

**NÚCLEO INTERDISCIPLINAR DE PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - PIBIC**

RELATÓRIO FINAL DE PESQUISA

INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**UTILIZAÇÃO DO BACULOVÍRUS COMO FERRAMENTA
BIOTECNOLÓGICA PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE
PRAGAS**

Lucas Takeji Aoki Alcântara

Érica Soares Martins

2014

8º Semestre / Biomedicina
Brasília - Distrito Federal - Brasil

UTILIZAÇÃO DO BACULOVÍRUS COMO FERRAMENTA BIOTECNOLÓGICA PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS

LUCAS TAKEJI AOKI ALCÂNTARA
FACULDADES INTEGRADAS PROMOVE DE BRASÍLIA
INSTITUTO SUPERIOR DE EDUCAÇÃO DO ICESP

RESUMO:

Os Baculovírus são datados desde a china antiga os quais foram responsáveis por atacar e matar o bicho-da-seda. Descobriu-se que estes possuíam estruturas poliédricas que protegiam o material genético do vírus e começaram a chamar a doença de “poliedrose”. Posteriormente, outras formas de baculovírus foram descobertas, dando origem as duas principais morfologias de baculovírus: o Nucleopoliedrovírus (NPV) e o Granulovírus (GV). A utilização de entomopatógenos é uma grande esperança para o manejo de pragas em plantações por todo o mundo pois com a introdução dos baculovírus ao controle biológico de pragas foi comprovado que estes possuem mais vantagens que os pesticidas químicos. Estas pragas são responsáveis por grandes danos às plantações de soja e milho, por exemplo, e a eficácia do controle destas pragas tem sido muito estudada bem como seu impacto econômico e ambiental que estes vírus trazem ao meio ambiente e ao homem.

Palavras Chave: Biotecnologia, Nucleopoliedrovírus, Granulovírus, *Anticarsia gemmatalis*, *Spodoptera frugiperda*.

USING THE BACULOVIRUS AS A BIOTECHNOLOGICAL TOOL FOR THE BIOLOGICAL PEST CONTROL.

LUCAS TAKEJI AOKI ALCANTARA
FACULDADES INTEGRADAS PROMOVE DE BRASÍLIA
INSTITUTO SUPERIOR DE EDUCAÇÃO DO ICESP

ABSTRACT:

The baculoviruses are known since ancient china which they were responsible for attacking and killing the silkworm. It has been discovered that these viruses had poliedric structures which protected the virus' genetic material therefore calling the disease as "poliedrosis". After that, other forms of baculoviruses were discovered leading to the 2 main baculoviruses known morphologies: the Nucleopolyhedrovirus (NPV) and the Granulovirus (GV). The use of entomopathogens is a big hope for the pest management around the world because within the baculoviruses introduction on biological pest control, it was proven that such viruses had more advantages then chemical pesticides. These pests are responsible for big damages in the soy and corn crops as an example, and the pest control effectiveness of those pests has been widely studied as well the economic and environmental impacts that such viruses can bring to the environment and to the human being.

Keywords: Biotechnology, Nucleopolyhedrovirus, Granulovirus, *Anticarsia gemmatalis*, *Spodoptera frugiperda*.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	5
METODOLOGIA	7
RESULTADOS.....	8
DISCUSSÃO	9
REFERÊNCIAS	155

INTRODUÇÃO

Tema: O seguinte relatório abordará o potencial uso do baculovírus como ferramenta biotecnológica para o controle biológico de pragas. O relatório discutirá os primeiros relatos do baculovírus, o início de sua pesquisa no Brasil, a biologia molecular dos baculovírus, o ciclo de infecção do vírus, suas vantagens como biopesticida, a importância das culturas de soja e milho bem como os fatores que limitam sua utilização.

O presente trabalho foi baseado em um levantamento bibliográfico realizado entre os meses de janeiro a julho de 2014.

Objetivo geral: Determinar o uso do baculovírus como biopesticida baseado em suas vantagens e limitações.

Objetivo específico: Descrever a biologia molecular do vírus, características de virulência, ciclo de infecção e sua importância no que tange ao controle biológico, pesquisas e programas utilizando o baculovírus e sua relevância no cenário agrícola.

Hipóteses: Os baculovírus atendem a uma demanda? O Baculovírus pode substituir os inseticidas químicos? Qual a relação do ciclo de infecção do vírus com sua persistência no ambiente?

Justificativa: A utilização dos Baculovírus como ferramenta biotecnológica para o controle biológico de pragas possui vantagens em relação ao uso de inseticidas químicos. Dessa forma, o vírus é específico ao seu hospedeiro eliminando, assim, somente o inseto-alvo, não causa danos ao meio ambiente, não infecta insetos polinizadores e é totalmente seguro para o homem.

Portanto, esse vírus é um importante candidato para produção de novos inseticidas biológicos, dando mais segurança ao meio ambiente, menos gastos e mais estabilidade aos agricultores, bem como traz benefícios sócioeconômicos-ambientais para o país.

Para países exportadores de produtos agrícolas, como o Brasil, existe ainda uma razão comercial suplementar para redução do uso de inseticidas químicos, devido seus grandes efeitos colaterais na plantação e na saúde da população.

Pesquisas mostram a utilização de inseticidas químicos como o problema mais sério em relação à qualidade dos alimentos consumidos. Os consumidores têm mostrado uma forte preferência por produtos que são cultivados em ambientes com menor exposição à inseticida químico. Exemplo disto é o aumento do mercado de

produtos orgânicos que estão livres de inseticidas químicos, ou, até mesmo, ausentes de defensivos agrícolas.

Desta forma, a preocupação da sociedade com o meio ambiente tem levado a busca de alternativas para substituição dos inseticidas químicos, em lavouras, por outros produtos menos agressivos ao ser humano e ao ambiente. Assim, a utilização de controle biológico de pragas é altamente desejável, pois reduz os riscos ambientais e públicos da utilização de produtos químicos convencionais.

Diante disso, determinar o potencial de uso do baculovírus *a* para o controle de pragas, no atual cenário de manejo integrado de pragas, é importante quando se pensa em alternativas para o emprego de agroquímicos nas lavouras.

METODOLOGIA

O percurso da pesquisa seguiu o modelo analítico de Ganong (1987) que consiste nas seguintes etapas: seleção da questão temática, estabelecimento dos critérios para a seleção da amostra, representação das características da pesquisa original, análise dos dados, interpretação dos resultados e apresentação da revisão.

Os procedimentos relacionados às buscas nas bases de dados respeitaram as seguintes etapas:

a) Primeira etapa - identificação de descritores controlados junto à base da BIREME, LILACS, SCIELO, MEDLINE, PUBMED e não controlados, considerando os unitermos mais citados em literatura de referência. A combinação dos termos entre si poderá ser utilizada como estratégia de busca nas bases que assim o permitiram, sendo todos abordados pela mesma metodologia, nas línguas disponíveis, considerando a seguinte categorização dos estudos encontrados: título, autor, fonte, país de origem, ano.

b) Segunda etapa - realização do refinamento da pesquisa, com a finalidade de tornar a busca mais específica e voltada ao objetivo deste estudo. Será especificado o período de 1999 a 2013 durante a busca avançada dos dados.

c) Terceira etapa – será realizada a busca avançada pelos estudos que envolvam a o uso de Baculovírus como agente de controle biológico, incluindo os estudos pertinentes ao tema principal desta pesquisa. Serão excluídas as produções científicas não relacionadas com o escopo do presente estudo, as produções duplicadas, cartas e editoriais.

RESULTADOS

O levantamento bibliográfico proporcionou uma série de dados que implicam no que fora proposto na introdução bem como nos objetivos. Os dados coletados até este ponto estão de acordo com o plano de trabalho e cronograma da pesquisa.

O acervo bibliográfico dos sítios descritos no método foi essencial para o desenvolvimento final da pesquisa assim como cumprimento dos objetivos gerais e específicos.

DISCUSSÃO

Os primeiros relatos de baculovírus surgiram na Ásia, mais especificamente na China, durante a grande produção de seda por volta de 5000 anos atrás. A cultura do bicho-da-seda se espalhou por toda a Ásia, chegou ao Japão através da Coreia em meados de 300 E.C. e atingiu a Europa por volta de 550 E.C. Durante o século XXII, o bicho-da-seda já estava presente por toda Itália e Espanha e posteriormente acabou se espalhando para Inglaterra, México e França.⁽¹⁾

Como todo negócio de agricultura, problemas foram surgindo, principalmente problemas relacionados a doenças que estariam afetando o bicho-da-seda e causando sua morte. Uma grande variedade de doenças foi reportada e métodos para impedir o efeito destas doenças foram desenvolvidos. Com o advento da microscopia óptica ou microscopia de luz, uma característica muito marcante de uma destas doenças fora caracterizada pela presença de “corpos de inclusão”, comuns a todos os insetos que apresentavam sintomas, extremamente refratáveis. Estes possuíam estrutura “poliédrica” que levou à nomenclatura de doenças causadas por “poliedros” denominadas “poliedroses”.⁽¹⁾

A presença de partículas infectantes dentro destes “corpos de inclusão” poliédricos já teriam sido propostas anteriormente, mas somente em 1940 com a tecnologia da microscopia eletrônica, foi confirmado que há realmente a presença de partículas em formato de “bastões” que conferiam o material genético do vírus. Estas e outras pesquisas que foram realizadas demonstraram a natureza cristalina dos poliedros (o que teoricamente explicaria sua alta refratividade ao microscópio óptico). Subsequentemente, dois tipos de poliedroses foram estabelecidas : essas onde os poliedros se desenvolvem intra-nuclearmente (NPVs) e outras onde os poliedros se desenvolveriam extra-nuclearmente ou no citoplasma (CPVs). Em 1920, outra categoria de baculovírus foi descrita, onde ao invés de estruturas poliédricas, esta nova categoria de vírus teria seu corpo de inclusão em formato elipsoide e granuloso sendo denominado como vírus granuloso ou granulovírus (GVs).⁽¹⁾

Os baculovírus, da família *Baculoviridae*, são um grande grupo de vírus com DNA de fita dupla e circular medindo entre 80 a 180 kpb, possuindo cerca de 90 a 180 genes. Este genoma fica presente dentro das partículas infectantes em formato de “bastão”, denominados atualmente como *virions*. Os *virions* são subdivididos em dois fenótipos virais: os “*occluded virions*” (ODVs) e os “*budded virions*” (BVs). Estes

se diferem, principalmente, em relação a sua origem, formação, composição do envelope e sua atuação no ciclo de reprodução do vírus.^(1,2,3,4,5,6,7,8,9)

Por exemplo, Quando a lagarta se alimenta de uma folha infectada com o vírus, ela ingere os corpos de inclusão ou poliedros e quando estes atingem o intestino médio da lagarta tem sua poliedrina degradada devido ao alto pH da região. Uma vez degradado, os poliedros liberam os bastões virais (vírions) e então a infecção se instala. Os vírions se fundem à membrana celular do inseto e navegam pelo citoplasma até atingirem o núcleo, onde depositarão seu DNA viral, para ocorrer a transcrição e tradução de proteínas virais. Nos primeiros dias há alta produção de novos nucleocapsídeos que, por sua vez, atravessam a membrana nuclear e a membrana celular, obtendo, assim, um novo envelope dando origem aos *Budded Virus* (BVs).^(6,10)

Quando os BVs alcançam a hemolinfa da lagarta, geram uma infecção sistêmica. Após vários dias de infecção, há a produção de poliedros (ODVs) dentro célula para a oclusão dos vírions, contudo, a medida que novos poliedros são montados, o espaço intracelular diminui gradativamente e conseqüentemente, dependendo do genótipo viral, haverá lise desta célula e de todas as outras células infectadas. Estas lises celulares causarão destruição tecidual da lagarta fazendo com que ela se “dissolva”, liberando grandes quantidades de poliedros na folha em que estava localizada. Quando a lise celular não é presente, a lagarta, após vários dias de infecção, fica hipocrômica, perde sua capacidade motora e deslocando-se para folhas mais altas (geotropismo positivo) que por fim facilita sua coleta para posterior retirada da hemolinfa, obtenção de BVs, ou maceração do inseto com o objetivo de se obter poliedros.^(6,10)

Os baculovírus também são classificados como um grupo de vírus que infectas especificamente artrópodes e sua morfologia difere de acordo com a estrutura proteica da matriz viral. Os *Nucleopolyhedrovirus* ou NPVs, como fora descrito anteriormente, são grandes e comportam vários ODVs enquanto os *Glanulovirus* ou GVs são menores e englobam geralmente um único ODV.^(3,4,5,6,7,8,11)

Antigamente, baculovírus NPV foram observados em uma grande variedade de espécimes que não eram da ordem *Lepidóptera*, mas de três famílias de Coleoptera, seis de Diptera, quatro de Hymenoptera, duas de Neuroptera e uma de Trichoptera. A taxonomia de alguns deles ainda permanece desconhecida pois

muitos são vírus de rara ocorrência e foram removidos do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV).⁽¹¹⁾

A família *Baculoviridae* está atualmente dividida em dois gêneros principais: os Nucleopoliedrovírus (NPVs) e Granulovírus (GVs) e, até o presente momento de seu estudo, vírus cujo hospedeiros não são da ordem *Lepidoptera* foram classificados como NPVs pois sua morfologia e citopatologia eram muito semelhantes aos do NPVs em si.^(3,4,5,6,11,12)

Em estudos filogenéticos⁽¹²⁾, descobriu-se que existem três ou até quatro grupos distintos de baculovírus e deduziram que família *Baculoviridae* parece ser claramente dividida de acordo com a ordem de seus insetos hospedeiros.

Foi proposto^(8,9,11,12) que a família *Baculoviridae* deveria ser dividida em 4 gêneros: Os *Alphabaculovirus*, *Betabaculovirus*, *Gammabaculovirus* e *Deltabaculovirus*. Esta divisão se baseia na ordem de artrópode que o vírus infecta, baseado assim:

Alphabaculovirus: Nucleopoliedrovírus que infectam especificamente a ordem Lepidoptera (borboletas e algumas mariposas), produzem ODVs e BVs pode ser de um único nucleocapsídeo (SNPV) ou de vários nucleocapsídeos (MNPV).

Betabaculovirus: Granulovírus que infectam a ordem Lepidoptera e também são produtores de ODVs e BVs.^(8,9,11,12)

Gammabaculovirus: Nucleopoliedrovírus que infectam a ordem Hymenoptera (vespas, abelhas e formigas). Possuem somente um nucleocapsídeo (SNPV) e, teoricamente, não são produtores de BVs, sugerindo que o fenótipo BV esteja ausente.^(8,9,11,12)

Deltabaculovirus: Este gênero deveria incluir o *Culex nigripalpus* nucleopolyhedrovirus (CuniNPV) e, possivelmente, outros baculovirus específicos da ordem Diptera (moscas).^(8,9,11,12)

O controle biológico de pragas a partir da utilização de entomopatógenos é, primeiramente, uma questão ecológica que requer conhecimentos sobre a dinâmica de populações, interações predador-presa e competição intra e inter-específicas, porém, a relevância dos princípios que o controle biológico engloba recebem pouca atenção.⁽²⁾

Entomopatógenos possuem uma longa história em relação ao seu uso como agentes de controle biológico de pragas. Bactérias, fungos, nematódeos e inúmeros tipos de baculovírus são utilizados como ferramenta. Possuem características

marcantes que os diferenciam dos outros métodos de controle de pragas, principalmente quanto ao seu esquema de aplicação.⁽²⁾

A evolução do controle biológico com entomopatógenos depende de duas grandes variáveis: a eficácia e os riscos que estes oferecem às plantações, ao meio ambiente e ao ser humano em si.⁽²⁾

A eficácia do biopesticida está relacionada com a estabilidade do agente biológico a fatores como : genótipo x adaptação ambiental, resistência por parte dos hospedeiros, virulência, mutações, disponibilidade para consumo, produções em larga escala e, sendo um dos fatores principais, seu impacto no mercado e posteriormente na economia na região em que será utilizado.⁽²⁾

Os riscos englobam a especificidade do agente biológico às pragas-alvo, seu impacto no meio ambiente, na plantação e, principalmente, às pessoas que trabalham estes biopesticidas.⁽²⁾

Os baculovírus, em especial, têm sido estudados como potenciais agentes de controle biológico desde a década de 60 devido sua alta especificidade e ocorrência natural. São inofensivos à micro-organismos, outros tipos de invertebrados, vertebrados e plantas. Ocorrem em populações de insetos podendo causar epizootias devido a sua capacidade de persistir no ambiente.⁽³⁾

No Brasil, os principais baculovírus que são estudados como potenciais ferramentas biotecnológicas para o controle biológico de pragas são o *Anticarsia gemmatalis* *Nucleopolyhedrovirus* (AgNPV) e o *Spodoptera frugiperda* *Nucleopolyhedrovirus* (SfNPV). A *Anticarsia gemmatalis* e a *Spodoptera frugiperda* as responsáveis por atacarem plantações de soja e milho, e são popularmente conhecidas como “lagarta-da-soja” e “lagarta-do-cartucho” respectivamente.⁽³⁾

O agronegócio é um fator relevante na economia brasileira e mundial⁽¹³⁾. De acordo com o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA), o PIB do agronegócio teve participação de 22,74 no PIB total do Brasil em 2011.

Segundo o IGBE, em 2013, o PIB da agricultura teve um impacto de 22,80% no PIB nacional, com um grande destaque para a cultura de soja que aumentou suas áreas de plantio bem como sua produção de sacas.

A cultura da soja é um dos principais agronegócios do Brasil, teve seu início em 1901 e vem aumentando gradativamente ao longo dos anos. Como fora citado, apresenta vários hectares vêm sendo perdidos devido a pragas como a lagarta-da-

soja (*Anticarsia gemmatalis*) que é o principal agente desfolhador, gerando prejuízos aos agricultores e à economia do país.^(4,6,10,14,15,16)

O AgNPV, introduzido na década de 80 tem sido utilizado como biopesticida para o controle da *A.gemmatalis*, foi o maior programa mundial de controle biológico contra uma praga, trazendo consigo relevantes benefícios ecológicos e econômicos para o Brasil. Diferentemente dos pesticidas químicos, sua produção é feita no próprio campo em larga escala, seu custo é inferior, alta taxa de recuperação das folhas de soja à desfolha, a não ocorrência simultânea de outras pragas de significativa importância à cultura, não agride a fauna local e não é nocivo ao ser humano, é comercializado em forma de pó molhável, utilizando-se um pulverizador para espalhar o vírus na plantação, de acordo com as condições locais da safra.^(4,5,7,17,18)

A Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Soja em Londrina PR, desenvolveu um programa de utilização em larga escala de baculovírus *Anticarsia* abrangendo cerca de 1 milhão de hectares por ano. A taxa de mortalidade do vírus chega a 80% e dos danos econômicos causados pela desfolha da soja foram relativamente inferiores quando comparados com pesticidas químicos.^(3,5)

Outra praga importante no cenário agrário, a *S.frugiperda*, é responsável por até 34% da perda de produtividade do milho em todo o país. A Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Sete Lagoas MG, coordena um programa de controle contra a lagarta-do-cartucho onde mais de 5000 hectares já foram tratados com o SfNPV. O SfNPV foi adquirido a partir de um espécime de *S.frugiperda* com um NPV e este NPV foi isolado e purificado e é produzido em lagartas através de uma dieta artificial feita em laboratório.^(3,19)

A produção do bioinseticida é feita *in vivo*, através da população de lagartas infectadas no campo. Estas são levadas ao laboratório para ser realizada a purificação do vírus. Este processo, porém, possui algumas limitações, pois a produção depende da presença das lagartas, ou seja, só pode ser feita durante a época de produção de soja.^(6,20)

A produção *in vitro* do Baculovírus é uma alternativa à produção através da coleta das lagartas em campo, pois o bioinseticida pode sempre ser produzido e além de ser mais prático para o agricultor, atenderá a demanda.⁽²⁰⁾

Um detalhe que limita o interesse pelo biopesticida seria sua virulência, pois em condições naturais, o vírus levaria de 5 a 8 dias para matar a lagarta. Com os

recursos da engenharia genéticas, baculovírus geneticamente modificados poderiam ser desenvolvidos com um índice de virulência maior, diminuindo esta quantidade de dias que levaria para matar a lagarta.^(6,20)

A especificidade do vírus é uma grande vantagem para o manejo integrado de pragas, porém, para as indústrias e empresas que queiram contratar e comercializar o bioinseticida é algo desvantajoso pois essa característica do vírus de infectar e matar somente seu inseto-alvo, restringe o uso do pesticida a somente 1 tipo de praga, conseqüentemente, o retorno financeiro não é desejável.⁽⁶⁾

Os baculovírus *Autographa californica*, *Anagrapha falcifera* e *Mamestra brassicae* são de amplo espectro, o que tem atraído o interesse da indústria e da pesquisa, pois seriam uma alternativa aos baculovírus de uso restrito a 1 praga.⁽⁶⁾

A aplicação do baculovírus *Anticarsia* por muito tempo poderia causar certa resistência por parte da lagarta, mas este estudo comprovou que, após 15 anos de utilização deste vírus no campo, sua virulência não estava alterada.⁽³⁾

Porém, em outros estudos objetivando verificar um possível desenvolvimento de resistência da *A.gemmatalis* ao vírus, foi observado que quando submetidos à pressão de seleção viral após 15 gerações, uma população de insetos adquiriu uma resistência de 1000 vezes maior quando comparados a insetos normalmente susceptíveis. Apesar disso, não foi detectada nenhuma resistência ao baculovírus em populações naturais quando em comparação a populações que nunca entraram em contato com o vírus.⁽³⁾

A susceptibilidade do vírus à lagarta está sendo estudada bem como seus índices de resistência por parte da lagarta. Estudos apontam que as taxas de resistência são relativamente baixas e a reversão da resistência à susceptibilidade é rápida, teoricamente sendo explicada pela seleção de genes.⁽³⁾

Há programas que estão utilizando outros baculovírus para o controle de outros tipos de pragas. A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Santa Catarina (EPAGRI) em Itajaí vem utilizando o *Erinnys ello Granulovirus* (EeGV) desde a década de 80, para o controle do *E.ello* ("mandarová-da-mandioca"). Outros vírus também com alto potencial de uso têm sido isolados em pragas nas plantações de cana-de-açúcar, algodão, arroz, trigo, hortaliças, etc.⁽³⁾

REFERÊNCIAS

- 1-ROHRMAN, George .F. **Baculovirus Molecular Biology: 1. Introduction to the baculoviruses, their taxonomy and evolution.** Second Edition. 2011
- 2-CORY Jenny S; FRANKLING Michelle T.. **Evolution and the microbial control of insects** .Blackwell Publishing, 2012.
- 3-CASTRO, M. E. B.; SOUZA, M. L.; SIHLER, W. *et al.* Biologia Molecular de Baculovírus e seu Uso NO Controle Biológico de Pragas no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34,n.10,p.1733-1761,out.1999.
- 4-OLIVEIRA, J. V. C; WOLFF, J. L.; MARUNIAK, A. G. *et al.* Genome of the most widely used viral biopesticide: *Anticarsia gemmatalis* Multiple Nucleopolyhedrovirus. **Journal of General Virology**, Great Britain,n.87, jun.2006.
- 5-SOUZA, M. L ; CASTRO, M. E. B.; SIHLER, W. *et al.* Caracterização de Baculovírus Utilizados no Controle de Pragas: Técnicas de caracterização de vírus de insetos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. n.24, jan/fev. 2002.
- 6-MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. Baculovírus para o Controle de Pragas: Panacéia ou Realidade? **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.24,jan/fev.2002.
- 7-OLIVEIRA, Juliana Velasco de Castro. **Expressão Temporal dos Genes do Nucleopoliedrovírus *Anticarsia gemmatalis* e sua Influência Sobre a Célula.** 2010. Tese (Doutorado) – USP/Instituto Butantan/IPT.
- 8-ALEXANDRE, Talita M.; RIBEIRO, Zilda Maria; CRAVEIRO, Saluana R.; *et al.* Evaluation of seven viral isolates as potential biocontrol agents against *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. **Journal of Invertebrate Pathology**, 2010.
- 9-OERS, Monique M, van. Opportunities and challenges for the baculovirus expression system. **Journal of Invertebrate Pathology**, 2011
- 10-SAVIO, G. M.; PINOTTI, E. B. Controle Biológico da Lagarta-da-Soja (*Anticarsia gemmatalis*) por Baculovírus *Anticarsia*. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**. São Paulo, n.13, jun.2008.
- 11-JEHLE, J.A; BLISSARD, G. W.; *et al.* On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision. **Archives of Virology**, 2006. Austria
- 12-HERNIOU Elisabeth A.; OLSZEWSKI Julie A; *et al.* **Ancient Coevolution of Baculoviruses and Their Insects.** **Journal of Virology**, 2004.
- 13-SILVA, D. B. Sustentabilidade no Agronegócio: dimensões econômicas, social e ambiental. **Comunicação & Mercado/ UNIGRAN**. Minas Gerais,v.01,n.03,p.23-34,jul/dez.2010.

- 14-SECCHI, V. A. Baculovírus, mais do que uma grande descoberta: uma revolucionária alternativa aos agrotóxicos. **Alternativa Ecológica, Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**. Porto Alegre, v.3, n.3 jul/set. 2002.
- 15-VARGAS, G. A. A **Economia da Soja: Vantagens e Desvantagens da Transgenia no Brasil**. Departamento de Ciências Administrativas, Contábeis, Econômicas e da Comunicação. Ijuí, 2013
- 16-GOMES, Cristiano Diamond. **Determinantes das vendas de fertilizantes para a soja no Brasil desde 1988 a 2012**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Escola de Economia de São Paulo, da Fundação Getúlio Vargas – EESP – FGV.
- 17-SUJII, E.R.; PIRES, C. S. S.; SCHMIDT, F. G. V. *et al.* Controle Biológico de Insetos-Praga na Soja Orgânica do Distrito Federal. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**. Brasília, v.19, n.2, p.299-312, mai/ago. 2002.
- 18-PANIZZI, A. R. History and Contemporary Perspectives of the Integrated Pest Management of Soybean in Brazil. **Sociedade Entomóloga do Brasil**. Rio Grande do Sul, 2013.
- 19-VALICENTE, Fernando Hercos; TUELHER, Edmar de Souza. Controle Biológico da Lagarta do Cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com Baculovírus. **Circular Técnica**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Sete Lagoas, MG, Dezembro, 2009.
- 20-ALMEIDA, Adréa Farias. **Estratégias de Produção *in vitro* de Bioinseticida Viral: Influências do Isolado, da Cinética e do Modo de Operação**. 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte.