ESTUDO SOBRE FORMULAÇÕES DE *Baculovirus anticarsia*
EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

ANTONIO BATISTA FILHO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título
de Mestre em Ciências Biológicas.
Área de concentração: Entomolo-
gia.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil

JULHO - 1990

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

Batista Filho, Antonio

B333e Estudo sobre formulações de Baculovirus anticarsia
em condições de laboratório e campo. Piracicaba,
1990.

72P.

Diss. (Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Baculovirus - Formulação 2. Lagarta da soja -
Controle biológico 3. Vírus entomopatogênico I. Escola
Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 576.64

ESTUDO SOBRE FORMULAÇÕES DE *Baculovirus anticarsia*
EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

ANTONIO BATISTA FILHO

Aprovada em: 12.11.1990

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Sérgio Batista Alves ESALQ/USP

Prof. Dr. Evôneo Berti Filho ESALQ/USP

Dr. Nelson Suplicy Filho IBESP

PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES
Orientador

O que ocorrer com a terra, recairá sobre os
filhos da terra. O homem não teceu a trama da vida;
ele é meramente um de seus fios. Tudo o que fizer
ao tecido fará a si mesmo.

(MANIFESTO DO CHEFE SEATTLE AO PRESIDENTE DOS E. U. A.)

*Aos meus pais Antonio e Alzira,
à minha esposa Cidinha,
à minha tia Leonor.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus por existir e por tudo que me tem concedido.

Ao Dr. Sérgio Batista Alves, Professor do Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), pelo incentivo e orientação segura na condução deste trabalho.

Ao Instituto Biológico do Estado de São Paulo, pela oportunidade dada para frequentar o curso de Pós-Graduação e por ter cedido toda infraestrutura necessária à realização deste trabalho.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP pelos ensinamentos transmitidos e atenção dispensada.

À Divisão de Parasitologia Vegetal do Instituto Biológico e aos funcionários da Seção de Controle Biológico das Pragas pelo apoio recebido.

Aos colegas e amigos do Curso de Pós-Graduação pelo convívio e oportunidade de intercâmbio de idéias.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos para realização do curso de Mestrado em Entomologia.

Ao Pesquisador Científico Benedicto Pedro Bastos Cruz pelas sugestões valiosas e, acima de tudo, pela amizade sincera e estímulos durante o decorrer da pesquisa.

Ao Pesquisador Científico Nilson Toschi Augusto pelo preparo das formulações.

Ao Biólogo Laerte Antonio Machado pelo fornecimento do material biológico.

À Sonia Maria De Stefano Piedade, Engenheira Agrônoma, pela realização das análises estatísticas.

Ao Sr. Walter Graeber, chefe da Seção de Biblioteca do Instituto Biológico, pela correção da literatura citada.

À Professora Sueli A. Laranja Pucci pela colaboração na confecção do Summary.

À Sra. Maria de Lourdes Dal'Ava Augusto pelos serviços datilográficos.

Aos meus amigos de todos os momentos vividos durante o Curso de Pós-Graduação, em especial: Adalton Raga, Airton Brisolla, Harumi Hojo e Luis Garrigós Leite.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	viii.
LISTA DE TABELAS	ix.
RESUMO	xii.
SUMMARY	xiv.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. Purificação de <i>Baculovirus anticarsia</i>	19
3.2. Formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i>	21
3.3. Eficiência da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD) - Leucita	23
3.4. Estabilidade da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD) - Leucita em Condições de Laboratório	24
3.5. Eficiência da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD) - Leucita Após Armazenagem de 29 Meses	26
3.6. Eficiência da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> óleo Emulsionável (OED)	27
3.7. Consumo de Área Foliar pelas Lagartas Alimentadas com as Formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD) - Leucita e <i>Baculovirus anticarsia</i> (OED)	29
3.8. Estabilidade das Formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> óleo Emulsionável (OED) e Pó Molhável (PMD) - Talco em Condições de Laboratório..	30

3.9. Persistência de Quatro Preparações de <i>Baculovirus anticarsia</i> sobre Folhas de Soja do Cultivar IAC-12	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Purificação de <i>Baculovirus anticarsia</i>	33
4.2. Eficiência da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD - Leucita)	35
4.3. Estabilidade da Formulação <i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita em Condições de Laboratório)	38
4.4. Eficiência da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD - Leucita após Armazenagem de 29 Meses)	42
4.5. Eficiência da Formulação <i>Baculovirus anticarsia</i> óleo Emulsionável (OE)	44
4.6. Consumo de Área Foliar pelas Lagartas Alimentadas com as Formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> (PMD - Leucita e <i>Baculovirus anticarsia</i> (OE)	46
4.7. Estabilidade das Formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> óleo Emulsionável (OE) e Pó Molhável (PMD - Talco em Condições de Laboratório .	48
4.8. Persistência de Quatro Preparações de <i>Baculovirus anticarsia</i> sobre Folhas de Soja do Cultivar IAC-12	53
5. CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Flutuação populacional de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> menores ou iguais a 1,5 cm de comprimento e desfolhamento de plantas em duas áreas tratadas e uma não tratada com formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> . Santo Antonio de Posse, 1989	36
2	Porcentagem de consumo de área foliar por lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> alimentadas, durante dezessete horas, com folhas de soja tratadas com três preparações de <i>Baculovirus anticarsia</i> em teste de livre escolha	47
3	Efeito da época sobre mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> em função dos diferentes tratamentos	51
4	Persistência de quatro preparações de <i>Baculovirus anticarsia</i> sobre folhas de soja do cultivar IAC-12. Campinas, 1990	54

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Porcentagens de mortalidade de lagartas e de pupas para a suspensão de <i>Baculovirus anticarsia</i> utilizada no preparo da formulação Leucita (PM) com vistas ao teste de estabilidade. Concentração = $6,0 \times 10^3$ pol./lagarta	33
2 Porcentagens de mortalidade de lagartas e de pupas para a suspensão de <i>Baculovirus anticarsia</i> utilizada no preparo das formulações óleo Emulsionável e Talco (PM) com vistas ao teste de estabilidade. Concentração = $1,0 \times 10^3$ pol./lagarta	34
3 Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i> pelos diferentes tratamentos, logo após o preparo da formulação	38
4 Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i> pelos diferentes tratamentos, após armazenagem, em condições ambiente, por 1 mês	39
5 Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i> pelos diferentes tratamentos, após armazenagem, em condições ambiente, por 6 meses	39
6 Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i> pelos diferentes tratamentos, após armazenagem, em condições ambiente, por 24 meses	40
7 Análise conjunta do efeito das épocas sobre a mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatilis</i> , em função dos diferentes tratamentos	41

Tabela	Página
8	Número de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> mortas pelas duas formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> armazenadas durante 29 meses. Campinas, 1989 42
9	Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> inoculadas com <i>Baculovirus anticarsia</i> formulado como óleo emulsionável. Campinas, 1989 . 44
10	Área foliar, em cm ² , consumida por lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> alimentadas, durante dezesete horas, com folhas de soja tratadas com três preparações de <i>Baculovirus anticarsia</i> em teste de livre escolha 46
11	Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> para formulações recém preparadas de <i>Baculovirus anticarsia</i> , dos tipos pó molhável e óleo emulsionável 49
12	Mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> para formulações de <i>Baculovirus anticarsia</i> , dos tipos pó molhável e óleo emulsionável, após 12 meses de armazenamento 49
13	Efeito das épocas sobre a mortalidade de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> , em função dos diferentes tratamentos 50
14	Porcentagem de lagartas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> mortas pelo <i>Baculovirus anticarsia</i> em função da persistência de quatro preparações do patógeno sobre folhas de soja do cultivar IAC-12. Campinas, 1990 53

Tabela

Página

15	Dados climáticos obtidos durante o período de observação da persistência de atividade de quatro preparações de <i>Baculovirus anticarsia</i> sobre folhas de soja do cultivar IAC-12. Campinas, 1990	55
----	--	----

ESTUDO SOBRE FORMULAÇÕES DE *Baculovirus anticarsia*
EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO E CAMPO

Autor: ANTONIO BATISTA FILHO

Orientador: PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES

RESUMO

O objetivo do trabalho foi estudar a eficiência, a estabilidade e a persistência de três formulações de *Baculovirus anticarsia* preparadas no Centro Piloto de Formulações de Defensivos Agrícolas do Instituto Biológico de São Paulo, no controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*, Hübner, 1818. As formulações do tipo pó molhável (PM) foram preparadas mediante impregnações diretas (pulverização) das suspensões de poliedros de vírus em inertes de origem mineral (Leucita e Talco), enquanto a preparação do patógeno em óleo emulsionável foi obtida a partir da mistura da suspensão viral com óleo de soja. Os resultados evidenciaram a superioridade da formulação PM - Leucita, quando comparada à suspensão purificada do vírus. Quanto a estabilidade dessa formulação, não foi observada queda significativa de atividade durante os 6 primeiros meses de armazenamento enquanto que, no mesmo período, o patógeno na

forma de suspensões purificadas mostrou redução de 25% na eficiência. De forma similar, foi também estudada, em condições de laboratório, a estabilidade das formulações de *B. anticarsia* (PMD - Talco e Óleo Emulsionável (OE). Para a formulação Pós-Molhável, não foi observada queda significativa de atividade ao longo de 12 meses. No caso do material formulado em óleo vegetal, a perda de viabilidade, nesse mesmo período, alcançou mais de 50%. A proteção contra a radiação solar, conferida ao vírus pelas formulações PM - Leucita e OE-óleo de soja, foi avaliada após 1, 2, 7 e 14 dias de exposição das plantas de soja à radiação solar. Leucita manteve a atividade do patógeno por um período superior ao observado para as demais preparações.

STUDY ON FORMULATIONS OF *Baculovirus anticarsia*
IN LABORATORY AND FIELD CONDITIONS

Author: ANTONIO BATISTA FILHO

Adviser: PROF. DR. SÉRGIO BATISTA ALVES

SUMMARY

The purpose of the work was to study the efficiency, the stability and the persistence of three formulations of *Baculovirus anticarsia*, produced by Pilot Center for Formulations of the Biological Institute in the Control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818. Two wettable powder formulations were prepared with Leucite and Talcum and another, where the pathogen was mixed with soybean oil. The results showed the superiority of the Leucite formulation, when compared to purified suspensions of the virus. Regarding the stability, that formulation (WP) maintained the activity during the first 6 months of storing, whereas in the same period, the pathogen as purified suspension presented reduction of 25% in efficiency. In a similar way, it was also studied, in laboratory conditions, the stability of *B. anticarsia* (WP) - Talcum and *B. anticarsia* (EO) - soybean oil. The pathogen,

formulated as wettable powder (Talcum), did not present significant decrease of activity throughout the 12 months, while the soybean oil lost more than 50% of viability. The protection against solar radiation, conferred by formulations (Wp)-Leucite and (EO) - Soybean oil, was evaluated after the 1st, 2nd, 7th and 14th days of soybean plants exposition to solar radiation. The pathogen, with Leucite, maintained its activity in higher levels than the ones observed for the other preparations.

1. INTRODUÇÃO

Os problemas que provocam quebras na produção de alimentos, ocasionam sérias preocupações aos governantes em todo o mundo, dada a crescente demanda em função do aumento vertiginoso da população mundial. Essa situação exige que, cada vez mais, desenvolvam-se técnicas que permitam incrementar a produtividade agropecuária, em particular o suprimento de alimentos proteicos. Nesse sentido, a cultura da soja destaca-se como uma das alternativas capazes de contribuir na solução do problema.

A produção mundial dessa leguminosa teve significativa expansão neste século, principalmente nos últimos 20 anos, com destaque para a liderança dos Estados Unidos da América. A partir da década de 70, o Brasil vem se firmando como grande produtor de soja, tendo alcançado a posição de segundo produtor mundial, graças a ampliação da área cultivada e ao aumento da produtividade. A participação das indústrias de óleos comestíveis interessadas no abastecimento de matéria prima, a rotação trigo com soja e o preço favorável no mercado interno e externo foram fatores decisivos para a expansão da soja no Brasil. Ressalte-se, ainda, que as pesquisas sobre genética e melhoramento também contribuíram muito, face a obtenção de linhagens produtivas,

com elevada produção de óleo e proteína, adaptadas às várias condições ecológicas existentes no País. Os estudos sobre exigências nutricionais, calagem e adubação, controle de ervas daninhas, doenças e pragas vêm complementando o conjunto de exigências necessárias ao aumento da produtividade.

Com relação às pesquisas entomológicas, elas vem sendo incrementadas há cerca de vinte anos, principalmente com o desenvolvimento de programas de manejo integrado de pragas. Atualmente, a literatura nacional é rica em publicações sobre época de ocorrência de insetos pragas, biologia e comportamento dessa espécie, nível de controle e de dano econômico, produção massal de inimigos naturais, métodos de controle alternativos, etc. Essas informações estão voltadas, principalmente, para as principais pragas da cultura, entre as quais *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818, conhecida como a lagarta da soja, e considerado o principal inseto desfolhador da cultura. Na década de 80, considerável quantidade de dados sobre o vírus da poliedrose nuclear de *A. gemmatilis* tem mostrado alta eficiência do patógeno no controle da praga em condições de campo, com resultados comparáveis àqueles obtidos com inseticidas químicos.

Identificado como *Baculovirus anticarsia*, esse agente de controle natural é preparado de forma extremamente simples e que consiste na maceração em água e posterior coagulação de 50 lagartas ($\geq 2,5$ cm de comprimento) contaminadas pelo vírus, o que corresponde à dose para aplicação em um hectare de cultura de soja.

Apesar de ser simples, eficiente e econômica, essa técnica apresenta uma grande limitação já que as lagartas, quando armazenadas, necessitam de refrigeração, sem a qual pode ocorrer o desenvolvimento de grande quantidade de microrganismo, os quais comprometem a eficiência do vírus. Em vista disso, os especialistas têm se preocupado em desenvolver formulações de inseticidas microbianos que sejam práticas, econômicas e estáveis.

O presente trabalho teve por objetivo estudar a eficiência, a estabilidade e a persistência de três formulações de *B. anticarsia* produzidas pelo Instituto Biológico, órgão da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae), é considerada a principal praga desfolhadora dessa cultura. No Brasil, lagartas dessa espécie já foram encontradas alimentando-se em folhas de alfafa, amendoim, arroz, cudzu, ervilha, feijoeiro comum, fava, feijão de porco e mucuna (SILVA *et alii*, 1968; GALLO *et alii*, 1978).

Diversos trabalhos sobre a biologia, época de ocorrência e nível de dano econômico dessa praga estão sumarizados em PANIZZI (1980) e RAMIRO (1986).

O controle microbiano desse inseto representa uma alternativa segura e eficiente e que vem de encontro aos princípios do manejo integrado de pragas (BATISTA FILHO & CRUZ, 1988). Nesse sentido, a utilização de formulações comerciais de *Bacillus thuringiensis* tem se mostrado eficiente no combate a *A. gemmatalis* (SILVA & HEINRICHS, 1975; MOSCARDI, 1984; HABIB & AMARAL, 1985).

Entre os patógenos que atacam a lagarta da soja, o fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Sanson tem sido frequentemente detectado, em condições naturais, reduzindo drasticamente populações do inseto (CARNER *et alii* 1975;

HEINRICHS *et alii*, 1979; HOFFMANN *et alii*, 1979; RAMIRO *et alii*, 1984).

Diversos pesquisadores (SPRENKEL & BROOKS, 1975; IGNOFFO *et alii*, 1976b; IGNOFFO, 1981) estudaram a eficiência de *N.rileyi* como um inseticida microbiano.

Na década de 70, outro patógeno mostrou-se efetivo como agente de controle microbiano da lagarta da soja. A partir de exemplares de *A.gemmatalis*, coletados em Chapecó, Santa Catarina, Brasil, (CARNER & TURNIPSEED, 1977) isolaram um vírus que foi submetido a exame em microscópio eletrônico. A análise estrutural confirmou a presença de corpos de inclusão de um vírus de poliedrose nuclear (VPN) e os estudos de infectividade revelaram o patógeno como um eficiente agente de controle natural, principalmente quando utilizado em concentrações acima de 49 EL/ha.

Posteriormente, CARNER *et alii* (1979) demonstraram que a virulência desse vírus, em hospedeiros alternativos, foi significativamente menor que o relatado para *A.gemmatalis*.

Segundo PAVAN *et alii* (1981) a parcial resistência exibida por tais hospedeiros alternativos, poderia ser reflexo da heterogeneidade do vírus ou das populações dos hospedeiros.

Considerações sobre o modo de ação, disseminação, isolamento e purificação do vírus são encontrados em ALVES (1986a) e ALVES (1986b).

STEINHAUS (1949) fez uma revisão sobre as infecções provocadas por vírus de poliedrose em diferentes ordens da classe Insecta, principalmente Lepidoptera, onde o autor relata a suscetibilidade de diferentes famílias ao patógeno.

Os entomovírus, especialmente poliedroses nucleares (VPN) e granuloses (VG), apresentam alto potencial para uso como bio-inseticidas, notadamente pela elevada eficiência e seletividade aos inimigos naturais. Constituem-se em importantes ferramentas, quando considerados em programas alternativos de controle de pragas. O grande obstáculo para o desenvolvimento de inseticidas virais tem sido a necessidade da produção "in vivo". Segundo DeBACH (1964) a produção de vírus da poliedrose nuclear "in vitro" é possível, mas os métodos não são ainda adequados para a produção em larga escala.

PAVAN (1986) ressaltou, ainda, que a produção de células é restrita a uns poucos vírus, ineficiente e de custo mais elevado. Por outro lado, a produção em insetos vivos, devido ao fato de não poder representar uma operação muito vantajada, não consegue ser automatizada, e implica numa enorme demanda de mão de obra na produção de insetos.

Atualmente, lança-se mão de criação de lagartas, em condições de laboratório, seguido da inoculação viral através da alimentação. Nessa linha, foram desenvolvidos métodos eficientes para a produção massal do vírus de poliedrose nuclear de *Lymantria dispar* (L.). SHAPIRO et alii

(1981), inocularam as larvas de 5.^o instar com o patógeno e mantiveram-nas à temperatura de 29°C, até que 75% dos insetos morressem. As lagartas foram então congeladas (-20°C) por 18 horas, liofilizadas e transferidas para um outro aparelho. A fase final do sistema de produção envolveu a moagem de larvas liofilizadas para obter o vírus em pó.

Um vírus de granulose vem sendo produzido, em laboratório, sobre lagartas da broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*. A partir das lagartas infectadas, o vírus é purificado por meio de centrifugação a baixo e alta velocidade e os cristais obtidos submetidos ao controle de qualidade (PAVAN & BOTELHO, 1982).

MOSCARDI *et alii* (1986), procurando determinar os parâmetros e condições apropriadas para um máximo rendimento e minimização dos custos, com vistas a produção massal de *Baculovirus anticarsia* em laboratório, concluíram que a população de 25 lagartas por copo de papel parafinado forneceu os melhores resultados quanto à produção de vírus, sendo que as lagartas inoculadas no início do 5.^o instar ($\pm 2,0$ cm), proporcionaram os maiores números de lagartas mortas pelo vírus, maiores pesos de lagartas mortas e maiores produções de poliedros do vírus por copo.

Outra técnica experimentada, e que visa reduzir os custos, é a multiplicação do vírus a nível de campo, em telados ou em lavouras extensivas. Dessa forma, para aumentar a produção do patógeno, por unidade de área, o vírus pode ser aplicado sobre populações de lagartas de *A.*

gemmatalis de comprimento maior que o recomendado para o nível de controle, portanto lagartas com pouco mais de 1,5 cm (MOSCARDI, 1983).

Segundo BATISTA FILHO (1986), a produção massal de vírus, a nível de campo, deve observar rigoroso controle de qualidade, para que material estranho não venha, erroneamente, a ser armazenado, comprometendo o programa de controle biológico.

Com relação a esse aspecto, ALVES (1986a) advertiu que os insetos utilizados para a produção de vírus deveriam ser criados em laboratório, procurando-se evitar a utilização de indivíduos provenientes do campo, que poderiam ser portadores de outras doenças e assim comprometeriam a qualidade do patógeno produzido.

As formulações e métodos de aplicação de inseticidas a base de vírus são provavelmente mais críticos quando comparados aos produtos químicos. O vírus deve permanecer viável até ser ingerido para que possa atuar convenientemente. Por economia e razões técnicas, inseticidas microbianos têm desenvolvido uma linha de processamento semelhante a das preparações químicas convencionais (ANGUS & LUTHY, 1971).

Os inseticidas químicos são formulados de várias maneiras, incluindo soluções, concentrados emulsionáveis, pós-molháveis, pós-secos, granulos e iscas. Segundo SHERMAN (1985), formulações pós-molháveis, pós-secos ou iscas são mais aplicáveis para o grupo dos *Baculovirus*. Res-

salta ainda que, para a formulação comercial ser viável, o produto desenvolvido deve ser facilmente distribuído em condições de campo, preferencialmente utilizando técnicas e métodos existentes, além de possuir o nível de atividade padronizado.

COUCH & IGNOFFO (1981) alertaram que, no desenvolvimento de formulações de entomopatógenos, a pesquisa deve orientar-se para a manutenção da viabilidade e virulência do microrganismo durante o processo de produção e obter um produto que preserve ou aumente essas propriedades. Os estudos devem considerar os efeitos da temperatura, da umidade, do inerte e a estabilidade do patógeno antes e depois que ele alcança o agroecossistema. Destacaram ainda que, com relação a estabilidade, o inseticida microbiano deve permanecer viável por, pelo menos, 18 meses, quando armazenado em condições ambiente.

Preparações de vírus formulado tem sido aplicadas isoladamente ou em combinações com inseticidas químicos compatíveis, por meio de equipamentos convencionais; alternativamente eles podem ser usados antes ou após as aplicações de tais inseticidas. Contudo, formulações mais adequadas, métodos de ^haplicação e equipamentos devem ser desenvolvidos (JOINT FAO/WHO MEETING ON INSECT VIRUSES, 1973; RICHTER & FUXA, 1984).

Inúmeros estudos de persistência com o VPN de *Heliothis zea* (BULLOCK, 1967; DAVID *et alii*, 1968; IGNOFF & BATZER, 1971; JAQUES, 1971, YOUNG & YEARIAN, 1974) têm de-

monstrado que a radiação ultravioleta parece ser a principal fonte de inativação do patógeno a nível de campo, embora outros fatores tais como o pH da folhagem da cultura e a temperatura possam estar envolvidos (GUDAUSKAS & CANERDAY, 1968; YOUNG *et alii*, 1977).

Com relação ao pH da folhagem, ANDREWS & SIKOROWSKI (1973) observaram que o orvalho depositado sobre as folhas de algodão possui pH alcalino (8,2 a 9,1) e que a exposição do *Baculovirus heliothis* ao orvalho da folha resultou em perda da atividade do vírus.

O pH do solo também influi na persistência do vírus. THOMAS *et alii* (1973) observaram que os solos de pH baixo inativaram mais rapidamente o VPN de *Trichoplusia ni*, quando comparados a solos aproximadamente neutros.

IGNOFFO & MONTOYA (1966) demonstraram que os defensivos químicos podem afetar a atividade do VPN de *Heliothis*. Entre 5 inseticidas testados, o paration metílico mostrou-se incompatível com o vírus.

Por outro lado, LEITE & MOSCARDI (1986a) relataram que não houve redução da atividade do *B. anticarsia*, quando submetido a misturas com os inseticidas carbaril, clorpirifós etil, endosulfan, metil paration, profenofós e triclorfon.

Em condições de campo, LEITE *et alii* (1986b) concluíram ser possível a associação *B. anticarsia* com o profenofós, principalmente a 30 g i.a/ha.

Estudando, em condições de laboratório, o efeito dos inseticidas carbaril, diflubenzuron e endosulfan, OLIVEIRA *et alii* (1987) encontraram que nenhum inseticida afetou significativamente o tempo letal, mas sim a mortalidade total.

A eficiência do vírus de poliedrose nuclear (VPN) pode ser incrementada pela aplicação ou formulação do patógeno com adjuvantes que atuem como protetor de radiação solar, estimulante olfativo e retardante da evaporação (IGNOFFO *et alii*, 1976a). Estudando essas três características, os autores demonstraram que formulações contendo um adjuvante comercial, produzido pela SANDOZ, para uso com inseticidas microbianos, provaram ser de duas a onze vezes mais estáveis, contra a inativação solar, quando comparadas à preparações baseadas somente em água. O adjuvante também retardou a evaporação da mistura da água + *B. heliothis* e provocou aumento do consumo alimentar das larvas.

Técnicas envolvendo microencapsulação e protetores contra a radiação ultravioleta para o VPN de *Heliothis* foram estudadas por IGNOFFO & BATZER (1971). Combinações não encapsuladas de vírus + carbono foram tão eficientes quanto combinações encapsuladas de vírus + carbono.

Por outro lado Bull (1978)¹, citado por COUCH & IGNOFFO (1981), mostrou que formulações encapsuladas foram superiores às formulações comerciais do VPN de *Heliothis*,

¹ BULL, D. L. Misc. Publ. Ent. Soc. Am., 10: 11-20, 1978.

com vistas a proteção contra a radiação ultravioleta, contudo a produção de algodão não foi diferente estatisticamente.

O conceito de encapsular um patógeno de inseto não é novo. Praticamente o processo de encapsulação de um microrganismo é o mesmo utilizado na formulação de inseticidas, sendo que a manutenção da viabilidade dos esporos de *Bacillus thuringiensis* foi confirmada, em condições de laboratório e campo, por RAUN & JACKSON (1966).

ALVES (1986a) lembrou que as técnicas de encapsulação e microencapsulação poderão ser comuns para formulações de vírus e bactérias em futuro bem próximo.

SHAPIRO *et alii* (1983) procuraram determinar o efeito de radiação ultravioleta sobre a atividade biológica do vírus de poliedrose nuclear de *Lymantria dispar* (L.) e avaliar componentes, pertencentes a vários grupos químicos, como agente protetor a radiação ultravioleta.

Montoya *et alii*², citados por ANDREWS *et alii* (1975), testaram, em condições de campo, o *B. heliothis* formulado com um estimulante de alimentação (extrato de milho) e conseguiram incrementar a produção de algodão.

Em laboratório, ALLEN & PATE (1966) demonstraram que o vírus misturado com extrato de cabelo de milho aumentou a porcentagem de mortalidade de larvas de *Heliothis* quando comparado com a suspensão do patógeno em água.

² MONTOKA, E.L.; IGNOFFO, C.M.; MCGARR, R.L. A feeding stimulant to increase effectiveness of, and a field test with a nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 8: 320-4, 1966.

Guerra & Shaver³, citados por ANDREWS *et alii* (1975), evidenciaram que óleo não refinado de semente de algodão estimularam a alimentação de *H. zea* e *Heliothis virescens*.

Significativa redução na população de *H. zea* foi observada por McLAUGHLIN *et alii* (1971) em áreas tratadas com o VPN de *Heliothis*, formulado como iscas contendo óleo de semente de algodão.

Trabalhando com isca semelhante, ANDREWS *et alii* (1975) tiveram sucesso no controle de *H. virescens* e *H. zea*.

Estudos de laboratório e campo mostraram que adjuvantes, tais como sucrose e leite em pó, quando adicionados ao VPN de *Heliothis cunea*, resultaram em maior aumento de mortalidade, enquanto a adição de melão e farinha de semente de algodão não provocaram incremento da mortalidade (PRITCHETT *et alii*, 1980).

Em laboratório, SMITH *et alii* (1982) evidenciaram que a adição de soja, milho, componentes da semente de algodão e açúcares em formulações aquosas de *Baculovirus heliothis*, produziram significativamente maior mortalidade em larvas de *H. zea* (Boddie), quando comparada com a suspensão do vírus em água. Observaram também que as formulações que continham farinha de soja e óleo de soja ou farinha de

³ GUERRA, A.A. & SHAVER, T.N. Feeding stimulants from plants for larval of the tobacco budworm and bollworm. *Journal of Economic Entomology*, 62: 98-100, 1969.

milho e óleo de milho, produziram maior mortalidade das lagartas em relação às formulações compostas somente do correspondente óleo ou farinha.

Observações de POTTER & WATSON (1983a) indicaram ser o vegetal *Cicer arietinum* um promissor estimulante de alimentação para uso com o vírus de poliedrose nuclear de *H. virescens*.

Em condições de laboratório e casa de vegetação, POTTER & WATSON (1983b) observaram que preparações comerciais de *B. heliothis*, acrescidas de um adjuvante, baseado em sementes de algodão, foram mais eficientes no controle de *H. virescens* do que quando utilizou-se o vírus sozinho ou misturado com farinha de soja.

LUTTRELL et alii (1983) estudaram, em condições de laboratório e campo, o efeito de adjuvantes comerciais sobre a mortalidade e alimentação de larvas de *H. zea* e o efeito de tais produtos com relação a persistência do vírus. Em todos os testes, o inseticida microbiano Elcar (Sandoz, Inc., São Diego, Califórnia) serviu como fonte do VPN de *H. zea*. Os resultados indicaram que os adjuvantes testados aumentaram o consumo total de folhas tratadas com o vírus, contudo não influenciaram na mortalidade e não conseguiram prolongar a persistência do vírus quando submetido à radiação ultravioleta.

ALVES (1986a) ressaltou que a SANDOZ, indústria pioneira no lançamento de produtos à base de vírus, vem pesquisando a técnica do "Spray-dry". O produto formulado é

o Elcar à base do VPN de *Heliothis*, o qual apresenta um anti-evaporante e um agente protetor contra a luz ultravioleta.

Quanto aos produtos comerciais, as formulações de vírus mais conhecidas no mercado americano são Elcar e Biotrol-VHZ, recomendados para controle de diversas espécies de *Heliothis*. Ainda, nos Estados Unidos, foram registrados os *Baculovirus* de *Orygia pseudotsugata* e *Lymantria dispar*, este último também registrado na Rússia. O *Baculovirus* de *Heliothis zea* e de *Pieris rapae* já está em condições de ser comercializado na China (ALVES, 1986b).

Com relação ao Brasil, um vírus de poliedrose nuclear de *A. gemmatilis* foi detectado em 1972, a partir de lagartas coletadas em cultura de soja na região de Campinas, SP (ALLEN & KNELL, 1977). Posteriormente, CORSO *et alii* (1977) registraram a ocorrência desse patógeno na região sul do País.

Em 1979 foi iniciado, pelo Centro Nacional de Pesquisa de Soja - EMBRAPA, um programa para avaliar o potencial desse vírus no combate a lagarta da soja. Estudos de laboratório (MOSCARDI & CORSO, 1980; MOSCARDI & CORSO, 1981a) e de campo (MOSCARDI & CORSO, 1981b; MOSCARDI & CORSO, 1982) realizados no Estado do Paraná, evidenciaram o patógeno como excelente alternativa para o controle dessa praga. As pesquisas revelaram que a maior eficiência de controle foi conseguida quando a maioria das larvas presentes na lavoura encontrava-se nos três primeiros instares. Não foram constatadas diferenças entre áreas tratadas por vírus

e inseticidas. A dose de vírus usada foi de 50 Lagartas Equivalentes (LE)/ha, lagartas maiores que 2,5 cm de comprimento mortas pelo patógeno, o que corresponde a aproximadamente $6,5 \times 10^{10}$ poliedros/ha.

A partir desses estudos, o programa expandiu-se, com o agricultor multiplicando o patógeno e armazenando as lagartas infectadas a -20°C "freezer". Nessas condições, o estoque de lagarta necessita fundamentalmente de refrigeração, o que nem sempre é viável a nível de propriedade agrícola. Além da preservação, ressalte-se, ainda, que a falta de conhecimento tem levado, em muitos casos, a coleta e armazenamento de lagartas mortas por outras causas e não por vírus. Tendo em vista esses problemas, alguns trabalhos vem sendo conduzidos tendo por objetivo o desenvolvimento de formulações para *B. anticarsia*. Nesse sentido, MOSCARDI (1983), comparou a atividade do patógeno preparado de três formas, demonstrando que quando formulado com argila, o vírus persistiu, a campo, em níveis superiores a forma impura (maceração com água e coagem) e purificada.

O vírus na forma de pó molhável, obtido pelo processo de coprecipitação por lactose e acetona (MOSCARDI *et alii*, 1985) ou modificação deste método, levou ao desenvolvimento de uma formulação simples que vem sendo utilizada pelo sojicultor, a partir da safra 85/86.

BATISTA FILHO *et alii* (1985) evidenciaram, em condições de laboratório, que a presença de leite em pó, instantâneo e estéril, quando do processo de liofilização,

proporcionou maior efetividade do vírus, o que provocou mortalidade mais rápida de lagarta de *A.gemmatalis*. Os mesmos autores comprovaram, a nível de campo, a eficiência da formulação liofilizada (1988).

Em outro experimento de campo, BATISTA FILHO *et alii* (1986) avaliaram a eficiência do *B. anticarsia* formulado como pós molháveis. As amostras foram preparadas mediante impregnações diretas de suspensões de poliedros do vírus no inerte. Os inertes empregados foram a Diatomita e a Leucita, sendo esta última utilizada nas formas seca e úmida. Os resultados observados neste estudo evidenciaram a eficiência das formulações, não obstante a Leucita úmida ter apresentado problemas de uniformidade na formação da suspensão.

Em condições de campo, GOMEZ *et alii* (1987), no Mato Grosso do Sul, testaram, por via aérea, *B.anticarsia* com óleo de soja refinado e não refinado, obtendo, nos dois casos, excelente controle da lagarta da soja.

GOMEZ & RUMIATTO (1987) observaram a viabilidade do controle da praga em lavouras de grandes extensões, por via aérea, através do patógeno veiculado em óleo de soja refinado e não refinado e o melaço de cana-de-açúcar, constatando eficiência superior a 80%.

BATISTA FILHO & AUGUSTO (1987) estudaram, em condições de laboratório, a eficiência do *B.anticarsia* formulado sobre a lagarta da soja. A formulação consistiu de uma suspensão de poliedros acrescidos de óleo de soja refi-

nado, um agente emulsificante, um protetor contra radiação solar e água para completar o volume. Os resultados indicaram que o comportamento da emulsão, em termos de virulência, não foi afetado, pois foi observado 93,4% de mortalidade contra 86,7% do vírus purificado e 90% do vírus impuro.

Formulações de *B. antycarsia*, obtidas no CNPSo EMBRAPA por precipitação com acetona e lactose (PAL) ou por agitação com lactose foram testados, à campo, contra populações da lagarta de soja, obtendo-se controle adequado da praga, comparável ao observado com o vírus não formulado (impuro) (MOSCARDI & LEITE, 1989).

Segundo MOSCARDI *et alii* (1989), as formulações obtidas por mistura com lactose ou caolin, vêm sendo rotineiramente utilizadas pelo agricultor. Os mesmos autores estudaram a estabilidade dessas formulações em diferentes condições de armazenamento e concluíram que a atividade do vírus armazenado em condições ambiente foi mantida por apenas 4 meses, decrescendo rapidamente após esse período.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Purificação de *Baculovirus anticarsia*

A purificação do patógeno foi realizada nos laboratórios de Patologia de Insetos da Seção de Controle Biológico das Pragas do Instituto Biológico do Estado de São Paulo.

As suspensões puras do vírus foram obtidas à partir de lagartas de *Anticarsia gemmatilis*, coletadas em campos de soja da região de Campinas SP, e que apresentavam sintomas da doença.

Amostras dessas lagartas foram maceradas em água e homogeneizadas em agitador Orbital FANEM mod. 255 por 15 minutos. Em seguida, o material foi filtrado através de camadas de gaze pré-umedecida para retirar o material mais grosseiro. O caldo foi transferido para centrífugador FANEM mod. 204 NR e submetido a centrifugação diferencial (500G por 2 minutos e 1800G por 50 minutos). O precipitado obtido à velocidade de 1800G foi suspenso em água destilada estéril e analisado quanto a concentração e virulência.

A concentração de poliedros foi calculada passando a suspensão para uma câmara de Neubauer e fazendo as

observações em microscópios de rotina marca OLYMPUS com ocular 10 e objetiva 40.

A virulência foi avaliada através de bioensaios. Cerca de 40 lagartas de *A. gemmatilis*, com 1,3 cm de comprimento, foram tratadas com dieta artificial (GREENE *et alii*, 1976) contaminada pelo vírus. Como controle, foram consideradas 40 lagartas cuja a dieta foi umedecida com água destilada estéril. A suspensão do patógeno que serviu a produção da formulação pó molhável-Leucita foi testada na dose de $6,0 \times 10^3$ pol./inseto, enquanto que a suspensão preparada com vistas as formulações óleo emulsionável e pó molhável-Talco foi fornecida na concentração de $1,0 \times 10^3$ pol./inseto.

A inoculação dessas suspensões foi feita, com o auxílio de pipeta graduada, sobre a superfície de dieta artificial isenta de antibiótico e mantida em placas de Petri (42 mm de diâmetro). Em seguida, a suspensão viral foi distribuída uniformemente pela placa através da alça de Drygalski. Após seca, discos da dieta ($33,18 \text{ mm}^2$), contendo as concentrações pré-estabelecidas, foram retirados com auxílio de um vazador (METALIC)[®] e fornecidos, em pequenos frascos de vidro (capacidade 13,0 ml) fechados com tampas plásticas, a 1 lagarta da soja.

Após consumir a dieta, os insetos foram transferidos para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura) que continham dieta artificial acrescida de antibióticos. As observações foram conduzidas à temperatura de

$27^{\circ}\text{C} \pm 1$, umidade relativa de $65\% \pm 5$ e condições naturais de luminosidade.

Nas avaliações, feitas diariamente, foram consideradas a mortalidade por vírus, mortalidade por outras causas, pupas vivas e pupas mortas.

3.2. Formulações de *Baculovirus anticarsia*

A partir das suspensões purificadas, *B. anticarsia* foi formulado nos laboratórios do Centro Piloto de Formulações de Defensivos Agrícolas, Unidade do Instituto Biológico sediada na Estação Experimental de Campinas, SP., sob as formas de pó molhável e óleo emulsionável.

As formulações do tipo pó molhável foram preparadas mediante impregnações diretas (pulverização) das suspensões de poliedros em inertes de origem mineral. Após essa operação o material foi deixado secar à temperatura ambiente e, em seguida, submetido a moagem em moinho de martelo desprovido de peneira. Os inertes empregados nas formulações foram: Leucita finamente moída, fabricada pela Mineradora Corimbaba Ltda. e Talco, produzido pela Bemil Beneficiamento de Minérios Ltda.

A formulação do patógeno em óleo emulsionável foi preparada a partir da mistura da suspensão viral com óleo de soja refinado marca Ceres e acrescida do emulsificante marca Drewfax 309, fabricado pela Aquatec Química S/A e do protetor de radiação solar (glicerina), fabricada pela

Unilab. Após a mistura dos componentes, o material foi homogeneizado em um misturador/desintegrador marca SIL-VERSION.

Os veículos utilizados no processamento das formulações são de fácil obtenção e comumente empregados na produção de defensivos químicos.

As formulações processadas apresentaram as seguintes composições:

Formulação pó molhável (PM) - Leucita

Suspensão de poliedros de *Baculovirus anticarsia*.....100 ml
Leucita finamente moída.....500 g

Formulação pó molhável (PM) - Talco

Suspensão de poliedros de *Baculovirus anticarsia*.....100 ml
Talco.....500 g

Formulação óleo emulsionável (OE)

Suspensão de poliedros de *Baculovirus anticarsia*..... 20 g
óleo de soja refinado..... 50 g
Emulsificante..... 5 g
Glicerina..... 10 g
Água destilada q.s.p.....100 ml

3.3. Eficiência da formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD Leucita

A eficiência da formulação *B. anticarsia* (PMD - Leucita foi avaliada em condições de campo através de experimento conduzido na Fazenda Terra Viva, localizada em Santo Antonio de Posse, SP., nos meses de dezembro/88 e janeiro/89.

O ensaio foi instalado em cultura de soja, cultivar Paraná, sendo constituído pelos seguintes tratamentos: *B. anticarsia* (PMD; *B. anticarsia* purificado (suspensão de poliedros) e Testemunha (água de nascente).

As observações foram feitas em três áreas de 100 m², separadas entre si por 5 metros de bordadura. As duas áreas tratadas receberam, cada uma, os produtos na concentração de $5,0 \times 10^8$ poliedros, veiculados em 2 litros de água, fazendo-se a aplicação com pulverizador costal manual marca JACTO e a terceira área foi tratada somente com os 2 litros de água. As aplicações foram executadas por volta das 17:00 hs.

As avaliações foram realizadas em 15/12/88 (instalação do ensaio); 12/01/89 e 16/01/89, sendo considerados os seguintes parâmetros: porcentagem de desfolha, mediante estimativa visual; número de lagartas de *A. gemmatilis* pequenas (menores ou iguais a 1,5 cm de comprimento) e de lagartas grandes (maiores que 1,5 cm de comprimento).

Esses levantamentos foram executados em 4 pontos de cada área, através do "método do pano", que consiste em se colocar, sobre o solo e entre duas fileiras de soja, um pano branco com 1 metro de comprimento que recebe os insetos derrubados por agitação vigorosa das plantas das duas linhas.

3.4. Estabilidade da formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita em condições de laboratório)

O experimento consistiu de três tratamentos, a saber: *B. anticarsia* (PMD - Leucita; *B. anticarsia* purificado (suspensão purificada de poliedros de vírus em água destilada) e Testemunha (água destilada). Esses materiais foram acondicionados em frascos de vidro com capacidade 8,0 ml, vedados com tampa plástica, e armazenados em 05/agosto/1986 em um armário de madeira, abrigado da luz. Temperatura e umidade foram controladas com termohigrógrafo colocado no interior do armário.

Os testes de viabilidade do patógeno foram realizados em agosto/86 (na época da estocagem); setembro/86 (1 mês após o armazenamento); fevereiro/87 (6 meses após) e agosto/88 (24 meses após a estocagem). Nessas ocasiões eram tirados do depósito, e ao acaso, 3 frascos de cada tratamento; cada um dos quais se constituiu em material para uma repetição, sendo inoculado em 20 lagartas de *A. gemmatilis* com,

aproximadamente 1,3 cm de comprimento; perfazendo, portanto, um total de 60 lagartas por tratamento.

A técnica de inoculação consistiu em se aplicar com o auxílio de pipeta graduada, suspensões quantificadas dos diferentes tratamentos sobre a superfície de dieta artificial (GREENE *et alii*, 1976) isenta de antibiótico e mantida em placas de Petri (42 mm de diâmetro). Em seguida, a suspensão viral foi distribuída uniformemente pela placa através de alça de Drygalski. Após seca, discos de dieta ($33,18 \text{ mm}^2$), contendo aproximadamente $6,0 \times 10^3$ poliedros, foram retirados com auxílio de um vazador (METALIC) e fornecidos, em pequenos frascos de vidro (capacidade 13,0 ml) fechados com tampa plástica, a 1 lagarta da soja.

Uma vez constatado o consumo da dieta, os insetos foram transferidos para tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura) que continham aproximadamente 1/3 do volume ocupado com dieta artificial acrescida de antibióticos. Os tubos foram então marcados numericamente e mantidos sob condições de meio ambiente, sendo registradas, diariamente, a temperatura e a umidade ($27^\circ\text{C} \pm 1$ e UR = 65% ± 5). O fotoperíodo obedeceu as condições naturais de luminosidade.

As avaliações foram conduzidas diariamente até a morte das lagartas ou até que fosse atingida a fase pupal. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, considerando épocas como subparcelas. Para análise estatística, os dados de mortali-

dade por vírus foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ sendo feita análise de variância e teste de Tukey para médias de tratamentos, de época e da interação tratamentos x época.

3.5. Eficiência da formulação *Baculovirus anticarsia* (PM) - Leucita após armazenagem de 29 meses

Com o objetivo de se constatar a eficiência da formulação armazenada por 29 meses nas condições descritas no item 3.4., foi conduzido um teste de campo na Estação Experimental de Campinas do Instituto Biológico em janeiro/89.

Os três tratamentos (*B. anticarsia* PM; *B. anticarsia* purificado e Testemunha) foram estudados em 3 áreas de 6 m² formadas com soja, cultivar IAC-8. As pulverizações foram realizadas às 7:00 hrs., usando um pulverizador costal manual marca BRUDDEN Ps. A concentração do patógeno foi de $1,0 \times 10^8$ poliedros/6 m², veiculados em 0,5 l de água destilada.

Decorridas 2 horas da pulverização, foram coletadas, em cada área, folhas de soja do terço apical da planta, que foram transportadas para laboratório onde serviram de alimentação às lagartas de *A. gemmatilis* com 1,3 cm de comprimento, provenientes de criação em meio artificial. Para cada tratamento foram utilizadas 60 lagartas distribuídas em 3 repetições de 20 insetos.

As lagartas, individualizadas em tubos de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura), tamponados

com algodão hidrófobo, receberam um folíolo tratado e após consumi-lo integralmente foram alimentadas com folíolos de campo não tratado.

O ensaio foi conduzido a temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 1$; UR = $70\% \pm 2$ e luz natural, sendo que metodologia de avaliação baseou-se no número de insetos mortos pelo vírus, que serviu para calcular a porcentagem de mortalidade. Para efeito de análise estatística, os dados originais foram transformados em $\sqrt{x + 1}$ e submetidos a análise de variância e teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

3.6. Eficiência da formulação *Baculovirus anticarsia* óleo emulsionável (OE)

Com o objetivo de avaliar a eficiência do *B. anticarsia* formulado com óleo vegetal (soja), foram marcadas 3 áreas de soja, com o cultivar IAC-8, na Estação Experimental de Campinas do Instituto Biológico, em fevereiro de 1989. Cada área foi constituída de 6 m^2 de cultura, separadas entre si por 1,5 m de bordadura, também formadas com fileiras da leguminosa.

Os tratamentos foram assim constituídos: *B. anticarsia* formulado como óleo emulsionável (*B. anticarsia* OE); *B. anticarsia* purificado (suspensão de poliedros do vírus em água destilada) e a Testemunha (água destilada). As pulverizações foram realizadas às 7:00 hrs., através de pulverizador costal manual marca BRUDDEN Ps na

concentração de $2,0 \times 10^8$ poliedros/ 8 m^2 , veiculados em 0,5 l. de água destilada. A Testemunha recebeu apenas água.

Decorridas duas horas após o início da pulverização, folhas do terço superior da planta foram coletadas em cada área, e encaminhadas ao Laboratório de Patologia de Insetos da Seção de Controle Biológico das Pragas onde eram fornecidas a lagartas de *A. gemmatilis* com 1,3 cm de comprimento. Para cada tratamento foram consideradas 80 lagartas, distribuídas em 4 repetições de 20 insetos. Cada inseto, individualizado em tubo de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura), tamponado com algodão hidrófobo, recebeu um folíolo tratado com aproximadamente a mesma área foliar.

Uma vez consumido os folíolos tratados, a reposição do alimento foi realizada utilizando-se de folíolos de soja provenientes de área não tratada, cultivada próxima ao campo experimental. Esses folíolos, coletados diariamente, foram submetidos a lavagem em água corrente e depois em água destilada, deixados secar em papel toalha e só então servidos aos insetos. Tal procedimento teve como objetivo evitar casos de contaminações, principalmente pelo fungo *Nomuraea rileyi*.

O ensaio foi conduzido em condições de meio ambiente ($T: 26^\circ\text{C} \pm 1$; $UR = 70\% \pm 3$) e fotoperíodo natural. Nas avaliações, feitas diariamente, foi considerada a mortalidade por vírus, sendo os dados transformados em $\sqrt{x + 1}$ e submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey.

3.7. Consumo de área foliar pelas lagartas alimentadas com as formulações de *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita e *Baculovirus anticarsia* (OE)

Este teste, realizado em março de 1989, teve por objetivo avaliar a preferência de *A. gemmatilis* por folíolos de soja tratados com *B. anticarsia* (PMD - Leucita; *B. anticarsia* OE; *B. anticarsia* purificado (suspensão de poliedros de vírus em água destilada) e Testemunha (água destilada).

Com esse fim, foram coletados folíolos de soja, cultivar IAC-8, de plantas com trinta dias, contados a partir da germinação. Em laboratório, o material foi tratado, via imersão, com suspensões diluídas das diferentes formulações e também com água destilada (Controle).

Os folíolos, com aproximadamente $3,16 \text{ cm}^2$, permaneceram submersos por 30 segundos, após o que foram deixados secar sobre folhas de papel toalha. Em seguida, foram distribuídos em seis placas de Petri (15,0 cm de diâmetro) cuja base encontrava-se revestida por uma camada de isopor a fim de permitir a fixação dos folíolos através de alfinetes. Cada placa recebeu quatro folíolos, correspondentes aos quatro tratamentos, distribuídos de maneira equidistante e ao acaso. Também, em cada placa, foram liberadas quatro lagartas de *A. gemmatilis* com cerca de 1,5 cm de comprimento.

O ensaio foi conduzido à temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 1$; umidade relativa de $70\% \pm 5$ e fotoperíodo natural. As avaliações foram realizadas após dezessete horas de iniciada a alimentação e se basearam na área foliar consumida (cm^2). O delineamento estatístico adotado para interpretar o experimento foi o inteiramente ao acaso, com 4 tratamentos e 6 repetições. Os dados de consumo foram submetidos a análise de variância e confronto das médias pelo teste de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5% de probabilidade.

3.8. Estabilidade das formulações de *Baculovirus anticarsia* óleo emulsionável (OE) e pó molhável (PM) - Talco em condições de laboratório

Nesse ensaio foram considerados quatro tratamentos, a saber: *B. anticarsia* óleo emulsionável (OE); *B. anticarsia* (PM) - Talco; *B. anticarsia* purificado (suspensão purificada de poliedros de vírus em água destilada) e Testemunha (água destilada). Os tratamentos foram acondicionados em frascos de vidro (capacidade 8,0 ml), lacrados com tampa plástica e armazenados em 21/06/1988 em um armário de madeira, no interior do qual um termohigrógrafo registrava a temperatura e umidade.

Os testes de viabilidade do patógeno foram realizados na época da estocagem (junho/88) e aproximadamente 12 meses após o armazenamento (10/07/89). Nessas ocasiões, eram retirados do armário, ao acaso, 4 frascos de cada tratamento; cada um dos quais forneceram material para

uma repetição, sendo inoculado em 20 lagartas de *A. gemmatilis* com cerca de 1,3 cm de comprimento; perfazendo, portanto, um total de 80 lagartas por tratamento.

A metodologia, técnica de inoculação, delineamento experimental, parâmetros de avaliação e análise estatística foram idênticos aos descritos no item 3.4., com exceção da concentração do patógeno fornecido por lagarta, que passou a ser de $1,0 \times 10^3$ poliedros. O ensaio foi conduzido à temperatura de $27^\circ\text{C} \pm 1$; UR = $65\% \pm 5$ e luz natural.

3.9. Persistência de quatro preparações de *Baculovirus anticarsia* sobre folhas de soja do cultivar IAC-12

A proteção contra a radiação solar, conferidas pelas formulações, foi avaliada em condições de campo. O teste foi instalado na Estação Experimental do Instituto Biológico, localizada em Campinas, SP, e consistiu de 5 tratamentos: a) *B. anticarsia* (PM) - Leucita; b) *B. anticarsia* (PM - Leucita + Espalhante adesivo⁴ (0,1%); c) *B. anticarsia* OE; d) *B. anticarsia* purificado e e) Testemunha.

Para a realização do experimento, foram marcadas 5 áreas, cada uma das quais formadas por 6 m² de cultura de soja, cultivar IAC-12, separadas entre si por 1,5 m de bordadura. As pulverizações foram feitas no dia 23 de janeiro de 1990 às 7:30 hrs., com o auxílio de pulverizador

⁴ AGRAL, S. ICI Brasil S. A.

costal marca BRUDDEN Ps na concentração de $2,0 \times 10^9$ poliedros/ 6 m^2 , veiculados em 0,5 l. de água destilada. A testemunha recebeu apenas água.

Decorridas, aproximadamente, 1:30 horas após o início da puerização, folhas do terço superior da planta foram coletadas em cada área, e encaminhadas ao laboratório de Patologia de Insetos da Seção de Controle Biológico das Pragas, onde eram fornecidas a lagartas de *A. gemmatilis* com 1,3 cm de comprimento. Para cada tratamento foram consideradas 22 lagartas. Cada inseto, individualizado em tubo de vidro (2,5 cm de diâmetro x 8,5 cm de altura), tamponado com algodão hidrófobo, recebeu um folíolo tratado com aproximadamente a mesma área foliar. Depois de 48 horas, as lagartas foram transferidas para tubos de vidro contendo dieta artificial e mantidas em condições controladas de laboratório ($T = 27^\circ\text{C} \pm 1$; $UR = 70\% \pm 5$; Fotofase = 10 horas).

Nos dias 24/01 (1 dia após a instalação do ensaio); 25/01 (2 dias após); 30/01 (7 dias após) e 06/02 (14 dias após), folíolos de soja foram novamente coletados nas áreas tratadas e repetido o mesmo procedimento em condições de laboratório. Durante esse período foi registrada a precipitação pluviométrica. Os dados referentes ao número de horas de insolação, temperaturas máxima, mínima, média e umidade relativa média foram obtidos junto a Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas.

As avaliações foram conduzidas diariamente e considerou a porcentagem de mortalidade por vírus.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Purificação de *Baculovirus anticarsia*

Foram calculadas as porcentagens de mortalidade de lagarta e pupas, causadas pelas suspensões de *B. anticarsia* que serviram ao preparo das diferentes formulações utilizadas nos testes de estabilidade (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 - Porcentagens de mortalidade de lagarta e de pupas para a suspensão de *Baculovirus anticarsia* utilizada no preparo da formulação Leucita (PMD) com vistas ao teste de estabilidade. Concentração = $6,0 \times 10^3$ pol./lagarta

TRATAMENTOS	MORTALIDADE (%)			
	LAGARTAS		PUPAS	
	VÍRUS	OUTRAS CAUSAS	VIVAS	MORTAS
<i>B. anticarsia</i>	100	0	0	0
Testemunha	0	5	95	0

Tabela 2 - Porcentagens de mortalidade de lagarta e de pupas para a suspensão de *Baculovirus anticarsia* utilizada no preparo das formulações óleo emulsionável e Talco (PM) com vistas ao teste de estabilidade. Concentração = $1,0 \times 10^3$ pol./lagarta

TRATAMENTOS	MORTALIDADE (%)			
	LAGARTAS		PUPAS	
	VÍRUS	OUTRAS CAUSAS	VIVAS	MORTAS
<i>B. anticarsia</i>	90	10	0	0
Testemunha	0	5	90	5

Os resultados evidenciam a alta viabilidade do material produzido. Foram obtidos níveis de mortalidade de 100% (Tabela 1) e 90% (Tabela 2) para as concentrações de maior e menor dose respectivamente. A suscetibilidade de *A. gemmatilis* às baixas doses do patógeno foram estudadas, no Brasil, por MOSCARDI & CORSO (1981c), que encontraram 84,1 e 100% de mortalidade para lagartas tratadas com 400 e 800 poliedros, respectivamente; enquanto que outras espécies de lepidópteros só foram infectadas por doses muito elevadas. Esses valores aproximam-se dos observados no experimento, principalmente se comparados com a preparação virótica empregada na concentração de 1000 poliedros/inseto, o que é importante, dadas as características da pesquisa. A baixa suscetibilidade de outras espécies de lagartas ao vírus de *A. gemmatilis* também foi demonstrada por CARNER *et alii*

(1979). Nesse sentido, os trabalhos de PAVAN & BOUCIAS (1981) ressaltaram a importância da definição da dosagem usada na análise da espectro de hospedeiros, além de sugerir a necessidade de maiores conhecimentos, quanto aos fatores envolvidos na resistência ou suscetibilidade de espécies aos vírus de insetos.

4.2. Eficiência da formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita

Foram registrados a flutuação populacional das lagartas de *A. gemmatilis*, pequenas e grandes, e o desfolhamento das plantas de soja em função dos tratamentos (Figura 1).

----- Testemunha — *B.anticarsia*(PM)L.
 — *B.anticarsia* purif.

36.

Figura 1 - Flutuação populacional de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* menores ou iguais a 1,5 cm de comprimento e desfolhamento de plantas em duas áreas tratadas e uma não tratada com formulações de *Baculovirus anticarsia*. Santo Antonio de Posse, 1989.

Observa-se que na área com *B. anticarsia* (PMD - Leucita, as populações de lagartas pequenas e grandes decresceram continuamente, enquanto que a desfolha teve um ligeiro aumento ao longo do teste, passando dos 12% registrados na amostragem inicial para 15% por ocasião das últimas avaliações (12/01 e 16/01). Com relação a área tratada com o vírus, na forma purificada, ficou evidenciada a tendência de crescimento da população de insetos até a avaliação do dia 12/01, que foi seguido por um declínio pronunciado. Contudo, a evolução da perda de área foliar foi sempre crescente, alcançando o índice de 45%, que é superior ao estabelecido pela pesquisa, como nível de controle (30%). A área Testemunha apresentou as mais elevadas concentrações de lagartas, nas diferentes épocas pós-aplicação, tendo alcançado o maior índice de desfolha (90%) (Figura 1).

Esses resultados são comparáveis aos dados obtidos por BATISTA FILHO *et alii* (1986) que, em condições de campo, constataram sensível redução no número de lagartas pequenas e grandes em áreas tratadas com o patógeno formulado em inertes minerais, entre os quais a Leucita, nas formas seca e úmida. Naquela ocasião, o nível de desfolha manteve-se entre 5 e 10% nas parcelas que receberam as formulações de *B. anticarsia* pó molhável, atingindo 100% na Testemunha.

A maior eficiência da formulação pó molhável, quando comparada a suspensões purificadas do vírus, pode estar relacionada com a proteção conferida pelo inerte, contra a desativação do patógeno pela radiação solar, prolongando,

dessa forma, sua persistência no campo. No mesmo sentido, MOSCARDI (1983) demonstrou que *B. anticarsia* purificado acrescido de um adjuvante protetor (argila) permaneceu sobre folhas de soja em níveis superiores as formas purificada e impura (obtida por simples maceração de lagartas mortas e coagem).

4.3. Estabilidade da formulação *B. anticarsia* (PMD - Leucita em condições de laboratório

Registrou-se a mortalidade de lagartas de *A. gemmatalis* observadas após 4 épocas (Tabelas 3, 4, 5 e 6).

Tabela 3 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* pelos diferentes tratamentos, logo após o preparo da formulação.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES			MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita	19	20	20	19,66 a	98,30
<i>B. anticarsia</i> purificado	20	20	20	20,00 a	100,00
Testemunha	0	0	0	0,00	0,00
CV%				1,09	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 4 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* pelos diferentes tratamentos, logo após armazenagem, em condições ambiente, por 1 mês.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES			MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita)	18	18	17	17,66 a	88,30
<i>B. anticarsia</i> purificado	19	19	20	19,33 a	96,65
Testemunha	0	0	0	0,00	0,00
CV%	1,63				

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 5 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* pelos diferentes tratamentos, logo após armazenagem, em condições ambiente, por 6 meses

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES			MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita)	15	18	15	16,00 a	80,00
<i>B. anticarsia</i> purificado	14	17	14	15,00 a	75,00
Testemunha	0	0	0	0,00	0,00
CV%	5,65				

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 6 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* pelos diferentes tratamentos, logo após armazenagem, em condições ambiente, por 24 meses.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES			MORTALIDADE MÉDIA	(1) PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita)	13	16	15	14,66 a	73,30
<i>B. anticarsia</i> purificado	12	10	13	11,66 a	58,30
Testemunha	0	3	1	1,33 b	6,65
CV%				11,20	

(1) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Constata-se que, nos 4 testes, não houve diferença significativa, ao nível de 1%, entre os tratamentos *B. anticarsia* (PMD - Leucita e *B. anticarsia* purificado, mas ambos diferem da Testemunha (Tabelas 3, 4, 5 e 6).

Tabela 7 - Análise conjunta de efeito das épocas sobre a mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis*, em função dos diferentes tratamentos.

ÉPOCA TRATAMENTOS	MORTALIDADE MÉDIA E RESPECTIVAS PORCENTAGENS ⁽¹⁾		
	<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita	<i>B. anticarsia</i> purificado	Testemunha
1.º (Teste inicial)	19,66 a (98,30%)	20,00 a (100,00%)	0,00 a (0,00%)
2.º (1 mês após)	17,66 a (88,30%)	19,33 ab (96,65%)	0,00 a (0,00%)
3.º (6 meses após)	16,00 ab (80,00%)	15,00 bc (75,00%)	0,00 a (0,00%)
4.º (24 meses após)	14,66 b (73,30%)	11,66 c (58,30%)	1,33 a (6,65%)
CV% (época) = 5,72		CV% (tratamentos) = 5,98	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Os dados obtidos, evidenciam que *B. anticarsia* (PMD - Leucita não apresentou queda significativa de viabilidade durante os 6 primeiros meses de armazenamento. De forma semelhante, MOSCARDI *et alii* (1989) observaram que o vírus formulado por mistura com lactose, quando armazenado em condições ambiente, manteve sua atividade por 4 meses. Para o patógeno purificado, aos 6 meses, já foi constatada, ao nível de 1% de probabilidade, redução de 25% na eficiência, enquanto que MOSCARDI *et alii* (1989) verificou, aos 7 meses, decréscimo de atividade de aproximadamente 50%. Aos 24 meses, as duas preparações revelaram perdas significativas quanto a eficiência do patógeno, principalmente em

relação ao vírus purificado, cuja redução de atividade foi de 41,70%. Cabe lembrar que embora sendo estatisticamente comprovado o decréscimo da viabilidade da formulação pó mo-lhável, o nível de controle obtido permaneceu ainda elevado (73,30%) (Tabela 7).

4.4. Eficiência da formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita após armazenagem de 29 meses

Foram anotados os dados relativos às porcen-tagens médias de mortalidade da praga quando alimentada com folha tratada no campo com a formulação *B. anticarsia* (PMD - Leucita e com *B. anticarsia* purificado, ambos com 29 meses de armazenamento (Tabela 8).

Tabela 8 - Número de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* mor-tas pelas duas formulações de *Baculovirus anti-carsia* armazenadas durante 29 meses. Campinas, 1989.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES			MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita	14	13	13	13,33 a	66,66
<i>B. anticarsia</i> purificado	9	9	11	9,66 a	48,33
Testemunha	0	2	3	1,66 b	8,33
CV%	11,07				

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Pode-se observar (Tabela 8) que os dois tratamentos à base do entomovírus não diferiram estatisticamente entre si, diferindo apenas da Testemunha. Contudo, *B. anticarsia* purificado não causou, sequer, 50% de mortalidade, enquanto o vírus formulado como pó molhável atingiu 66,66%. Esses valores de infecção foram baixos quando comparados ao encontrado por MOSCARDI (1983) que utilizando o vírus na forma impura (maceração de lagartas e coagem), recém preparado, na concentração de aproximadamente $6,5 \times 10^{10}$ pol./ha obteve, em condições de campo, eficiência superior a 80% para lagartas pequenas de *A. gemmatilis*; índice de controle considerado na prática como adequado para a proteção da cultura.

Esses resultados evidenciam a queda da viabilidade do patógeno, quando submetido ao armazenamento em condições ambiente, por longos períodos, da mesma forma que MOSCARDI *et alii* (1989) constataram acentuado decréscimo na atividade do *B. anticarsia* formulado por misturas com lactose ou caolin, após 7 meses de armazenamento à temperatura ambiente, quando o nível de infecção ficou próximo a 50%.

A mortalidade no tratamento Testemunha foi de 8,33%, o que pode ser explicado como decorrência de prováveis contaminações das folhas de soja por vias naturais, como por exemplo a disseminação do patógeno através de insetos predadores que tenham ingerido lagartas infectadas ou entrando em contato com o vírus depositado em partes da planta da soja, fato já registrado por POLLATO *et alii* (1987a e 1987b).

4.5. Eficiência da formulação *Baculovirus anticarsia* óleo emulsionável (OE)

Foram computados os totais de lagartas mortas obtidas no ensaio, bem como as médias de mortalidade e sua transformação em porcentagem (Tabela 9).

Tabela 9 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* inoculadas com *Baculovirus anticarsia* formulado como óleo emulsionável. Campinas, 1989.

TRATAMENTOS	VALORES REAIS POR REPETIÇÕES				MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º	4.º		
<i>B. anticarsia</i> (OE)	18	20	20	20	19,50 a	97,50
<i>B. anticarsia</i> purificado	20	18	20	20	19,50 a	97,50
Testemunha	0	1	1	2	1,00 b	5,00
CV%	5,62					

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Constata-se (Tabela 9) a manutenção da capacidade infectiva do vírus, a despeito de ter sido submetido às operações necessárias para a formulação do tipo óleo emulsionável. O índice de infecção foi alto (97,5%), idêntico ao observado no tratamento utilizado como padrão (suspensões purificadas de poliedros de *B. anticarsia*. A inclusão da glicerina, que é um agente protetor contra a radiação solar,

por não ter influenciado na ação do patógeno, abre perspectivas para o seu uso a nível de campo. Esse resultado confirma ensaio anterior realizado por BATISTA FILHO & AUGUSTO (1987) quando o patógeno assim formulado matou 93,4% da população de insetos. De maneira semelhante, SMITH *et alii* (1982) observaram que quando adicionavam óleo de soja a formulações de *Baculovirus heliothis* obtinham significativas mortalidades em larvas de *Heliothis zea* em condições de laboratório.

Em condições de campo, GOMEZ *et alii* (1987), no Mato Grosso do Sul, testaram, via área, *B. anticarsia* com óleo de soja refinado e não refinado, obtendo nos dois casos, excelente controle da lagarta da soja. Em outro trabalho, GOMEZ & RUMIATTO (1987) observaram a viabilidade do controle da praga em lavouras extensivas, via área, através do patógeno veiculado em óleo de soja refinado e não refinado e o melaço de cana-de-açúcar, constatando eficiência superior a 80%.

Com relação ao vírus purificado, a porcentagem de mortalidade (97,5%) está próxima da observada por MOSCARDI (1983) e que foi de 100% a partir de 800 poliedros por lagarta.

4.6. Consumo de área foliar pelas lagartas alimentadas com as formulações de *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita e *Baculovirus anticarsia* (OE)

Foram registrados os dados de consumo de área foliar, medidos em cm^2 , para as lagartas de *A. gemmatilis* submetidas a três preparações de *B. anticarsia* (Tabela 10) e os valores totais foram transformados em porcentagem (Figura 2).

Tabela 10 - Área foliar, em cm^2 , consumida por lagartas de *Anticarsia gemmatilis* alimentadas, durante dezesseis horas, com folhas de soja tratadas com três preparações de *Baculovirus anticarsia* em teste de livre escolha.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES						CONSUMO ⁽¹⁾ FOLIAR MÉDIO (cm^2)
	1.º	2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Leucita)	1,580	0,158	1,896	2,212	0,158	0,632	1,11 a
<i>B. anticarsia</i> (OE)	2,528	2,528	1,580	2,844	2,528	2,212	2,37 b
<i>B. anticarsia</i> purificado	2,528	1,580	2,528	3,002	2,212	2,212	2,34 b
Testemunha	3,160	3,002	1,896	2,844	2,212	2,212	2,55 b
CV%							29,21

(1) Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Figura 2 - Porcentagem de consumo de área foliar por lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas, durante dezessete horas, com folhas de soja tratadas com três preparações de *Baculovirus anticarsia* em teste de livre escolha.

Pelos resultados obtidos (Tabela 10), o tratamento *B. anticarsia* (PMD - Leucita diferiu dos demais tratamentos ao nível de 5% de probabilidade. Por sua vez, os tratamentos constituídos pelos insetos que receberam folhas tratadas com o patógeno, nas formas purificada e óleo emulsionável (OE), não diferiram significativamente da Testemunha. Ressalte-se ainda que, nesses três casos, o consumo médio de alimento duplicou, quando comparado ao vírus em pó. Essa diferença, provavelmente está relacionada com o inerte mineral Leucita, que em função de suas características, talvez não estimule a lagarta a prosseguir na alimentação ou mesmo, afete seu aparelho bucal e/ou tubo digestivo, tendo como consequência uma redução do consumo foliar.

4.7. Estabilidade das formulações do *Baculovirus anticarsia* óleo emulsionável (OE) e pó molhável (PMD - Talco em condições de laboratório

Foram registrados os dados de mortalidade obtidos quando da instalação do ensaio (Tabela 11) e após 12 meses de armazenamento das formulações em estudo (Tabela 12).

Tabela 11 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* para formulações recém preparadas de *Baculovirus anticarsia*, dos tipos pó molhável e óleo emulsionável.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES				MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º	4.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Talco	17	17	16	18	17,00 a	85,00
<i>B. anticarsia</i> (OE)	16	17	17	18	17,00 a	85,00
<i>B. anticarsia</i> purificado	15	15	17	18	16,25 a	81,25
Testemunha	0	0	0	0	0,00	0,00
CV%					3,31	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 12 - Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* para formulações de *Baculovirus anticarsia*, dos tipos pó molhável e óleo emulsionável, após 12 meses de armazenamento.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES				MORTALIDADE ⁽¹⁾ MÉDIA	PORCENTAGEM DE MORTALIDADE MÉDIA
	1.º	2.º	3.º	4.º		
<i>B. anticarsia</i> (PMD - Talco	10	16	16	15	14,25 a	71,25
<i>B. anticarsia</i> (OE)	7	7	7	10	7,75 a	38,75
<i>B. anticarsia</i> purificado	12	8	5	9	8,50 a	42,50
Testemunha	1	0	0	1	0,50 b	2,50
CV%					12,67	

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

A análise conjunta dos dados (Tabelas 11 e 12) é apresentada em termos das médias originais (Tabela 13). Para melhor visualização do efeito épocas, elaborou-se a Figura 3.

Tabela 13 - Efeito das épocas sobre a mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatilis*, em função dos diferentes tratamentos.

ÉPOCA TRATAMENTOS	MORTALIDADE MÉDIA E RESPECTIVAS PORCENTAGENS ⁽¹⁾			
	<i>B. antic.</i> (PMD Talco)	<i>B. antic.</i> (OE)	<i>B. antic.</i> purific.	Testem.
1.º (T. inic.)	17,00 a (85,00%)	17,00 a (85,00%)	16,25 a (81,25%)	0,00 a (0,00%)
2.º (12m. após)	14,25 a (71,25%)	7,75 b (38,75%)	8,50 b (42,50%)	0,50 a (2,50%)
CV% (épocas) = 5,72		CV% (tratamentos) = 8,78		

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade.

Figura 3 - Efeito da época sobre a mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* em função dos diferentes tratamentos.

O exame dos dados (Tabela 11), evidenciou a alta virulência das 3 preparações do *B. anticarsia*, com níveis de controle superiores a 80%, sendo que a análise estatística mostrou não haver diferenças significativas entre os tratamentos quando recém preparados. Por outro lado, observa-se na Tabela 12 que, após 12 meses, *B. anticarsia* (PMD - Talco ainda mantinha considerável atividade (71,25%), diferenciando das demais preparações que comportaram-se de forma semelhante, apresentando 38,75 e 42,50% de eficiência para *B. anticarsia* OE e *B. anticarsia* purificado, respectivamente.

Com relação ao efeito de épocas (Tabela 13), observa-se que a atividade do *B. anticarsia* (PMD - Talco não foi afetada, de forma significativa, após 12 meses de armazenagem, embora apresentando um decréscimo acima de 14%. As demais formulações tiveram acentuada queda de eficiência (Figura 3). Nas condições do experimento, a formulação pó molhável foi a que melhor preservou as características do patógeno ao longo do período estudado. Em trabalho similar, MOSCARDI *et alii* (1989) avaliaram a estabilidade do vírus formulado por mistura com lactose sob diferentes condições de armazenamento, concluindo que o patógeno teve sua atividade preservada durante todo o período do teste (11 meses), quando armazenado a -18°C . A 6°C , o vírus manteve sua atividade por 10 meses, apresentando decréscimo de 25% no 11^o mês. Sob condições de ambiente, a atividade foi mantida por apenas 4 meses, decrescendo rapidamente para níveis próximos a 50% aos 7 meses, e para 6% da atividade original no 11^o mês.

4.8. Persistência de quatro preparações de *Baculovirus anticarsia* sobre folhas de soja do cultivar IAC-12

Foram calculadas as porcentagens de lagartas de *A. gemmatalis* mortas por *B. anticarsia*, em função da persistência dos diferentes tipos de tratamentos (Tabela 14).

Tabela 14 - Porcentagem de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* mortas pelo *Baculovirus anticarsia* em função da persistência de quatro preparações do patógeno sobre folhas de soja do cultivar IAC-12. Campinas, 1990.

TRATAMENTOS	DIAS APÓS A APLICAÇÃO				
	0	1	2	7	15
<i>B. anticarsia</i> (PMD-Leucita)	100,0	95,5	95,5	50,0	32,0
<i>B. anticarsia</i> (PMD-Leucita+ Esp. Ades. 0,1%)	100,0	100,0	100,0	55,0	32,0
<i>B. anticarsia</i> (OE)	100,0	91,0	91,0	40,5	18,0
<i>B. anticarsia</i> purificado	100,0	86,5	55,0	36,5	18,0
Testemunha	0	0	0	18,0	18,0

Com base nos dados (Tabela 14), foi elaborada a Figura 4 que apresenta o comportamento das quatro preparações do patógeno durante o intervalo de 15 dias, bem como os registros do número de horas de insolação e da precipitação pluviométrica.

Figura 4 - Persistência de quatro preparações de *Baculovirus anticarsia* sobre folhas de soja do cultivar IAC-12. Campinas, 1990.

Com o objetivo de complementar as informações sobre o experimento, o conjunto dos dados climáticos obtidos durante o período de observação da persistência das diferentes preparações de *B. anticarsia* foram registrados (Tabela 15).

Tabela 15 - Dados climáticos obtidos durante o período de observação da persistência de atividade de quatro preparações de *Baculovirus anticarsia* sobre folhas de soja do cultivar IAC-12. Campinas, 1990.

DIAS APÓS APLICAÇÃO	HI (1)	UR (%) MÉDIA (2)	TEMPERATURA (°C)			PRECIPITAÇÃO (3)
			MAX	MIN	MÉDIA	
0	7,7	76,5	30,4	19,0	24,7	0,0
1	10,8	72,1	32,2	19,6	25,9	0,0
2	9,4	71,4	33,2	21,0	27,1	0,0
3	4,7	73,4	32,6	21,4	27,0	10,0
4	8,3	73,7	32,4	21,0	26,7	0,0
5	11,6	68,8	31,2	19,8	25,5	5,0
6	12,4	60,2	32,0	20,4	26,2	0,0
7	11,3	64,3	32,8	21,0	26,9	0,0
8	9,6	63,0	33,4	20,6	27,0	0,0
9	8,0	68,8	33,2	21,0	27,1	0,0
10	5,4	68,9	30,4	20,2	25,3	2,0
11	9,9	67,4	31,0	20,0	25,5	0,0
12	10,5	67,4	32,0	19,2	25,6	0,0
13	10,5	67,3	31,4	20,2	25,8	0,0
14	4,8	85,3	30,4	17,4	23,9	0,0
15	10,7	78,7	30,6	17,2	23,9	15,0
Média	9,1	70,5	31,8	19,9	25,9	2,0

Fonte: Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas

(1) Horas de Insolação

(2) Umidade Relativa

(3) Obtida na Estação Experimental de Campinas do Instituto Biológico.

Os resultados apresentados (Tabela 14 e Figura 4), evidenciaram que as formulações do patógeno com a Leucita mantiveram sua atividade em níveis superiores aos observados para as demais preparações. Ressalte-se, ainda, que a presença do espalhante adesivo na concentração de 0,1% proporcionou ligeiro acréscimo de eficiência, talvez em razão da menor perda mecânica, uma vez que, segundo BULLOCK (1967), espalhantes adesivos parecem prolongar o efeito residual. O *B. anticarsia*, formulado como óleo emulsionável (OE), apresentou entre o 1.º e o 2.º dia pós-aplicação, 91% de eficiência. O vírus purificado foi o tratamento mais sensível à radiação solar, mostrando já no 2.º dia de exposição uma queda de 45% na atividade.

No 7.º dia após a aplicação, a eficiência do patógeno decresceu para 50,0%; 55,0%; 40,5%; 36,5% e 18,0% para as preparações: (PM) - Leucita, (PM) - Leucita + espalhante adesivo 0,1%, OE, vírus purificado e Testemunha, respectivamente. Decorridos 15 dias das pulverizações, as formulações pós molháveis apresentavam 32% de atividade enquanto que os demais tratamentos apenas 18%. Com relação a Testemunha, esse nível de infecção foi, provavelmente, oriundo de contaminações das folhas de soja por diversos fatores, entre os quais a disseminação do patógeno através de insetos predadores. Convém lembrar que MOSCARDI (1983) observou que 6 dias após a aplicação, o *B. anticarsia* purificado foi mais sensível a desativação pela radiação solar que o vírus impuro (maceração de lagartas mortas e coagem) e

ao vírus purificado + adjuvante protetor (Cargila). Nesses casos foram obtidos, respectivamente, 25%, 60% e 80% de mortalidade. Também o mesmo autor constatou que aos 15 dias após a aplicação, todas as preparações apresentavam atividade inferior a 30%. Resultados semelhantes foram encontrados por SILVA (1987) para o vírus na forma impura. Neste caso, o autor demonstrou que o efeito residual foi superior a 55% até o 6.^o dia, mantendo-se ativo até o 10.^o dia, com mais de 10% de atividade.

A precipitação pluviométrica parece não ter influído, de modo decisivo, na persistência do patógeno, uma vez que no período compreendido entre o 1.^o e 2.^o dia após a aplicação das preparações, o vírus purificado teve acentuada queda de eficiência, que foi reduzida a quase 50% de sua atividade original (100%). Nos primeiros 2 dias não foi registrada a ocorrência de chuvas, o que pressupõe que a perda de atividade se deve, exclusivamente, a radiação solar (o números de horas de insolação foi de 10,8 para o 1.^o dia e 9,4 para o 2.^o dia). Também, OLIVEIRA & MOSCARDI (1984), estudaram a persistência de atividade de três patógenos da lagarta da soja, entre os quais *B. anticarsia*, e concluíram que a precipitação pluviométrica tem pouco influência sobre a manutenção desses entomopatógenos sobre as folhas da cultura, ao contrário da radiação solar. Essas informações coincidem com os estudos conduzidos por BULLOCK (1967) que, utilizando formulação comercial de vírus de poliedrose nuclear, aplicada sobre folhas de algodão, contra lagartas

de *Heliothis zea* e *H. virescens*, demonstrou que a maior parte de atividade viral foi perdida depois de 1 dia e que somente uma pequena atividade permaneceu no 2.º dia. Segundo o autor, a rápida queda na atividade não foi causada pelas chuvas, mas atribuída à luz ultravioleta os efeitos danosos à viabilidade do patógeno. Observações similares têm sido feitas para outros tipos de viroses de insetos (DAVID & GARDINER, 1966).

Considerando que, durante a primeira semana do teste, ocorreu uma média de aproximadamente 9,5 horas diárias de insolação, a manutenção da atividade, ao fim desse período, a níveis próximos de 50% para as formulações pós molháveis pode, segundo MOSCARDI (1983) ser considerada adequada, uma vez que ocorre uma reposição natural do vírus no ambiente, decorrente da morte das lagartas a partir do 5.º dia após a aplicação.

5. CONCLUSÕES

- a) A formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita apresenta alta eficiência no controle de *Anticarsia gemmatilis* em condições de campo.
- b) O óleo de soja na formulação *Baculovirus anticarsia* (OE) não afeta a atividade do vírus.
- c) A formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD - Leucita é mais estável que suspensões purificadas do patógeno, quando armazenadas em condições ambientais.
- d) A formulação *Baculovirus anticarsia* (PMD - Talco apresenta maior estabilidade que as preparações do vírus nas formas de óleo emulsionável e purificada.
- e) Há preferência alimentar da praga por folíolos de soja tratadas com o vírus formulado como óleo emulsionável.
- f) *Baculovirus anticarsia* quando formulado como Leucita ou óleo emulsionável tem sua atividade prolongada em condições de campo.

g) O espalhante adesivo não afeta a eficiência da formulação Leucita.

h) É possível elaborar uma formulação pó molhável de alta estabilidade, persistência e eficácia com *Baculovirus anticarsia* para o controle da *Anticarsia gemmatilis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, G.E. & KNELL, J.D. A nuclear polyhedrosis virus of the *Anticarsia gemmatilis*: I. Ultrastructure, replication, and pathogenicity. *Florida Entomologist*, Gainesville, 60(3): 233-40, 1977.
- ALLEN, G.E. & PATE, T.L. The potential role of a feeding stimulant used in combination with the nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 8(1): 129-31, 1966.
- ALVES, S.B. Produção de vírus, protozoários e nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B., coord. Controle microbiano de insetos. São Paulo, Ed. Manole, 1986a. p.324-32.
- ALVES, S.B. Vírus entomopatogênicos. In: ALVES, S.B., coord. Controle microbiano de insetos. São Paulo, Ed. Manole, 1986b. p.171-87.
- ANDREWS, G.L. & SIKOROWSKI, P.P. Effects of cotton leaf surface on the nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* and *Heliothis virescens* (Lep: Noctuidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 22(2): 290-91, 1973.
- ANDREWS, G.L.; HARRIS, F.A.; SIKOROWSKI, P.P.; McLAUGHLIN, R.E. Evaluation of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus in a cottonseed oil bait for control of *Heliothis virescens* and *H. zea* on cotton. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 68(1): 87-90, 1975.

- ANGUS, T.A. & LUTHY, P. Formulation of microbial insecticides. In: BURGESS, H.D. & HUSSEY, N.W. eds. *Microbial control of insects and mites*. London, Academic Press, 1971. p. 623-38.
- BATISTA FILHO, A. Produção massal de vírus entomopatogênicos. Campinas, SP, Instituto Biológico, Seção de Controle Biológico das pragas, 1986. 8 p. (Informação Técnica,12).
- BATISTA FILHO, A.; CRUZ, B.P.B.; OLIVEIRA, D.A. Estudos preliminares relacionados ao emprego da liofilização como processo de preservação de *Baculovirus anticarsia*. *Biológico*, São Paulo, 51(10): 263-9, 1985.
- BATISTA FILHO, A.; AUGUSTO, N.T.; CRUZ, B.P.B.; MACHADO, L.A. Utilização de *Baculovirus anticarsia* formulado como pós molháveis, no controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818, no campo. *Biológico*, São Paulo, 52(7/9): 75-8, 1986.
- BATISTA FILHO, A. & AUGUSTO, N.T. Eficiência do *Baculovirus anticarsia* formulado como óleo emulsionável, no controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818. *Biológico*, São Paulo, 53(7/12): 1-5, 1987.
- BATISTA FILHO, A. & CRUZ B.P.B. Controle microbiano das pragas da soja. In: CRUZ, B.P.B. ed. *Pragas das culturas e controle biológico*. Campinas, Fundação Cargill, 1988. p. 61-7.
- BATISTA FILHO, A.; CRUZ, B.P.B.; OLIVEIRA, D.A. Observações sobre a ação do *Baculovirus anticarsia* liofilizado, em condições de campo. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 1., São Paulo, 1988. Resumos. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 55 (supl.): 78, 1988.

- BULLOCK, H.R. Persistence of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus on cotton foliage. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 9(3): 434-36, 1967.
- CARNER, G.R.; SHEPARD, M.; TURNIPSEED, S.G. Disease incidence in lepidopterous pests of soybeans. *Journal of the Georgia Entomological Society*, Tifton, 10(2): 99-105, 1975.
- CARNER, G.R. & TURNIPSEED, S.G. Potencial of a nuclear polyhedrosis virus for control of the velvetbean caterpillar in soybean. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 70(5): 608-10, 1977.
- CARNER, G.R.; HUDSON, J.S.; BARNET, O.W. The infectivity of a nuclear polyhedrosis virus of the velvetbean caterpillar for eight Noctuidae hosts. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 33(1): 211-16, 1979.
- CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B.de; GATTI, I.M. Ocorrência de poliedrose nuclear em *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 na região sul do Brasil. *Anais da Sociedade Entomologica Brasileira*, Jaboticabal, 6(2): 312-4, 1977.
- COUCH, T.L. & IGNOFFO, C.M. Formulation of insect pathogens. In: BURGESS, H.D. ed. *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. New York, Academic Press, 1981. p. 621-33.
- DAVID, W.A.L. & GARDINER, B.O.C. Persistence of a granulosis virus of *Pieris brassicae* on cabbage leaves. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 8(1): 180-3, 1966.
- DAVID, W.A.L.; GARDINER, B.O.C.; WOLLMER, M. The effects of sunlight on a purified granulosis virus of *Pieris brassicae* applied to cabbage leaves. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 11(3): 496-501, 1968.

- DeBACH, P. ed. Biological control of insect pests and weeds. London, William Claves, 1964. 844 p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B. Manual de entomologia agrícola. São Paulo Ed. Agronômica Ceres, 1978. 531 p.
- GOMEZ, S.A.; GOMES, V.; RUMIATTO, M. Campos pilotos sobre aplicação aérea de *Baculovirus anticarsia* com óleo de soja, em baixa vazão, para o controle da lagarta da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas, 1987. Resumos. Campinas, 1987. p. 152.
- GOMEZ, S.A. & RUMIATTO, M. Controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, com *Baculovirus anticarsia* aplicado, via aérea, com óleo de soja e melado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas, 1987. Resumos, Campinas, 1987. p. 153.
- GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.D. Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 69(4): 487-88, 1976.
- GUDAUSKAS, R.T. & CANERDAY, D. The effect of heat, buffer salt and H-ion concentration, and ultraviolet light on the infectivity of *Heliothis* and *Trichoplusia* nuclear-polyhedrosis viruses. *Journal of invertebrate Pathology*, New York, 12(3): 405-11, 1968.
- HABIB, M.E.M. & AMARAL, M.E.C. Aerial application of *Bacillus thuringiensis* against the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, in soybean fields. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, 60(2): 141-9, 1985.

- HEINRICHS, E. A. ; GASTAL, H. A. O. ; GALILEO, M. H. M. Incidence of natural control agents of the velvetbean caterpillar and response of its predators to insecticide treatments in brazilian soybean fields. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasilia, 14(1): 79-87, 1979.
- HOFFMANN, C. B. ; FOERSTER, L. A. ; NEWMAN, G. C. Incidência estacional de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson em *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Plusia* spp. relacionada com fatores climáticos. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., Londrina, 1979. *Anais*. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1979. p 11-5.
- IGNOFFO, C. M. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: BURGESS, H. D. *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. London, Academic Press, 1981. p. 413-538.
- IGNOFFO, C. M. & MONTOYA, E. L. The effects of chemical insecticides and insecticidal adjuvants on *Heliothis* - polyhedrosis virus. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 8(3): 409-12, 1966.
- IGNOFFO, C. M. & BATZER, O. F. Microencapsulation and ultraviolet protectants to increase sunlight stability of an insect virus. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 64(4): 850-53, 1971.
- IGNOFFO, C. M. ; HOSTETTER, D. L. ; SMITH, D. B. Gustatory stimulant, sunlight protectant, evaporation retardant: three characteristics of a microbial insecticidal adjuvant. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 69(2): 207- 10, 1976a.
- IGNOFFO, C. M. ; MARSTON, N. L. ; HOSTETTER, D. L. ; PUTTLER, B. ; BELL, J. V. Natural and induced epizootics of *Nomuraea ri-*

leyi in caterpillars. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 27(1): 191-8, 1976b.

JAKES, R.P. Tests on protectants for foliar deposits of a polyhedrosis virus. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 17(1): 9-16, 1971.

JOINT FAO/WHO MEETING ON INSECT VIRUSES, Geneva, 1973. The use of viruses for the control of insect pests and disease vectors: Report Geneva, 1973. 48 p. (FAO Agriculture Studies, 91; Who Technical Report Series, 531).

LEITE, L.G. & MOSCARDI, F. Compatibilidade de inseticidas e herbicidas químicos com o vírus de poliedrose nuclear da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10., Rio de Janeiro, 1986. Resumos. Rio de Janeiro, 1986a. p. 209.

LEITE, L.G.; MOSCARDI, F.; ZAMATARO, C.E.O. Efeito da mistura de *Baculovirus anticarsia* com doses reduzidas do inseticida profenofós, no controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10., Rio de Janeiro, 1986. Resumos. Rio de Janeiro, 1986b. p. 207.

LUTTRELL, R.G.; YEARIAN, W.C.; YOUNG, S.Y. Effect of spray adjuvants on *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus efficacy. Journal of Economic Entomology, College Park, 76(1): 162-7, 1983.

MCLAUGHLIN, R.E.; ANDREWS, G.; BELL, M.R. Field tests for control of *Heliothis* spp. with a nuclear polyhedrosis virus included in a boll weevil bait. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 18(2): 304-5, 1971.

- MOSCARDI, F. Utilização de *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. Comunicado Técnico EMBRAPA/CNPSo, Londrina (23): 1-21, 1983. *
- MOSCARDI, F. Efeito de aplicações de *Bacillus thuringiensis* sobre populações de *Anticarsia gemmatalis*, em soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3., Campinas, 1984. Resumos. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1984. p. 20.
- MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. Efeito de *Baculovirus anticarsia* em *Anticarsia gemmatalis* e outras espécies de lepidópteros. Resultados de Pesquisa de Soja. EMBRAPA/CNPSo - 1979/80, Londrina, p. 148-50, 1980.
- MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. Influência do estágio larval de *Anticarsia gemmatalis* Hübner na suscetibilidade ao seu vírus de poliedrose nuclear. Resultados de Pesquisa de Soja EMBRAPA/CNPSo - 1980/81, Londrina, p. 458-63, 1981a.
- MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. Projeto piloto do vírus da lagarta da soja. Resultados de Pesquisa de Soja EMBRAPA/CNPSo - 1980/81, Londrina, p. 448-57, 1981b.
- MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. Ação de *Baculovirus anticarsia* sobre a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner) e outros lepidópteros. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA 2., Brasília, 1981. Anais. Brasília, 1981c. p. 51-7.
- MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. "Projeto piloto" para a utilização de *Baculovirus anticarsia*, a nível de agricultor, no controle de *Baculovirus anticarsia* em soja. Resultados de Pesquisa de Soja. EMBRAPA/CNPSo - 1981/82, Londrina, p. 266-70, 1982.

- MOSCARDI, F.; LEITE, L.G.; ZAMATARO, C.E.O.. Teste de atividade de formulação pó molhável de *Baculovirus anticarsia* em laboratório. Resultados de Pesquisa de Soja. EMBRAPA/CNPSo, 1984/85, Londrina, p. 129-30, 1985.
- MOSCARDI, F.; LEITE, L.G.; ZAMATARO, O.E.O. Produção massal de *Baculovirus anticarsia* em laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10., Rio de Janeiro, 1986. Resumos. Rio de Janeiro, 1986. p. 208.
- MOSCARDI, F. & LEITE, L.G. Eficiência de *Baculovirus anticarsia* formulado no controle de populações de lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12, Belo Horizonte, 1989. Resumos. Belo Horizonte, 1989. p. 233.
- MOSCARDI, F.; LEITE, L.G.; BONO, I.S.; PARO, F.E. Estabilidade no armazenamento e atividade de *Baculovirus anticarsia* formulado sobre a lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12., Belo Horizonte, 1989. Resumos. Belo Horizonte, 1989. p. 235.
- OLIVEIRA, L.J.; BATISTA FILHO, A.; ALVES, S.B. Efeito de inseticidas químicos sobre *Baculovirus anticarsia*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas, 1987. Resumos. Campinas, 1987. p. 155.
- OLIVEIRA, R.F. de & MOSCARDI, F. Persistência de *Baculovirus anticarsia*, *Nomuraea rileyi* e *Bacillus thuringiensis* sobre folhas de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 9., Londrina, 1984. Resumos. Londrina, 1984 p. 144.
- PANIZZI, A.R. Manejo de pragas da soja: situação atual e perspectivas futuras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., Campinas, 1980. Anais. Campinas, Fund. Cargill, 1980. p. 303-22.

- PAVAN, O.H.O. Uso de viroses no controle de pragas. In: ATUALIZAÇÃO sobre métodos de controle de pragas. Piracicaba, ESALQ/USP, 1986. p. 48-50. [Apostila]
- PAVAN, O.H.O. & BOUCIAS, D.E. Virus de polyhedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis*: Métodos de inoculação e especificidade. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., Brasília, 1981. Anais. Brasília, 1981. p. 191-7.
- PAVAN, O.H.O.; BOUCIAS, D.E.; PENDLAND, J.C. The effects of serial passage of a nucleopolyhedrosis virus through an alternate host system. *Entomophaga*, Paris, 26(1): 99-108, 1981.
- PAVAN, O.H.O. & BOTELHO, P.S.M. Produção de *Baculovirus* em lagartas da broca-da-cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 34., Campinas, 1982. Resumos. Ciências e Cultura, São Paulo, 34 (supl.): 723, 1982.
- POLLATO, S.L.B.; MOSCARDI, F.; FOERSTER, L.A. Presença de *Baculovirus anticarsia* em extratos de predadores de *Anticarsia gemmatalis*, em lavoura de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas, 1987. Resumos. Campinas, 1987a. p. 156.
- POLLATO, S.L.B.; MOSCARDI, F.; FOERSTER, L.A. Atividade de *Baculovirus anticarsia* após passagem pelo trato digestivo de predadores da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas, 1987. Resumos. Campinas, 1987b. p. 157.
- POTTER, M.F. & WATSON, T.F. Garbanzo bean as a potential feeding stimulant for use with a nuclear polyhedrosis virus of the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, College Park, 76: 449-51, 1983a.

- POTTER, M.F. & WATSON, T.F. Laboratory and greenhouse performance of *Baculovirus heliothis* combined with feeding stimulants for control of neonate tobacco budworm. *Protection Ecology*, Amsterdam, 5(2): 161-5, 1983b.
- PRITCHETT, D.W.; YOUNG, S.Y.; YEARIAN, W.C. Efficiency of *Baculovirus* against field populations of fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury. *Journal of the Georgia Entomological Society*, Tifton, 15(3): 332-6, 1980.
- RAMIRO, Z.A. Pragas da soja. In: Fundação Cargill. A soja no Brasil Central. 3., ed. Campinas, Fundação Cargill, 1986. p. 215-70.
- RAMIRO, Z.A.; GERVAZIONE, V.; SILVA, C.R. Incidência de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, *Pseudoplusia* e de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson no município de Florínea, Estado de São Paulo. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 3., Campinas, 1984. Resumos. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1984. p. 17.
- RAUN, E.S. & JACKSON, R.D. Encapsulation as a technique for formulating microbial and chemical insecticides. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 59(3): 620-22, 1966.
- RICHTER, A.R. & FUXA, J.R. Timing, formulation and persistence of a nuclear polyhedrosis virus and a microsporidium for control of the velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 77(5): 1299-306, 1984.
- SHAPIRO, M.; OWENS, C.D.; BELL, R.A.; WOOD, L.A. Simplified, efficient system for in vivo mass production of gypsy moth nucleopolyhedrosis virus. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 74(3): 341-3, 1981.

- SHAPIRO, M.; AGIN, P.P.; BELL, R.A. Ultraviolet protectants of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nucleopolyhedrosis virus. *Environmental Entomology*, College Park, 12(3): 982-5, 1983.
- SHERMAN, K.E. Considerations in the large-scale and commercial production of viral insecticides. In: MARAMOROSCH, K. & SHERMAN, K.E. eds. *Viral Insecticides for Biological Control*. Orlando, Academic Press, 1985. p. 757-74.
- SILVA, A.G.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.M.; GONÇALVES, A.J.L.; GOMES, J.; SILVA, M.N.; SIMONI, L. DE. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores: Parte II - 1.º Tomo - Insetos, hospedeiros e inimigos naturais. Rio de Janeiro, Min. Agric., Depto. de Def. e Insp. Agrop., 1968. 622 p.
- SILVA, M.T.B. DA. *Baculovirus anticarsia*: Época de aplicação e efeito residual sobre plantas de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 11., Campinas. 1987. Resumos. Campinas, 1987. p. 158.
- SILVA, R.F.P. & HEINRICHS, E.A. Influência no desfolhamento e rendimento da soja pelo ataque de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818, e seu controle com *Bacillus thuringiensis* Berliner e Clordimeform. *Anais da Sociedade Entomológica Brasileira*, Jaboticabal, 4(1): 53-60, 1975.
- SMITH, D.B.; HOSTETTER, D.L.; PINNELL, R.E.; IGNOFFO, C.M. Laboratory studies of viral adjuvants: formulation development. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 75(1): 16-20, 1982.
- SPRENKEL, R.K. & BROOKS, W.M. Artificial dissemination and epizootic initiation of *Nomuraea rileyi*, an entomogenous

fungus of lepidopterous pests of soybeans. *Journal of Economic Entomology*, College Park, 68(6): 847-51, 1975.

STEINHAUS, E.A. *Principles of insect pathology*. New York, McGraw-Hill, 1949. 757 p.

THOMAS, E.D.; REICHELDERFER, C.F.; HEIMPEL, A.M. The effect of soil pH on the persistence of cabbage looper nuclear-polyhedrosis virus in soil. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 21(1): 21-5, 1973.

YOUNG, S.Y. & YEARIAN, W.C. Persistence of *Heliothis* NPV on foliage of cotton, soybean, and tomato. *Environmental Entomology*, College Park, 3(2): 253-5, 1974.

YOUNG, S.Y.; YEARIAN, W.C.; KIM, K.S. Effect of dew from cotton and soybean foliage on activity of *Heliothis* NPV. *Journal of Invertebrate Pathology*, New York, 29(1): 105-11, 1977.