



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PAMELA GISLAINE GELLERT LUSKI

**COMPATIBILIDADE DO VÍRUS SfMNPV COM HERBICIDAS
E ADJUVANTE NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda*
(SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Londrina
2019

PAMELA GISLAINE GELLERT LUSKI

**COMPATIBILIDADE DO VÍRUS SfMNPV COM HERBICIDAS
E ADJUVANTE NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda*
(SMITH, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Dissertação apresentada ao Departamento de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Manuel Oliveira Janeiro
Neves

Co-orientador: Dr. Adeney de Freitas Bueno

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

LUSKI, PAMELA GISLAINE GELLERT.

Compatibilidade do vírus SfMNPV com herbicidas e adjuvante no controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae) / PAMELA GISLAINE GELLERT LUSKI. - Londrina, 2019.
57 f. : il.

Orientador: Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves.

Coorientador: Adeney de Freitas Bueno.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, , 2019.

Inclui bibliografia.

1. lagarta-do-cartucho - Tese. 2. mistura de tanque - Tese. 3. baculovírus - Tese. 4. controle biológico - Tese. I. Oliveira Janeiro Neves, Pedro Manuel . II. de Freitas Bueno, Adeney . III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. . IV. Título.

PAMELA GISLAINE GELLERT LUSKI

**COMPATIBILIDADE DO VÍRUS SfMNPV COM HERBICIDAS E
ADJUVANTE NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (SMITH, 1797)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Dissertação apresentada ao Departamento de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Adeney de Freitas Bueno
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -
EMBRAPA Soja

Dra. Beatriz Spalding Corrêa Ferreira
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
EMBRAPA Soja

Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gómez
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
EMBRAPA Soja

Londrina, 25 de fevereiro de 2019.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço a Deus por me guiar e abençoar com experiências e pessoas incríveis, as quais foram fundamentais para realização desse trabalho.

Quero agradecer a minha família, especialmente meu esposo Carlos Honório e minha irmã Elaine Luski, que nunca me deixaram sozinha e sempre souberam me apoiar e incentivar. Aos meus pais, Ursula e Marcos Luski que mesmo distantes me deram suporte nessa caminhada acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves e ao co-orientador Adeney de Freitas Bueno pela paciência, ensinamentos e oportunidade de realizar esse trabalho contribuindo com a minha formação.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado no âmbito do programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

Aos professores do Programa de Mestrado em Agronomia – UEL, pela dedicação e ensinamentos científicos.

À Embrapa Soja, por disponibilizar a estrutura necessária para realização dos experimentos.

As colegas Ana Paula de Queiroz, Bruna Magda, Marcela Mora e Jaciara Gonçalves pela amizade e contribuição para realização deste estudo.

Aos funcionários da Entomologia da Embrapa Soja, em especial a Mari Estela da Silva e Adair V. Carneiro, por auxiliarem na realização dos experimentos e ao Sérgio da Silva e Ivanilda Soldorio no auxílio da criação dos insetos.

“Entregue seu caminho ao Senhor,
confie nele e ele agir”. Salmos 37:5

LUSKI, Pamela Gislaïne Gellert. **Compatibilidade do vírus SfMNPV com herbicidas e adjuvante no controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae)**. 2019. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

O uso de produtos biológicos é uma estratégia de controle de lepidópteros-praga, tornando-se fundamental, pesquisas que vislumbrem facilitar sua utilização como a possibilidade de associação com outros agrotóxicos. Portanto, este trabalho objetivou avaliar a compatibilidade de SfMNPV quando aplicado isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante no controle de *Spodoptera frugiperda*. Para tanto, foram realizados quatro bioensaios com testemunha (sem aplicação), SfMNPV isolado e associado com atrazina, tembotriona e ester metílico de óleo de soja. Como controle padrão foi utilizado o inseticida clorantraniliprole. No primeiro, a compatibilidade foi avaliada em lagartas de terceiro e quarto ínstares alimentadas com dieta contaminada. A associação com herbicidas e adjuvante não reduziu a eficiência de SfMNPV e, na presença da atrazina a mortalidade foi igual ao tratamento químico (100%). As interações foram classificadas como sinérgica e aditivas. No bioensaio 2, foi avaliada a mortalidade e o consumo foliar de lagartas de terceiro e quarto ínstares após a ingestão de folhas de milho contaminadas. Os herbicidas e o adjuvante não interferiram na eficiência do SfMNPV. O consumo foliar não foi afetado pelos tratamentos avaliados. No terceiro bioensaio a desfolha foi avaliada após a pulverização dos tratamentos em campo. O controle químico (clorantraniliprole) apresentou menor dano diferenciando-se da maioria dos tratamentos. Em laboratório, separadamente, foi avaliado a mortalidade de lagartas de terceiro ínstares e a interação entre SfMNPV e os produtos químicos após aplicação a campo. Os herbicidas e o adjuvante não interferiram na eficiência do SfMNPV. A interação foi aditiva para a maioria dos tratamentos, apenas o tratamento SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja foi classificado como antagônico. A mortalidade e a interação entre as combinações testadas em lagartas de quarto ínstar após o consumo de folhas pulverizadas com tratamentos preparados quatro horas antes da aplicação, foram avaliados no bioensaio 4. A mortalidade das lagartas quando aplicado SfMNPV isoladamente não diferiu dos tratamentos combinados com os herbicidas e o adjuvante. O resultado da interação foi aditiva para a maioria das combinações, apenas os tratamentos SfMNPV + tembotriona + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja foi observada interação antagônica. Os resultados aqui mostrados indicam que o vírus possui boa compatibilidade de mistura com os produtos químicos avaliados.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho. Mistura de tanque. Baculovírus

LUSKI, Pamela Gislaine Gellert. **Compatibility of SfMNPV virus with herbicides and adjuvant in the control of *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).** 2019. 57f. Dissertation (Master in Agronomy) - State University of Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The use of biological products is a strategy of control of lepidoptera-pest, becoming fundamental, research that glimpses to facilitate its use as the possibility of association with other pesticides. This work aimed to evaluate the compatibility of SfMNPV when applied alone and associated with herbicides and adjuvant in the control of *Spodoptera frugiperda*. For this, four bioassays were performed with control (no application), SfMNPV isolated and associated with atrazine, tembotrione and methyl ester of soybean oil. As a standard control, the insecticide chlorantraniliprole was used. In the first, the compatibility was evaluated in third and fourth instar larvae fed with contaminated diet. The association with herbicides and adjuvant did not reduce the efficiency of SfMNPV and in the presence of atrazine the mortality was equal to the chemical treatment (100%). The interactions were classified as synergistic and additive. In bioassay 2, mortality and leaf consumption of third and fourth instar larvae were evaluated after ingestion of contaminated corn leaves. Herbicides and adjuvant did not interfere with the efficiency of SfMNPV. Foliar consumption was not affected by the evaluated treatments. In the third bioassay the defoliation was evaluated after spraying the treatments in the field. The chemical control (chlorantraniliprole) presented less damage differing from most treatments. In the laboratory, the mortality of third instar larvae and the interaction between SfMNPV and the chemicals after field application were evaluated separately. Herbicides and adjuvant did not interfere with the efficiency of SfMNPV. The interaction was additive for most treatments, only the treatment SfMNPV + atrazine + tembotrione + methyl ester of soybean oil was classified as antagonistic. Mortality and interaction between the combinations tested in fourth instar larvae after consumption of leaf sprays with treatments prepared four hours prior to application were evaluated in bioassay 4. The mortality of caterpillars when applied SfMNPV alone did not differ from treatments combined with herbicides and the adjuvant. The result of the interaction was additive for most combinations, only the treatments SfMNPV + tembotrione + methyl ester of soybean oil and SfMNPV + atrazine + tembotrione + methyl ester of soybean oil were observed antagonistic interaction. The results shown here indicate that the virus has good mixing compatibility with the evaluated chemicals.

Key words: Fall armyworm. Tank mix. Baculovirus

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Ingrediente ativo (i.a.), produto comercial (p.c.), concentração e dose (g.i.a./ha) dos produtos utilizados nos bioensaio	26
Tabela 3.2	Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfmNPV com herbicidas e adjuvante em diet	28
Tabela 3.3	Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfmNPV com herbicidas e adjuvante aplicados em folhas de milho no laboratório.	29
Tabela 3.4	Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfmNPV com herbicidas e adjuvante aplicados em folhas de milho em campo	31
Tabela 3.5	Escala de notas de desfolha causada por <i>Spodoptera frugiperda</i> no cartucho do milho (Carvalho, 1970)	32
Tabela 3.6	Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfmNPV com herbicidas e adjuvante, pulverizados em plantas de milho, quatro horas após o preparo da calda	34
Tabela 4.1	Mortalidade (%), interação da associação, peso de pupa (g) e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de <i>S. frugiperda</i> após a ingestão no terceiro e quarto ínstares, de dieta contaminada com SfmNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante	37
Tabela 4.2	Mortalidade (%), consumo total (cm ²), peso de pupas (g) e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de <i>S. frugiperda</i> após a ingestão no terceiro e quarto ínstares, de folhas de milho pulverizadas com SfmNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante	39
Tabela 4.3	Notas de dano em folhas de milho causados por <i>S. frugiperda</i> após aplicação no campo de SfmNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante. Pré-aplicação (1° avaliação), sete dias da 1° aplicação A (2° avaliação), seis dias da 2° aplicação (3° avaliação) e quinze dias da 2° aplicação (4° avaliação).....	40
Tabela 4.4	Mortalidade (%), interação da associação e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de <i>S. frugiperda</i> após a ingestão no terceiro instar, de folhas de milho pulverizadas no campo com SfmNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante	41

Tabela 4.5	Mortalidade (%), interação da associação e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de <i>S. frugiperda</i> após a ingestão no quarto ínstar, de folhas de milho pulverizadas com SfMNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante, quatro horas após o preparo da calda.....	42
-------------------	--	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1** Insetos adultos de *Spodoptera frugiperda*. **A)** Fêmea adulta de *S. frugiperda*; **B)** Macho adulto de *S. frugiperda* (seta indicando manchas nas asas característica dos machos das mariposas) 16
- Figura 2.2** Injúrias causadas pela lagarta-do-cartucho em plantas de milho. **(A)** folha de milho raspada; **(B)** folha de milho com orifícios; **(C)** cartucho de milho danificado; **(D)** danos nas folhas centrais. Fonte: MOREIRA; ARAGÃO, 2009. 17
- Figura 2.3** Micrografia eletrônica de tecido de lagartas do cartucho infectadas com baculovírus, experimentalmente. **(A)** e **(B)** infecção por um isolado de nucleopoliedrovírus (MNPV), podendo-se observar os poliedros, os vírions e a matriz protéica de poliedrina. Notar que vários nucleocapsídeos estão envoltos por uma membrana comum; **(C)** granulovírus (VG), onde se é observado apenas um capsídeo por envelope protéico; **(D)** e **(E)** tecidos infectados por nucleopoliedrovírus, podendo-se observar células contendo em seus núcleos vírions e poliedros. Fonte: VALICENTE; TUELHER, 2009. 21
- Figura 3.1** Torre de Potter adaptada com estrutura de ferro cilíndrica (1,90 m de altura e 50 cm de diâmetro) revestida internamente por uma chapa de PVC, utilizada no bioensaio 4 34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Lagarta-do-cartucho.....	16
2.2	CONTROLE BIOLÓGICO.....	18
2.2.1	Controle biológico natural (CBN).....	18
2.2.2	Controle biológico clássico (CBC).....	19
2.2.3	Controle biológico aumentativo (CBA).....	19
2.3	BACULOVÍRUS.....	19
2.4	ASPECTOS GERAIS DE PLANTAS DANINHAS NA CULTURA DO MILHO.....	22
2.4.1	Controle químico.....	22
2.5	MISTURA DE TANQUE.....	23
2.5.1	Interações entre controle químico e entomopatógenos.....	24
3.	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	CRIAÇÃO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> EM LABORATÓRIO.....	26
3.2	PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICO.....	26
3.3	DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO EM CASA-DE-VEGETAÇÃO.....	27
3.4	BIENSAIO 1: SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE EM DIETA TRATADA.....	27
3.5	EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NO CONTROLE E CONSUMO FOLIAR DE <i>S. frugiperda</i> QUANDO APLICADO EM FOLHAS DE MILHO.....	29
3.6	BIOENSAIO 3: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NA DESFOLHA E CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	30
3.7	BIOENSAIO 4: EFEITO DO TEMPO DE MISTURA NA COMPATIBILIDADE DE HERBICIDAS E ADJUVANTE COM SfMNPV.....	33
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICAS.....	33

4	RESULTADOS	35
4.1	BIENSAIO 1: SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE EM DIETA TRATADA	35
4.2	BIENSAIO 2: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NO CONTROLE E CONSUMO FOLIAR DE <i>S. frugiperda</i> QUANDO APLICADO EM FOLHAS DE MILHO.....	38
4.3	BIOENSAIO 3: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NA DESFOLHA E CONTROLE DE <i>Spodoptera frugiperda</i> EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	39
4.4	BIOENSAIO 4: EFEITO DO TEMPO DE MISTURA NA COMPATIBILIDADE DE HERBICIDAS E ADJUVANTE COM SfMNPV.....	41
5	DISCUSSÃO	42
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho é de grande importância para a economia do Brasil com estimativa de ocupar 16,69 milhões de hectares e produzir 82,92 milhões de toneladas na safra 2018/19 (CONAB, 2018). O país tem se destacado no cenário internacional como o terceiro maior produtor deste grão, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China (FIESP, 2018). Entretanto, essa produtividade poderia ser ainda maior se os danos causados pelo ataque de insetos fossem mitigados (OERKE, 2006). Dentre as principais pragas que atacam essa cultura, destaca-se a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), responsável por causar grandes prejuízos aos produtores (CRUZ; TURPIN, 1982; CRUZ et al., 1996; VALICENTE et al., 2010, FRIZZAS et al., 2014).

A principal tática utilizada no controle de *S. frugiperda* é a aplicação de inseticidas (VALICENTE, 2009; VALICENTE; TUELHER, 2009; OTA et al., 2011). Nesse cenário, a ocorrência de populações resistentes aos produtos químicos e a redução da diversidade de agentes de controle biológico, em consequência do uso por vezes inadequado dos produtos químicos vem sendo agravado (CRUZ, 1995; VALICENTE et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2016). Portanto, na busca por uma agricultura ambientalmente e economicamente mais sustentável, a adoção do manejo integrado de pragas (MIP) é essencial, na qual o uso racional de inseticidas químicos sintéticos é preconizado, bem como a integração harmoniosa de diferentes estratégias de controle (ZALUCKI et al., 2009).

Plantas que expressam proteínas Bt com atividade inseticida representam uma alternativa para o controle de insetos, além de serem consistentes com a filosofia do manejo integrado de pragas (MIP). Com o desenvolvimento das plantas de milho geneticamente modificadas contendo genes de *Bacillus thuringiensis* Berliner, estas plantas passaram a ser utilizadas em quase totalidade das lavouras visando ao manejo de populações de *S. frugiperda*. Em levantamento recente, a área de milho com utilização de OGM no Brasil atingiu 88,4 % da área total cultivada na safra de 2016/17 (CÉLERES, 2017). Esta tecnologia, devido à expressão da proteína em toda a planta de milho e pelo plantio em áreas extensas e contíguas promove uma elevada pressão de seleção ocasionando o rápido aparecimento de populações resistentes (FARIAS et al., 2014; SORGATTO et al., 2015), sendo assim necessário o estudo e adoção de outras ferramentas de manejo de pragas.

Entre as táticas do MIP o controle biológico é um pilar essencial e vem sendo muito estudado, resultando na implantação de vários programas de sucesso em todo o mundo (PARRA et al., 2002). Nesse contexto, o baculovírus demonstra ser uma boa ferramenta para

o controle de insetos, apresentando várias vantagens em comparação com produtos químicos (INCEOGLU et al., 2016) como por exemplo sua segurança para vertebrados e outros organismos benéficos, o que é crucial para o sucesso do MIP (BEAS-CATENA et al., 2014). Os baculovírus destacam-se quando comparados a qualquer outro grupo de vírus, pois sua biologia, etiologia e epizootiologia são conhecidas o que contribui para facilitar o desenvolvimento e registro de produtos comerciais. Níveis elevados de replicação *in vivo*, da maioria dos baculovírus, é também um fator chave que torna a produção comercial economicamente viável (LACEY et al., 2015).

Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) é considerado um potencial agente de controle biológico, aumentando o interesse das indústrias de produtos fitossanitários na formulação e produção de bioinseticidas à base de SfMNPV (BARRETO et al., 2005; VALICENTE; TUELHER, 2009; BARRERA et al., 2011). Nesse contexto, para o controle de *S. frugiperda* na cultura do milho, recentemente foi lançado no Brasil o produto CartuchoVit®, (AGROFIT, 2018). O isolado (6NR) de SfMNPV, utilizado na formulação deste inseticida biológico, tem a característica de não provocar o rompimento imediato do tegumento da lagarta após a sua morte. Além dessa característica, desejável para produção em escala comercial, a mortalidade causada pelo isolado em lagartas infectadas é superior a 93% (VALICENTE et al., 2008).

Devido à ocorrência de plantas daninhas, doenças e insetos simultaneamente na lavoura, uma prática muito comum entre os agricultores brasileiros é a de misturar vários produtos no tanque de pulverização (GAZZIERO, 2015). Portanto, o controle integrado com a utilização de produtos químicos seletivos ou compatíveis, em conjunto com agentes entomopatogênicos ou outros agentes de controle biológico precisa ser melhor estudado, pois pode ser uma estratégia necessária (LOUREIRO et al., 2002). Para que essa associação seja bem-sucedida é preciso primeiramente conhecer a ação desses produtos sobre o microrganismo visando determinar sua compatibilidade.

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a compatibilidade do SfMNPV quando aplicado isoladamente e associado com herbicidas pós-emergentes e adjuvante registrados para uso na cultura do milho, no controle da lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Lagarta-do-cartucho do milho

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é citada atacando aproximadamente 180 espécies de plantas (CASMUZ et al., 2010) entre as quais destaca-se o milho, o arroz e o algodão (BUSATO et al., 2004; MARTINELLI et al., 2007). Este inseto é considerado a praga-chave da cultura do milho, responsável por perdas na produtividade que podem atingir 60% (CRUZ, 2008; MENDES et al., 2011; VALICENTE et al., 2010). *Spodoptera frugiperda* é responsável por causar danos em lavouras de praticamente todos os estados brasileiros, favorecida pelas condições climáticas e pela disponibilidade e diversificação de plantas hospedeiras, o que mantém o inseto ativo propiciando que complete vários ciclos biológicos durante o ano (SILOTO, 2002).

Este é um inseto holometábolo, ou seja, com metamorfose completa (ovo, lagarta, pupa e adulto). A fêmea realiza as posturas em massas, geralmente em duas ou mais camadas, podendo realizar até treze posturas por fêmea contendo em média 773 a 1017 ovos. O período larval passa por seis ínstares, variando entre 12 a 30 dias, sendo as lagartas inicialmente claras, passando para pardo-escuras a esverdeadas, até quase pretas. O inseto adulto possui aproximadamente 15 mm de comprimento. As asas posteriores são de coloração clara, circundadas por linhas marrons. Nos machos as asas anteriores possuem manchas mais claras conforme ilustrado na Figura 2.1 B, diferenciando-os das fêmeas (CRUZ, 1995) (Figura 2.1).

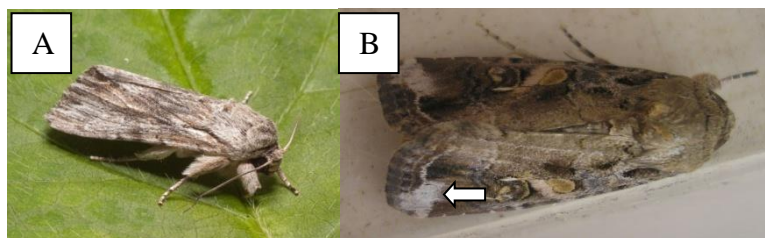


Figura 2.1 - Insetos adultos de *Spodoptera frugiperda*. **A)** Fêmea adulta de *S. frugiperda*; **B)** Macho adulto de *S. frugiperda* (seta indicando manchas nas asas característica dos machos das mariposas). Fotos: Jovenil J. Silva

A lagarta de *S. frugiperda* alimenta-se de folhas em todos os estágios de desenvolvimento, desde a emergência da plântula até próximo à maturação fisiológica podendo ainda atacar os grãos em formação, entretanto, com preferência por cartuchos de

plantas jovens. Inicialmente, as lagartas apenas raspam a superfície foliar deixando como sintomas uma membrana translúcida (Figura 2.2 A). À medida que as lagartas crescem, começam a fazer orifícios (Figura 2.2 B) nas folhas. É comum essas lagartas se alojarem no cartucho das plantas de milho consumindo folhas novas e a parte apical do colmo (Figura 2.2 C). As lagartas podem destruir pequenas plantas ou causar danos severos em plantas maiores (Figura 2.2 D) (CRUZ, 1995; MOREIRA; ARAGÃO, 2009).

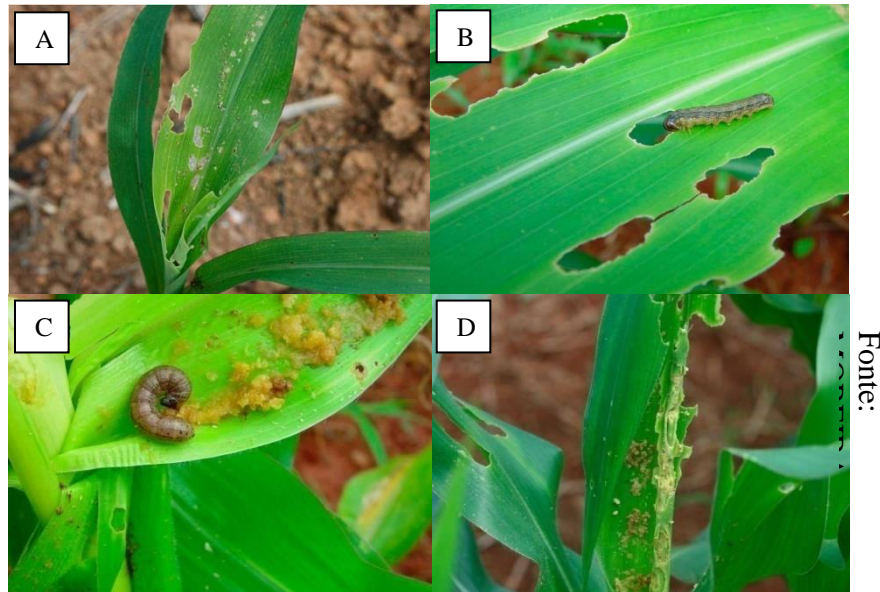


Figura 2.2 – Injúrias causadas pela lagarta-do-cartucho em plantas de milho. (A) folha de milho raspada; (B) folha de milho com orifícios; (C) cartucho de milho danificado; (D) danos nas folhas centrais. Fonte: MOREIRA; ARAGÃO, 2009.

O controle da lagarta-do-cartucho tem sido realizado, geralmente, através de pulverização de inseticidas químicos que são frequentemente usados de forma abusiva, e em que alguns casos chegam a ser feitas 10 a 14 aplicações ao longo do ciclo da cultura do milho (VALICENTE; TUELHER, 2009). Além disso, o uso indiscriminado dos produtos químicos resulta em contaminação ambiental e dos alimentos, redução das populações de inimigos naturais e polinizadores (BUENO et al., 2011; LUNDIN et al., 2015) e seleção de populações desses insetos resistentes aos inseticidas utilizados (CRUZ, 1995; VALICENTE et al., 2010). Assim, visando reduzir esses efeitos negativos, é necessário a implementação de um programa de manejo de pragas, com base na premissa de uso integrado de táticas efetivas de controle que contribuam para redução dos danos e conseqüentemente a manutenção da densidade populacional abaixo do nível de dano econômico sem impactos no ecossistema (FRAGOSO, 2014).

2.2. CONTROLE BIOLÓGICO

Na procura de sistemas de produção agrícola que contemplem a manutenção da qualidade ambiental, dos alimentos e segurança da saúde humana, os métodos de controle de insetos têm sido fonte de preocupação da sociedade (VAN LENTEREN et al. 2017). Nesse contexto, o controle biológico tem grande importância em programas de manejo integrado de pragas (MIP), principalmente na constante busca por uma agricultura mais sustentável (PARRA et.al., 2002). Este tipo de controle é definido como um fenômeno natural, que consiste na supressão de pragas agrícolas através da ação de seus inimigos naturais (DeBACH, 1968; PARRA et al, 2002).

Dentre os inimigos naturais destacam-se os predadores, parasitoides e os entomopatógenos devido ao seu potencial na comercialização e supressão da população de insetos-pragas em campo (ALMEIDA, 2010; BERTI FILHO; CIOCIOLA, 2002; MUDGAL et al., 2013). Nos agroecossistemas, esses organismos conhecidos como agentes de controle biológico, são essenciais para minimizar o uso de agrotóxicos. Essa redução do uso associada à busca por uma maior sustentabilidade do sistema produtivo, melhores condições ambientais e qualidade de vida, vem fazendo com que os agricultores adotem cada vez mais essas táticas sustentáveis, dentre as quais, o controle biológico merece destaque (PARRA et al., 2002). O controle biológico é didaticamente classificado em três tipos:

2.2.1 Controle biológico natural (CBN)

O CBN ocorre quando as populações são mantidas em equilíbrio naturalmente, sendo conservadas em densidade baixas devido ao controle realizado pelos inimigos naturais presentes no campo. Cerca de 90% das pragas agrícolas são mantidas sob controle natural pela manutenção do equilíbrio de pragas (PARRA et al., 2002). É sempre observado em ambientes que não são impactados por práticas culturais errôneas, como o uso abusivo de inseticidas, por exemplo. Seus benefícios podem ser maximizados quando as práticas agrícolas são realizadas com o intuito de preservar os inimigos naturais (BUENO et al., 2012).

2.2.2 Controle biológico clássico (CBC)

O CBC refere-se à importação de inimigos naturais, usualmente da região de origem da praga, para introdução no novo ambiente em que o inimigo natural não ocorre, visando seu estabelecimento no novo ambiente para entrar em equilíbrio com a população da praga e

assim mantê-la sob controle. Após a importação, normalmente é necessário que o inimigo natural passe pela quarentena e avaliação, para posterior liberação em campo para controle da praga invasora (PARRA et al. 2002; VAN LENTEREN et al. 2017).

2.2.3 Controle biológico aumentativo (CBA)

Dentro do CBA, inimigos naturais (parasitoides, predadores ou microrganismos) são liberados no agroecossistema onde eles não estavam ocorrendo naturalmente ou sua população estava muito baixa para ter um controle efetivo no tempo desejado. A liberação pode ser inundativa quando um grande número de indivíduos são liberados ao mesmo tempo visando um controle mais rápido da praga alvo na lavoura ou inoculativa onde poucos indivíduos são liberados para iniciar o estabelecimento da população de inimigos naturais na área que entrará em equilíbrio com a população de pragas ao longo do tempo (COCK et al., 2010; LORITO et al. 2010; PARNELL et al. 2016; VAN LENTEREN 2012). Atualmente, o CBA é aplicado em mais de 30 milhões de hectares em todo o mundo (VAN LENTEREN et al. 2017).

2.3. BACULOVÍRUS

Entre os agentes entomopatogênicos, os baculovírus representam um grupo de vírus que tem recebido atenção especial como agentes de controle biológico. Esses vírus causam infecções apenas em insetos e em alguns outros artrópodes, apresentam biologia e genética muito diferente de qualquer vírus de vertebrados, assim são considerados seguros aos seres humanos (LAPOINTE et al., 2012). Jehle et al. (2006) sugeriram a divisão da família Baculoviridae baseada na especificidade do hospedeiro. Assim essa família foi dividida em quatro gêneros:

Alphabaculovirus: inclui todos os nucleopoliedrovírus (NPVs) de lepidópteros formadores dos fenótipos virais BV (do inglês *budded virus*) e ODV (do inglês *occlusion-derived virus*);

Betabaculovirus: compreende os granulovírus (GVs) de lepidópteros que também formam partículas virais durante a infecção;

Gammabaculovirus: específico de himenópteros, engloba os NPVs que não possuem genes correspondentes às proteínas específicas da partícula BV; e

Deltabaculovirus: inclui os baculovírus de dípteros que não apresentam em seu genoma um gene homólogo ao que codifica a expressão da poliedrina, característica dos demais NPVs.

Os vírus são caracterizados por se organizarem em corpos de oclusão (OB do inglês *occlusion bodies*) chamados poliedros para NPVs e grânulos ou cápsulas para GVs. Os nucleopoliedrovírus apresentam forma poliédrica e podem ser do tipo múltiplo (MNPV) ou simples (SNPV), de acordo com o número de capsídeos por *virion* enquanto os granulovírus (GV) contêm, em geral, partículas únicas, oclusas em corpos protéicos de forma ovóide (CASTRO et al., 1999). Os OBs são estáveis e podem resistir à maioria das condições ambientais normais, permitindo assim que os *virion* permaneçam infectivos por longos períodos. Estes consistem em uma matriz cristalina composta de uma proteína chamada poliedrina em VPLs e granulina em GVs, conforme ilustrada na figura 2.3 (ROHRMANN, 2011).

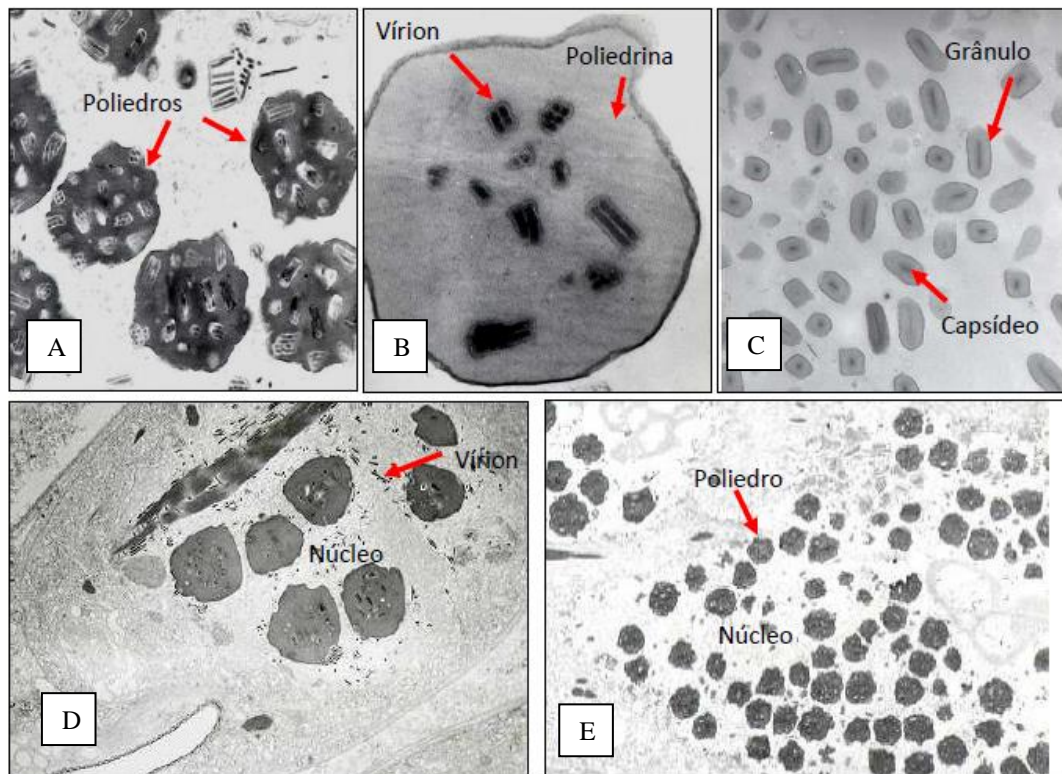


Figura 2.3 - Micrografia eletrônica de tecido de lagartas do cartucho infectadas com baculovírus, experimentalmente. (A) e (B) infecção por um isolado de nucleopoliedrovírus (MNPV), podendo-se observar os poliedros, os vírions e a matriz protéica de poliedrina. Notar que vários nucleocapsídeos estão envoltos por uma membrana comum; (C) granulovírus (VG), onde se é observado apenas um capsídeo por envelope protéico; (D) e (E) tecidos infectados por nucleopoliedrovírus, podendo-se observar células contendo em seus núcleos vírions e poliedros. Fonte: VALICENTE; TUELHER, 2009.

São encontrados dois fenótipos virais, os BVs (*budded virus*) que são produzidos no processo infectivo de forma não oclusa e os ODVS (*occlusion-derived virus*) desenvolvidos de forma oclusa (HENDERSON et al., 1974). A infecção primária ocorre no intestino do inseto por ODV em uma estrutura de proteína cristalina, o corpo de oclusão (OB). Os ODVs são responsáveis pela transmissão do vírus entre os insetos, no ambiente. O vírus BV é produzido e liberado na hemocele do inseto iniciando a infecção secundária que resulta na morte do inseto pela dispersão do vírus célula a célula no interior do hospedeiro. (JEHLE et al, 2006; ROHRMANN, 2011).

Quando os OB de baculovírus são ingeridos por lagartas susceptíveis, o ambiente altamente alcalino (pH 9,5 a 11,5) do intestino médio do hospedeiro provoca a desestruturação do corpo de oclusão e subsequente a libertação dos ODVs infecciosos. Em seguida, os ODVs passam através da membrana peritrófica e infectam as células epiteliais do intestino médio, iniciando a infecção primária. Após a fusão direta do envelope de ODV com a membrana plasmática de células epiteliais colunares do intestino médio (GRANADOS;

LAWLER, 1981, HORTON; BURAND, 1993) os *virion* são revestidos e transportados para o núcleo, onde são formados os nucleocápsides da progênie. Em seguida, os nucleocápsides da progênie migram do núcleo para a membrana plasmática e brotam através do lado basal das células epiteliais para o hemocele. Na hemocele os BVs infectam inicialmente o epitélio traqueal e os hemócitos e, em seguida, infectam os músculos, os túbulos de Malpighi e outros tecidos, levando à morte do hospedeiro (ENGELHARD et al., 1994).

2.4 ASPECTOS GERAIS DE PLANTAS DANINHAS NA CULTURA DO MILHO

As plantas daninhas na cultura do milho quando não controladas corretamente pode ocasionar reduções na produtividade da cultura de 10% a 80% (VARGAS et al., 2006). Nos sistemas agrícolas, as plantas produtoras de grãos devido ao melhoramento genético de cultura que objetiva aumentar o rendimento econômico, quase sempre resultam na diminuição do potencial competitivo, dando vantagem as plantas daninhas. Ainda, as plantas infestantes possuem grande capacidade de sobrevivência e agressividade, na maioria das vezes, superior às plantas cultivadas, a ponto de diminuir ou impedi-las de acessar os recursos do ambiente (PITELLI, 1985).

Os métodos de controle de plantas daninhas são práticas de elevada importância para a obtenção de altos rendimentos em qualquer exploração agrícola e a maioria deles são tão antigos quanto a própria agricultura. Segundo Vargas et al. (2006) os métodos de controle de plantas daninhas são preventivo, cultural, mecânico, biológico e químico. As formas de controle e adoção de algumas práticas culturais consistem em suprimir e/ou reduzir o número de plantas daninhas por área até níveis aceitáveis para convivência entre as espécies envolvidas, sem prejuízos econômicos para a cultura (SILVA et al, 1999).

2.4.1. Controle químico

O controle químico de plantas daninhas na cultura do milho é, atualmente, a alternativa mais empregada, dado que o desenvolvimento de novas moléculas e tecnologias de aplicação, que são cada vez mais eficientes e seletivas, proporcionam ao agricultor maior praticidade e eficiência no controle. Os herbicidas podem ser aplicados em pré-emergência e em pós-emergência. As pulverizações de herbicidas em pré-emergência, apresentam elevada eficácia no controle de plantas daninhas na cultura do milho, principalmente devido ao efeito residual prolongado. Entretanto, o uso de herbicida em pós-emergência também é uma prática bastante aplicada. A escolha entre os métodos ocorre em função do tempo hábil para

realização do controle, a fim de se evitar acúmulo de operações, principalmente nas grandes áreas plantadas. Isto porque, as diferentes técnicas são utilizadas em períodos distintos em relação ao desenvolvimento da cultura e da planta daninha (VARGAS et al., 2006; MONQUERO et al. 2008).

Para as diferentes modalidades de aplicação de herbicidas existem produtos específicos. Particularmente em relação às moléculas e modalidade de aplicação utilizada neste trabalho (pós-emergência), algumas características são destacadas: a atrazina é um dos herbicidas mais utilizados no mundo, classificado como um herbicida sistêmico, seletivo e utilizado no controle pré e pós emergente de ervas de folhas largas (SHORT; COLBORN, 1999). O herbicida tembotrione, lançado recentemente no Brasil para uso na cultura do milho em pós-emergência, vem apresentando desempenho satisfatório no controle de plantas daninhas, sobretudo de gramíneas. Segundo Waddington e Young (2006), esse herbicida apresenta o *safener* isoxadifen-ethyl, que confere maior seletividade para a cultura de milho.

2.5 MISTURA DE TANQUE

A ocorrência concomitante de plantas daninhas, pragas e doenças, se não controladas corretamente, é responsável por comprometer o rendimento e diminuir a qualidade dos produtos agrícolas. Nesse cenário, com a intenção de se obter maior espectro de ação dos agrotóxicos e reduzir os números de aplicações, tornando-se comum o uso de misturas em tanque de agrotóxicos (GUIMARÃES, 2014; KRAUSE, 2014).

A mistura em tanque é definida como a associação de agrotóxicos e afins, imediatamente antes da pulverização. Essa prática reduz os custos, o número de entradas na área, causam menor compactação do solo, menor utilização e o volume de água utilizado para aplicação, proporcionam menor tempo de exposição do trabalhador rural ao agrotóxico e melhor manejo e prevenção da resistência de pragas (GUIMARÃES, 2014). Dado que, raramente as aplicações são realizadas individualmente e as misturas podem apresentar vantagens em comparação à aplicação de um único produto devido ao aumento da eficiência contra os organismos alvo e à diminuição das quantidades aplicadas e dos custos, torna-se necessário estudos relacionados à administração de agrotóxicos em conjunto (MATTOS et al., 2002)

2.5.1 Interações entre controle químico e entomopatógenos

A aplicação conjunta de microrganismos entomopatogênicos com produtos químicos vem sendo bastante utilizada. Essa interação pode resultar tanto em efeitos aditivo, sinérgico e antagônico, sendo, portanto, importante avaliar a ação desses produtos sobre os agentes microbianos. Segundo Rossi-Zalaf et al. (2008) os produtos sintéticos podem impedir o crescimento vegetativo, a reprodução, a germinação, além de diminuir a virulência e causar mutações nos microrganismos. A intensidade desses impactos pode ser alterada em função da espécie e da linhagem dos patógenos, da natureza química dos agrotóxicos, da concentração, do tempo de exposição e das substâncias inertes na formulação dos produtos. Estudos realizados *in vitro* por Ignoffo et al. (1975) evidenciam que inseticidas e herbicidas utilizados na cultura da soja, inibiram o crescimento e virulência do fungo *Metarhizium rileyi*. Os herbicidas à base de diuron e de hexazinone + diuron foram considerados tóxicos para *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (BOTELHO; MONTEIRO; 2011). Esses autores também concluíram que os herbicidas à base de clomazone + ametrina e 2,4 dicloro-fenoxiacético foram considerados tóxicos, em todas as doses utilizadas, de acordo com a classificação descrita por Rossi-Zalaf et al (2008).

Entretanto, os produtos químicos também podem agir positivamente em combinação com entomopatógenos. A interação entre *B. bassiana* e óleo mineral foi avaliada por Batista Filho et al. (1995) para controle da broca da bananeira, *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Coleoptera: Curculionidae). Estes autores observaram efeito aditivo da associação, que causou 98% de mortalidade de insetos adultos em comparação com 70% de mortalidade causada apenas pelo fungo e 33% pelo óleo mineral sozinho. Os herbicidas imazapir e metribuzim foram considerados compatíveis com os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* em todas as doses avaliadas por Botelho e Monteiro (2011), no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Homoptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. Nesse mesmo estudo, o herbicida glifosato foi classificado como compatível com *M. anisopliae* apenas na dose recomendada em pré-emergência e moderadamente tóxicos nas demais doses. *B. bassiana* demonstrou ser compatível somente nas doses pré-emergência. Este resultado é semelhante ao constatado por Andaló et al. (2004), que avaliaram a compatibilidade deste herbicida com *B. bassiana*. Moscardi e Sosa-Gómez (1992) não relataram redução em atividade de *Anticarsia gemmatilis multiple nucleopolyhedrovirus* (AgMNPV) submetido a misturas com vários inseticidas. Da mesma forma, Ávila e Melhorança (1999) concluíram que diferentes

herbicidas pós-emergentes testados no campo não interferem na eficácia do AgMNPV no controle da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae).

Dessa forma, na implementação de programas de manejo integrado, devem ser preferencialmente utilizados, quando necessário, agrotóxicos seletivos ou compatíveis com os agentes de controle biológico entre eles os entomopatógenos, de forma a preservar os agentes biológicos de controle e eliminar somente a praga (PARRA; ZUCCHI, 2004). Assim, para contribuir para o manejo de pragas na cultura do milho é primordial analisar a compatibilidade dos agrotóxicos com bioensetecidas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CRIAÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* EM LABORATÓRIO

Para realização dos bioensaios, as lagartas de *S. frugiperda* foram mantidas em sala de criação com temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 14/10 h C/E. Inicialmente as lagartas neonatas foram individualizadas em copos plásticos de aproximadamente 50 mL, contendo dieta artificial a base de feijão (GREENE et al.,1976) até a fase de pré-pupa. Quando as lagartas passaram para o estágio de pupa foram transferidas para caixas de poliestireno cristal (11,0 x 11,0 x 3,0 cm) e separadas por sexo (BUTT; CANTU, 1962). Antes da emergência dos adultos, os casais de pupas foram transferidos para gaiolas (45 x 33 x 35 cm), para o acasalamento e oviposição. Os adultos foram alimentados com dieta apropriada, mel (10%) e água destilada. A gaiola foi revestida internamente com papel tipo sulfite, retirado diariamente com as posturas para realização dos bioensaios.

3.2 PRODUTOS QUÍMICOS E BIOLÓGICO

Para a preparação das caldas dos produtos químicos e do produto biológico foram utilizadas as doses recomendadas pelos fabricantes disponíveis nas bulas para a cultura do milho, considerando-se um volume de calda de 200 L/ ha (Tabela 3.1).

Tabela 3.1- Ingrediente ativo (i.a.), produto comercial (p.c.), concentração e dose (g.i.a./ha) dos produtos utilizados nos bioensaios

Ingrediente ativo (i.a.)	Produto comercial (p.c.)	Formulação	Concentração do i.a.	Dose ² (p.c/ha)
Atrazina	Atrazina Nortox 500SC	SC - Suspensão Concentrada	500 g/L	4000 mL
Tembotriona	Soberan 420SC	SC - Suspensão Concentrada	420 g/L	240 mL
Ester metílico de óleo de soja	Aureo 720CE	CE - Concentrado Emulsionável	720 g i.a.	1000 mL
Clorantianiliprole	Premio 200SC	SC - Suspensão Concentrada	200 g i.a.	100 mL
SfMNPV	CartuchoVit	WP – Pó molhável	6×10^{11} OB ¹	50 g

¹Corpos de oclusão; ²Dose recomendada para aplicação em pós-emergência na cultura do milho para o volume de calda de 200 L/ha.

3.3 DESENVOLVIMENTO DE PLANTAS DE MILHO EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

Plantas de milho foram cultivadas em casa-de-vegetação em vasos de plásticos com volume de 5,0 L contendo substrato composto por uma parte de composto orgânico, uma parte de areia e sete partes de solo Latossolo Vermelho distroférico típico, coletado em campo de 0-20 cm de profundidade. Em seguida foi realizada adubação de acordo com o recomendado para a cultura na região Norte do Paraná (PAULETTI; MOTTA, 2017), calculada considerando a área do vaso e incorporada superficialmente. Sementes do híbrido BM 810 Biomatrix foram semeadas quinzenalmente, no primeiro semestre de 2018 com cinco sementes por vaso mantendo-se apenas duas plantas após a germinação com a realização de um desbaste das plantas excedentes. A irrigação por gotejamento foi realizada de forma contínua, para manter a umidade do solo próximo à capacidade de campo.

3.4 BIOENSAIO 1: SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE EM DIETA TRATADA

O bioensaio foi constituído por 12 tratamentos conforme descrito na tabela 3.2 e conduzido em condições controladas de laboratório (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 14/10 C/E e umidade relativa de $70\% \pm 10\%$). O inseticida clorantprólio foi utilizado como padrão para comparar a eficiência do controle. Para as testemunhas não foram realizadas aplicações. O delineamento foi de blocos ao acaso com quatro repetições. Cada repetição foi constituída por dez lagartas. Foram conduzidos dois testes separadamente com lagartas de terceiro e quarto ínstaes.

Tabela 3.2 - Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfMNPV com herbicidas e adjuvante em dieta

Tratamentos	Dose de p. c./200 L de água	pH
TEST	-	6,02
ATRA	4000 mL	5,93
TEMB	240 mL	4,17
EMOS	200 mL	6,78
CLORA	100 mL	5,74
SfMNPV	50 g	5,61
SfMNPV + ATRA	50 g + 4000 mL	4,84
SfMNPV + TEMB	50 g + 240 mL	4,14
SfMNPV + EMOS	50 g + 200 mL	6,66
SfMNPV + ATRA + EMOS	50 g + 4000 mL + 200 mL	4,82
SfMNPV + TEMB + EMOS	50 g + 240 mL + 200 mL	5,25
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	50 g + 4000 mL + 240 mL + 200 mL	4,27

TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: Clorantraniliprole (controle padrão).

Aproximadamente 1,5 g de dieta (GREENE et al, 1976) sem formol foi imersa em 200 mL de suspensão contendo os tratamentos, isolados ou associados. O preparo das suspensões foi realizado no momento da imersão do alimento e agitados com auxílio de um agitador magnético (Modelo NI1103P, Novainstruments). O pH foi aferido com auxílio de um pHmetro (Modelo Q400MT, Quimis). Em seguida, as frações de dieta foram colocadas em copos de 50 mL e após 30 minutos, quando a suspensão foi absorvida pelo alimento, as lagartas, foram adicionadas individualmente. As lagartas de *S. frugiperda* foram alimentadas por 48 horas com dieta tratada. Após esse período, foi oferecido alimento não tratado e completo (com formol). As reposições/trocas ocorreram conforme a necessidade e a desidratação da dieta. Avaliou-se diariamente o período de desenvolvimento larval e pupal, considerando então o período de desenvolvimento a soma desses períodos (até a emergência do adulto). Além desses parâmetros, foram avaliados a mortalidade e o peso das pupas. As pupas foram pesadas entre 24 e 48 horas após a sua formação. O peso foi medido em balança de precisão.

Os dados de mortalidade foram analisados estatisticamente pelo método proposto por Koppenhofer et al. (2000) que avalia os eventuais efeitos de sinérgico antagônico e aditivo, utilizando o teste de qui-quadrado, sendo: $\chi^2 = (MO - ME)^2 / ME$, onde MO: mortalidade observada; ME: mortalidade esperada, sendo $ME = M_1 + M_2 (1 - M_1)$, onde M1: mortalidade do inseto sozinho; M2: mortalidade causada pelo herbicida sozinho. Se o χ^2 calculado for maior que o valor tabelado (3,84 para 1 grau de liberdade, $p < 0,05$) o efeito é não aditivo, isto é, podendo ser sinérgico ou antagônico. Se a diferença de $M_{12} - ME$ (onde M_{12} é a mortalidade da combinação causada pelo entomopatógeno e pelo inseticida) for positiva, o efeito é

sinérgico e quando negativa, antagônico. Se o x^2 calculado for menor que o valor tabelado, o efeito será aditivo.

3.5 BIOENSAIO 2: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NO CONTROLE E CONSUMO FOLIAR DE *S. frugiperda* QUANDO APLICADO EM FOLHAS DE MILHO

O bioensaio foi conduzido em laboratório (câmaras climatizadas $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 14/10 C/E e umidade relativa de $70 \pm 10\%$) com seis tratamentos (Tabela 3.3) e quatro repetições contendo 10 lagartas cada. Nesse ensaio também foram realizados testes separadamente para lagartas de terceiro e quarto íntares. O delineamento foi em blocos ao acaso. Lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda* foram alimentadas com folhas de milho e mantidas em potes plásticos de 100 mL até a montagem do bioensaio. Nesse bioensaio, utilizou-se folha de plantas de milho entre os estágios fenológicos V4 e V7, mantidas em casa-de-vegetação. Não foi avaliado o tratamento padrão (clorantraniliprole) nesse ensaio pois a mortalidade das lagartas decorrente da aplicação do inseticida ocorreu nas primeiras 48 horas, não sendo possível a avaliação do consumo.

Tabela 3.3 - Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfMNPV com herbicidas e adjuvante aplicados em folhas de milho no laboratório

Tratamentos	Dose de p.c./200 L de água	pH
TEST	-	5,79
SfMNPV	50 g	7,44
SfMNPV + EMOS	50 g + 200 mL	4,05
SfMNPV + ATRA	50 g + 4000 mL	5,88
SfMNPV + TEMB	50 g + 240 mL	4,99
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	50 g + 4000 mL + 240 mL + 200 mL	4,17

TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja.

As folhas de milho, antes de serem ofertadas às lagartas, foram lavadas com hipoclorito de sódio a 0,01% por aproximadamente 5 minutos e enxaguadas em água corrente. Seções de folhas de milho foram mensuradas com auxílio de um medidor de área foliar (Modelo LI-3100, Li-Cor, Lincoln, NE). Em seguida, os tratamentos (Tabela 3.3) foram pulverizados na superfície adaxial das folhas de milho com uso da Torre de Potter (Burkard Manufacturing Rickmansworth Herts Reino Unido) previamente calibrada para depositar $1,25 \pm 0,25$ mg de calda por cm^2 . Foi utilizado um volume de 2 mL de suspensão em cada pulverização, de acordo com o protocolo proposto pela Organização Internacional de Controle

Biológico (IOBC) (HASSAN, 1992). As misturas foram preparadas no momento da aplicação e agitadas com auxílio de um agitador magnético (Modelo NI1103P, Novainstruments). O pH foi aferido com auxílio de um pHmetro (Modelo Q400MT, Quimis). Os tratamentos foram, além do SfMNPV aplicado isoladamente, misturas com os herbicidas e adjuvante. Não foi avaliado o efeito isolado dos produtos químicos, pois o objetivo foi observar se a associação afeta a eficiência do microrganismo no controle da lagarta e o consumo da mesma, após a ingestão.

Após a pulverização na folha, aguardou-se 30 minutos para secagem da calda. Em seguida as folhas foram ofertadas às lagartas de *S. frugiperda* que foram mantidas individualmente em placas de Petri de plástico de 6 cm de diâmetro. Após 48 horas as folhas foram substituídas por secções novas não pulverizadas. Para minimizar a desidratação das folhas, foi adicionado às placas, papel filtro umedecido.

O consumo foliar de *S. frugiperda*, foi avaliado conforme a metodologia descrita por Bueno et al. (2011). A área foliar foi mensurada antes e depois da alimentação da lagarta. O consumo diário pela espécie foi calculado por subtração (subtraindo a folha após o consumo da área foliar oferecida). Para estimar a desidratação e redução do tamanho da folha foi avaliada uma folha de controle, medindo diariamente a área foliar em cm² e a redução no tamanho da folha usada para ajustar os resultados para o consumo diário das lagartas. O consumo total pelas lagartas foi registrado, e o consumo médio obtido a partir de cada repetição foi utilizado para análise. Além do consumo diário, avaliou-se o período de desenvolvimento (larval + pupal), mortalidade e peso das pupas seguindo a metodologia mencionada anteriormente.

3.6 BIOENSAIO 3: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NA DESFOLHA E CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM CONDIÇÕES DE CAMPO

O bioensaio 3 foi realizado em dois experimentos conduzidos de forma separadamente. No bioensaio 3.a foi avaliado a desfolha de *S. frugiperda* em condições de campo. E o bioensaio 3.b teve como objetivo avaliar o controle de *S. frugiperda* após aplicação em campo do SfMNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante.

O bioensaio 3.a foi conduzido no campo experimental da Embrapa Soja em Londrina (PR), localizado nas coordenadas 23° 11' 44''S e 51° 10' 35''O, com altitude de 598 m. A cultura do milho foi implantada seguindo as práticas agronômicas recomendadas para a

cultura na região Norte do Paraná (PAULETTI; MOTTA, 2017). A semeadura foi realizada 04/10/2017. Utilizou-se sementes do milho híbrido BM 810 Biomatrix. As sementes foram tratadas com Cropstar (imidacloprido + tiodicarbe) na dosagem de 0,25 a 0,35 L p.c/ha. Não foi utilizado qualquer tipo de tratamento prévio com inseticida nesta área e a capina para o controle de plantas daninhas foi realizada manualmente. Os tratamentos constituíram na pulverização de SfMNPV, herbicidas e adjuvante, aplicados isoladamente e associados conforme descritos na Tabela 3.4, totalizando 12 tratamentos com quatro repetições. O inseticida clorantraniliprole foi utilizado como padrão para comparar a eficiência do controle. Não foram realizadas aplicações na testemunha.

O delineamento foi em blocos ao acaso. A área total do experimento foi de 1.080m², dividida em 48 parcelas de 90m² (10 metros de comprimento e 9 metros de largura), com dez linhas com 90 cm espaçadas entre si e 5,4 sementes por metro linear. Para as avaliações foram consideradas somente as quatro linhas centrais, como área útil e as linhas das extremidades utilizadas como bordadura.

Tabela 3.4 - Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfMNPV com herbicidas e adjuvante aplicados em folhas de milho em campo.

Tratamentos	Dose de p. c./200 L de água	pH
TEST	-	6,73
ATRA	4000 mL	6,23
TEMB	240 mL	4,27
EMOS	200 mL	7,25
CLORA	100 mL	4,55
SfMNPV	50 g	5,63
SfMNPV + ATRA	50 g + 4000 mL	5,39
SfMNPV + TEMB	50 g + 240 mL	4,89
SfMNPV + EMOS	50 g + 200 mL	6,54
SfMNPV + ATRA + EMOS	50 g + 4000 mL + 200 mL	6,39
SfMNPV + TEMB + EMOS	50 g + 240 mL + 200 MI	5,33
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	50 g + 4000 mL + 240 mL + 200 mL	6,23

TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: clorantraniliprole (controle padrão).

As aplicações foram realizadas com intervalo de sete dias, sendo a primeira feita 20 dias após a emergência das plântulas de milho (DAE) e a segunda 28 DAE. As médias de temperaturas no dia em que foram realizadas as aplicações foram 19,1 e 22,7°C na primeira e a segunda pulverização, respectivamente. Utilizou-se pulverizador costal propulsionado a ar comprimido (CO₂), com uma barra com seis pontas tipo leque, da marca Jacto série API 110-02, com cobertura de pulverização de três metros. O equipamento de pulverização foi previamente calibrado para pulverizar o volume de 200 L/ha. As aplicações foram realizadas

no período da manhã, entre 08:00 e 11:00 horas. O pH foi aferido com auxílio de um pHmetro (Modelo Q400MT, Quimis).

A desfolha ocasionada pela praga às plantas de milho foi avaliada visualmente utilizando a escala visual segundo Carvalho (1970) apresentada na tabela 3.5. Para avaliação da desfolha foram observadas dez plantas de milho por parcela. As plantas foram escolhidas aleatoriamente, dentro da área útil da parcela, considerando-se as quatro linhas centrais. As avaliações foram realizadas aos 0 e 7 dias após a primeira aplicação, 6 e 15 dias após a segunda aplicação.

Tabela 3.5 - Escala de notas de desfolha causada por *Spodoptera frugiperda* no cartucho do milho (CARVALHO, 1970)

Nota	Descrição do dano
0	Planta sem desfolha
1	Planta com folhas raspadas
2	Planta com folhas furadas
3	Planta com lesão nas folhas e no cartucho
4	Planta com o cartucho destruído
5	Planta com muitas folhas e cartucho totalmente destruído

No bioensaio 3.b foi avaliado a mortalidade e o desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentadas com as folhas de milho após a primeira pulverização realizada no bioensaio 3.a. Foram coletadas dez secções de folhas de milho aleatoriamente na área útil dentro de cada repetição. As folhas foram armazenadas em caixas de poliestireno cristal (11 cm x 11 cm) e logo em seguida levadas ao laboratório. Para cada tratamento utilizou-se luvas evitando qualquer possibilidade de contaminação. O bioensaio foi constituído por 12 tratamentos (Tabela 3.4), com quatro repetições compostas por 10 lagartas de terceiro ínstar. O delineamento foi em blocos ao acaso.

No laboratório, foram adicionadas quinze lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* em cada caixa contendo as folhas pulverizadas para a inoculação por ingestão. Utilizou-se um número superior ao necessário de lagartas (dez) para suprir um possível canibalismo entre elas. Após o período de 48 horas, dez lagartas, por repetição, foram individualizadas em copos plásticos de 50 mL e alimentadas com dieta artificial, mantidas em câmaras climatizadas (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 14/10 C/E e umidade relativa de $70 \pm 10\%$) até atingirem a fase adulta. As avaliações do período de desenvolvimento (larval + pupal) e mortalidade foram realizadas diariamente. Para avaliar a interação dos produtos, foi

utilizada a metodologia proposto por Koppenhofer et al. (2000) conforme descrito anteriormente.

3.7 BIOENSAIO 4: EFEITO DO TEMPO DE MISTURA NA COMPATIBILIDADE DE HERBICIDAS E ADJUVANTE COM SfMNPV

O bioensaio foi realizado em laboratório com plantas de milho cultivadas em vaso em casa-de-vegetação. Foram estudados doze tratamentos (Tabela 3.6) com três repetições, cada uma com dez lagartas de quarto ínstar de *S. frugiperda*. O delineamento foi em blocos ao acaso. O inseticida clorantraniliprole foi utilizado como padrão para comparar a eficiência do controle. A testemunhas não foi pulverizada.

Os produtos foram pulverizados sobre folhas de milho utilizando Torre de Potter (Burkard Manufacturing Rickmansworth Herts Reino Unido) com adaptações, onde o bico de atomização foi retirado do aparelho e acoplado à uma estrutura de ferro cilíndrica (1,90 m de altura e 50 cm de diâmetro) revestida internamente por uma chapa de PVC formando um cilindro, para evitar deriva no momento da aplicação (Figura 3.1). Para pulverização, os vasos foram posicionados abaixo do bico e centralizados, permitindo uma pulverização uniforme. O aparelho foi previamente calibrado para depositar $1,25 \pm 0,25$ mg de calda por cm^2 , o que é considerado uma boa distribuição de calda por área (HASSAN, 1992). O preparo das suspensões foi realizado quatro horas antes da pulverização. As suspensões foram agitadas com auxílio de um agitador magnético (Modelo NI1103P, Novainstruments), as caldas permaneceram em agitação até o momento da aplicação. O pH foi aferido com auxílio de um pHmetro (Modelo Q400MT, Quimis)



Figura 3.1 - Torre de Potter adaptada com estrutura de ferro cilíndrica (1,90 m de altura e 50 cm de diâmetro) revestida internamente por uma chapa de PVC, utilizada no bioensaio 4.

Tabela 3.6 - Tratamentos utilizados para avaliar compatibilidade de SfMNPV com herbicidas e adjuvante, pulverizados em plantas de milho, quatro horas após o preparo da calda

Tratamentos	Dose de p. c./200 L de água	pH
TEST	-	6,32
ATRA	4000 mL	6,37
TEMB	240 mL	4,36
EMOS	200 mL	6,59
CLORA	100 mL	4,23
SfMNPV	50 g	5,37
SfMNPV + ATRA	50 g + 4000 mL	5,97
SfMNPV + TEMB	50 g + 240 mL	5,98
SfMNPV + EMOS	50 g + 200 mL	4,39
SfMNPV + ATRA + EMOS	50 g + 4000 mL + 200 mL	6,52
SfMNPV + TEMB + EMOS	50 g + 240 mL + 200 mL	6,39
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	50 g + 4000 mL + 240 mL + 200 mL	6,58

TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: Clorantraniliprole (controle padrão).

Após aplicação, esperou-se aproximadamente 30 min para a secagem das folhas. Após esse período secções de folha foram recortadas e armazenadas em caixas de poliestireno cristal (11 cm x 11 cm). Logo em seguida foram adicionadas quinze lagartas de *S. frugiperda* de quarto ínstar em cada caixa contento as folhas para a inoculação. Utilizou-se um número superior ao necessário de lagartas (dez) para suprir um possível canibalismo entre elas. Após o período de 48 horas, dez lagartas por repetição, foram individualizadas em copos plásticos de 50 mL e alimentadas com dieta artificial, mantidas em câmaras climatizadas (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 14/10 C/E e umidade relativa de $70 \pm 10\%$) até atingirem a fase adulta. As avaliações do período de desenvolvimento (larval + pupal) e a mortalidade foram realizadas diariamente. Para avaliar a interação dos produtos, foi utilizada a metodologia proposto por Koppenhofer et al. (2000) conforme descrito anteriormente.

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (SHAPIRO; WILK, 1965), homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (BURR; FOSTER, 1972). Na avaliação do consumo foliar total do bioensaio 2, as médias foram transformadas em $\sqrt{x + 1}$ para posterior aplicação da ANOVA. Nas avaliações de desfolha, no ensaio 3, os dados da primeira avaliação foram transformados em \sqrt{x} e foram submetidos ao teste da ANOVA. Em seguida, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro (TUKEY, 1949), utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS INSTITUTE, 2009).

4 RESULTADOS

4.1 BIOENSAIO 1: SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE EM DIETA TRATADA

SfMNPV causou mortalidade de lagartas de terceiro instar igual ou superior a 85%, semelhante ao controle, inseticida químico clorotraniliplore, mesmo quando associado com herbicidas e/ou ester metílico de óleo de soja. A atrazina aplicada isoladamente causou mortalidade de 35,18%, diferindo da testemunha e dos outros produtos quando aplicados isoladamente ou associados com SfMNPV. Os testes do χ^2 aplicados à mortalidade observada e mortalidade esperada dos dados das misturas, classificou as interações como aditivas para os tratamentos SfMNPV + tembotriona, SfMNPV + ester metílico de óleo de soja, SfMNPV + atrazina + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja. Diferentemente, para o tratamento SfMNPV + atrazina e SfMNPV + tembotriona + ester metílico de óleo de soja onde a interação entre os componentes da mistura foi classificada como sinérgica (Tabela 4.1).

O peso médio de pupa foi maior no tratamento SfMNPV (0,31g) diferindo de SfMNPV + ester metílico de óleo de soja que resultou em pupas mais leves (0,25g). As lagartas da testemunha completaram o desenvolvimento (larval + pupal) em 23,47 dias, diferenciando-se das lagartas alimentadas com dieta tratada com atrazina (25,46 dias) e

SfMNPV + ester metílico de óleo de soja (26,00 dias) que apresentaram o período de desenvolvimento (larval + pupal) mais longo (Tabela 4.1).

Quanto às lagartas de quarto ínstar inoculadas com SfMNPV associado ou não com herbicidas, a mortalidade causada pelo tratamento SfMNPV (80,00%) isolado foi menor quando comparada com os tratamentos clorantraniliprole, SfMNPV + atrazina, SfMNPV + atrazina + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja que provocaram mortalidade de 100%. Observa-se que a associação com herbicidas e adjuvante não reduziu a eficiência de SfMNPV e, na presença da atrazina a mortalidade foi igual ao tratamento químico, utilizado como padrão. Quanto ao efeito da associação do produto biológico com os químicos a associação foi aditiva para os tratamentos SfMNPV + tembotriona, SfMNPV + ester metílico de óleo de soja, SfMNPV + tembotriona + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja. O resultado da interação foi sinérgica para SfMNPV + atrazina e SfMNPV + atrazina + ester metílico de óleo de soja. O peso de pupa não diferiu entre os tratamentos e o período de desenvolvimento (larval + pupal) mais longo foi das lagartas alimentadas pelo herbicida atrazina aplicado isoladamente (27,26 dias) diferenciando-se dos outros tratamentos (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 – Mortalidade (%), e interação da associação, peso de pupa (g) e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de *S. frugiperda* após a ingestão no terceiro e quarto ínstares, de dieta contaminada com SfMNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante

Tratamentos	Lagartas mortas ³	Mortalidade (%) ¹	Interação ²	Peso pupa (g) ¹	Período de desenvolvimento (dias)* ¹
Terceiro ínstar					
TEST	0	0,00 ± 0,00 c	-	0,29 ± 0,00 ab	23,47 ± 0,25 c
ATRA	17	35,18 ± 10,58 b	-	0,27 ± 0,00 bc	25,46 ± 0,27 ab
TEMB	4	10,00 ± 4,08 c	-	0,28 ± 0,00 bc	24,13 ± 0,19 bc
EMOS	3	7,77 ± 2,60 c	-	0,27 ± 0,00 bc	24,60 ± 0,40 abc
CLORA	40	100,00 ± 0,00 a	-	-	-
SfMNPV	38	95,00 ± 2,88 a	-	0,31 ± 0,01 a	24,00 ± 0,00 bc
SfMNPV + ATRA	39	100,00 ± 0,00 a	Sinérgica	-	-
SfMNPV + TEMB	37	94,72 ± 3,05 a	Aditiva	0,28 ± 0,00 abc	24,50 ± 0,50 abc
SfMNPV + EMOS	39	97,50 ± 2,50 a	Aditiva	0,25 ± 0,00 c	26,00 ± 0,00 a
SfMNPV + ATRA + EMOS	40	100,00 ± 0,00 a	Aditiva	-	-
SfMNPV + TEMB + EMOS	34	85,00 ± 2,88 a	Sinérgica	0,29 ± 0,00 ab	24,00 ± 0,40 bc
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	39	100,00 ± 0,00 a	Aditiva	-	-
CV (%)		8,83		3,61	2,11
F		145,05		4,80	6,45
p		0,0001		0,0041	0,0016
Quarto ínstar					
TEST	0	0,00 ± 0,00 d	-	0,27 ± 0,00 ^{ns}	23,57 ± 0,37 d
ATRA	7	17,50 ± 6,29 c	-	0,26 ± 0,00	27,26 ± 0,24 a
TEMB	0	0,00 ± 0,00 d	-	0,26 ± 0,00	25,85 ± 0,18 b
EMOS	1	2,50 ± 2,50 cd	-	0,27 ± 0,00	25,54 ± 0,39 bc
CLORA	40	100,00 ± 0,00 a	-	-	-
SfMNPV	32	80,00 ± 7,07 b	-	0,26 ± 0,00	25,06 ± 0,06 bc
SfMNPV + ATRA	40	100,00 ± 0,00 a	Sinérgica	-	-
SfMNPV + TEMB	30	75,00 ± 5,00 b	Aditiva	0,27 ± 0,00	24,41 ± 0,16 cd
SfMNPV + EMOS	32	80,00 ± 7,07 b	Aditiva	0,28 ± 0,00	24,93 ± 0,35 bc
SfMNPV + ATRA + EMOS	39	100,00 ± 0,00 a	Sinérgica	-	-
SfMNPV + TEMB + EMOS	32	86,66 ± 3,33 ab	Aditiva	0,26 ± 0,01	24,75 ± 0,32 bcd
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	40	100,00 ± 0,00 a	Aditiva	-	-
CV (%)		11,24		3,72	2,24
F		155,22		2,21	14,98
p		0,0001		0,0724	0,0001

¹Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si segundo teste de Tukey ($p > 0,05$); ² $\chi^2 = 3,84$ com $df = 1$ e $p = 0,05$; - não existente; *período larval + pupal em dias. TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: Clorantraniliprole (controle padrão),³40 lagartas avaliadas por tratamento.

4.2 BIOENSAIO 2: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NO CONTROLE E CONSUMO FOLIAR DE *S. frugiperda* QUANDO APLICADO EM FOLHAS DE MILHO

Nesse bioensaio, a mortalidade das lagartas alimentadas no terceiro ínstar com folhas de milho contaminadas variou de 62,50% (SfMNPV + tembotriona) a 87,50% (SfMNPV + ester metílico de óleo de soja). Os herbicidas e o adjuvante não interferiram na eficiência do SfMNPV pois, apenas a testemunha (lagartas não contaminadas) diferenciou-se dos tratamentos. Os dados de consumo total mostram que o tratamento SfMNPV + ester metílico de óleo de soja, diferiu da testemunha, porém não houve diferença entre as lagartas alimentadas com SfMNPV isoladamente e associado com os produtos químicos (Tabela 4.2). Os parâmetros peso de pupas e período de desenvolvimento (larval + pupal) não apresentaram diferença entre os tratamentos.

Considerando as lagartas contaminadas no quarto ínstar, quanto à mortalidade, os tratamentos SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja, SfMNPV + óleo de soja e SfMNPV + atrazina diferenciaram-se da testemunha (79,44, 78,75 e 62,78%, respectivamente), porém não houve diferença entre SfMNPV quando aplicado isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante. A média da mortalidade variou entre 42,22% para lagartas tratadas somente com SfMNPV e 79,44% com SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja. O consumo foliar não foi afetado pelos tratamentos avaliados, mas variou de 160,56 a 206,40 cm² quando houve aplicações dos produtos. Com relação ao peso de pupas, não houve diferença entre os tratamentos. No período de desenvolvimento (larval + pupal) avaliado, a associação SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja aumentou o período de desenvolvimento (larval + pupal) de *S. frugiperda* (26,79 dias) comparado com a testemunha, SfMNPV e SfMNPV + ester metílico de óleo de soja que foram de 25,57, 24,70 e 24,52 dias, respectivamente, até as emergências dos adultos (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Mortalidade (%), consumo total (cm²), peso de pupas (g) e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de *S. frugiperda* após a ingestão no terceiro e quarto ínstar, de folhas de milho pulverizadas com SfMNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante

Tratamentos	Lagartas mortas ³	Mortalidade (%) ¹	Consumo Total ²	Peso pupa (g) ¹	Período de desenvolvimento ^{*1}
Terceiro ínstar					
TEST	3	7,50 ± 4,78 b	247,51 ± 17,85 a	0,23 ± 0,00 ^{ns}	25,15 ± 0,42 ^{ns}
SfMNPV	30	75,00 ± 5,00 a	179,91 ± 10,30 ab	0,23 ± 0,00	24,91 ± 0,36
SfMNPV + EMOS	35	87,50 ± 4,78 a	161,27 ± 21,97 b	0,23 ± 0,00	26,00 ± 0,57
SfMNPV + ATRA	34	85,00 ± 8,66 a	201,31 ± 16,81 ab	0,24 ± 0,00	26,66 ± 0,66
SfMNPV + TEMB	25	62,50 ± 8,53 a	230,37 ± 12,00 ab	0,24 ± 0,00	26,75 ± 0,30
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	33	82,50 ± 11,08 a	219,75 ± 31,86 ab	0,24 ± 0,00	26,66 ± 0,33
CV (%)		23,02	7,46	4,85	3,16
F		16,65	3,94	0,88	3,53
P		0,0001	0,0240	0,5264	0,0378
Quarto ínstar					
TEST	3	5,00 ± 5,00 b	230,59 ± 27,60 ^{ns}	0,22 ± 0,00 ^{ns}	24,57 ± 0,09 b
SfMNPV	19	42,22 ± 2,22 ab	176,23 ± 4,18	0,21 ± 0,00	24,70 ± 0,23 b
SfMNPV + EMOS	22	78,75 ± 8,75 a	177,26 ± 14,73	0,22 ± 0,00	24,52 ± 0,54 b
SfMNPV + ATRA	26	62,78 ± 7,22 a	196,60 ± 22,08	0,22 ± 0,00	25,52 ± 0,29 ab
SfMNPV + TEMB	18	47,22 ± 2,78 ab	206,40 ± 6,15	0,20 ± 0,00	25,57 ± 0,16 ab
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	30	79,44 ± 9,44 a	160,56 ± 22,90	0,22 ± 0,00	26,79 ± 0,71 a
CV (%)		19,20	21,15	4,88	3,40
F		15,35	1,55	2,07	4,14
P		0,0047	0,2340	0,1266	0,0146

¹Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si segundo teste de Tukey ($p > 0,05$); ²Médias originais seguidas pela estatística realizada nos dados transformados em $\sqrt{x+1}$. ^{ns}Anova não significativa; *Período larval + pupal em dias. TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja, ^{3,4}0 lagartas avaliadas por tratamento.

4.3 BIOENSAIO 3: EFEITO DO SfMNPV ASSOCIADO COM HERBICIDAS E ADJUVANTE NA DESFOLHA E CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* EM CONDIÇÕES DE CAMPO

Na primeira avaliação de danos causados por *S. frugiperda* em folhas de milho após aplicação isolada de SfMNPV e associado com herbicidas e adjuvante, os tratamentos não diferiram entre si, nas outras avaliações o controle químico (clorantraniliprole) foi o único tratamento onde foi observado menor dano, embora igual ao dano observado em seis, quatro e três tratamentos, nas 2^o, 3^o e 4^o avaliações, respectivamente, diferenciou da maioria dos tratamentos (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Notas de dano em folhas de milho causados por *S. frugiperda* após aplicação no campo de SfmNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante. Pré-aplicação (1° avaliação), sete dias da 1° aplicação A (2° avaliação), seis dias da 2° aplicação (3° avaliação) e quinze dias da 2° aplicação (4° avaliação)

Tratamentos	1° Avaliação ¹	2° Avaliação	3° Avaliação	4° Avaliação
TEST	1,62 ± 0,40 ^{ns}	2,96 ± 0,17 a	2,70 ± 0,29 a	3,31 ± 0,31 a
ATRA	1,27 ± 0,17	2,65 ± 0,29 ab	3,05 ± 0,29 a	3,32 ± 0,26 a
TEMB	2,17 ± 0,25	2,72 ± 0,30 ab	2,80 ± 0,30 a	3,12 ± 0,18 a
EMOS	1,65 ± 0,55	3,27 ± 0,05 a	2,62 ± 0,50 ab	3,22 ± 0,21 a
CLORA	1,70 ± 0,46	1,66 ± 0,17 b	1,37 ± 0,26 b	1,70 ± 0,31 b
SfmNPV	1,97 ± 0,49	2,75 ± 0,36 a	2,67 ± 0,13 a	3,42 ± 0,22 a
SfmNPV + ATRA	1,82 ± 0,39	2,92 ± 0,18 a	2,82 ± 0,34 a	3,20 ± 0,20 a
SfmNPV + TEMB	1,60 ± 0,60	2,70 ± 0,17 ab	2,67 ± 0,12 a	3,07 ± 0,22 a
SfmNPV + EMOS	1,40 ± 0,60	3,00 ± 0,05 a	2,55 ± 0,06 ab	3,15 ± 0,09 a
SfmNPV + ATRA + EMOS	2,22 ± 0,46	2,42 ± 0,14 ab	2,82 ± 0,22 a	2,42 ± 0,30 ab
SfmNPV + TEMB + EMOS	1,30 ± 0,27	2,27 ± 0,25 ab	2,20 ± 0,29 ab	2,91 ± 0,41 ab
SfmNPV + ATRA + TEMB + EMOS	2,12 ± 0,42	2,62 ± 0,16 ab	2,37 ± 0,22 ab	3,05 ± 0,24 ab
CV (%)	26,16	14,93	20,10	18,19
F	0,72	3,25	2,83	3,12
P	0,7158	0,0057	0,0103	0,0055

Escala de dano de 0 a 5 proposta por Carvalho (1970) conforme descrita a seguir: 0, ausência de folhas danificadas; 1, presença de raspadura nas folhas; 2, presença de furo nas folhas; 3, presença de dano nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4, presença de cartucho destruído; e 5, plantas mortas. Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey $p \leq 0,05$); ¹Médias originais seguidas da análise realizada com dados transformados em (\sqrt{x}). TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: clorantraniliprole (controle padrão).

Considerando a mortalidade de SfmNPV associado com herbicidas e adjuvante em condições de campo, o tratamento SfmNPV apresentou menor mortalidade apenas quando comparado com o controle químico (clorantraniliprole). Não houve diferença entre o SfmNPV quando aplicado isoladamente ou associados com os herbicidas atrazina e tembotriona e o adjuvante ester metílico de óleo de soja, com mortalidade variando de 36,11% (SfmNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja) e 56,66% (SfmNPV). O efeito da associação foi aditivo na maioria dos tratamentos, apenas SfmNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja que provocou uma interação antagônica. Quando avaliado período de desenvolvimento (larval + pupal), observa-se que os tratamentos não diferiram entre si (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Mortalidade (%), interação da associação e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de *S. frugiperda* após a ingestão no terceiro instar, de folhas de milho pulverizadas no campo com SfMNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante

Tratamentos	Lagartas mortas ³	Mortalidade (%) ¹	Interação ²	Período de desenvolvimento* ¹
TEST	0	0,00 ± 0,00 d	-	23,88 ± 0,60 ^{ns}
ATRA	1	3,57 ± 3,57 d	-	25,26 ± 0,84
TEMB	2	5,62 ± 3,28 cd	-	25,49 ± 1,01
EMOS	2	5,27 ± 3,05 cd	-	25,52 ± 0,85
CLORA	40	100,00 ± 0,00 a	-	-
SfMNPV	17	56,66 ± 24,03 b	-	23,44 ± 1,28
SfMNPV + ATRA	21	52,50 ± 4,78 b	Aditiva	25,26 ± 0,60
SfMNPV + TEMB	18	47,77 ± 6,38 b	Aditiva	25,57 ± 1,29
SfMNPV + EMOS	19	50,00 ± 8,47 b	Aditiva	25,08 ± 1,24
SfMNPV + ATRA + EMOS	18	46,11 ± 10,28 bc	Aditiva	23,33 ± 1,30
SfMNPV + TEMB + EMOS	16	48,10 ± 12,46 b	Aditiva	25,61 ± 0,41
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	14	36,11 ± 13,41 bcd	Antagônica	25,40 ± 0,69
CV (%)		44,65		4,96
F		12,45		1,91
P		0,0001		0,0842

¹Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si segundo teste de Tukey ($p > 0,05$); $^2\chi^2 = 3.84$ com $df = 1$ e $p = 0.05$; - Não existente. *Período larval + pupal em dias. TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: clorantraniliprole (controle padrão), ³40 lagartas avaliadas por tratamento.

4.4 BIOENSAIO 4: EFEITO DO TEMPO DE MISTURA NA COMPATIBILIDADE DE HERBICIDAS E ADJUVANTE COM SfMNPV

A mortalidade de *S. frugiperda* quando aplicado SfMNPV isoladamente não diferiu dos tratamentos combinados com os herbicidas e adjuvante. Os tratamentos SfMNPV, SfMNPV + atrazina, SfMNPV + tembotriona e SfMNPV + atrazina + ester metílico de óleo de soja ocasionaram mortalidade próxima ao controle químico (100%). O resultado da interação foi aditiva para as combinações entre SfMNPV + atrazina, SfMNPV + tembotriona, SfMNPV + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + ester metílico de óleo de soja. Enquanto que para os tratamentos SfMNPV + tembotriona + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja o efeito da interação foi antagônica. O período de desenvolvimento (larval + pupal) não foi afetado pelos tratamentos (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 – Mortalidade (%), interação da associação e período de desenvolvimento (larval + pupal) em dias de *S. frugiperda* após a ingestão no quarto ínstar, de folhas de milho pulverizadas com SfMNPV isoladamente e associado com herbicidas e adjuvante, quatro horas após o preparo de calda

Tratamentos	Lagartas mortas ³	Mortalidade (%) ¹	Interação ²	Período de desenvolvimento* ¹
TEST	0	0,00 ± 0,00 c	-	23,80 ± 0,50 ^{ns}
ATRA	0	0,00 ± 0,00 c	-	24,50 ± 0,45
TEMB	0	0,00 ± 0,00 c	-	24,29 ± 0,92
EMOS	0	0,00 ± 0,00 c	-	24,63 ± 0,98
CLORA	30	100,00 ± 0,00 a	-	-
SfMNPV	22	73,33 ± 6,66 ab	-	25,08 ± 0,96
SfMNPV + ATRA	20	72,22 ± 11,56 ab	Aditiva	24,90 ± 0,20
SfMNPV + TEMB	17	62,32 ± 10,26 ab	Aditiva	24,87 ± 0,82
SfMNPV + EMOS	17	60,37 ± 8,02 b	Aditiva	25,28 ± 0,97
SfMNPV + ATRA + EMOS	24	80,00 ± 10,00 ab	Aditiva	25,50 ± 0,83
SfMNPV + TEMB + EMOS	14	48,14 ± 6,06 b	Antagônica	24,98 ± 0,51
SfMNPV + ATRA + TEMB + EMOS	13	43,33 ± 13,33 b	Antagônica	25,23 ± 0,46
CV (%)		28,96		2,79
F		23,21		1,41
P		0,0001		0,2495

¹Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si segundo teste de Tukey ($p > 0,05$); ² $\chi^2 = 3,84$ com $df = 1$ e $p = 0,05$; - Não existente; *período larval + pupal em dias. TEST: testemunha (sem aplicação); ATRA: atrazina; TEMB: tembotriona; EMOS: ester metílico de óleo de soja; CLORA: clorantraniliprole (controle padrão), ³30 lagartas avaliadas por tratamento.

5 DISCUSSÃO

A eficácia dos baculovírus (POSSEE et al., 2010; SZEWCZYK et al. 2006) contra Lepidópteros tem sido amplamente reconhecida. Tendo em vista a mistura de tanque que é praticada no Brasil na grande maioria das aplicações (GAZZIERO, 2015), é essencial a manutenção da eficiência dos vírus quando aplicados conjuntamente com produtos químicos, possibilitando a sua utilização em programas de manejo integrado de pragas.

A estabilidade do SfMNPV na mistura com os produtos químicos, observado neste trabalho, possivelmente se deve à proteção proporcionada pelos corpos de inclusão que oferece estabilidade e resistência a fatores químicos como água, agrotóxicos e fatores físicos principalmente radiação UV e temperatura (JACQUES; MORRIS, 1981, BENZ, 1987). O efeito protetor foi também estudado por Santos et al (2014) que observaram compatibilidade entre um isolado de SfMNPV com inseticidas e fungicidas químicos que são usados com frequência no cultivo de milho. Gómez e Villamizar (2009), ao avaliar a compatibilidade de um granulovírus isolado de *Tecia solanivora* (Povolny, 1973) (Lepidoptera: Gelechiidae),

com oito produtos químicos, também observaram compatibilidade entre os produtos. Da mesma forma, Jacques e Morris (1981) mostraram que de dez combinações de baculovírus com agrotóxicos, nove resultaram em efeito sinérgico na mortalidade do inseto. Moscardi e Sosa-Gómez (1992) também não observaram redução na atividade inseticida de AgMNPV quando misturado com diferentes inseticidas sintéticos.

No bioensaio 3, onde foi realizada a aplicação no campo, foram observadas médias de mortalidade menores quando comparadas as médias do bioensaio 1 e 2 realizados em condições controladas. Esse resultado pode ser explicado, considerando que fatores como a temperatura, radiação solar, umidade, equipamentos e a tecnologia para a sua aplicação, podem influenciar a estabilidade/viabilidade do baculovírus. Assim sendo, quando o vírus é aplicado no campo os fatores acima mencionados estão intimamente relacionados com a eficiência do vírus (VALICENTE; CRUZ, 1991). Nesse estudo as aplicações foram realizadas no período que comumente são realizadas as pulverizações pelos produtores, entre 8:00 e 11:00 horas da manhã, podendo explicar o menor desempenho desse inseticida biológico no campo. Esse fato pode ser justificado, pois a UV é relatada como o principal fator que contribui para a desativação dos baculovírus (JAQUES, 1977; LACEY; ARTHURS, 2005; BEHLE; BIRTHISEL, 2014). Para evitar esse problema, Ignoffo (1985) recomendou a aplicação de baculovírus ao pôr do sol para reduzir os efeitos da radiação UV na atividade desses agentes microbianos. Além disso, as infecções por baculovírus nos insetos hospedeiros podem ser inibidas em temperaturas baixas (<10 °C) e altas (>40 °C) (JOHNSON et al. 1982). Esses autores relataram que o efeito da temperatura pode estar relacionado à inoculação e infecção do inseto hospedeiro ou também ao aumento da imunidade celular do hospedeiro, devido aos baixos e altos níveis metabólicos do inseto em baixas e altas temperaturas, porém como a média da temperatura no momento da pulverização foi de 19,1 °C, esse fator, provavelmente, não interferiu na eficiência.

Além disso, a formulação do produto biológico carece de surfactantes, adesivos e protetores a UV, expondo o vírus à radiação solar, principalmente a UV. Moscardi et al. (1981), Moscardi (1986) e Silva (1987) mostraram que a radiação solar foi prejudicial à atividade do AgMNPV se os corpos de oclusão do vírus não estivessem protegidos. Batista Filho et al (2001) estudaram um formulado do vírus AgMNPV com óleo emulsionável (OE) e concluíram que essa formulação de OE proporcionou boa proteção ao AgMNPV permitindo a aplicação de produtos durante o dia, em contraste com as aplicações no final da tarde recomendadas para o vírus não formulado. As aplicações tardias, ou a formulação OE, minimizam os efeitos da radiação UV e garantem um longo período de atividade da

formulação. Portanto, um dos grandes desafios na aplicação do vírus no campo é o estabelecimento de formulações que tenham protetores contra esses efeitos deletérios da radiação solar na sobrevivência consequente eficiência do vírus no campo.

A adição de adjuvantes e proteção contra a luz ultravioleta podem melhorar a eficiência do uso no campo (VALICENTE e TUELHER, 2009). Entretanto, neste estudo no tratamento SfmNPV associado com o adjuvante (ester metílico de óleo de soja), a mortalidade não foi superior quando comparada ao SfmNPV aplicado isoladamente, ou seja, a adição de óleo mineral à suspensão de pulverização não contribuiu para melhorar a eficácia em campo. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva e Moscardi (2002) que ao avaliar AgMNPV associado com óleo mineral não observaram aumento da eficiência no controle de *A. gemmatalis*. Esperava-se um melhor desempenho considerando que geralmente um adjuvante é adicionado a um produto para pulverização visando aumentar a eficácia do ingrediente ativo (HAZEM 2000). Portanto, o controle integrado com a utilização de adjuvante em conjunto com baculovírus precisa ser melhor estudado, pois pode ser uma estratégia para aprimorar o desempenho deste agente microbiano em campo.

Ao analisar a interação dos agentes de controle pela metodologia proposta por KOPPENHOFER et al., 2000, os resultados foram, na maioria das vezes, aditiva e sinérgica, ou seja, o efeito da mistura dos produtos foi igual à soma dos efeitos individuais de cada produto (aditiva) ou o efeito da mistura foi superior à soma dos efeitos individuais de cada produto (sinérgica) (IKEDA, 2013). Portanto esses resultados corroboram a possibilidade do uso associado entre o SfmNPV e os herbicidas e o adjuvante testados nesse estudo, em um programa integrado de manejo

A interação antagônica da mistura entre SfmNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja (bioensaio 3.b) deve ser decorrente aos fatores citados anteriormente, não necessariamente houve uma redução na eficiência do SfmNPV devido à associação com os produtos químicos, mas devido às condições ambientais. Pois, quando essa mesma associação (SfmNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja) foi avaliada nos bioensaios 1 e 2 (condições laboratoriais) não houve interferência dos herbicidas e adjuvante sobre o microrganismo. Nesse contexto, resultados similares foram observados por Ávila e Melhorança (1999), quando analisaram a eficácia do AgMNPV associado com herbicidas testados em campo, concluindo que os produtos químicos avaliados não interferiram no controle da lagarta da soja *A. gemmatalis*.

Efeito antagônico também foi observado no bioensaio 4 nas misturas SfmNPV + tembotriona + ester metílico de óleo de soja e SfmNPV + atrazina + tembotriona + ester

metílico de óleo de soja. Quando deixada a calda da mistura por quatro horas, o efeito deletério deveu-se provavelmente à ação dos ingredientes ativos presentes nas formulações que com o maior tempo de contato podem ter contribuído para a desativação do baculovírus. Batista et al (2001) ao testar AgMNPV após 12 horas de contato com o inseticida tiametoxam encontraram resultados divergentes, a associação não interferiu na eficiência. Porém, vale lembrar que nesse experimento foi utilizada metodologia, baculovírus e hospedeiros diferentes. Os efeitos dos herbicidas atrazina e tembotriona sobre os baculovírus são desconhecidos e o adjuvante ester metílico de óleo de soja é classificado como agente penetrante, esta categoria é a mais variada e desconhecida de todos os adjuvantes ativadores (HAZEM, 2000).

Outro fator que poderia ter afetado o agente microbiano é o pH da calda, porém como variou entre 4,39 e 6,58 (SfMNPV + ester metílico de óleo de soja e SfMNPV + atrazina + tembotriona + ester metílico de óleo de soja, respectivamente) após 4 horas do preparo esse fator é descartado, pois em geral, os baculovírus são estáveis entre os pHs 4 e 9 (IGNOFFO; GARCIA, 1966). Entretanto, visto que a exposição do baculovírus por mais tempo resultou em efeito antagônico, outros estudos com objetivo de avaliar essa interação poderiam mostrar com mais clareza se esse fator tem uma maior influência na eficiência do que aqui mostrada.

Nos bioensaios 1 e 2, a mortalidade de *S. frugiperda* foi maior nos tratamentos associados com o herbicida atrazina. Em estudos de interação entre inseticidas e herbicidas a mortalidade de *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera; Drosophilidae) foi maior quando os inseticidas diazinon, carbofuram, paration metílico e DDT foram aplicados em mistura com atrazina (LICHTENSTEIN et al., 1973). Pode-se levantar a hipótese de que os herbicidas podem alterar a produção e atividade de enzimas em insetos, podendo influenciar a eficácia destes produtos (NORRIS; KOGAN, 2000). A atividade inseticida do carbofuram foi aumentada pelo herbicida atrazina em anelídeos, grilos, colêmbolas e carabídeos (LARDIER; SCHIAVON, 1989).

Estudos mostraram que herbicidas do grupo das triazinas são capazes de induzir aumento da atividade de certas enzimas, em *S. frugiperda*, como oxidases microsossomais (aldrin epoxidase), glutatona S-transferase e estereases (Yu, 2004). Neste caso, o aumento da atividade enzimática proporcionou incremento na toxicidade dos inseticidas paration metílico, forate e triclorfon, e na redução da toxicidade da permetrina, carbaril e indoxacarb, sobre as lagartas. O aumento da atividade dessas enzimas, provocado pela atrazina, pode ser também uma hipótese para a explicação do melhor desempenho do SfMNPV, quando associado a esse

herbicida em laboratório. Porém, como estudos sobre as possíveis interações entre herbicidas e baculovírus são escassos, o modo como isso ocorre não está bem esclarecido.

Podemos observar também que no bioensaio 1, o herbicida atrazina quando aplicado isoladamente resultou em mortalidade de *S. frugiperda* de terceiro e quarto ínstaes e influenciou no aumento na duração do período de desenvolvimento avaliado. Já no bioensaio 2, a duração do período larval e pupal foi maior para lagarta de quarto instar, alimentadas com folhas de milho contaminadas com SfMNPV + atrazina + tembotriona + óleo. Portanto, observa-se um provável efeito tóxico do herbicida atrazina sobre *S. frugiperda*, em condições de laboratório. Estudos realizados por Gamal e El-ghar (1994) com plantas de alfafa tratadas com bentazona e ametrina (mesmo grupo da atrazina) também observaram efeito negativo no crescimento de *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae). Já Dal Pogetto (2011) relatou que herbicida atrazina aplicada em pós-emergência influenciou o desenvolvimento de *S. frugiperda*, com menor duração do ciclo.

Porém, segundo Norris e Kogan (2000) as conclusões gerais a respeito da toxicidade dos herbicidas aos insetos são difíceis de serem obtidas. A ação dos produtos varia para cada espécie de inseto e diversas pesquisas mostram efeitos tóxicos e não tóxicos dos herbicidas (DEML; DETTNER, 2001; EISNER et al., 1971; CHANG et al., 1971; NORRIS & KOGAN, 2000). As diferentes formas em que os testes são conduzidos, como o método de administração dos herbicidas, doses e o veículo utilizado para a aplicação podem influenciar os resultados, dificultando as comparações. Além disso, em experimentos de laboratório a exposição dos insetos aos herbicidas ocorre de maneira forçada, podendo não refletir o que de fato ocorre no campo. Assim, qualquer julgamento a respeito do efeito desta interação sobre manejo de pragas deve ser avaliado cautelosamente.

Os resultados obtidos no experimento do consumo alimentar mostram que não houve influência dos herbicidas e do adjuvante quando aplicados com SfMNPV, corroborando com os resultados já ressaltados, que os produtos avaliados não interferem no agente de controle biológico. A presença do SfMNPV, isolado ou associado com herbicidas não inibiu o consumo alimentar de *S. frugiperda* quando comparado ao de lagartas sadias, com exceção apenas do SfMNPV aplicado em combinação com o adjuvante.

Porém, esperava-se uma redução do consumo alimentar do inseto, pois um dos sintomas causados nos hospedeiros pelo baculovírus é redução no consumo alimentar em consequência da infecção das células epiteliais do intestino médio, que ocorre após a inoculação/infecção (VALICENTE, 2009). Em geral, redução no consumo de alimentos é muito importante de um ponto de vista prático, porque reduz os danos causados às culturas

pela alimentação larval. Isto é particularmente importante em pragas como *S. frugiperda*, que em certas situações, representa uma redução 60% no rendimento (CRUZ, 2008; MENDES et al., 2011; VALICENTE et al., 2010).

Neste contexto, Pineda et al (2014) observaram que o consumo de lagartas de *S. frugiperda* infectadas apenas com SfMNPV não diminuiu em relação a testemunha na concentração de 1×10^4 OB/mL. Porém, em concentrações semelhantes às utilizadas neste trabalho (2×10^6 OB/mL) o consumo das lagartas infectadas foi menor em relação às lagartas sadias. Da mesma forma, o consumo das lagartas de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) de terceiro ínstar, infectadas com baculovírus, foi inibido quando o baculovírus foi aplicado em concentrações de 1×10^3 e 1×10^6 OB/mL respectivamente, em folhas de algodão (SENTHIL-KUMAR et al. 2008). Esses estudos também estão de acordo com os resultados de Moscardi (1983) que concluiu que lagartas de *A. gemmatalis* infectadas por AgMNPV consumiram menos, quando comparadas às lagartas sadias.

As razões para tais resultados podem estar relacionadas às condições do bioensaio. Pode ter havido uma distribuição menos uniforme do SfMNPV na aplicação nas folhas de milho em relação à distribuição na dieta. Isto pode ter ocasionado “escape” na ingestão e consequente inoculação de algumas lagartas pelo baculovírus. Além disso, o bioensaio realizado com folhas pode ser afetado por maior variação na quantidade de suspensão de vírus retida por área de folha em comparação com uma dieta, onde o vírus provavelmente teve uma distribuição mais homogênea (EVANS; SHAPIRO 1994).

Quanto ao peso das pupas não foi observada nenhuma interferência significativa pois as lagartas que chegaram à fase de pupa não foram provavelmente infectadas pelo vírus não tendo seu desenvolvimento afetado. Nas avaliações de dano (desfolha), o controle químico foi o único tratamento que apresentou menor dano, diferenciando-se dos demais tratamentos. Esses resultados podem ser explicados, devido ao fato de que as lagartas quando infectadas como vírus, podem demorar de 3 a 8 dias para morrerem, e continuam-se alimentando por um determinado período e causando danos, justificando a não diferenciação dos danos causados nos tratamentos com a testemunha (VALICENTE et al., 2013).

O uso combinado de SfMNPV com herbicidas e adjuvante, torna-se uma ferramenta chave na aplicabilidade do MIP, considerando que os insetos pragas e plantas daninhas afetam significativamente as lavouras, causando perdas econômicas necessitando o uso de diferentes produtos para o manejo fitossanitário. Tendo em conta que os agrotóxicos avaliados no presente trabalho não tiveram nenhum efeito prejudicial sobre a eficiência do SfMNPV, no

controle de *S. frugiperda* pode recomendar sua intervenção em estratégias de gestão integrada, onde os inseticidas são substituídos pelo SfMNPV para o controle de *S. frugiperda*.

6 CONCLUSÃO

A associação dos herbicidas atrazina, tembotriona e o adjuvante ester metílico de óleo de soja não reduz a eficiência de SfMNPV no controle de *S. frugiperda*. Portanto os resultados aqui mostrados indicam que SfMNPV possui compatibilidade de mistura com os produtos químicos avaliados.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários do MAPA**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. 2018 Acesso em: 20 jun. 2018.
- ALMEIDA, A. F. **Estratégias de produção *in vitro* de bioenticida viral: Influências do isolado, da cinética e do modo de operação**. 2010. 133 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Rio Grande Do Norte, Natal. 2010.
- ANDALÓ, V. et al. Compatibility of *Beauveria bassiana* with chemical pesticides for the control of the coffee root mealybug *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, v.33, p.463-467, 2004.
- ÁVILA, C. J.; MELHORANÇA, A. L. Eficiência do vírus de poliedrose nuclear em mistura com herbicidas pós emergentes, no controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera:Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p.339-341. 1999.
- BARRERA, G. et al. *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: Genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. **Biological Control**, v. 58, n.2, p. 113-120, 2011.
- BARRETO, M. R. et al. Effect of *Baculovirus spodoptera* isolates in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and their characterization by RAPD. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, p. 67-75, 2005.
- BATISTA FILHO, A. et al. Enhanced activity of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. associated with mineral oil against *Cosmopolites sordidus* (Germar) adults. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, p.405-408.1995.
- BATISTA FILHO, A. et al. Stability and persistence of two formulations containing *Anticarsia gemmatalis* nuclear polyhedrovirus (AgMNPV). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 411-416.2001.
- BATISTA, A.; ALMEIDA, J.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 437-447.2001
- BEAS-CATENA, A. et al. Baculovirus biopesticides: an overview. **The Journal of Animal e Plant Sciences**, v. 24, n. 2, p. 362-373, 2014.
- BEHLE, R., BIRTHISEL, T. Formulation of entomopathogens as bioinsecticides. In: MORALES-RAMOS, J. A.; GUADALUPE ROJAS, M.; SHAPRO-ILAN, D.L. (Eds.) **Mass production of beneficial organisms**. Elsevier, Amsterdam, 2014. p 483-517
- BENZ, G.; Environment. In: **Epizootiology of infectious diseases**. Editors: FUXA, J.; TANADA, Y. New York, USA. 1987. 150 p.

BERTI FILHO, E; CIOCIOL, A. A. I. Parasitoides ou predadores? Vantagens e desvantagens. In: PARRA, J. R. P; BOTELHO, S. M; CÔRREA-FERREIRA, B. S; BENTO, J. M.S. **Controle Biológico no Brasil:** parasitoides e predadores. São Paulo: Manole.2002. p. 29-41.

BOTELHO, A. A. A.; MONTEIRO, A. C. Sensibilidade de fungos entomopatogênicos a agroquímicos usados no manejo da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p.361-369, 2011.

BUENO A. F. et al. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, B. C.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds), **Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Embrapa, Brasília, DF. 2012. p.493-630.

BUENO, A. F. et al. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v.30, n.7, p. 937-945, jul. 2011.

BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. p.26.

BUSATO, G. R. et al. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas do milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, v.33, n. 6, p.709-716. 2004.

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. USDA. RS, 1962. p. 33-75.

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**. 1970. 170 F. Tese (Doutorado Em Agronomia/Entomologia) Escola Superior De Agricultura “Luiz De Queiroz”, Universidade De São Paulo, Piracicaba, 1970.

CASMUZ, A. et al. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v.69, n. 3-4, p.209-231, 2010.

CASTRO, M. E. B.; SOUZA, M. L.; BILIMORIA, S. L. Host-specific transcription of nucleopolyhedrovirus gene homologues in productive and abortive *Anticarsia gemmatalis* NPV infections. **Archives of Virology**, v. 144, n. 6, p. 1111-1121, 1999.

CÉLERES. **3º levantamento de adoção da biotecnologia agrícola no Brasil**, safra 2016/17. Informativo Biotecnologia. Disponível em:< <http://www.celeres.com.br/3o-levantamento-deadocao-da-biotecnologia-agricola-no-brasil-safra201617/#>>. Acesso em 08 de out de 2018.

CHANG, F. Y.; SMITH, L. W.; STEPHENSON, G. R. Influence of herbicides on insecticide metabolism in leaf tissues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 19, p. 1187-1190, 1971.

COCK, M. J. W. et al. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? **BioControl**, v. 55, p.199–218. 2010.

- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, v. 5, Safra 2017/18 – Décimo levantamento, Brasília, p. 1-156, julho 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras>. Acesso em: jun 2018.
- CRUZ, I. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. p. 192.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1995. 45p. (Circular Técnica, 21).
- CRUZ, I. Controle biológico em manejo integrado de pragas. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole. 2002. p.543-570.
- CRUZ, I. et al. Efeito do 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**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 293-297, 1996.
- CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 17, p. 355-359. 1982.
- DAL POGETTO, M, H. F. A. **Impacto de herbicidas sobre a biologia e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho**. 2011. Tese de doutorado em Agronomia (Proteção de Plantas). Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus de Botucatu. 2011.
- DEBACH, P. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas**. Editora Continental, S.A., México. 1968. p.927.
- DEML, R.; DETTNER, K. Biodegradation and transfer of ingested 2,4-D herbicide by a polyphagous saturniid caterpillar. **Chemosphere**, Oxford, v. 45, p. 783-789, 2001.
- EISNER, T. et al. 2,5 Dichlorophenol (from ingested herbicide?) in defensive secretion by grasshopper. **Science**, Washington, DC, v. 172, p. 277-278, 1971.
- ENGELHARD, E. K. et al. The insect tracheal system: a conduit for the systemic spread of *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus. **Proceedings of the National Academy of Science**. v. 91, p. 3224-3227, 1994.
- EVANS, H.; SHAPIRO, M. Viruses. In LACEY, L. A. (Ed.), **Manual of techniques in insect pathology**. Toronto, Canada: Academic Press.1994. p. 17–53.
- FARIAS, J. R. et al. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 64, v. 4, p. 150-158, 2014.
- FIESP, Federação das Indústrias do Estado de São Paulo. **Safra Mundial de Milho 2018/19 - 2º Levantamento do USDA**, Departamento do Agronegócio - DEAGRO/FIESP. São Paulo, junho 2018. Disponível em: < <http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra->

mundial-de-milho-2/attachment/file-20180613175924-boletimmilhojunho2018/> Acesso em: jun 2018.

FRAGOSO, D. F. M. **Opções de manejo de *Neoleucinoides elegantalis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae) com bases bioecológicas e controle mecânico, biológico e extratos de plantas.** 2014. 132f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alegre, 2014.

FRIZZAS, M. R, et al. Genetically modified corn on fall armyworm and earwig populations under field conditions. **Ciência Rural**, v.44, p. 203–209. 2014

GAMAL, E. S.; EL-GHAR, A. Effects of herbicides on consumption, growth and food utilization by cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. **Anzeiger Schädlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz**, v. 67, p. 143-146, 1994.

GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, v. 33, 2015.

GÓMEZ, J; VILLAMIZAR, L. Actividad insecticida y compatibilidade con agroquímicos de un granulovirus aislado de *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Resúmenes del XXXVII Congreso Sociedad Colombiana de Entomología** - Socolen -. Bogotá. 2009, 116 p.

GRANADOS, R. R.; LAWLER, K. A. *In vivo* pathway of *Autographa californica baculovirus* invasion and infection. **Virology**, v. 108, p. 297-308, 1981.

GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v.69, p.488-497. 1976.

GUIMARÃES, G. L. Principais fatores comerciais condicionantes da disponibilidade de produtos isolados e em misturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 29., 2014, Gramado. **Palestra...** Gramado: 2014.

HASSAN, S. A. Guideline for the evaluation of side-effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S. A. **Guidelines for Testing the Effects of Pesticides on Beneficial Organisms**:Description of Test Methods.IOBC/WPRS Bulletin, 1992. p.18-39.

HAZEM, J. L. Adjuvants – terminology, classification, and chemistry. **Weed technology**, v.14, p. 773-784, 2000.

HENDERSON, J. F.; FAULKNER, P.; MACKINNON, E. A. Some biophysical properties of virus present in tissue cultures infected with the nuclear polyhedrosis virus of *Trichoplusia ni*. **Journal of General Virology**, v. 22, p.143-146, 1974.

HORTON, H. M.; BURAND, J. P. Saturable attachment sites for polyhedron-derived baculovirus on insect cells and evidence for entry via direct membrane fusion. **Virology**, v.67, n. 4, p. 1860–1868, 1993.

- IGNOFFO, C. M. et al. Sensitivity of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* to chemicals pesticides used on soybeans. **Environmental Entomology**, v.4, p. 765-768.1975.
- IGNOFFO, C. M. Manipulating enzootic-epizootic diseases of arthropods, p. 243-261. In: HOY, M. A.; HERZOG, D.C. (eds.), **Biological control in agricultural IPM systems**. Orlando, Academic Press, 1985. 589p.
- IGNOFFO, C. M.; GARCIA, C. The relation of pH to the activity of inclusion bodies of a *Heliothis* nuclear polyhedrosis. **Journal Invertebrate Pathology**, v.8, p. 426-427.1966.
- IKEDA F. S. Resistência de plantas daninhas em soja resistente ao glifosato. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.34, 2013.
- INCEOGLU, A. B.; KAMITA, S. G.; HAMMOCK, B. D. Genetically modified baculoviruses: A historical overview and future outlook. Adv. **Virus Research**, v. 68, p. 323-360. 2016.
- JACQUES, R.; MORRIS, O. Compatibility of pathogens with other methods of pest control and crop protection. In: Burges, H, D, editor. **Microbial Control of Pests and Plant Diseases**. London, Academic Press. 1981. p.230.
- JAQUES, R. P. Stability of entomopathogenic viruses. **Entomological Society of America**. v.10, p. 99-116. 1977.
- JEHLE, J. A. et al. On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. **Arch Virol**, v. 151, n.7, p. 1257-66. 2006.
- JOHNSON, D. W. et al. A temperature-dependent developmental model for a nucleopolyhedrosis virus of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.40, p. 292-298.1982.
- KRAUSE, N. D. Necessidades tecnológicas relacionadas a novos ingredientes ativos, formulações e da prática da realização de misturas de agrotóxicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 29., 2014, Gramado. **Palestra...** Gramado: 2014. CD ROM.
- KOPPENHOFER, A. M. et al. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. **Biological Control**, v. 19, n. 3, p. 245-251, 2000.
- LACEY, L. A. et al. Insect pathogens as biological control agents: back to the future, **Journal of Invertebrate Pathology**. 2015.
- LACEY, L. A., ARTHURS, S.P. New method for testing solar sensitivity of commercial formulations of the granulovirus of codling moth (*Cydia pomonella*, Tortricidae: Lepidoptera). **Journal of Invertebrate Pathology**, v.90, p. 85-90. 2005.
- LAPOINTE, R.; THUMBI, D.; LUCAROTTI, C. J. Recent advances in our knowledge of baculovirus molecular biology and its relevance for the registration of baculovirus-based products for insect pest population control. In: LARRAMENDY, M. L.; SOLONESKI, S.

(Eds.). **Integrated pest management and pest control: Current and future tactics**. Rijeka: InTech, p. 495-536. 2012.

LARDIER, P. A.; SCHIAVON, M. Toxicité du carbofuran et activité synergique de l'atrazine sur son action vis-à-vis de quelques espèces animales. **Agronomie**, v. 9, p. 559-563, 1989.

LICHTENSTEIN, E. P.; LIANG, T. T.; ANDEREGG, B. N. Synergism of insecticides by herbicides. **Science**, v. 181, p. 847-849, 1973.

LORITO, M. et al. Translational research on Trichoderma: from 'omics to the field. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, p. 395-417. 2010.

LOUREIRO, E. S. et al. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemos sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, v.31, p.263-269, 2002.

LUNDIN, O. et al. Neonicotinoid Insecticides and their impacts on bee: a systematic review of research approaches and identification of knowledge gaps. **Plos One**, v. 10, n.8, p.1-20, 27. 2015.

MARTINELLI, S. et al. Genetic structure and molecular variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) collected in maize and cotton fields in Brazil. **Bulletin of Entomological Research**, v.97, n. 3, p.225-231, jun. 2007.

MATRANGOLO, W. J. R. **Interação de agentes naturais no controle de populacional de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. 2003. 120f. Tese de doutorado em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2003.

MATTOS, M. et al. Avaliação de estratégias com agroquímicos no controle de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomate. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, n. 1, p. 131-144, 2002.

MENDES, S. M. et al. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 239- 244. 2011.

MONQUERO, P. A. et al. Eficiência de herbicidas pré-emergentes após períodos de seca. **Planta Daninha**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 185-193, 2008.

MOREIRA, H. J. C.; ARAGÃO, F. D. **Manual de Pragas do Milho**, p.86-93. Campinas, 2009.

MOSCARDI, F. 1986. Utilização de vírus para o controle da lagarta da soja, p. 188-202. In ALVES, S.B. (coord.), **Controle microbiano de insetos**. São Paulo, Manole, p. 407.

MOSCARDI, F. **Utilização de *Baculovirus anticarsia* para o controle de lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatilis*)**. Londrina. Embrapa-CNPSo, 1983. 21 p. (EMBRAPA-CNPSo. Comunicado Técnico, 23)

- MOSCARDI, F.; ALLEN, G. E.; GREENE, G. L. Control of the velvetbean caterpillar by nuclear polyhedrosis virus and insecticides and impact of treatments on the natural incidence of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. **Journal of Economic Entomology**, v.74, p. 480-85.1981.
- MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil, p. 98-109. In: COPPING, L.G.; GREEN, M.B; REES, R.T. (eds.), **Pest management in soybean**. London, Elsevier Applied Science.1992. p.369.
- MUDGAL, S. et al. Scientific support, literature review and data collection and analysis for risk assessment on microbial organisms used as active substance in plant protection products. **Risk Environmental characterization**. v.149, p. 3610. 2013.
- NASCIMENTO, A. R. B. et al. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v.72, p. 810-815.2016.
- NORRIS, R. F.; KOGAN, M. Interactions between weeds, arthropods pests, and their natural enemies in managed ecosystems. **Weed Science**,v. 48, p. 94-158, 2000.
- OERKE, E.C. Crop Losses to Pests. **Journal of Agricultural Science**, v. 144, p. 31-43.2006.
- OTA, E. C. et al. Desempenho de cultivares de milho em relação à lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 850-859, 2011.
- PARNELL, J.J. et al. From the lab to the farm: an industrial perspective of plant beneficial microorganisms. **Front Plant Sci**, v. 7, p. 1110. 2016.
- PARRA, J. R. P. et al. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Coord.) **Controle biológico no Brasil: Parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p.1-13.
- PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. Depto. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 271-281, 2004.
- PAULETTI, V.; MOTTA, A. C. V. **Manual de Adubação e Calagem para o Estado do Paraná**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Núcleo Estadual Paraná, 2017. p.482.
- PINEDA, S. et al. Combined and individual effects of a nucleopolyhedrovirus and azadirachtin on the mortality and maize-leaf consumption of *Spodoptera frugiperda*. **Phytoparasitica**, v. 42, p.571-578. 2014.
- POSSEE, R. D. et al. Baculoviruses: biology, replication, and exploitation. In ASGARIM, S.; JOHNSON, K (Eds.), **Insect virology**, Norfolk, UK: Caister Academic Press. 2010. 35–57 p.
- PITELLI, R. A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 120, n. 11, p. 16-27, 1985.
- ROHRMANN, G. F. **Baculovirus Molecular Biology**. 2.ed. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. 2011.

- ROSSI-ZALAF, L. S. et al. Interação de micro-organismo com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S. B.; LOPES, R. B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ.2008. p. 279–302.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: user's Guide. Version 9.2. Cary: SAS Institute, 2009. p. 7869.
- SENTHIL-KUMAR, N.; MURUGAN, K.; ZHANG, W. Additive interaction of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus and azadirachtin. **BioControl**, v. 53, p.869–880.2008.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete sample). **Biometrika**, v. 52, n. 3, p. 591-611. 1965.
- SHORT, P.; COLBORN, T. Pesticide use in the U.S. and policy implications: A focus on herbicides. **Toxicology and Industrial Health**, London, v. 15, p. 240-275, 1999.
- SILOTO, R. C. **Danos a biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho**. Dissertação de mestrado- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, p., 93, Piracicaba, 2002.
- SILVA, A. A. da. et al. **Controle de plantas daninhas**. Brasília, DF: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior; Viçosa: Universidade de Viçosa, 1999. 260p.
- SILVA, M.T.B. DA. Baculovirus anticarsia: época de aplicação e efeito residual sobre plantas de soja. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v.17, p.339-350. 1987
- SILVA, M.T.B. DA.; MOSCARDI, F. Efficacy of the Nucleopolyhedrovirus of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae): effect of formulations, water ph, volume and time of application, and type of spray nozzle. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 1, p.75-83.2002.
- SORGATTO, R. J.; BERNARDI, O.; OMOTO, C. Survival and development of *Spodoptera frugiperda* and *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt Cotton and Implications for Resistance Management Strategies in Brazil. **Environmental Entomology**, v.44, n.1, p.186-192, 2015.
- SZEWZYK, B. et al. Baculoviruses – re-emerging biopesticides. **Biotechnology Advances**, v.24, p.143–160. 2006.
- TUKEY, J. W. Comparing individual means in the analysis of variance, **Biometrics**, v.5, 1949. p.99.
- VALICENTE, F. H. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. **Informe Agropecuário**, v. 30, n. 251, p. 48-55, 2009.
- VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R. Levantamento dos inimigos naturais da lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na região de Cascavel, PR. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 333-337, 1999.

VALICENTE, F. H.; CRUZ, I. **Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1991. 23p. (Circular Técnica, 15).

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. S.; BARROS, E. C. de. **Processo de Produção Comercial de Baculovírus em Grande Escala**. EMBRAPA/CNPMS, Sete Lagoas, Brasil, 2010. 6p. (Circular Técnica 157).

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E.S. Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus. In: **Controle biológico: pragas e doenças: exemplos práticos**. Viçosa: UFV. 2009. p. 275-310.

VALICENTE, F.H. et al. A new baculovirus isolate that does not cause the liquefaction of the integument in *Spodoptera frugiperda* dead larvae. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.7, n.1, p.77-82, 2008.

VALICENTE, F.H.; TUELHER, E.S.; PENA, R.C.; ANDREAZZA, R.; GUIMARÃES, M.R.F. Cannibalism and virus production in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae fed with two leaf substrates inoculated with *Baculovirus spodoptera*. **Neotropical Entomology**, v. 42, n. 2, p. 191-199, 2013.

VAN LENTEREN, J. C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **BioControl**, v. 57, p.1–20. 2012.

VAN LENTEREN, J.C. et al. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of ew opportunities. **Biological Control**, v. 62, p. 1-25. 2017.

VARGAS, L.; PEIXOTO, C. M.; ROMAN, E. S. **Manejo de plantas daninhas na cultura de milho**. Passo Fundo: EMBRAPA, 2006. 20p. (Documentos, 61).

WADDINGTON, M. A.; YOUNG, B. G. Interactions of herbicides and adjuvants with AE 0172747 on postemergence grass control. **Weed Science**, v. 61, n. 4, p. 108-115, 2006.

ZALUCKI, M. P.; ADAMSON, D.; FURLONG, M.J. The future of IPM: whither or wither? **Australian Journal of Entomology**, v. 48, p. 85-96. 2009.