em dois dias, para evitar a eclosão de lagartas no interior da gaiola. As posturas são recortadas e colocadas individualmente no interior de copos de plástico de 50ml, contendo dieta artificial (8 gramas), e mantidas em sala climatizada ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Deve-se ter o cuidado de não deixar que o papel com a postura entre em contato com a dieta artificial, o que provoca mortalidade nas larvas recém-nascidas. As larvas permanecem juntas por um período de até sete dias, pois, a partir daí, ocorre o canibalismo. Desse ponto em diante, as larvas são individualizadas em recipientes semelhantes e com a mesma quantidade de dieta. Para continuar o processo de multiplicação da praga, as larvas permanecem no copo de plástico até a transformação em adulto, quando, então, são transferidas para a gaiola de oviposição.

Fase 2: obtenção do *Baculovírus*

Diversas alternativas têm sido tentadas para a obtenção do *Baculovírus* no laboratório. Uma delas é aplicar na superfície da dieta artificial da lagarta hospedeira uma suspensão purificada do vírus (Valicente et al., 1989). A dieta deve ser produzida sem anticontaminantes que possam inibir a atuação do vírus. Lagartas de terceiro instar (uma por recipiente) são colocadas sobre a dieta contaminada e, geralmente, sete dias após a infecção começam a aparecer as primeiras lagartas mortas. Estas devem ser retiradas manualmente, através de pinças e colocadas em recipientes próprios (frascos de vidros ou de plástico) que serão armazenados geralmente no congelador ou freezer. Muitas vezes, no processo de remoção manual, a larva morta pode romper-se fazendo com que grande quantidade do vírus fique impregnada na dieta artificial, aumentando as perdas. Para evitar tais perdas, é recomendado, antes da remoção, colocar o recipiente contendo as lagartas mortas e a dieta artificial dentro de um freezer, para depois facilmente remover a lagarta congelada.

Um processo alternativo, porém também artesanal, é preparar inicialmente a suspensão do vírus em uma bandeja de plástico. Dentro de cada bandeja, são submergidas, por cerca de 30 segundos, folhas de milho. As folhas impregnadas com o vírus, após a retirada do excesso de líquido, são colocadas em baldes de 20 litros. Dentro de cada balde são colocadas de 400 a 800 lagartas de terceiro instar, por um período de 15 a 24 horas. Findo esse período, as larvas são removidas e colocadas individualmente nos copos de plástico utilizados para a criação de insetos sadios, contendo um terço da dieta consumida por uma larva sadia.

Independente do processo de obtenção, no Brasil, a produção do *Baculovírus* é realizada *in vivo*, ou seja, em lagartas. Tal produção, no entanto, ainda possui custo elevado e exige muito tempo, além de ser difícil, quando se pensa em demandas maiores. No entanto, considerando a possibilidade de se ter número diversificado de pequenos empresários, distribuídos em diferentes regiões brasileiras, o processo pode ser eficaz.

Existe a possibilidade de multiplicação do *Baculovirus* em escala industrial, através de processos *in vitro*, usando cultura de tecidos. Vários trabalhos envolvendo *Baculovirus* de *S. frugiperda* ou outros lepidópteros podem ser encontrados na literatura (Goodwin et. al., 1970; McIntosh & Ignoffo, 1976; Crawford & Sheehan, 1983; Weiss & Vaughn, 1986; Kompier et al., 1988; Schlaeger et al., 1993; Rhiel et al., 1997; Shih & Chang, 1997). Com certeza, no futuro, com o avanço da biotecnologia nessa área, o processo de produção do *Baculovirus* terá um grande impulso no Brasil.

Uma vez obtidas as lagartas infectadas e mortas pelo *Baculovirus*, elas são maceradas em liqüidificador e coadas, para eliminação de materiais grosseiros, como resíduos da lagarta morta, que podem obstruir a saída uniforme do produto ao entupir o bico do pulverizador. Uma amostra do material é levada ao microscópio ótico comum, para se fazer as quantificações do vírus, utilizando a câmara de Neubauer (Moraes & Alves, 1986).

Além do uso do macerado, para se obter maior estabilidade e facilidade de manuseio o vírus pode ser formulado em pó. Na Embrapa Milho e Sorgo, o produto é formulado em pó-molhável, através da mistura da suspensão do vírus em um inerte, o caulim, que é uma argila muito utilizada na indústria de cerâmica e pode ser facilmente obtido a um baixo custo. O macerado de vírus, devidamente quantificado, é misturado ao caulim em proporções, de modo a se ter um produto final com o peso de 50g, contendo $2,5 \times 10^{11}$ CIP. A mistura é espalhada em uma camada fina sobre bandejas e colocada para secar à temperatura ambiente. Quanto mais fina for a camada, mais rápida será a secagem. Uma das grandes vantagens do caulim é a perda rápida de água, eliminando, em torno de 24 horas, praticamente todo o líquido excedente do macerado de vírus. Pode-se diminuir o tempo de secagem através de fluxo de ar artificial. Uma vez seco, o material é primeiramente colocado em baixa temperatura (congelador) para, no dia seguinte, ser finamente moído e empacotado.

Efeito da idade da lagarta *Spodoptera frugiperda* na produção de *Baculovirus*

Em condições de campo, procura-se eliminar as lagartas antes que danos significativos sejam ocasionados à planta hospedeira. No entanto, no processo de produção, geralmente no laboratório, deve-se aumentar ao máximo o rendimento do vírus, ou seja, deve-se infectar as lagartas de modo a se ter sua morte antes de se transformar em pupa. Cruz & Valicente (1992d) determinaram a frequência de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* em função da idade do inseto no dia da infecção pelo *Baculovirus*, usando uma dose padrão de $4,3 \times 10^7$ CIP/lagarta, oferecida a lagartas com idades variando entre 10 e 12 dias, mantendo todos os insetos em sala com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 horas. As lagartas, individualmente acondicionadas em copos de plástico de 50ml, foram alimentadas com dieta artificial, 24 horas após o oferecimento da suspensão do vírus. Noventa e dois por cento das lagartas infectadas com dez dias morreram entre sete e nove dias após a infecção (Tabela 11). Já as lagartas de 11 e 12 dias, retardaram um pouco mais o seu período letal, pois somente 81% e 55% dos insetos estavam mortos dentro do período de sete a nove dias. Além disso, a maior taxa de mortalidade (91%) ocorreu quando as lagartas foram submetidas ao vírus com a idade de dez dias. A mortalidade das lagartas caiu para 76% e 51% com a idade de 11 e 12 dias, respectivamente, provavelmente porque o período de infecção não foi suficiente para provocar a morte delas (Tabela 12). Portanto, no processo de produção do *Baculovirus*, a lagarta não pode ter idade superior a dez dias (Cruz & Valicente, 1992d).

O ajuste no estágio de desenvolvimento da lagarta no dia da infecção é fundamental para melhorar a eficiência na produção do *Baculovirus*. Por exemplo, uma lagarta morta, exibindo o tamanho médio acima de 2,5cm, produz cerca de $3,4 \times 10^9$ CIP, enquanto lagartas médias e pequenas produzem muito menos, respectivamente, $1,95 \times 10^9$ e $1,46 \times 10^9$ CIP (Tabela 13). Considerando a dose recomendada de $2,5 \times 10^{11}$ CIP/ha, seriam necessárias 74 lagartas grandes para se ter uma dose para uso em um hectare de milho. Esse valor subiria para 128 e 171 lagartas, no caso de lagartas médias e pequenas, respectivamente.

TABELA 11. Frequência do período letal e mortalidade (%) média de lagartas de *S. frugiperda* sujeitas à infecção pelo *Baculovirus* utilizado na dose de $4,3 \times 10^7$ CIP/lagarta (Cruz & Valicente, 1992d).

Idade das lagartas (dias) ¹	Dias após a infecção com o <i>Baculovirus</i>							Total
	7	8	9	10	11	12	13	
Número de lagartas mortas								
10	235	199	49	14	11	1	7	1 517
11	145	142	62	43	19	7	5	7 430
12	043	051	55	57	33	14	12	6 271
Lagartas mortas (%)								
10	45	38	9	3	2	< 1	1	< 1
11	34	33	14	10	4	2	1	2
12	16	19	20	21	12	5	4	2

¹ 10 dias = 5º instar; 11 = início do 6º instar; 12 = final do 6º instar.

TABELA 12. Mortalidade e tempo letal médio de lagartas de *S. frugiperda* sujeita à ação do *Baculovirus*, na dose de $4,3 \times 10^7$ CIP/lagarta.

Idade da lagarta no dia da infecção (dias)	Mortalidade média (%) ¹	Período letal médio ¹ (dias)
10	91 A	7,8 C
11	76 B	8,4 B
12	51 C	9,4 A

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, segundo o teste de Duncan (p ≤ 0,05).

TABELA 13. Produção de *Baculovirus* em função do estágio de desenvolvimento do hospedeiro.

	Tamanho das lagartas (cm)			
	Pequena(até 1,5cm)	Média(entre 1,5 e 2,5cm)	Grande(maior que 2,5cm)	Pupa (aos quatro dias de idade)
Produção/inseto	$1,46 \times 10^9$ CIP	$1,95 \times 10^9$ CIP	$3,4 \times 10^9$ CIP	$0,4 \times 10^9$ CIP
Relação de rendimento do vírus	1	1,33	2,32	0,27
Insetos avaliados	10.000	12.000	4.500	1.000

Recomendações finais

Os resultados de pesquisa mostram que o período de maior ocorrência da lagarta na planta de milho está entre 40 e 45 dias após o plantio. Este é, portanto, o período crítico para entrar com o *Baculovirus*. Deve-se considerar também que, à medida que a lagarta se desenvolve, ela fica mais resistente ao vírus. Portanto, quanto mais novas forem as lagartas, maior eficiência pode ser esperada do vírus. Por isso, é recomendada a aplicação do *Baculovirus* em lagartas de, no máximo, 1,5cm. A pulverização é realizada com os mesmos equipamentos utilizados para a aplicação de um produto químico convencional. Particularmente para a lagarta-do-cartucho, recomenda-se usar o bico tipo leque 8004 ou 6504 (Cruz & Santos, 1984). Quanto mais uniforme for o plantio, mais eficiente será a aplicação. Isso é particularmente importante quando a aplicação é tratorizada, porque, se o plantio não for uniforme, ou seja, o espaçamento entre as fileiras de milho variar, ao longo da aplicação o produto pode ser jogado fora do alvo (lagarta), que está localizado dentro do cartucho da planta. Quando a aplicação for em área pequena, ela pode ser realizada com o aparelho manual-costal e, nesse caso, a falta de uniformidade no plantio é menos importante, pois o jato da pulverização pode ser facilmente ajustado de modo a cair dentro do cartucho da planta de forma mais eficiente. O vírus pode também ser aplicado via água de irrigação. Independentemente do equipamento utilizado, deve-se fazer a pulverização fora das horas de maior incidência de raios ultravioletas e períodos chuvosos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUL-NASR, S. E.; AMMAR, E. D.; ABUL-ELA, S. M. Effects of nuclear polyhedrosis virus on various developmental stages of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boid.). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, Hamburg, v. 88, p. 181-187, 1979.
- AIZAWA, K. Strain improvement and preservation of virulence of pathogens. In: BURGESS, H. D.; HUSSEY, N. W., eds. *Microbial control of insects and mites*. London: Academic Press, 1971. p. 655-672.
- ALLEN, G. E.; GREGORY, B. G.; BRAZZELL, J. R. Integration of the *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus into a biological control program on cotton. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 59, n. 6, p.1333-1336, 1966.
- ALVES, S. B. Vírus entomopatogênicos. In ALVES, S. B., coord. *Controle microbiano de insetos*. São Paulo: Editora Manole, 1986. p.171-187.
- BAILEY, D. L.; CHADA, H. L. Effects of natural (Sorghum) and artificial (Wheat germ) diets on development of the corn earworm, fall armyworm, and southwestern corn borer. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 61, n. 1, p. 257-259, 1968.

- BIRD, F. T. Transmission of some insect viruses with particular reference to ovarial transmission and its importance in the development of epizootic. *Journal of Insect Pathology*, New York, v. 3, p. 352-380, 1961.
- BISHOP, D. H. L.; HARRIS, M. P. G.; HIRST, M.; MERRYWEATHER, A. T.; POSSEE, R. D. **The control of insect pests by viruses: opportunity for the future by using genetically engineered virus insecticides.** Farnham: British Crop Protection Council, 1989. p.145-155. (BCPC Monograph, 43).
- BOOTS, M.; BEGON, M. Trade-offs with resistance to a granulosis virus in the Indian meal moth, examined by a laboratory evaluation experiment. *Functional Ecology*, Oxford, v. 7, p. 528-534, 1993.
- BOWLING, C. C. Rearing of two lepidopterous pests of rice on a common artificial diet. *Annals of the Entomological Society of America*, College Park, v. 60, n. 6, p.1215-1216, 1967.
- BRASSEL, J.; BENS, G. Selection of a strain of the granulosis virus of the codling moth with improved resistance against artificial ultraviolet radiation and sunlight. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, v. 33, n. 3, p. 358-363, 1979.
- BURGES, H. D.; CROZIER, G.; HEBER, J. A review of safety tests on Baculoviruses. *Entomophaga*, Paris, v. 25, n. 4, p. 329-340, 1980.
- BURTON. R. L. **Mass rearing the fall armyworm in the laboratory.** S.I.: USDA-ARS, 1967. 12p. (USDA-ARS, 33-117).
- BURTON, R. L.; COX, H. C. An automated packaging machine for lepidopterous larvae. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 59, n. 4, p. 907-909, 1966.
- CARVALHO, R. P. L. Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. Piracicaba: ESALQ/USP, 1970. Tese Doutorado.
- CORSARO, B. G.; GIJZEN, M.; WANG, P.; GRANADOS, R. R. Baculovirus enhancing proteins as determinants of viral pathogenesis. In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A., eds. **Parasites and pathogens of Insects.** San Diego: Academic Press, 1993. v.2, p. 127-146.
- CORY, J. S.; HIRST, M. L.; WILLIAMS, T.; HAILS, R. S.; GOULSON, D.; GREEN, B. M.; CARTY, T. M.; POSSEE, R. D.; CAYLEY, P. J.; BISHOP, D. H. L. Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide. *Nature*, London, v. 370, n. 6485, p. 138-140, 1994.
- COSTA, E. F.; BRITO, R. A. L. **Aplicador portátil de produtos químicos via água de irrigação.** Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1988. 19 p.
- CRAWFORD, A. M.; SHEEHAN, C. S. Persistent Baculovirus infections: *Spodoptera frugiperda* NPV and *Autographa californica* NPV in *Spodoptera frugiperda* cells. *Archives of Virology*, New York, v. 78, n. 1, p. 65-79, 1983.
- CRUZ, I. **Impact of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith and Abott 1797) on grain yield in field corn.** West Lafayette: Purdue University, 1980. 162p. Tese Mestrado.
- CRUZ, I. Aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* criada com diferentes dietas artificiais. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 75, 1992 a.
- CRUZ, I. Determinação dos instares de *Spodoptera frugiperda* em lagartas alimentadas com diferentes dietas. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 76-77, 1992 b.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho.** Sete Lagoas: EMBRAPA. CNPMS, 1995 a. 45p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 21).
- CRUZ, I. Manejo Integrado de Pragas de milho com ênfase para o controle biológico. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 4., 1995, Campinas, SP. **Anais.** Campinas: Instituto Biológico, 1995b. p. 48-92.
- CRUZ, I. Manejo de pragas da cultura de milho. In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO SAFRINHA, 5, 1999, Barretos, SP. **Cursos para agricultores.** Campinas: IAC, 1999. p. 27-56.
- CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; VALICENTE, F. H.; OLIVEIRA, A. C. Application rate trials with a nuclear polyhedrosis virus to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) on maize. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 145- 152, 1997.

- CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; OLIVEIRA, A. C.; VASCONCELOS, C. A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**. v. 44, 1999a. (no prelo).
- CRUZ, I.; GONÇALVES, E. P.; FIGUEIREDO, M. L. C. Effect of a Nuclear Polyhedrosis Virus on *Spodoptera frugiperda* (Smith) larvae, its damage and yield of maize crop. **International Journal of Pest Management**. 1999b (no prelo)
- CRUZ, I.; OLIVEIRA, L. J.; VASCONCELOS, C. A.; OLIVEIRA, A. C. Efeito no nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v. 25, n. 2, p. 293-297, 1996.
- CRUZ, I.; SANTOS, J. P. Diferentes bicos do tipo leque no controle da lagarta-do-cartucho em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 1-7, 1984.
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 355-359, 1982.
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Yield impact of larval infestation of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) to mid-whorl growth stage of corn. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 76, n. 5, p. 1052-1054, 1983.
- CRUZ, I.; VALICENTE, F. H. Efeito da formulação pó molhável do Baculovírus em lagartas de *Spodoptera frugiperda*. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 70, 1992a.
- CRUZ, I.; VALICENTE, F. H. Efeito da formulação pó molhável do Baculovírus sujeita a diferentes condições de armazenamento sobre lagartas de *Spodoptera frugiperda* de diferentes idades. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 70, 1992 b.
- CRUZ, I.; VALICENTE, F. H. Efeito da temperatura sobre a eficiência do vírus da poliedrose nuclear, Baculovírus, no controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 71, 1992 c.
- CRUZ, I.; VALICENTE, F. H. Efeito da idade da lagarta *Spodoptera frugiperda* na produção de vírus de poliedrose nuclear (Baculovírus). **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 71-72, 1992 d.
- CRUZ, I.; VALICENTE, F. H. Deposição de Baculovírus em diferentes partes da folha de milho. **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991**, Sete Lagoas, v. 5, p. 72-73, 1992 e.
- FAULKNER, P. Baculoviruses. In: DAVIDSON, E. A. ed. **Pathogenesis of invertebrate microbial diseases**. Totowa, NJ: Allanheld, Osmun, 1981. p. 3-37.
- FEDERICI, B. A. Viral pathobiology in relation to insect control. In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A. eds. **Parasites and pathogens of insects**. San Diego, CA: Academic Press, 1993. v. 2, p. 81-101.
- FERGUSON, H. J.; EATON, J. L.; ROGERS, C. E. Larval rearing density effects on lipid reserves and wing-loading in fall armyworm adults (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Agricultural Entomology**, v. 14, n. 4, p. 369-384, 1997.
- FERGUSON, H. J.; EATON, J. L.; ROGERS, C. E.; SIMMONS, A. M. Rearing density effects on pupal weight, wing width, development, and female adult activity of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 87, n. 6, p. 823-830, 1994.
- FUXA, J. R. Prevalence of viral infections in populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in southeastern Louisiana. **Environmental Entomology**, College Park, v. 11, n. 1, p. 239-242, 1982.
- FUXA, J. R. Insect control with Baculovirus. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 9, p. 425-442, 1991.
- FUXA, J. R. Insect resistance to viruses. In: BECKAGE, N. E.; THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A. eds. **Parasites and pathogens of insects**. San Diego: Academic Press, 1993. v. 2, p. 215-248.
- FUXA, J. R.; MARUNIAK, J. E.; RICHTER, A. R. Characterization of the DNA of a nuclear polyhedrosis virus selected for an increased rate of vertical transmission. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 64, n.1, p. 1-5, 1994.
- FUXA, J. R.; RICHTER, A. R. Reversion of resistance by *Spodoptera frugiperda* to nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 53, n. 1, p. 52-56, 1989.

- FUXA, J. R.; RICHTER, A. R. Selection for an increased rate of vertical transmission of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus. **Environmental Entomology**, College Park, v. 20, n. 2, p. 603-609, 1991.
- FUXA, J. R.; RICHTER, A. R. Virulence and multigeneration passage of a nuclear polyhedrosis virus selected for an increased rate of vertical transmission. **Biological Control** v. 2, p. 171-175, 1992.
- FUXA, J. R.; WEIDNER, E. H.; RICHTER, A. R. Polyhedra without virions in a vertically transmitted nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 60, n. 1, p. 53-58, 1992.
- GARCIA, M. A. **Potencialidade de alguns fatores bióticos e abióticos na regulação populacional de *Spodoptera frugiperda* (Abbot & Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae)**. Campinas: UNICAMP, 1979. 96p. Tese Mestrado.
- GARDNER, W. A.; FUXA, J. R. Pathogens for the suppression of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 63, n.4, p. 439-447, 1980.
- GARDNER, W. A.; NOBLET, R.; SCHWEHR, R. D. The potential of microbial agents in managing populations of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 67, n. 3, p. 325-332, 1984.
- GERK, A. O.; KITAJIMA, E. W.; SOUZA, M. L. Identificação e caracterização de isolado brasileiro do vírus de polihedrose nuclear da lagarta do cartucho-do-milho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p.507-515, 1997.
- GOODWIN, R. H.; VAUGHN, J. L.; ADAMS, J. R.; LOULOUDES, S. J. Replication of a nuclear polyhedrosis virus in an established cell lines. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 16, p. 284-288, 1970.
- GOPALAKRISHNAN, B.; MUTHUKRISHNAN, S.; KRAMER, K. Baculovirus-mediated expression of a *Manduca sexta* chitinase gene - properties of the recombinant protein. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 255-265, 1995.
- GOULSON, D.; HAUXWELL, C. Resistance or covert infection; baculovirus studies re-examined. **Functional Ecology**, Oxford, v. 9, p. 548-550, 1995.
- HAMM, J. J.; CARPENTER, J. E. Compatibility of nuclear polyhedrosis viruses and inherited sterility for control of corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomological Science**, Georgia, v. 32, n. 2, p. 148-153, 1997.
- HAMM, J. J.; CHANDLER, L. D.; SUMNER, H. R. Field tests with a fluorescent brightener to enhance infectivity of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 77, n. 4, p. 425-437, 1994.
- HAMM, J. J.; HARE, W. W. Application of entomopathogens in irrigation water for control of fall armyworm and corn earworms (Lepidoptera: Noctuidae) on corn. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 75, n. 6, p. 1074-1079, 1982.
- HAMM, J. J.; SHAPIRO, M. Infectivity of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus enhanced by a fluorescent brightener. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 85, n. 6, p. 2149-2152, 1992.
- HAMM, J. J.; YOUNG, J. R. Value of virus presilk treatment for corn earworm and fall armyworm control in sweet corn. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 64, n. 1, p. 144-146, 1971.
- HARRAP, K. A.; PAYNE, C. C.; ROBERTSON, J. S. The properties of three baculoviruses from closely related hosts. **Virology**, New York, v. 79, n. 1, p. 14-31, 1977.
- HARRELL, E. A.; HARE, W. W.; BURTON, R. L. Collecting pupae of the fall armyworm from rearing containers. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 61, n. 3, p. 873-876, 1968.
- HAWTIN, R. E.; POSSEE, R. D. Genetic manipulation of the Baculovirus genome for insect pest control. In: BEAKAGE, N. E.; THOMPSON, S. N.; FEDERICI, B. A. eds. **Parasites and pathogens of insects**. San Diego: Academic Press, 1993. v. 2, p. 179-195.
- IGNOFFO, C. M.; BOENING, O. P. Compartmented disposable plastic trays for rearing insects. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 63, n. 5, p. 1696-1697, 1970.
- IGNOFFO, C. M.; CHAPMAN, A. J.; MARTIN, D. F. The nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabricius). III. Effectiveness of the virus against field populations of *Heliothis* on cotton, corn and grain sorghum. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 7, p. 227-235, 1965.

- JONES, K. A.; IRVING, N. S.; GRZYWACZ, D.; MOAWAD, G. M.; HUSSSEIN, A. H.; FARGAHLI, A. Application rate trials with a nuclear polyhedrosis virus to control *Spodoptera littoralis* (Boisd.) on cotton in Egypt. **Crop Protection**, Surrey, v. 13, n. 5, p. 337-340, 1994.
- KELLY, C. D. Baculovirus replication. **Journal of General Virology**, v. 63, p. 1-13, 1982.
- KLEIN, M.; PODOLER, H. Studies on the application of a nuclear polyhedrosis virus to control populations of the Egyptian cottonworm, *Spodoptera littoralis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 32, p. 244-248, 1978.
- KOMPIER, R.; TRAMPER, J.; VLAK, J. M. A continuous process for the production of baculovirus using insect cell cultures. **Biotechnology Letters**, Surrey, v. 10, n. 12, p. 849-854, 1988.
- KONDO, A.; MAEDA, S. Host range expansion by recombination of the baculoviruses *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus and *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Virology**, Washington, v. 65, p. 3625-3632, 1991.
- LEE, S. Y.; QU, X.; CHEN, W.; POLOUMIENKO, A.; MACAFFEE, N.; MORIN, B.; LUCAROTI, C.; KRAUSE, M. Insecticidal activity of a recombinant baculovirus containing an antisense c-myc fragment. **Journal of General Virology**, Cambridge, v. 78, n. 1, p. 273-281, 1997.
- McINTOSH, A. H.; IGNOFFO, C. M. Establishment of a persistent baculovirus infection in a lepidopteran cell line. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 38, n. 3, p. 395-403, 1976.
- McMILLIAN, W. W.; WISEMAN, B. R. Separating egg masses of the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 65, n. 3, p. 900-902, 1972.
- MELAMED-MADJAR, V.; RACCAH, B. The transstadial and vertical transmission of a granulosis virus from corn borer *Sesamia nonagroides*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 33, n. 3, p. 259-264, 1979.
- MIHM, J. A. Efficient mass-rearing and infestation techniques to screen for host plant resistance to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. El Batan: CIMMYT, 1983. 16p.
- MILLER, L. K. Genetically engineered insect virus pesticides: present and future. **Journal of Insect Pathology**, New York, v. 65, n. 3, p. 211-216, 1995.
- MORAES, S. A.; ALVES, S. B. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. coord. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Editora Manole, 1986. p. 278-288.
- MOSCARDI, F. Utilização de vírus para controle da lagarta-da-soja. In: ALVES, S. B. coord. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo: Editora Manole, 1986. p. 188-202.
- MOSCARDI, F.; KASTELIC, J. G. Ocorrência de vírus de poliedrose nuclear e vírus de granulose em populações de *Spodoptera frugiperda* atacando soja na região de Sertaneja, PR. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa da soja 1984/85**. Londrina, 1985. p. 128. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 15).
- NEELGUND, Y. F.; MATHAD, S. D. Transmission of nuclear polyhedrosis virus in laboratory population of the armyworm, *Mythimna (Pseudaletia) separata*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 31, n. 2, p. 143-147, 1978.
- PERKINS, W. D.; YOUNG, J. R. A modified loop for feeding solutions to adult lepidopterans. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 65, n. 5, p. 1518-1519, 1972.
- RHIEL, M.; MITCHELL-LOGEAN, C. M.; MURHAMMER, D. W. Comparison of *Trichoplusia ni* BTI-Tn-5B1-4 (High Five™) and *Spodoptera frugiperda* Sf-9 insect cell line metabolism in suspension cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 55, n. 6, p. 909-920, 1997.
- SCHLAEGER, E. J.; FOGGETTA, M.; VONACH, J. M.; CHRISTENSEN, K. SF-1, a low cost culture medium for the production of recombinant proteins in baculovirus infected cells. **Biotechnology Techniques**, Surrey, v. 7, n. 3, p. 183-188, 1993.
- SHAPIRO, M. Use of optical brighteners as radiation protectants for gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 85, n. 5, p. 1682-1686, 1992.
- SHAPIRO, M.; BELL, R. A. Selection of a UV-tolerant strain of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus recovered from survivors of viral challenge. **Environmental Entomology**, College Park, v. 13, p. 1522-1526, 1984.

- SHAPIRO, M.; DOUGHERTY, E. M.; HAMM, J. J. Compositions and methods for biocontrol using fluorescent brighteners. U.S. Patent number 5, 124, 149, 1992.
- SHAPIRO, M.; ROBERTSON, J. L. Yield and activity of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus recovered from survivors of viral challenge. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 80, n. 4, p. 901-905, 1987.
- SHAPIRO, M.; ROBERTSON, J. L. Enhancement of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) baculovirus activity by optical brighteners. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 85, n. 4, p. 1120-1124, 1992.
- SHIH, C.-J.; CHANG, J.-C. A simple media for growth of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) cells and propagation of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *Applied Entomology and Zoology*, Tokyo, v. 32, n. 4, p. 589-594, 1997.
- SHOREY, H. H.; HALE, R. L. Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 58, n. 3, p. 522-524, 1965.
- SMITS, P. H.; VLAK, J. M. Biological activity of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus against *S. exigua* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, v. 51, n. 2, p. 107-114, 1988.
- SNOW, J. W. A holding cage and handling device for noctuid moths. *Journal of Economic Entomology*, College Park, v. 59, n. 6, p. 1547-1548, 1968.
- SPARKS, A. N.; HARRELL, E. A. Corn earworm rearing mechanization. S.I.: USDA-ARS, 1976. 12p. (USDA-ARS, 1554).
- SWAINE, G. Generation-to-generation passage of the nuclear polyhedral virus of *Spodoptera exempta* (Wlk.). *Nature*, London, v. 210, n. 5040, p. 1053-1054, 1966.
- TANADA, Y.; REINER, C. The use of pathogens in the control of the corn earworm *Heliothis zea* (Boddie). *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, v. 4, p. 139-154, 1962.
- VALICENTE, F. H. Consumo foliar da lagarta do milho, *Spodoptera frugiperda* infectada com Vírus de Granulose ou de Poliedrose. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Jaboticabal, v. 17, n. 1, p. 347-357, 1988.
- VALICENTE, F. H.; COSTA, E. F. Controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), com o *Baculovirus spodoptera*, aplicado via água de irrigação. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, v. 24, n. 1, p. 61-67, 1995.
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o *Baculovirus*. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1991. 23p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 15).
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Mortalidade da lagarta do cartucho por vírus encontrados em diversas regiões do Estado de Minas Gerais. *Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991*, Sete Lagoas, v. 5, p. 66, 1992 a.
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Efeito de várias doses do *Baculovirus* na mortalidade da lagarta do cartucho do milho. *Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991*, Sete Lagoas, v. 5, p. 67, 1992 b.
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Efeito da temperatura ambiente sobre o *Baculovirus*, na mortalidade da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*). *Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991*, Sete Lagoas, v. 5, p. 67, 1992 c.
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Efeito de altas temperaturas sobre o VPN na mortalidade da lagarta do cartucho. *Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991*, Sete Lagoas, v. 5, p. 67, 1992 d.
- VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. Efeito de diferentes temperaturas sobre a infectividade da lagarta do cartucho com o *Baculovirus spodoptera*. *Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1988-1991*, Sete Lagoas, v. 5, p. 68, 1992 e.
- VALICENTE, F. H.; PEIXOTO, M. J. V. D.; PAIVA, E.; KITAJIMA, E. W. Identificação e purificação de um vírus da poliedrose nuclear da lagarta *Spodoptera frugiperda*. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Jaboticabal, v. 18, suplemento, p. 71-81, 1989.

- VASQUEZ G., M.; CARRILLO S., J. L.; GRANADOS R., G.; GARCIA M., C. Cria massiva del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* y evaluacion de infestaciones artificiales sobre maiz en el campo. **Agrociencia**, Argentina, v. 22, p. 3-13, 1975.
- VLAK, J. M. Genetic engineering of Baculoviruses for insect control, In: WHITTEN, M. J.; OAKESHOT, J. G. eds. **Molecular approaches to pure and applied entomology**. New York: Springer-Verlag, 1993. p. 90-127.
- WEISS, S. A.; VAUGHN, J. L. Cell culture methods for large-scale propagation of baculoviruses. In: GRANADOS, R. R.; FEDERICI, B. A. eds. **The biology of Baculoviruses**. Boca Raton. CRC Press, 1986. v. 2, p. 63-87.
- WHITLOCK, V. H. Simultaneous treatments of *Heliothis armigera* with nuclear polyhedrosis virus and a granulose virus. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 29, n. 3, p. 297-303, 1977.
- WOOD, H. A.; GRANADOS, R. R. Genetically engineered baculoviruses as agents for pest control. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 45, p. 69-87, 1991.
- WOOD, H. A.; HUGHES, P. R.; SHELTON, A. Field studies of the co-occlusion strategy with a genetically altered isolate of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. **Environmental Entomology**, College Park, v. 23, n. 2, p. 211-219, 1994.
- YOUNG, J. R.; HAMM, J. J. Nuclear-polyhedrosis viruses in control of corn earworm and fall armyworm in sweet corn. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 59, n. 2, p. 382-384, 1966.
- YOUNG, S. Y.; YEARIAN, W. C. Nuclear polyhedrosis infection of *Pseudoplusia includens* (Lep.: Noctuidae) larvae: effect on post larval stages and transmission. **Entomophaga**, Paris, v. 27, n. 1, p.61-66, 1982.