



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO  
BACHARELADO EM ENGENHARIA AGRÔNOMICA  
CAMPUS SETE LAGOAS**

**NATHAN LEMES DA SILVA LIMA**

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BACULOVÍRUS  
EM *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

**Sete Lagoas, MG**

**2023**

**NATHAN LEMES DA SILVA LIMA**

**OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BACULOVÍRUS  
EM *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cidália Gabriela Santos Marinho

Coorientador: Dr. Fernando Hercos Valicente

**Sete Lagoas, MG**

**2023**

NATHAN LEMES DA SILVA LIMA

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO MASSAL DE BACULOVÍRUS EM  
*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de São João del-Rei, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Sete Lagoas, 04 de dezembro de 2023.

**Banca avaliadora:**

Dr<sup>a</sup>. Cidália Gabriela Santos Marinho — UFSJ

Dr. Fernando Hercos Valicente — Embrapa Milho e Sorgo

Dr. Frederick Mendes Aguiar — Embrapa Milho e Sorgo

*Dedico a minha família, Valdécio, Margarida e Nathália.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço,

A Deus, pelo estímulo a minha coragem e determinação.

A Valdécio, Margarida e Nathália, pelo amor incondicional e incentivo imensurável às minhas conquistas.

A Fernando, Frederick, Cidália e Marcos Fadini, orientadores e companheiros fundamentais que se dedicaram e estimularam meu aperfeiçoamento pessoal e minha formação.

Aos meus amigos do Laboratório de Controle Biológico, Nayara, Marcus, Stephani, Amanda, Karine, Jean e Ismael, que sempre fizeram presentes para meu amparo durante a realização dos meus trabalhos, e pelo companheirismo.

Aos muitos outros amigos, Ariel, Felipe, Gilma, Vitor e Milena, que torceram para minhas conquistas e se uniram à minha jornada.

A Universidade Federal de São João del-Rei e Embrapa Milho e Sorgo pela oportunidade de formação pessoal e profissional.

## SUMÁRIO

<b>1 Introdução</b> .....	09
<b>2 Material e Métodos</b> .....	10
<b>2.1. Criação da espécie hospedeira</b> .....	10
<b>2.2 Infecção por SfMNPV- isolado 6</b> .....	10
<b>2.3 Incubação do SfMNPV- isolado 6</b> .....	11
<b>2.4 Análise estatística</b> .....	12
<b>3 Resultados</b> .....	12
<b>3.1 Relação peso e porcentagem de lagartas <i>S. frugiperda</i> sintomáticas</b> .....	12
<b>3.2 Relação tamanho e porcentagem de lagartas <i>S. frugiperda</i> sintomáticas</b> .....	13
<b>3.3 Sintoma rosado ao longo dos dias pós infecção</b> .....	14
<b>4 Discussão</b> .....	14
<b>5 Conclusão</b> .....	17
<b>6 Referências</b> .....	17

## RESUMO

A determinação de condições apropriadas à bioprospecção e escalonamento da produção comercial de bioinseticidas à base de baculovírus (Baculoviridae) é fundamental, em virtude de seus atributos como agente de controle biológico e eficiência no controle da *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). A otimização da produção do *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV), isolado 6, ocorre por meio da obtenção de métodos mais efetivos para o monitoramento de lagartas infectadas, de modo a prever o momento de coleta mais oportuno ao maior rendimento de poliedros por lagarta. Destaca-se a relação entre as variáveis peso e tamanho das lagartas, em que lagartas maiores e mais pesadas são vinculadas à otimização da produção, pela maior concentração de estruturas virais, e tais variáveis ao serem associadas ao sintoma típico de infecção representam o pico de produção de poliedros. Desse modo, o objetivo deste estudo é estabelecer, para diferentes concentrações, uma correlação entre as variáveis peso e tamanho das lagartas com o momento em que a taxa de lagartas sintomáticas, de coloração rosada, após a infecção pelo SfMNPV-6 atinge seu pico, de forma a posicionar a coleta de lagartas no momento correspondente ao pico de infecção e à maior carga viral, otimizando a produção comercial de bioinseticidas à base de baculovírus. Assim, avaliou-se o peso, tamanho e variação da coloração to tegumento das lagartas durante o período de incubação do SfMNPV-isolado 6. Diante as concentrações testadas, a concentração  $1 \times 10^6$  é relevante uma vez que representa uma concentração intermediária, sendo não só importante para a otimização da quantidade de inóculo a ser utilizada, mas, também, pelos resultados uniformes obtidos em relação a lagartas grandes e pesadas, e, ainda, tais avaliações síncronas com o dia em que há a maior quantidade de lagartas de sintoma rosado, para escalonamento da produção massal de baculovírus.

**Palavras-chave:** SfMNPV, controle biológico, multiplicação *in vivo*, coleta de lagartas, poliedros.

## ABSTRACT

Determining proper conditions for bioprospecting and scaling up the commercial production of baculovirus (Baculoviridae)-based bioinsecticides is essential due to its attributes as a biological control agent and efficiency in controlling *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). The *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV) isolate 6's production optimization occurs by obtaining more effective methods for monitoring infected larvae to indicate the most viable harvesting time to achieve the highest polyhedra yield per larvae. The association between larvae's weight and size stands out once larger and heavier larvae are related to production optimization due to greater viral concentration, and such variables, once associated with standard symptoms of infection, represent the peak of polyhedra production. Therefore, this study aimed to establish, for different concentrations, a correlation between larvae's weight and size variables with the moment when the rate of symptomatic, pinkish larvae after SfMNPV-6 infection reaches its peak, to place the larvae's harvest at the moment corresponding to the peak of infection and the highest viral load, optimizing the commercial production of baculovirus-based bioinsecticides. Thus, we evaluated the larvae's weight, size, and integument color variation during the SfMNPV-isolate 6 incubation period. Given the concentrations tested,  $1 \times 10^6$  concentration is suitable as it represents an intermediate concentration, not only important for optimizing the amount of inoculum to be used, but also for the consistent results obtained about large and heavy larvae, and such assessments, once synchronous with the day when there is the greatest quantity of pinkish symptoms larvae, to scale up the mass production of baculovirus.

**Keywords:** SfMNPV, biological control, *in vivo* multiplication, larvae harvesting, polyhedra.



## **1 Introdução**

A diversificação das técnicas de controle de pragas agrícolas vem sendo implementadas com o objetivo de tornar os agroecossistemas sustentáveis. Considerando *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), praga chave da cultura do milho, as possibilidades de substituição das técnicas de controle convencionais por técnicas alternativas estão associadas ao potencial de dano que varia entre 34 e 52% de redução na produtividade da cultura no Brasil (Valicente, 2015). A determinação de condições apropriadas à bioprospecção e escalonamento da produção comercial de bioinseticidas à base de baculovírus (Baculoviridae) (BV) é fundamental, em virtude de seus atributos como agente de controle biológico e eficiência em sua complementação nos programas de manejo integrado de pragas (MIP).

A produção efetiva de baculovírus envolve, não apenas a adequada replicação do vírus, mas, também, primordialmente, a produção em massa de estruturas virais viáveis (Grzywacz e Moore, 2017), chamadas de corpos de oclusão (OB's) ou poliedros. Uma vez que a perda de estabilidade genética e altos custos de produção são fatores que estão associados à produção *in vitro* de baculovírus, ou seja, por via de cultura de células (Reid et al., 2014), a replicação do microrganismo *in vivo* (no interior do inseto) por via da amplificação massal em larvas de *S. frugiperda*, emerge como a abordagem mais promissora para a formulação de bioinseticidas (Sanches et al., 2021). Entretanto, conforme exemplificado por Moscardi et al. (2011), embora a produção comercial do vírus, atualmente, ocorra pela replicação *in vivo*, existem desafios para a sistematização e organização do processo produtivo nesse sistema. Apesar disso, essa via de produção é apta à otimização do método produtivo, principalmente para etapas determinantes relacionadas à maior concentração de poliedros.

Dentre os isolados de *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV) para a produção de bioinseticidas, tem-se a vantagem do isolado 6 (SfMNPV-I6) não causar o rompimento do tegumento da lagarta. A ausência da liquefação quando utilizado este isolado é uma característica que facilita a manipulação das lagartas infectadas para a produção do biopesticida (Vieira et al., 2012). Em vista disso, a coleta de lagartas infectadas por SfMNPV-6 é simplificada para posterior manipulação na produção, visto que a integridade do tegumento do inseto é mantida mesmo com a infecção.

Uma importante consideração é a otimização da produção por meio da obtenção de métodos mais efetivos para o monitoramento de lagartas infectadas, de modo a prever o momento de coleta mais oportuno ao maior rendimento de poliedros por lagarta. Na prática, após a infecção, tons rosados no tegumento das lagartas estão associados a maiores concentrações de estruturas virais quando comparados à coleta de lagartas de coloração normal ou escura, uma vez que essa última representa o estado de decomposição do inseto que é um fator prejudicial à produção pela concentração, também, de outros microrganismos no período pós-morte do inseto.

Apesar da mortalidade ser um parâmetro importante para a produção viral, destaca-se, também, a relação entre as variáveis tamanho e peso das lagartas, em que lagartas maiores e mais pesadas são vinculadas à otimização de produção, pela maior concentração de estruturas virais.

Desse modo, o objetivo deste estudo é estabelecer uma correlação entre as variáveis peso e tamanho das lagartas com o momento em que a taxa de lagartas sintomáticas, de coloração rosada, após a infecção pelo SfMNPV-6 atinge seu pico, com o propósito de posicionar a coleta de lagartas no momento correspondente ao pico de infecção e à maior carga viral, de forma a contribuir para a otimização da produção comercial de bioinseticidas à base de baculovirus.

## **2 Material e Métodos**

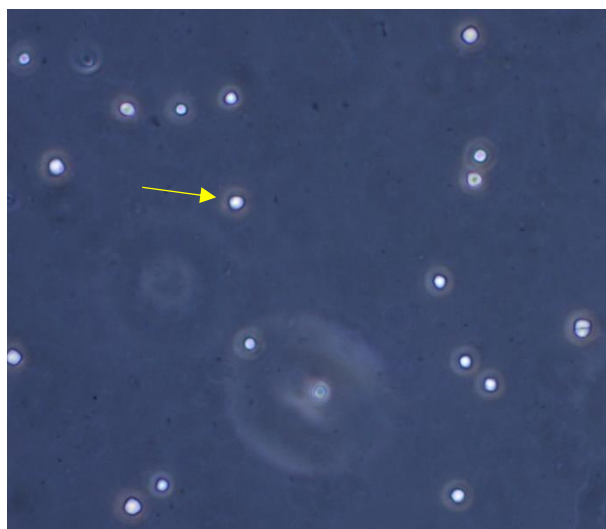
### **2.1 Criação da espécie hospedeira**

Lagartas *Spodoptera frugiperda* foram estabelecidas no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Milho e Sorgo. Os insetos são multiplicados sob condições controladas, em sala climatizada a  $25 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12 horas. Adultos da espécie foram dispostos em gaiolas preparadas com tubos de PVC, contendo solução açucarada para alimentação e folhas de papel como substrato para a oviposição. As larvas eclodidas foram dispostas em copos plásticos de 50 mL contendo dieta artificial até atingirem cinco dias de idade.

### **2.2 Infecção por SfMNPV- isolado 6**

O isolado de baculovírus foi proveniente da Coleção de Isolados de Baculovírus da Embrapa Milho e Sorgo. O processo de infecção por SfMNPV-I6 consistiu na alimentação de lagartas *S. frugiperda* com cinco dias de idade, padronizadas em relação ao tamanho, em folhas de milho convencional no estágio V3, desenvolvidas em casa de vegetação. Para a assepsia, as folhas foram lavadas em água corrente e secas em capela de fluxo laminar. Posteriormente, foram pulverizadas

com solução de baculovírus nas concentrações  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^7$  pol/mL com uma gota de espalhante adesivo (Tween 20<sup>®</sup>) a fim de uniformizar a distribuição da solução viral na superfície das folhas, as quais posteriormente foram acondicionadas em potes plásticos transparentes de 15x15 cm com as lagartas, as quais se alimentaram durante 24 horas a 25°C. Em cada pote, foram acondicionadas 120 lagartas como margem para o comportamento de canibalismo e posterior individualização. Considerando a quantidade de lagartas por pote (120), o tempo de alimentação e a temperatura, uma média de 15 folhas de milho em estágio V3 foi determinada para a etapa de infecção.



**Figura 1.** Estruturas de infecção (poliedros) do SfmNPV, isolado 6. Fonte: Autor.

### **2.3 Incubação do SfmNPV- isolado 6**

Após 24 horas de alimentação durante a fase de infecção, a fase de incubação consistiu na individualização das lagartas em copos plásticos de 50mL contendo um cm<sup>3</sup> de dieta artificial, conforme descrito por Valicente e Barreto (2003), até o final da avaliação. O experimento foi dividido em oito avaliações por tratamento (concentrações), com três repetições e 12 lagartas por repetição e avaliou-se os seguintes parâmetros: coloração do tegumento (C) escala de cores das lagartas: normal, rosa e preta (Imagem 2); peso (P), tamanho (T).

As avaliações iniciaram após o terceiro dia pós infecção por SfmNPV-I6 e foram realizadas diariamente por sete dias, totalizando dez dias. Considerou-se os dados referentes aos dias ímpares do período de avaliação (dias três, cinco, sete e nove).



**Figura 2.** Escala de cores referentes à avaliação ao longo do período após infecção por SfMNPV. Lagartas de coloração normal (1), rosada (2) e preta (3). Fonte: Autor.

## 2.4 Análise estatística

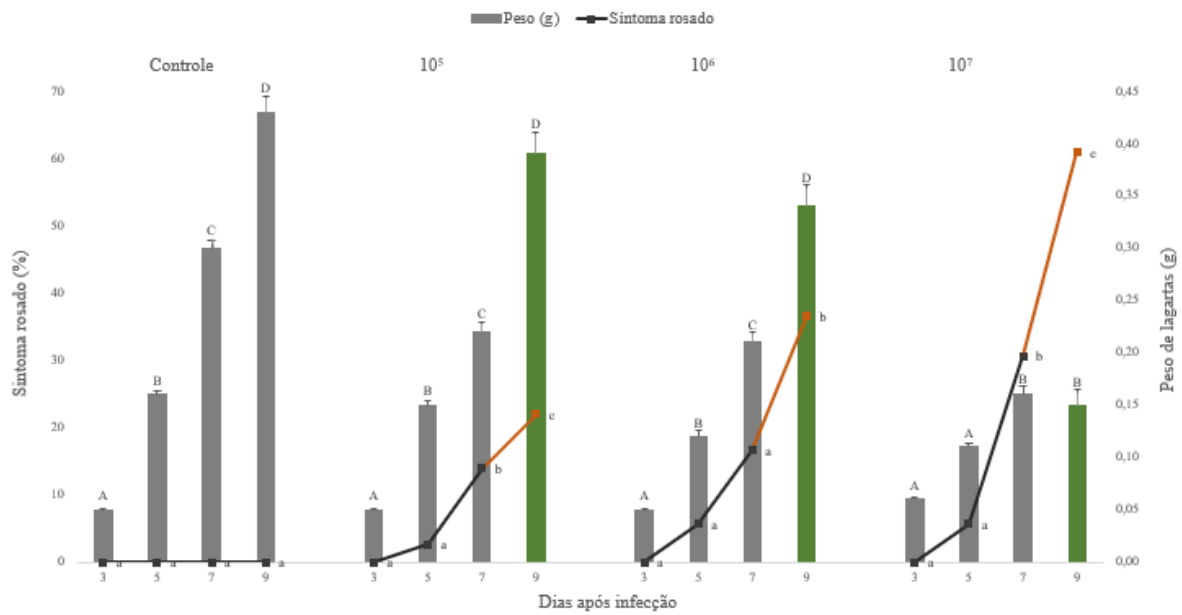
Dados referentes a coloração, peso e tamanho das larvas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas para Scott-Knott ( $p < 0,05$ ) utilizando o software SISVAR (Ferreira, 2011).

## 3 Resultados

### 3.1 Relação peso e porcentagem de lagartas *Spodoptera frugiperda* sintomáticas

As concentrações de infecção,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$ , atribuíram médias cada vez menores à análise do peso à medida em que a concentração aumentou, ilustrado pela figura 3. Ao avaliar os tratamentos, para as concentrações  $10^5$  e  $10^6$ , o dia após infecção com maiores médias para peso foi, para ambos os tratamentos, o nono dia, em que se diferiram estatisticamente em relação aos outros dias, com 0,39 g e 0,34 g, respectivamente. Ao associar o peso com as médias de sintomas, ambos tratamentos apresentaram maiores quantidades de lagartas rosadas no nono dia pós infecção, com 22,0% para a concentração  $10^5$  e 36,67% para a concentração  $10^6$ .

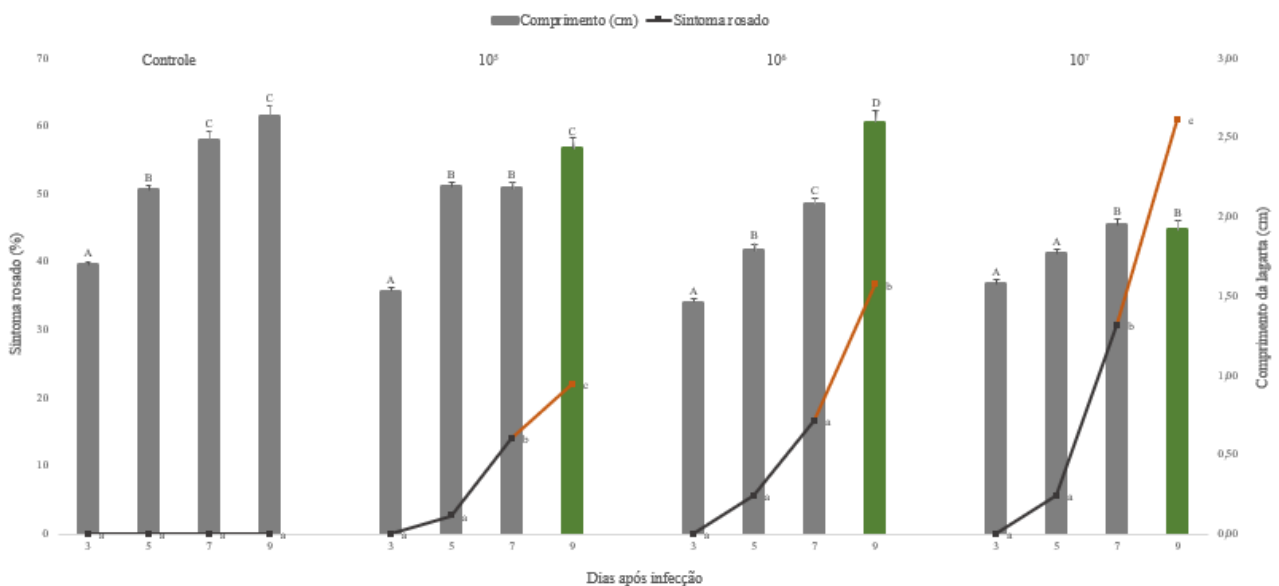
Observa-se que a maior concentração ( $10^7$ ) diminui o peso significativamente quando comparado aos outros tratamentos. Obteve-se que as maiores médias de peso para a concentração  $10^7$  ocorreram no sétimo dia após infecção, mesmo que não diferente, estatisticamente, do nono dia. Em contraste a isso, o dia em que há maiores taxas de lagartas sintomáticas para a concentração ocorre no nono dia após infecção, com 61% de lagartas sintomáticas.



**Figura 3.** Relação entre peso (g) e porcentagem de lagartas *Spodoptera frugiperda* sintomáticas ao longo dos dias após infecção por SfMNPV-isolado 6 (controle,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$ ). As barras representam as médias ( $\pm$  erro padrão da média) de peso de lagartas e as linhas representam a porcentagem de lagartas sintomáticas para cada avaliação (n=12). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula para a variável peso e médias seguidas pela mesma letra minúscula para a porcentagem de lagartas sintomáticas não diferem estatisticamente, para o teste de Skott e Knott ( $p < 0,05$ ).

### 3.2 Relação tamanho e porcentagem de lagartas *Spodoptera frugiperda* sintomáticas

O tamanho das lagartas ao longo dos dias após infecção, é, também, influenciado pelas concentrações de infecção,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$ . Para essas, as maiores médias referentes ao comprimento das lagartas ocorreram ao nono dia após infecção, respectivamente, 2,43 cm, 2,60 cm e 1,95 cm. Porém, apenas as concentrações  $10^5$  e  $10^6$  se diferiram estatisticamente entre o sétimo e nono dia, apresentando maiores tamanhos no último dia após infecção (Figura 4).



**Figura 4.** Relação entre tamanho (cm) e porcentagem de lagartas *Spodoptera frugiperda* sintomáticas ao longo dos dias após infecção por SfMNPV-isolado 6 (controle,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$ ). As barras representam as médias ( $\pm$  erro padrão da média) de comprimento de lagartas e as linhas representam a porcentagem de lagartas sintomáticas para cada avaliação (n=12). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula para a variável comprimento e médias seguidas pela mesma letra minúscula para a porcentagem de lagartas sintomáticas não diferem estatisticamente, para o teste de Skott e Knott ( $p < 0,05$ ).

Ao relacionar o tamanho de lagartas com os sintomas, têm-se que para as concentrações  $10^5$  e  $10^6$ , o dia após infecção com maiores lagartas é, também, o dia com maiores taxas de lagartas com aspecto rosado, com 22,0% e 36,67%, respectivamente.

### 3.3 Sintoma rosado ao longo dos dias pós infecção

Ao considerar o sintoma rosado pós infecção por *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* isolado 6, observa-se que para as concentrações testadas (controle,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$ ) houve um aumento gradativo nas médias de lagartas sintomáticas, ou seja, aquelas apresentando aspecto rosado no tegumento, ao longo dos dias após infecção (Figura 3 e 4). Cada tratamento se comportou de modo que se verificou que os dias com maiores médias de lagartas rosadas não variaram para os tratamentos. A análise possibilita determinar que, estatisticamente, dentro de cada concentração, o nono dia após infecção para as concentrações  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$ , são os momentos em que há maiores quantidades de lagartas rosadas e, conseqüentemente, com maiores cargas virais. Assim, firma-se que o pico de infecção é dependente da concentração de inóculo.

## 4 Discussão

A análise dos dados permite aprimorar o conhecimento fundamental acerca da sistematização e otimização da produção de bioinseticidas à base de baculovírus, principalmente, no que se refere à indicação do momento mais adequado para a coleta massal de lagartas infectadas, quando as características abordadas representam maiores concentrações de poliedros. O escalonamento da produção de estruturas virais viáveis por lagarta infectada é, não só um desafio, mas bem como uma demanda de empresas de controle biológico.

Dessa forma, o posicionamento estratégico da coleta dessas lagartas, ao considerar diversas características associadas a fatores como desenvolvimento das larvas, concentração de infecção e condições de incubação do vírus, permite o estabelecimento do momento ideal que represente o pico de infecção e maior carga viral para a via industrial de produção de bioinseticidas.

O sistema de produção de SfMNPV é caracterizado por diversos componentes incluindo a criação massal de insetos da espécie hospedeira, infecção do inseto, multiplicação do vírus, coleta de lagartas infectadas, processamento e formulação (Grzywacz e Moore, 2017). De forma a estabelecer

estratégias que fomentem a maximização da produção massal de vírus, o presente trabalho dirigiu-se para a investigação de aspectos significativos como peso, tamanho e sintomas durante a etapa de incubação do vírus, que permitissem sugerir o ponto ideal para a coleta e contribuir para o aprimoramento da produção comercial.

Dentre os isolados categorizados para o controle de *Spodoptera frugiperda*, o isolado 6 apresenta, além da alta eficiência em causar mortalidade das larvas, o não rompimento do tegumento do inseto. Essa característica facilita a coleta de lagartas mortas para posterior processamento e formulação (Valicente et al., 2010). Em comparação a outros isolados igualmente eficientes, mas que rompem o tegumento, observa-se maior complexidade em relação à coleta das larvas infectadas, e, conseqüentemente, maior mão de obra no sistema de produção em massa.

O peso e tamanho das lagartas mortas por baculovírus é um fator importante a ser considerado devido sua correlação com a produção total de poliedros, e deve ser um parâmetro utilizado na produção (Paiva, 2013). Mas, firma-se também que, se ambas características associadas e coincidentes com o momento em que as lagartas apresentem o sintoma típico de infecção, representado por coloração rosada no tegumento, corrobore com a indicação do momento em que apresentem o seu pico de carga viral.

Diante disso, observa-se que para as concentrações  $10^5$  e  $10^6$  a correlação entre peso, tamanho e sintoma é estabelecida, ou seja, lagartas apresentaram maiores peso e tamanho no mesmo dia em que houve a maior quantidade de lagartas sintomáticas, ocorrendo no nono dia após infecção. Dessa forma, para tais concentrações, ao considerar o nono dia como o momento ideal para a coleta de lagartas infectadas, se estabelece o momento de maior carga viral. Sanches et al. (2020), também observaram maior produção de estruturas virais de *Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus* (ChinNPV) coincidente com o dia com o maior desenvolvimento das larvas, representado pelo maior peso.

De forma contrária, a concentração  $10^7$  não demonstrou uma correlação tão evidente, uma vez que os dias de maiores peso e tamanho (sétimo dia após infecção), ainda que não significativos comparados ao nono dia, não corroboraram com o dia de maior porcentagem de lagartas rosadas (nono dia após infecção). Isso pode estar relacionado à concentração de infecção que atinge o pico de infecção e causa a morte da lagarta antecipadamente, reduzindo sua capacidade de desenvolvimento durante o período de incubação. Assim, é demonstrado que a correlação entre a rápida velocidade de morte e possível baixa produção de OBs, ocorre, provavelmente, devido ao menor tamanho das larvas que morrem rapidamente (Simon et al., 2008).

A concentração  $10^6$  se torna interessante para o trabalho por apresentar similaridade em comparação à testemunha, principalmente para a variável peso. Dessa forma, observa-se que para a concentração, há lagartas pesadas como a testemunha, porém infectadas e com uma carga viral. Isso é relevante uma vez que, partindo do princípio que lagartas maiores e mais pesadas produzem mais estruturas virais, uma concentração que mantenha o peso similar ao controle, mas que apresente sintomas de infecção, e esses sincronizados, torna a concentração  $10^6$  uniforme e viável para a produção massal de baculovírus.

A concentração destaca-se também pela quantidade de vírus a ser utilizada no preparo da solução para infecção, uma vez que a quantidade de inóculo influencia diretamente o custo de produção de baculovírus. Para Sanches et al. (2020), a concentração viral de  $5 \times 10^6$  OBs/ml foi considerada a ideal para a produção de baculovírus na lagarta *Chrysodeixis includens*. Assim como em estudo com *Helicoverpa armigera* infectadas com HearNPV, as doses menores de inóculo ( $5,5 \times 10^6$  OBs/ml) apresentaram peso de larvas e produção de OBs similares aos tratamentos com doses de inóculos maiores (Arrizubieta et al., 2016).

A determinação do melhor dia de coleta das lagartas infectadas possibilita não somente o escalonamento eficiente da produção, que agrega otimização ao âmbito produtivo das empresas de controle biológico, mas, também, eleva significativamente a qualidade dos poliedros gerados, uma vez que há uma visão qualitativa para a indicação do ponto de coleta. A sincronização da coleta com o pico de infecção e produção de estruturas virais viáveis reflete na maior concentração e uniformidade na produção do número de poliedros por lagarta.

Dessa forma, a utilização de características como peso e tamanho, ainda associadas aos sintomas visíveis, como coloração, permite caracterizar o momento mais oportuno à coleta das lagartas como não apenas uma prática técnica, mas uma estratégia fundamental para aprimorar a sistematização da produção de baculovírus e fomentar ainda mais a consolidação do microrganismo como estratégia no manejo integrado de pragas.

Futuramente o presente trabalho poderá ser complementado com a quantificação da produção de estruturas virais produzidas por lagartas, afim de acrescentar um fator importante à determinação do melhor momento para coleta. A contagem de poliedros, associada ao peso, tamanho e sintoma, contribui com o conhecimento fundamental acerca da produção de baculovírus, uma vez que poderá fundamentar ainda mais as percepções de que a maior produção de estruturas virais está correlacionada a lagartas maiores e mais pesadas. Ainda, buscará estabelecer a noção quantitativa e qualitativa em relação aos sintomas apresentados, se lagartas com sintoma rosado ou escuro apresentam maiores concentrações de poliedros, e, caso lagartas escuras apresentem maiores



concentrações, se os poliedros provenientes são viáveis bem como aqueles provindos das lagartas de sintoma típico pela infecção por baculovírus.

## 5 Conclusão

Para as características de peso e tamanho de lagartas durante o período de incubação do *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus*, isolado 6, as concentrações  $10^5$  e  $10^6$  demonstraram o nono dia como o momento em que há lagartas maiores e mais pesadas. Para o mesmo dia após infecção, para ambas concentrações, há a sincronização com a maior porcentagem de lagartas rosadas, indicando o pico de infecção.

A concentração  $10^7$  demonstrou o sétimo dia após infecção como aquele com lagartas de maior peso e tamanho, ainda que o momento com maior porcentagem de lagartas rosadas seja no nono dia.

Dentre os tratamentos testados, a concentração  $10^6$  é a de maior interesse uma vez que representa uma concentração intermediária, sendo não só importante para a otimização da quantidade de inóculo a ser utilizada, mas, também, pelos resultados uniformes obtidos em relação a lagartas grandes e pesadas, e, ainda, tais avaliações síncronas com o dia em que há a maior quantidade de lagartas de sintoma rosado, para escalonamento da produção massal de baculovírus.

## 6 Referências

Arrizubieta, M., Simón, O., Williams, T., Caballero, P., 2016. Determinant factors in the production of a co-occluded binary mixture of *Helicoverpa armigera Alphabaculovirus* (HearNPV) genotypes with desirable insecticidal characteristics. PLOS ONE. 11(10), e0164486.

Ferreira, D. F. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. Cienc. Agrotec. 35, 1039–1042.

Grzywacz, D., Moore, S., 2017. Production, formulation, and bioassay of baculoviruses for pest control. In: Lacey, L. A. (Eds.), Microbial control of insect and mite pests: From Theory to Practice. Academic Press, pp. 109-124.

Moscardi, F., De Souza, M. L., De Castro, M. E. B., Lara Moscardi, M., Szewczyk, B., 2011. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. Microbes and microbial technology: Agricultural and environmental applications (pp. 415-445). New York, NY: Springer New York.

Paiva, C. E. C. 2013. Multiplication of *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV) in *Spodoptera frugiperda* larvae (Lepidoptera: Noctuidae). 2013. 76 f. Dissertação

(Mestrado em Plantas daninhas, Alelopatia, Herbicidas e Resíduos; Fisiologia de culturas; Manejo pós-colheita de) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Reid, S., Chan, L., Van Oers, M., 2014. Production of entomopathogenic viruses. In: morales-Ramos, J. A.; Rojas, M. G.; Shapiro-Ilan, D. I. (Eds.), Mass production of beneficial organisms: invertebrates and entomopathogens. London: Elsevier, p. 437-482.

Sanches, M. M., Gelelete, T. B., Santos, A. L. R., Sosa-Gómez, D. R., Sihler, W., Souza, M. L., 2021. Optimization of large-scale production of *Chrysodeixis includens nucleopolyhedrovirus* for its use as a biopesticide. *Neotropical Entomology*. 50(4), 615-621.

Sanches, M., Silva, C., Santos, A., Benito, N. P., Sihler, W., Souza, M. L., 2020. Avaliação de diferentes parâmetros para potencializar a produção massal in vivo de baculovírus ChinNPV na lagarta falsa-medideira da soja (*Chrysodeixis includens*). Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 362, 27p.

Simon, O.; Williams, T.; Lopez-Ferber, M.; Taulemesse, J. M.; Caballero, P., 2008. Population genetic structure determines speed of kill and occlusion body production in *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus. *Biological Control*. 44(3), 321-333.

Valicente, F. H., Barreto, M. R., 2003. *Bacillus thuringiensis* survey in Brazil: geographical distribution and insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*. 32(4), 639-644.

Valicente, F. H., Tulher, E. S., Barros, E. C., 2010. Processo de produção comercial de baculovírus em grande escala. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 6p. (Circular Técnica, 157).

Valicente, F. H., 2015. Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, 13pp. (Circular Técnica, 208).

Vieira, C. M., Tuelher, E. S., Valicente, F. H., Wolff, J. L. C., 2012. Characterization of a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolate that does not liquefy the integument of infected larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*. 111(2), 189-1.

