



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Celular
Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular

**Caracterização fenotípica e genotípica de dois isolados do
alfabaculovírus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus
(ChinNPV) infectivos para a lagarta falsa-medideira-da-
soja, *Chrysodeixis includens***

Lucas de Araújo Andrade

Brasília – DF
Fevereiro– 2025



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Departamento de Biologia Celular
Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular

**Caracterização fenotípica e genotípica de dois isolados do
alfabaculovírus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus
(ChinNPV) infectivos para a lagarta falsa-medideira-da-
soja, *Chrysodeixis includens***

Lucas de Araújo Andrade

Orientador: Prof. Dr. Daniel M.P. Ardisson-Araujo

Coorientadora: Dra. Marlinda Lobo de Souza

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Biologia Molecular, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas: Biologia Molecular.

Brasília – DF

Fevereiro– 2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Daniel M. P. Ardisson-Araújo (presidente, orientador)
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Bergmann Morais Ribeiro (membro interno)
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Daniel R. Sosa-Gómez (membro externo)
EMBRAPA-Soja

Dr. Rogerio Biaggioni Lopes (membro suplente)
EMBRAPA - Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Daniel Ardisson-Araújo por ter aceitado esse desafio de orientar um aluno que ele não conhecia, pela importante orientação em todos os aspectos e por seu árduo apoio durante esse período do mestrado. Obrigado pelos seus auxílios e pela sua paciência.

A minha coorientadora Dra. Marlinda Lobo de Souza por ter acreditado em mim em todo momento, ter acreditado em mim até mesmo antes de me conhecer pessoalmente. Por ter confiado em mim para o projeto de inovação e tecnologia e o mestrado. Obrigado pelo seu zelo, apoio e gentileza de cuidar não somente do lado profissional mais também do lado pessoal durante todo o período do mestrado.

Ao William Sihler que me ensinou e revisou técnicas moleculares. Obrigado por ter dedicado seu tempo para me ajudar sempre que possível.

Ao Dr. Rogerio Biaggioni Lopes que me auxiliou e me ensinou muito sobre ensaios biológicos com insetos. Muito obrigado por tudo.

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) pelo suporte técnico durante esse projeto. Obrigado pela confiança.

A empresa Pragmas.com pela confiança depositada em mim durante minha participação em projeto técnico-científico em parceria com a Embrapa, contribuindo para meu crescimento profissional, e pela concessão de uma Bolsa de Inovação Tecnológica (FAPED).

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Molecular pelo apoio acadêmico e por ter aceitado esse projeto.

AGRADECIMENTOS

Família e Amigos:

Aos meus colegas do Laboratório de Virologia de Insetos da Embrapa/Cenargen, Raimunda, Mariele, Kamila, e Amanda, que me apoiaram e me auxiliaram durante os experimentos e fizeram esse período mais leve e tranquilo.

Aos meus colegas do Laboratório de Virologia de Insetos da UnB que me apoiaram, auxiliaram, cuidaram, torceram e aumentaram a minha vontade de fazer ciência e desenvolver mais os meus estudos. Obrigado, Ethiane, Andreza, Thiago e Beatriz por terem feito parte desses dois anos. Obrigado Ethiane por ter sempre me ajudado com experimentos e revisões. Obrigado Andreza por ter me auxiliado com experimentos e ter ensinado sobre o poder da organização. Obrigado Thiago por ter sido um parceiro de bancada em todos os sentidos. Obrigado Beatriz por ser praticamente uma irmã para mim. Vocês foram essências nesse período.

A minha família que me apoiou do início ao fim dessa jornada. Ao meu pai Nelson por torcer sempre por mim. A minha mãe Cátia por ter me ensinado a ser paciente. Aos meus irmãos mais novos Érick, Vinícius e Gustavo que nos dias difíceis conseguiram amenizar todo o cansaço e fadiga. Obrigado por vocês terem sido um dos meus pilares nesses dois anos de pesquisa.

Em especial a minha namorada Amanda, que sempre me ajudou, me apoiou, cuidou de mim, me tranquilizou e me manteve seguro durante os dias difíceis e os dias tranquilos. Obrigado por tudo!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

ABREVIACÕES

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO.....	1
JUSTIFICATIVA.....	36
OBJETIVOS.....	38
MATERIAIS E MÉTODOS	39
RESULTADOS.....	45
DISCUSSÃO.....	63
CONCLUSÃO.....	68
PERSPECTIVAS.....	69
REFERÊNCIAS.....	72
APÊNDICE SUPLEMENTAR A – Tabela 1. Dieta sólida de <i>Chrysodeixis includens</i>	84
APÊNDICE SUPLEMENTAR B – Tabela 2. Composição da solução vitamínica.....	84
APÊNDICE SUPLEMENTAR C – Tabela 3. Dieta líquida de <i>Chrysodeixis includens</i>	85
APÊNDICE SUPLEMENTAR D – Tabela 4. Características dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) entre os isolados Tabatinga e CNPSO-168 dentro de ORFs.....	86
APÊNDICE SUPLEMENTAR E – Tabela 5. Comparação das 152 ORFs do genoma de ChinNPV-CNPSO-168 com genes homólogos de outros organismos.....	99
APÊNDICE SUPLEMENTAR F – Tabela 6. Comparação das 151 ORFs do genoma de ChinNPV-Tabatinga com genes homólogos de outros organismos.....	114

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de Distribuição Geográfica da Lagarta Falsa-medideira.....	4
Figura 2. Exemplo do tipo de oviposição de <i>C. includens</i>	5
Figura 3. Diferenças de coloração na lagarta falsa-medidiera.....	6
Figura 4. Pupas de <i>C. includens</i> em diferentes estágios.....	6
Figura 5. Exemplo da morfologia de um indivíduo de <i>C. includens</i> em sua fase adulta.....	7
Figura 6. Mapa de produção agrícola de soja no mundo.....	10
Figura 7. Imagem ilustrativa de uma microscopia eletrônica.....	19
Figura 8. Morfologia dos corpos de oclusão de baculovírus em diferentes aumentos.....	21
Figura 9. Exemplificação das diferenças entre os tipos de baculovírus.....	23
Figura 10. Imagem esquematizando as partículas virais de baculovírus.....	24
Figura 11. Imagem que exemplifica a diferença entre os NPV's do grupo I e grupo II.....	26
Figura 12. Ciclo de infeccioso do baculovírus.....	28
Figura 13. Resultado do ensaio de dose letal.....	45
Figura 14. Resultado do ensaio de tempo de morte.....	46
Figura 15. Representação da inibição de crescimento entre os tratamentos com <i>Chrysodeixis includens</i> nucleopoliedrovírus (ChinNPV).....	47
Figura 16. Pupas mortas de <i>C. includens</i> com deformações evidentes em sua morfologia externa.....	48
Figura 17. Mariposas de <i>C. includens</i> com deformidades nas asas.....	49
Figura 18. Resultado da microscopia eletrônica de transmissão no aumento de 500 nm	51
Figura 19. Árvore filogenética dos isolados de ChinNPV gerada pelo método FastTree.....	54
Figura 20. Mapa de calor apontando o percentual de identidade nucleotídica entre isolados de <i>Chrysodeixis includens</i> nucleopoliedrovírus (ChinNPV) com genomas sequenciados.....	55
Figura 21. Alinhamento das versões do gene pif-2 em diferentes isolados.....	57
Figura 22. Visualização da contaminação com cipovírus através de eletroforese em gel de agarose.....	70
Figura 23. Microscopia eletrônica de transmissão da contaminação por cipovírus.....	70

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Resultado do ensaio de aspectos biológicos.....	50
Tabela 2. Características gerais dos 14 isolados de <i>Chrysodeixis includens</i> nucleopoliedrovírus.....	53
Tabela 3. ORFs relacionadas a replicação, transcrição e estruturais nos isolado ChinNPV-CNPSO-168 e ChinNPV-Tabatinga.....	58

ABREVIATURAS E SIGLAS

AcMNPV - *Autographa californica*
multiple nucleopolyhedrovirus
AgMNPV - *Anticarsia gemmatilis*
nucleopolyhedrovirus
BV – Budded virus
bro - *baculovirus repeated orf*
bjdp - *baculovirus J domain protein*
BLAST - Basic Local Alignment
Search Tool
Cenargen - Embrapa Recursos
Genéticos e Biotecnologia
ChchNPV - *Chrysodeixis chalcites*
nucleopoliedrovírus
ChinNPV – *Chrysodeixis includens*
nucleopoliedrovírus
CPV - Cipovírus
CTNBio - Comissão Técnica Nacional
de Biossegurança
C168 – CNPSO-168
EDTA - ácido etilenodiamino tetra-
acético
egt - *transferase de glucose ecdisona*
Embrapa - Empresa Brasileira de
Pesquisa Agropecuária
fgf - *fibroblast growth factor*
GC % - porcentagem da composição
nucleotídica composta por guanina e
citosina
GmNPV - *Galleria mellonella*
nucleopoliedrovírus
gp64 - *membrane fusion glycoprotein*
GV – granulovírus
LC₅₀ – lethal concentration 50%
LD₉₅ – lethal dose 95%
lef – *late expression factor*
MAPA - Ministério da Agricultura e
Pecuária
MET – Microscopia eletrônica de
transmissão
MIP – Manejo Integrado de Pragas
MNPV – Multiple nucleopoliedrovírus

NCBI - National Center for
Biotechnology Information
NPV - nucleopoliedrovírus
nt – nucleotídeo
OB – Occlusion body
OBs/ mL - Occlusion bodies per
millimeter
ODV - Occlusion derived viruses
OGM – Organismo geneticamente
modificado
ORFs - Open Reading Frame
pb – Pares de bases
PIB - Produto interno bruto
pif - *infectivity factors per os*
PlinGV - *Plodia interpunctella*
granulovirus
PlxyNPV - *Plutella xylostella*
nucleopoliedrovírus
pkip - *protein kinase interacting factor*
ptp - *fosfotirosina fosfatase*
RET - Registro Experimental
Temporário
RR1 - ribonucleotídeo grande
RR2 - ribonucleotídeo pequena
RR - ribonucleotide reductase
RoNPV - *Rachiplusia ni*
nucleopolyhedrovirus
SfGV - *Spodoptera frugiperda*
granulovirus
SfNPV - *Spodoptera frugiperda*
nucleopoliedrovírus
SNPs - polimorfismos de nucleotídeo
único
SNPV – single nucleopoliedrovírus
Soja RR - Roundup Ready
SporNPV - *Spodoptera ornithogalli*
nucleopoliedrovírus
Tb - Tabatinga
UV - Radiação ultravioleta
vubi - *ubiquitina viral*
(%) ID – Porcentagem de identidade

RESUMO

A lagarta falsa-medideira-da-soja (*Chrysodeixis includens*) é uma praga agrícola que afeta diversas culturas e representa um desafio significativo para a agricultura. O controle convencional frequentemente depende de inseticidas químicos, que podem prejudicar o meio ambiente e fomentar a resistência nos insetos. Como alternativa mais sustentável, produtos naturais à base do baculovírus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) têm se destacado no Brasil. Os baculovírus são vírus de DNA de fita dupla circular, que se apresentam em cristais proteicos chamados corpos de oclusão (OBs). O presente trabalho teve como objetivo caracterizar dois novos isolados de ChinNPV, os isolados Tabatinga (Tb) e CNPSo-168 (C168), avaliando aspectos fenotípicos e genômicos, visando aprimorar o uso de baculovírus no controle de pragas. Os isolados foram amplificados em lagartas, semi-purificados, quantificados e submetidos a ensaios de dose letal. O DNA viral foi extraído, analisado em gel de agarose e sequenciado por Illumina. As lagartas infectadas com doses letais e subletais passaram por testes para avaliar parâmetros biológicos, como tamanho, taxa de pupação e emergência, além de serem submetidas a curvas de sobrevivência com uma diluição de 1×10^7 OBs/ mL por 10 dias. A microscopia eletrônica de transmissão (TEM) foi utilizada para análise estrutural dos isolados. Os resultados mostraram que no ensaio de dose letal, o isolado Tb apresentou 33% de mortalidade, enquanto o C168 alcançou 65%. A análise das curvas de sobrevivência indicou que o C168 teve ação mais rápida que o Tb. Os isolados apresentaram efeitos subletais significativos sobre as lagartas sobreviventes, resultando em redução do tamanho corporal, atraso na pupação e diminuição da taxa de emergência de adultos, com impactos mais evidentes nas concentrações virais mais altas. Além disso, algumas mariposas emergentes apresentaram deformidades nas asas, o que comprometeria sua sobrevivência na natureza, evidenciando o potencial dos isolados não apenas como agentes letais, mas também como moduladores do desenvolvimento. A TEM confirmou que ambos os isolados apresentam OBs com múltiplos vírions oclusos, mas cada um contendo um único nucleocapsídeo envelopado. O sequenciamento revelou que o C168 possui um genoma de 139.290 pb com 152 ORFs, enquanto o Tb tem 139.131 pb com 151 ORFs. Ambos os isolados apresentaram alta identidade de nucleotídeos com o isolado de referência ChinNPV-IE (99,44% para C168 e 98,92% para Tb). A reconstrução filogenética indicou que os isolados formam um único clado, com o C168 mais proximamente relacionado ao ChinNPV-IE. Entre as mutações pontuais, destaca-se o gene *bro-a*, com uma extensão e interrupção abrupta da fase de leitura, além de 24 SNPs comuns a ambos os isolados. Ambos os isolados também apresentaram variação no gene *pif-2*, com versões curta e longa, resultantes de fusão com uma ORF hipotética. A caracterização dos isolados contribui para a compreensão dos fatores de virulência, das interações inseto-hospedeiro e da variação fenotípica nas populações de baculovírus, oferecendo novas ferramentas para o manejo de pragas agrícolas.

Palavras-chave: *Chrysodeixis includens*, baculovírus, controle biológico, genômica, efeitos subletais

ABSTRACT

The soybean looper (*Chrysodeixis includens*) is an agricultural pest that affects various crops and poses a significant challenge to agriculture. Conventional control methods often rely on chemical insecticides, which can harm the environment and promote insect resistance. As a more sustainable alternative, natural products based on the baculovirus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) have gained prominence in Brazil. Baculoviruses are circular double-stranded DNA viruses that are enclosed in protein crystals called occlusion bodies (OBs). This study aimed to characterize two new ChinNPV isolates, Tabatinga (Tb) and CNPSo-168 (C168), by evaluating their phenotypic and genomic aspects to improve the use of baculoviruses in pest control. The isolates were amplified in larvae, semi-purified, quantified, and subjected to lethal dose assays. Viral DNA was extracted, analyzed by agarose gel electrophoresis, and sequenced using the Illumina platform. Larvae infected with lethal and sublethal doses were tested to assess biological parameters such as size, pupation rate, and adult emergence, in addition to being subjected to survival curves with a dilution of 1×10^7 OBs/mL over 10 days. Transmission electron microscopy (TEM) was used for the structural analysis of the isolates. The results showed that in the lethal dose assay, the Tb isolate caused 33% mortality, while C168 reached 65%. Survival curve analysis indicated that C168 acted more rapidly than Tb. The isolates exhibited significant sublethal effects on surviving larvae, leading to reduced body size, delayed pupation, and decreased adult emergence rate, with more pronounced impacts at higher viral concentrations. Additionally, some emerging moths displayed wing deformities, which would compromise their survival in nature, highlighting the potential of these isolates not only as lethal agents but also as modulators of insect development. TEM confirmed that both isolates produce OBs containing multiple occluded virions, each with a single enveloped nucleocapsid. Genome sequencing revealed that C168 has a genome size of 139,290 bp with 152 ORFs, whereas Tb has 139,131 bp with 151 ORFs. Both isolates showed high nucleotide identity with the reference ChinNPV-IE isolate (99.44% for C168 and 98.92% for Tb). Phylogenetic reconstruction indicated that the isolates form a single clade, with C168 being more closely related to ChinNPV-IE. Among the identified point mutations, the *bro-a* gene exhibited an extension and an abrupt reading frame disruption, along with 24 SNPs common to both isolates. Both isolates also showed variation in the *pif-2* gene, with short and long versions resulting from fusion with a hypothetical ORF. The characterization of these isolates contributes to understanding virulence factors, insect-host interactions, and phenotypic variation in baculovirus populations, providing new tools for agricultural pest management.

Keywords: *Chrysodeixis includens*, Baculovirus, Biological control, Genomic characterization, Sublethal effects

1. INTRODUÇÃO

1. A PRODUÇÃO AGRÍCOLA

A produção de insumos agrícolas é uma das atividades mais antigas conhecidas pelos seres humanos. Ela se inicia desde períodos neolíticos com as primeiras civilizações até os tempos modernos. No Brasil, a agricultura comercial surgiu junto com o implemento das capitanias hereditárias, no século XVI, onde o produto cultivado era a cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) e algumas culturas para fins de subsistência da população da região (Myfarm, 2020). Atualmente, a agricultura é uma das maiores geradoras de crescimento do PIB (produto interno bruto) nacional, sendo que corresponde a 21% de todas as riquezas produzidas no país. Na geração de empregos formais e informais, a agricultura é responsável por aproximadamente um quinto das vagas ocupadas no Brasil. Além de ser responsável por 43,2% de toda exportação do país, a agricultura gerou US\$ 96,7 bilhões em 2019 (Vendas, 2020).

Vários elementos podem favorecer o desencadeamento de uma baixa na produtividade agrícola, incluindo extensos períodos de estiagem, o baixo índice pluviométrico que juntos causam a diminuição do rendimento da plantação. Ademais, o surgimento de doenças oportunistas nas plantações, por serem quase sempre monoculturas, diminui drasticamente a produtividade, como por exemplo o histórico caso da doença vassoura-de-bruxa no cacau (*Theobroma cacao*) que diminuiu a produção de 400 mil toneladas anuais em 1980 para 100 mil toneladas em 2000 e quase acabou com a produção de cacau no Brasil (Revistafruta, 2021).

Outro fator preponderante é o surgimento ou aumento da incidência de ataques de populações de insetos-praga, populações estas que podem ser difíceis de controlar e podem causar um grande dano nas plantações de diferentes culturas, tornando assim um desafio para o seu controle. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO, 'Food and Agriculture Organization of the United Nation'), cerca de 20% a 40% da produção agrícola mundial é perdida por conta do ataque de pragas (Bayer, 2022). No Brasil cerca de 7,7% das produções são perdidas por esse motivo, o que equivale a 25 milhões de toneladas (Oliveira et al., 2014). Um exemplo é na plantação de soja que, dependendo da praga, a consequência pode ser de 30% a 70% de perda (Hoffmann-Campos et al., 2000).

Como definição clássica, pragas agrícolas são qualquer espécie, raça ou biótipo de planta, animal ou agente patogênico que danifica plantas ou produtos vegetais. As pragas agrícolas mais conhecidas são as do filo Arthropoda do Subfilo Uniramia, mais especificamente

da classe Insecta. Diferentes tipos de insetos de diferentes ordens são pragas agrícolas, como dípteras no caso de mosca-das-frutas-sul-americanas, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann, 1830), que são pragas de frutos de diversos tipos de uvas, coleópteros como gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* (Mots, 1855), que causam diversos danos no armazenamento de grãos de milho, e lepidópteros como a lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens*, que são pragas que causam danos nas folhas de diferentes culturas, com especial atenção para a soja.

No caso dos lepidópteros, diferentes espécies causam danos principalmente no seu período larval, onde o inseto necessita de uma grande quantidade de alimentos e acabam causando a desfolha da planta como no caso da *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), ou as vagens e grãos da planta como *Spodoptera cosmioides*, ou plântulas, hastes e pecíolos como *Crociosema aporema*.

1. 2 *CHRYSODEIXIS INCLUDENS*

A lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Insecta: Lepidoptera) é uma lagarta desfolhadora da família Noctuidae, subfamília Plusiinae, originária da zona tropical e subtropical das Américas e de grande importância econômica por possuir hábito polífago durante sua fase larval. Indivíduos imaturos já foram identificados alimentando-se de 174 espécies de plantas diferentes de 39 famílias botânicas (Specht et al., 2015), sendo assim uma das pragas mais importantes de diversas culturas no Brasil e no mundo. Anteriormente, a lagarta era classificada dentro do gênero *Pseudoplusia*, sendo nomeada como *Pseudoplusia includens*. Contudo, foi reposicionada por Goater, Ronkay e Fibiger (2003), dentro do gênero *Chrysodeixis* após uma revisão dos caracteres morfológicos genitais. Essa classificação permanece válida atualmente com o nome da espécie sendo *Chrysodeixis includens* (Andrade, 2014).

No Brasil, as principais culturas afetadas por essas lagartas incluem feijão, algodão, girassol, tomate, batata e soja, sendo que a cultura da soja é onde ela mostrou maior preferência e adaptação (Andrade, 2014). Na soja, a falsa-medideira apresenta o comportamento de se alimentar do terço médio e inferior das plantas, o que pode dificultar o seu controle através da pulverização de inseticidas químicos, uma vez que se torna mais difícil atingir o tegumento do inseto ou folhas mais baixas (Specht et al., 2015).

1. 3 HISTÓRICO DA LAGARTA FALSA-MEDIDEIRA NO BRASIL

Nas décadas de 1980 a 1990, *C. includens* era considerada uma praga secundária devido a sua baixa ocorrência em diferentes culturas e, quando ocorria, era com baixa densidade populacional e raramente era necessária alguma medida de controle drásticas. Os próprios inimigos naturais, como fungos e predadores, eram suficientes para que as populações não atingissem níveis alarmantes; além da competição intrínseca com a lagarta da soja, *A. gemmatilis* (Ongaratto et al., 2021). De modo que, na soja a incidência de *C. includens* era de somente 10% (Corrêa et al., 1977; Moraes et al., 1991; Moscardi, 1993). Contudo, a partir na safra de 2001/2002, foi detectada um aumento notável da população da praga, sem que os motivos dessa incidência ficassem claros. Diversas hipóteses foram levantadas para explicar o aumento da incidência dessa praga nas culturas, dentre elas, a mais citada está associada ao surgimento de uma doença fúngica na soja (Wille, 2016). Com o surgimento da doença da ferrugem asiática nas plantações de soja, houve um incremento acentuado no uso de fungicidas para o tratamento da doença. O uso de fungicidas, possivelmente reduziu a presença de fungos entomopatogênicos que naturalmente controlavam populações de *C. includens* (Yorinori; Lazzarotto, 2004; Sosa-Gómez, 2005). Além de que, nessa época houve a autorização do uso da soja transgênica RR, que possui resistência ao glifosato, o que levou a um aumento no uso de herbicidas para o controle do crescimento de ervas daninhas na plantação, que podem também ter influenciado na dinâmica da população (Wille, 2016). Tanto o aumento da aplicação de fungicidas para o controle da ferrugem asiática quanto herbicidas para o controle de ervas daninhas da soja RR causaram um desequilíbrio nos solos, por danificarem o desenvolvimento de importantes fungos entomopatogênicos que controlavam a população da lagarta falsa-medideira, como é o caso dos fungos da espécie *Metarhizium rileyi* (Farlow), agente etiológico doença-branca. Ademais, o uso de inseticidas não seletivos na cultura de soja é considerado os principais fatores para essa mudança de status da *C. includens* de praga secundária para praga primária no Brasil.

1. 4 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA LAGARTA FALSA-MEDIDEIRA

A distribuição geográfica de lagartas da espécie *C. includens* é bastante vasta em comparações com outras espécies da mesma família, podendo ir desde o extremo norte dos Estados Unidos até o extremo sul da América do Sul, sendo restrita ao Hemisfério Ocidental. Em algumas regiões do mundo, como nordeste da Austrália, sul e sudeste da Ásia, Índia e parte

central da África, seria possível a adaptação desses insetos (Soares et al., 2021) o que pode ligar um sinal de alerta para a expansão da praga. No hemisfério norte, principalmente nos Estados Unidos, o inseto é considerado como uma espécie migratória, passando o inverno no sul dos estados da Flórida e Texas, regiões tropicais e subtropicais entre a linha do Equador e o Trópico de Câncer, onde a sua taxa de reprodução ocorre durante todo o ano. Nos Estados Unidos, elas são uma praga-chave principalmente na cultura da soja. No Brasil, ela pode ser encontrada no Norte, Nordeste e no Centro-Sul do país, podendo ocorrer em conjunto ou tardiamente em relação às populações da lagarta-da-soja, *A. gemmatilis*. Surtos desses insetos estão estreitamente relacionados ao local das culturas em que *C. includens* é praga, como algodão, feijão e tomate, perto de lavouras de soja, portanto, em regiões produtoras esta praga estará presente. A exemplo os estados de Bahia, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (Specht et al., 2015) (Figura 1), são estados com grande índice de produção de insumos agrícolas, logo, são estados mais propícios para o aparecimento desse inseto, embora, possam também ser comuns em outros estados do Brasil.

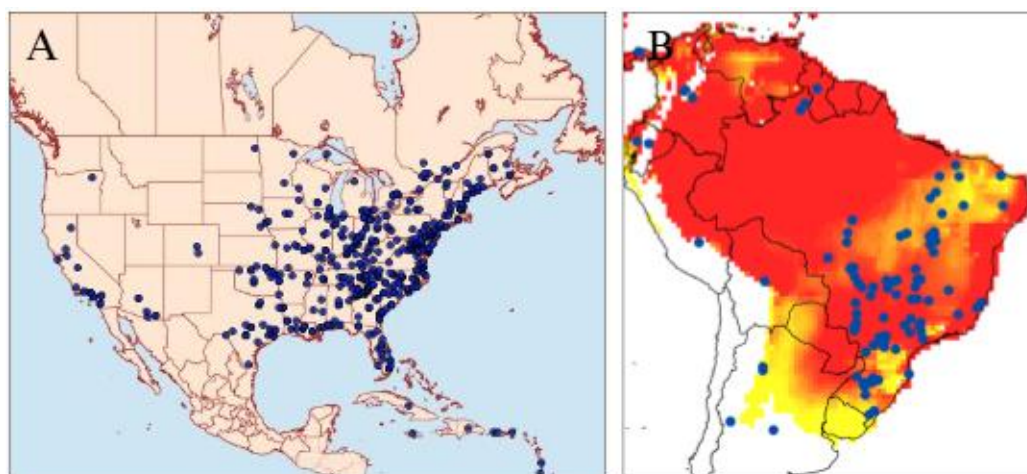


Figura 1 – Mapa de Distribuição Geográfica da lagarta falsa-medideira. **(A)** Distribuição da lagarta falsa-medideira no hemisfério norte, com ocorrência registrada do Canadá à América Central, incluindo Cuba e Haiti (pontos azuis). Fonte: <https://mothphotographersgroup.msstate.edu/species.php?hodges=8890>. **(B)** Distribuição da lagarta falsa-medideira no hemisfério sul com ocorrência em diferentes países (pontos azuis). Fonte: Soares, J. R. S., da Silva, R. S., Ramos, R. S., & Picanço, M. C. (2021). Distribution and invasion risk assessments of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) using CLIMEX. *International journal of biometeorology*, 65, 1137-1149.

1. 5 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA LAGARTA FALSA-MEDIDEIRA

C. includens é uma espécie de lagarta pertencente à uma das mais populosas famílias de Lepidópteros com aproximadamente 21.000 mil espécies descritas em 19 subfamílias. Seu ciclo

de vida (ovo-adulto) é de 27 a 34 dias, com cerca de 12 gerações por ano. A fêmea pode colocar entre 300 e 1.000 ovos durante a vida, com espalhamento isolado (Figura 2A) e com a postura na porção abaxial das folhas das culturas nas quais a larva se alimenta. Os ovos variam de 490 µm e 544 µm e apresentam cor branca translúcida e brilhosa (Figura 2B) com 31 a 33 cristas com estrias transversais entre elas (Peterson, 1964; Sosa-Gómez et al., 2024) logo após a oviposição e marrom-clara quando estão perto da eclosão. O desenvolvimento embrionário ocorre após 2 a 5 dias pós postura com viabilidade de 9% até 100%.

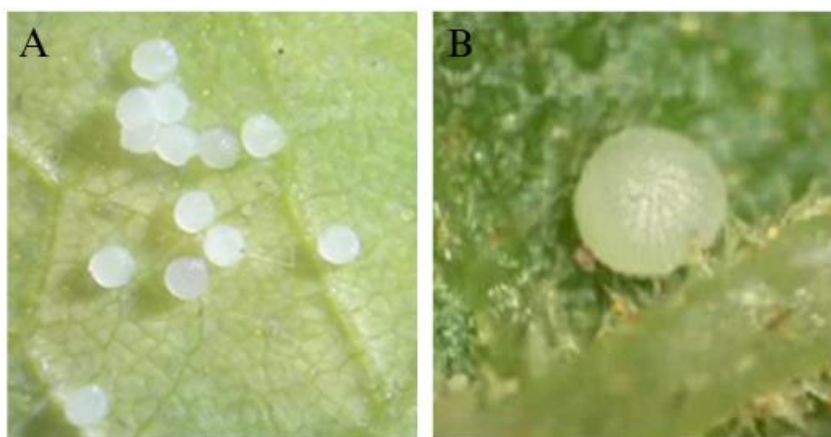


Figura 2 - Exemplo do tipo de oviposição em forma isolada de *C. includens*. **(A)** Imagem exemplificando oviposição de forma isolada dos ovos de *C. includens*. **(B)** Morfologia externa dos ovos de *C. includens*.

Fonte: <https://revistacultivar.com.br/noticias/controle-quimico-da-lagarta-falsa-medideira>

Fonte: https://issuu.com/aapresid/docs/revista_aapresid_201_52e8b558cdf560/s/14658300

Após a eclosão, as lagartas possuem cor verde-clara com listras longitudinais brancas e pontuações pretas ao longo do corpo (Moscardi et al., 2012). No caso de população de laboratório que se alimenta somente de dieta artificial, geralmente possuem uma cor mais esbranquiçada (Figura 3A). Além disso, possuem dois pares de pseudópodes abdominais e um par de pseudópodes caudal (Figura 3B). De acordo com o seu crescimento, sua cor sofre uma perceptível mudança de verde-clara para verde-limão translúcida. Na fase de pré-pupa atingem o tamanho de 40 a 45 mm e seu tempo na fase larval é de 14 a 20 dias que pode variar de acordo com sua alimentação, temperatura ou genética, e é composta de cinco a seis instares e uma fase pré-pupa. A fase larval é a fase em que o inseto causa danos econômicos na agricultura por serem pragas desfolhadoras com hábito polífago.

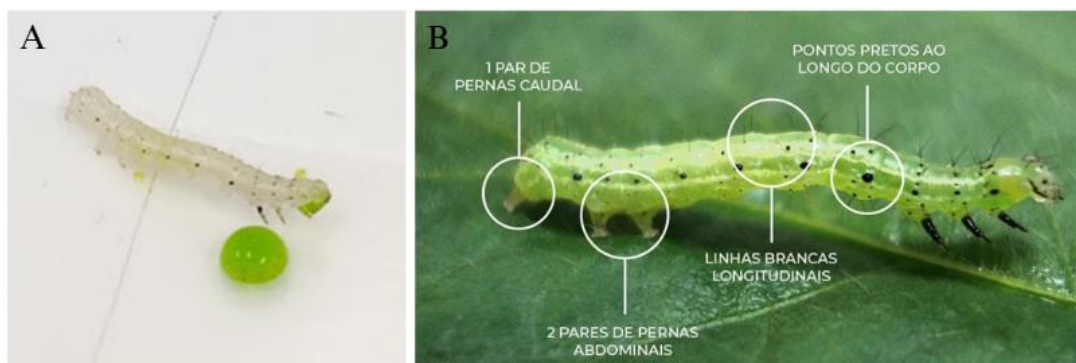


Figura 3 – Diferenças de coloração na lagarta falsa-medideira. **(A)** Exemplo de *C. includens* criada em ambiente laboratorial. **(B)** Morfologia da fase larval de *C. includens*. Fonte: Lucas de Araújo Andrade - Laboratório de Virologia de Insetos - Embrapa Cenargen. Fonte: <https://promip.agr.br/lagarta-falsa-medideira-cultura-soja/>

Após 15 dias, a lagarta se torna uma pupa com cerca de 16 mm e de cor verde-clara e marrom-claro (Figura 4A) quando o inseto está perto de emergir o adulto, contudo depende da alimentação da lagarta (Figura 4B). Na fase de pré-pupa (Figura 4C), ocorre mudanças no mudanças hormonais na lagarta como: a pausa na alimentação, mudança na coloração para verde-amarelada uniforme, perda da mobilidade, início da formação do casulo e a transformação em pupa. A lagarta forma sua pupa na folha em que ela estava se alimentando e sua pupa é envolta a uma teia de finos fios de seda branco, geralmente na parte abaxial da folha (Sosa-Gómez et al., 2010). O inseto fica nesse período pupal em torno de 7 a 9 dias até a emergência dos adultos.

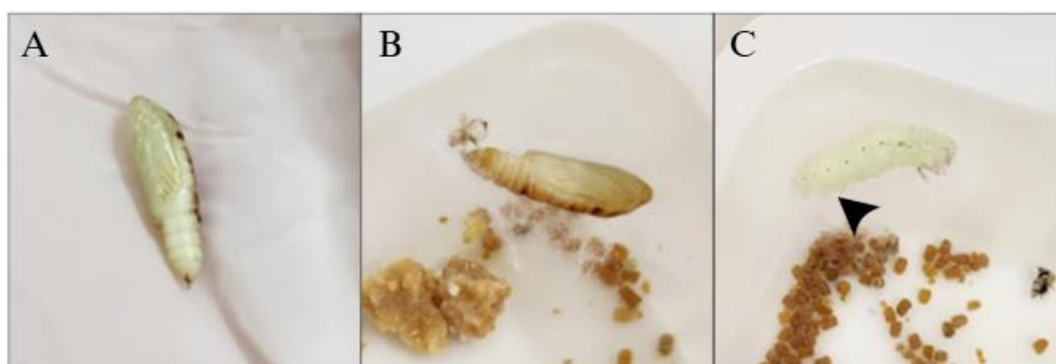


Figura 4 - Pupas de *C. includens* em diferentes estágios. A figura **(A)** contém uma pupa recém formada de *C. includens* com cores mais claras, enquanto na figura **(B)** uma pupa mais madura com diferentes tons de marrom. Na figura **(C)** uma *C. includens* na fase pré-pupa. A lagarta não apresenta os seus pseudópodes e apresenta o corpo no formato parecido com a pupa. Fonte: Lucas de Araújo Andrade - Laboratório de Virologia de Insetos - Embrapa Cenargen.

Na fase adulta, as mariposas possuem uma longevidade de 7 a 14 dias, sendo que a oviposição das fêmeas é iniciada no terceiro dia pós emergência da pupa. Na fase adulta, as mariposas de *C.*

inclusens possuem cor marrom-acinzentada com duas manchas prateadas em seu primeiro par de asas, enquanto no segundo par de asas elas possuem somente a cor marrom (Figura 5). Sua envergadura varia entre 8 a 39 mm. O acasalamento ocorre entre 4 h a 22 h após a emergência da pupa sendo que nesse processo, o macho é atraído pela fêmea através do feromônio sexual. A fêmea pode ovipositar entre 300 a 1000 ovos, iniciando assim, novamente o ciclo de vida da lagarta (Moscardi et al., 2012; Sosa-Gómez et al., 2010).



Figura 5 - Exemplo da morfologia de um indivíduo de *C. inclusens* em sua fase adulta. Fonte: https://issuu.com/aapresid/docs/revista_aapresid_201_52e8b558cdf560/s/14658300

1. 6 PLANTAS HOSPEDEIRAS DA LAGARTA FALSA-MEDIDEIRA

A lagarta falsa-medideira é praga de uma miríade de culturas em todo o mundo e, mais especificamente no Brasil, e já foram detectadas causando danos em 26 plantas de espécies diferentes (Specht et al., 2015). No início da década de 1980, as lagartas eram mais encontradas desfolhando plantações de feijão, repolho, quiabo, batata-doce, fumo e tomate, sendo essas culturas as mais frequentes para a incidência da praga. Contudo, as lagartas começaram a ser relatadas em plantações de algodão e soja e na safra de 2001/2002 foi relatado um aumento significativo dessa praga. Além de serem relatadas nas famílias Asteraceae, Solanaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Brassicaceae, Poaceae, Amaranthaceae, Euphorbiaceae e Malvaceae (Specht et al., 2015), essa lagarta também foi identificada como hospedeira em 14 diferentes espécies de plantas ornamentais, cultivadas majoritariamente em casas de vegetação como hortênsia (*Hydrangea sp.*), côleus (*Coleus hybridus Hort*) e violeta (*Saintpaulia ionantha Wendl*). Esta vasta quantidade de plantas em que a falsa-medideira pode ser hospedeira apenas demonstra a sua importância na agricultura, floricultura e mesmo em plantas não cultivadas (Moscardi et al., 2012).

A polifagia dessas lagartas é um aspecto muito importante, sua grande capacidade de se alimentar de diferentes famílias botânicas, ou polifagia, permite que sua oferta de alimentos seja muito maior quando comparada com insetos que possuem dieta restrita a uma família botânica. Além disso, a polifagia, garante a disponibilidade constante de alimento, o que possibilita que em países tropicais ou subtropicais, os insetos se reproduzam o ano todo, mantendo a densidade populacional sempre alta. Outro aspecto importante é que por ter uma grande gama de hospedeiros, a dinâmica populacional pode ser aumentada, visto que diferentes populações da lagarta falsa-medideira podem se desenvolver em diferentes plantas dentro de uma região ou persistir no ambiente em baixa densidade populacional, até que a fêmea encontre um hospedeiro que adequado é capaz de sustentar o desenvolvimento das larvas (Fitt, 1989).

Por mais que a *C. includens* possua uma vasta gama de plantas hospedeiras, a lagarta tem sido relatada na literatura como mais adaptada à soja, quando comparada às culturas de algodão, feijão, tomate, girassol e fumo (Bernardi, 2012). Nessa cultura, na fase larval da *C. includens*, a lagarta pode consumir entre 64 cm² a 200 cm² de área foliar da soja que fica com aspecto rendilhado pelo fato que a lagarta se alimenta somente da parte foliar e não das nervuras da folha (Hoffmann-Campo et al., 2000).

2. SOJA

2. 1 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA SOJA NO BRASIL E NO MUNDO

O mercado da soja é uma das commodities mais importantes no cenário mundial. Sua importância vai além da produção de diversas variedades de alimentos para consumo humano como, óleos a base de soja, leite de soja, tofu, proteína de soja hidrolisada e texturizada e alimentos infantis como fórmulas para bebês. A soja também é muito utilizada na pecuária na composição da ração de aves e suínos. Indiretamente, o aumento do consumo da carne desses animais, acresce a demanda dessa oleaginosa em conjunto, consolidando-a como uma das commodities mais relevantes do mercado mundial (Campeão, 2020).

2. 2 HISTÓRICO DA SOJA NO BRASIL

A soja é típica de países temperados, sendo difundida em países tropicais como o Brasil, onde houve uma adaptação de maneira completa da planta, o que a tornou uma das produções mais importantes no mercado nacional. No território brasileiro, a soja foi introduzida na década de 30, em que sua produção foi desenvolvida com o intuito de suprir a demanda da população

de suínos da época (Campeão, 2020). Somente após o fim da Segunda Guerra Mundial que foi iniciada a exportação dessa oleaginosa, período em que os grãos de soja eram utilizados na produção de óleos e rações comestíveis (Batista Filho, 1994). A soja teve grandes destaques nas exportações brasileiras a partir da década de 1950. Contudo, teve uma grande queda em 1980 com a redução do preço do produto no mercado internacional que decorreu da acumulação de estoques de grãos neste período. Mesmo com essa situação desfavorável e da redução da exportação de produtos internos brasileiros, combinando com a valorização da taxa de câmbio do real na década de 1990, a exportação do produto arrecadou 3,5 bilhões nas exportações nacionais nesse período (Rocha; Mendonça, 2004). Como forma de comparação, somente no ano de 2019, teve a produção de 114,843 milhões de toneladas de soja em 35,657 milhões de hectares de área plantada, contabilizando 63% de toda produção de soja no continente sul americano (Embrapa, 2019).

2. 3 MERCADO INTERNACIONAL DA SOJA

Dentre os países produtores de soja no mercado internacional, vale destacar três países: Brasil, Estados Unidos e Argentina como os maiores produtores desse grão no mercado nacional, mantendo esse título há mais de 15 anos. Somente esses três países possuem 80% das exportações mundiais na safra de 2022/23. O Brasil foi o país com maior quantidade de grãos exportados, liderando esse ranking desde da safra de 2019/20, seguido de Estados Unidos e Argentina (USDA, 2023). No Brasil, a produção de soja foi de 156 milhões de toneladas com o crescimento de 23,2%, na safra de 2022/23, batendo um novo recorde de produção desse grão (CONAB, 2023). O estado com maior produção dessa commodity foi Mato Grosso, que foi responsável por 26% da produção nacional, seguido de Paraná com 15%, Rio Grande do Sul com 14%, Goiás com 10% e Mato Grosso do Sul com 8%. Somente o Brasil é responsável por 42% da produção mundial da soja (Figura 6A). Os Estados Unidos são responsáveis por 31% da produção mundial de soja com a produção de 116,377 milhões de toneladas, sendo seu maior produtor o estado de Iowa (Figura 6B). A Argentina é a terceira maior produtora com 7% da produção mundial com 25 milhões de toneladas. A província de Buenos Aires é o maior produtor da oleaginosa na Argentina (Figura 6C) (USDA, 2023).

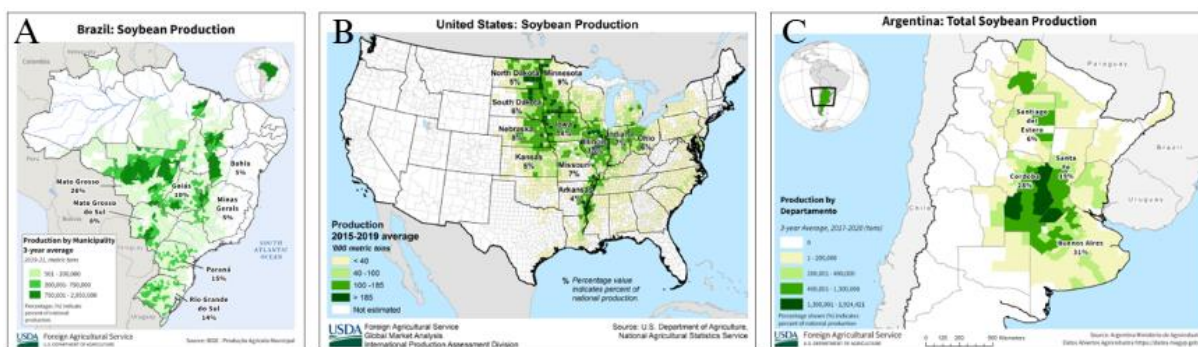


Figura 6 - Mapa de produção agrícola de soja no mundo. As cores mais fortes são os municípios que mais produziram, enquanto as cores mais claras são os municípios com menor produção. **(A)** O mapa demonstra a produção de soja no Brasil na safra de 2022/2023. **(B)** O mapa demonstra a produção de soja nos Estados Unidos da América na safra de 2022/2023. **(C)** O mapa demonstra a produção de soja na safra de 2022/2023 na Argentina. Fonte: (https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2222000&sel_year=2022&rankby=Production; https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2222000&sel_year=2022&rankby=Production; https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2222000&sel_year=2022&rankby=Production).

3. MANEJO DA *C. INCLUDENS*

A falsa-medideira possui a capacidade de se alimentar com diferentes plantas, tornando-se praga em diferentes culturas. Entre as culturas de maior impacto econômico no Brasil, destacam-se o feijão, tomate e soja. Existem diferentes métodos de controle de *C. includens*, incluindo o uso de controle químico, plantas transgênicas, controle biológico com organismos macro e micro. O tipo de estratégia pode variar conforme o objetivo, podendo priorizar opções mais seletivas que visam uma plantação mais sustentável, não afeando o meio ambiente, ou alternativas mais generalistas mas consequentemente mais agressivas ao meio ambiente. Cada método de controle possui diferentes níveis de eficácia com potenciais benefícios e malefícios. Contudo, independente da estratégia adotada, é necessário um entendimento prévio da lagarta, das características das plantas hospedeiras e a sua forma de ação nas plantações para que os resultados sejam mais eficientes.

3. 1 MIP - MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS

O MIP ou Manejo Integrado de Pragas é definido como o uso harmônico de todas as tecnologias disponíveis para uso de estratégias com a finalidade de controlar uma determinada praga agrícola em determinada cultura. Kogan et al., definiu o MIP como o uso de táticas de controle, isoladamente ou harmoniosamente associadas, numa estratégia baseada em análises de custo-benefício, que levam em conta o interesse e/ou o impacto sobre os produtores, sociedade e o ambiente (Fernandes, 2021). Em outras palavras, o MIP determina que nem todas

as espécies de insetos que precisam ser controladas e que em alguns casos, a infestação são toleráveis na plantação sem redução econômica na produção final do produto (Bueno et al., 2010). O MIP-Soja é o MIP diretamente voltado para a cultura da soja, define a maneira adequada e o momento certo para o controle químico ou biológico dos insetos pragas dessa cultura. No caso da lagarta falsa-medideira, o controle pode ser iniciado com base no número de insetos ou pelo grau de desfolhamento da lavoura. Para o critério de número de insetos, a intervenção é recomendada quando a presença de 20 lagartas grandes ($>1,5$ cm) por metro de fileira de soja. Em relação a quantidade de desfolhamento, o controle pode ser iniciado quando o nível de desfolhamento causado pela praga esteja em 30% no período vegetativo ou 15% no estágio reprodutivo de desenvolvimento da planta. A soja possui a capacidade de se recuperar diante de certos níveis de desfolha causado por insetos. Assim, dentro desses limites, o dano causado pela praga é tolerável pela planta, pois a área foliar que não sofreu com os ataques das lagartas é capaz de realizar fotossíntese de maneira suficiente para a produção de energia necessária, garantindo nutrição para a planta, sem alterar a produção final de grãos (Bueno et al., 2010).

3. 2 CONTROLE QUÍMICO DA LAGARTA FALSA-MEDIDEIRA

Uma das formas mais comuns de controlar uma infestação de *C. includens* na lavoura é o uso de pesticidas químicos. Como essas lagartas tem o hábito de se abrigar no terço inferior da planta, a aplicação do pesticida deve ser feita na parte mais abaxial. Caso contrário, os agentes químicos não atingirão a praga, permitindo a sobrevivência de grande parte da população de lagartas. Para atingir essa região da planta, é necessária uma dose mais elevada do pesticida químico, para garantir o manejo e a eficácia da população do inseto praga.

Para iniciar o controle químico, é necessário identificar se os níveis de destruição da lavoura estão classificados como grau de perda econômica, de acordo com os dados do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Com base nessas informações, o agricultor pode começar o controle químico da praga. Atualmente, os pesticidas químicos mais eficazes no controle da lagarta falsa-medideira são os clorfenapir e indoxacarbe, que possuem eficácia tanto nas lagartas maiores quanto nas menores (Perini et al., 2019). O clorfenapir possui uma taxa de mortalidade de 80.8% em lagartas menores e de 84.1% em lagartas maiores, enquanto o indoxacarbe apresenta uma taxa de mortalidade de 71.4% nas lagartas menores e 84.4% nas lagartas maiores seguindo as instruções na bula do fabricante (Perini et al., 2019). Outros pesticidas como clorfantraniliprole, espinetoram e diflubenzuron + clorpirifos, possuem uma eficácia de acima

de 55% de taxa de mortalidade em lagartas pequenas (Perini et al., 2019). Portanto, o seu uso é mais eficaz no período inicial de aparecimento da lagarta falsa-medideira na lavoura. O potencial de controle dessas lagartas por inseticidas químicos é aumentado quando há aplicação dupla, realizada no intervalo de pulverização de 7 dias.

3. 3 BENEFÍCIOS E MALEFÍCIOS DO USO DE PESTICIDAS QUÍMICOS NAS PLANTACÕES

O emprego de pesticidas químicos em conformidade às diretrizes da MIP pode proporcionar diversos benefícios ao agricultor brasileiro, incluindo retornos econômicos significativos. A aplicação adequada desses produtos pode gerar ganhos financeiros expressivos, alcançando até R\$ 696,8 milhões, graças à redução no número de aplicações de inseticidas químicos, o que, por sua vez, diminui os custos operacionais, a necessidade de novos equipamentos e a manutenção das máquinas agrícolas (Staback, 2020). Outra vantagem seria a diminuição dos danos causados no meio ambiente e em humanos, visto que, resíduos desses compostos químicos podem permanecer no alimento e ocasionar diversas doenças. Muitas vezes, o resíduo permanece até o produto chegar na prateleira (Lopez et al., 2018).

As desvantagens estão diretamente relacionadas com o uso inadequado dos pesticidas químicos. Quando utilizado de forma inapropriada, os agrotóxicos desencadeiam diversos impactos na saúde humana e na saúde do meio ambiente. Em humanos, os resíduos químicos podem permanecer no corpo humano e serem encontrados no sangue, na urina e até mesmo no leite materno. De acordo com Nascimento et al. 2017, pesticidas à base de organoclorados foram encontrados no sangue de doadores do estado de São Paulo, demonstrando a capacidade desses compostos de permanecer no corpo humano. Outro fator é que a exposição por longo prazo a esses compostos pode ocasionar diversas doenças como anomalias congênitas, câncer e disfunções na reprodução humana. Além de distúrbios endócrinos, neurológicos e mentais (Belchior et al., 2014). De acordo com o Ministério da Saúde, as principais formas de contaminação humana ocorrem de maneira direta, por meio do preparo, aplicação ou manuseio desses compostos químicos, e de maneira indireta, por ingestão de água e alimentos contaminados com seus resíduos.

No meio ambiente, o uso de dosagens altas e inadequadas, causam a morte de insetos não alvo, podendo gerar um desequilíbrio ecológico entre a interação de predador-presa (Hanlon et al., 2013). Essa interação de predador-presa reduz naturalmente a população dos insetos pragas. Os inseticidas químicos também afetam diretamente na abundância e na

diversidade de insetos polinizadores, afetando diretamente na eficiência de polinização (Pinheiro et al., 2010) e no declínio populacional desses insetos.

Outro fator é a interação de inseticidas químicos com os solos. Quando utilizados de maneira adequada, podem ser controlados. Contudo, o uso indiscriminado com dosagens acima do permitido podem causar desequilíbrio na população de macro e micro fauna do solo. Esses impactos podem variar, sendo alguns estimulantes e outros inibitórios (Figueiró, 2012). Contudo, em diversos casos, há uma alteração negativa na comunidade microbiana do solo, incluindo as bactérias (Oliveira et al., 2009).

No ecossistema aquático, esses compostos também podem ter efeitos negativos. A contaminação ocorre por meio do vento, das chuvas e da lixiviação no solo (Belchior et al., 2014). Os compostos químicos afetam uma ampla variedade de organismos aquáticos, incluindo peixes, algas, crustáceos e fitoplânctons. Dependendo do tipo de agrotóxico, os resíduos podem se acumular nas brânquias dos peixes, comprometer seu sistema nervoso e reduzir sua atividade de natação. Em algas, diminuem a capacidade de fotossíntese, inibem o crescimento e aumentam a taxa de mortalidade. Nos crustáceos, podem causar redução no tamanho dos indivíduos jovens. Além disso, esses compostos podem acumular em concentrações elevadas ao longo da cadeia alimentar, atingindo diferentes níveis tróficos. Como consequência, podem afetar indiretamente o ser humano, que ocupa o topo dessa cadeia (Belchior et al., 2014).

4. CONTROLE BIOLÓGICO

O controle biológico é um método utilizado para regular a densidade de espécies de animais ou plantas por meio de seus inimigos naturais, com o objetivo de manter a sustentabilidade do meio ambiente. Segundo DeBach (1964) o controle biológico consiste na ação de parasitos, predadores e patógenos que mantêm a densidade populacional de determinados organismos em um nível mais baixa do que ocorreria na ausência desses agentes. Essa técnica é antiga e apresenta diversas formas de apresentação, mas sempre se baseia no uso de um inimigo natural da espécie alvo. O método inclui o emprego de agentes entomófagos, como parasitóides e predadores e de agentes entomopatogênicos, que são os patógenos naturais no organismo alvo (Bueno et al., 2015). O controle biológico faz parte do Manejo Integrado de Pragas (MIP), permitindo o controle adequado de determinadas espécies. Inicialmente, essa estratégia foi utilizada para conter populações de insetos, ácaros e ervas daninhas. Contudo, sua

aplicação se expandiu ao longo do tempo, abrangendo também outros invertebrados, patógenos de plantas e até vertebrados (Parra, 2002).

4. 1 CONTROLE BIOLÓGICO UTILIZANDO AGENTES ENTOMÓFAGOS

Predadores e parasitóides são agentes entomófagos que são amplamente utilizados para combater pragas agrícolas. Predadores são organismos que necessita se alimentar de múltiplos organismos durante seu ciclo de vida para que seu desenvolvimento seja completo. Parasitoides são organismos que necessitam de somente um único organismo durante se ciclo de vida para completar seu desenvolvimento. Os parasitos podem ser classificados em dois grupos. Os idiobiontes são parasitoides cuja a fêmea, antes da oviposição, imobiliza e mata o hospedeiro, permitindo que no momento que ocorra eclosão de seus ovos, já exista a disponibilidade de alimento para a prole. Os cenobiontes ou coinobiontes são parasitas que após a oviposição, eles permitem o desenvolvimento do hospedeiro, de forma que a morte desse organismo seja mais tardia, geralmente na eclosão dos ovos. Em ambos os casos, os parasitoides paralisam o hospedeiro, levando à morte. As consequências dos predadores e parasitos irão apresentar o mesmo destino, a morte, é assim por consequência, o controle populacional das pragas.

4. 2 CONTROLE BIOLÓGICO COM AGENTES ENTOMOPATOGÊNICOS

Agentes entomopatogênicos são microrganismos responsáveis por causar diversas doenças em insetos. De forma natural, esses agentes desempenham um papel na manutenção da densidade populacional dos insetos, afetando-os e causando a morte de uma porcentagem da população, mantendo um equilíbrio natural da espécie. Quando se trata de inseto praga, essa abordagem tem um valor significativamente maior, por se tratar de uma forma alternativa para o manejo dessas pragas. Na cultura da soja, podem ser encontrados organismos entomopatogênicos capazes de controlar as principais pragas da soja. Dentre esses agentes, podem ser encontrados fungos, bactérias e vírus que auxiliam na manutenção das pragas abaixo do nível de controle (Simonato et al., 2014). Segundo os princípios do Manejo Integrado de Pragas, a área do controle biológico trata da utilização racional de entomopatógenos com intuito de manejar as populações de insetos pragas a níveis em que não cause danos econômicos (Bueno et al., 2015). Esse tipo de controle biológico destaca-se por diversas vantagens, dentre elas, as mais evidentes, podemos citar sua eficiência no controle de pragas, dispersão e produção em laboratório assim como sua aplicação em campo. Outra grande vantagem é sua seletividade no controle, pois dessa forma somente os insetos que prejudicam a plantação são

eliminados, enquanto os insetos que desempenham papéis benéficos, como os polinizadores e os detritívoros, são preservados. Isso contrasta com a prática do uso de pesticidas químicos que não possuem essas distinções entre os insetos, o que prejudica o meio ambiente com a eliminação de toda a população de insetos presentes.

4. 3 CONTROLE BIOLÓGICO COM FUNGOS

Os fungos são organismos que podem ser tanto unicelulares, como as leveduras, quanto pluricelulares, como a maioria dos fungos. Eles são compostos por células providas de parede originada por quitina e celulose, além de outros açúcares, que formam um conjunto denominado micélio. Essas estruturas que compõem o micélio são chamadas de hifas. Os fungos possuem estruturas reprodutivas, conhecidas como esporos ou conídios, resultante de processos de reprodução sexuada ou assexuada. Esses elementos são vitais para a disseminação do patógeno.

Os fungos entomopatogênicos tem como hospedeiro primário diversos tipos de pragas como afídeos, moscas-brancas, gafanhotos, moscas, besouros, tripes, ácaros e lagartas, incluindo as principais pragas da soja como a lagarta-da-soja (*A. gemmatilis*) e a lagarta falsa-medideira (*C. includens*). Uma das diferenças dos fungos quando comparado com outros grupos de agentes patogênicos é que os fungos possuem a capacidade de infectar todos os estádios de desenvolvimento dos hospedeiros (Alves et al., 2008; Valicente et al., 2009). Os fungos podem infectar os insetos por diversas vias, sendo a principal através da cutícula ou tegumento do inseto. Após penetrar o tegumento, os fungos se multiplicam de rapidamente por todo o corpo do hospedeiro, destruindo os tecidos e levando à morte do inseto. Em alguns casos, a letalidade ocorre devido às toxinas produzidas pelos fungos. Após a morte do hospedeiro, os fungos podem emergir de seu corpo do inseto e liberar esporos, que são disseminados pelo vento, pela chuva ou pelo contato com outros insetos, possibilitando a continuidade da infecção em novas populações de insetos-praga. Os insetos infectados pelos fungos entomopatogênicos, param de se alimentar, sua locomoção se torna mais lenta e esses insetos morrem relativamente rápido presos nas folhas da planta. Ao morrer, os insetos podem se tornar rígidos e sua cor pode ser creme, verde, avermelhada ou marrom, como consequência do crescimento do fungo (Valicente et al., 2009).

As principais espécies de interesse estudadas para o controle biológico são: *Beauveria bassiana* (Família: Cordycipitaceae), *Metarhizium anisopliae* (Família: Clavicipitaceae) e *Metarhizium rileyi* (Família: Clavicipitaceae). Atualmente, o controle biológico com fungos em *C. includens* é feito principalmente pelo fungo *M. rileyi*. Contudo, ainda não existem produtos

no mercado a base desse fungo para o controle da falsa-medideira. Existem produtos à base desse fungo para o controle de outras pragas no Brasil. Dentre os produtos, destaca-se o Nomuprotec® que é um formulado a base de *M. rileyi* para o controle de *Spodoptera frugiperda* (Agrofit, 2023; Mesquita et al., 2023). O *M. rileyi* tem seu ciclo de infecção iniciado quando os conídios que estão em contato com o hospedeiro, formam tubos germinativos que penetram a cutícula do inseto. Quando os tubos germinativos alcançam a hemocoele (cavidade por onde flui a hemolinfa), eles crescem e produzem hifas do tipo levedura. Em hospedeiros suscetíveis ao fungo, as hifas não são reconhecidas como corpos estranhos pelos hemócitos, permitindo que se repliquem livremente na hemolinfa do hospedeiro. No estágio final da infecção, a massa de hifas germina para formar o micélio e o conidióforo sofre diferenciação e emerge do inseto morto e mumificado para iniciar o ciclo novamente em outro hospedeiro (Lopez-Lastra et al., 1994; Simonato et al., 2014).

4. 4 CONTROLE BIOLÓGICO COM BACTÉRIAS

Dentre as bactérias utilizadas como agente entomopatogênico no controle de pragas agrícolas, as do gênero *Bacillus* são as mais empregadas, sendo *B. thuringiensis* a espécie mais conhecida. Esse gênero inclui diversas espécies caracterizadas por sua forma de bastonete, gram-positivas, aeróbicas e capazes de formar endósporos em condições nutricionais adversas. Os endósporos são altamente resistentes a fatores ambientais desfavoráveis, como temperaturas elevadas, radiação UV e determinados produtos químicos tóxicos. Além disso, bactérias do gênero *Bacillus* aumentam a tolerância das plantas a estresses abióticos, como salinidade, seca e toxicidade por metais pesados (Borriss et al., 2015). Devido a essas características, diversas formulações comerciais à base de *Bacillus* estão disponíveis, pois essas bactérias permanecem viáveis por longos períodos, permitindo seu armazenamento de forma semelhante aos produtos químicos.

A bactéria *B. thuringiensis*, ou simplesmente Bt, foi introduzida no mercado de controle de pragas, principalmente para o controle de Lepidópteros, na década de 40 (Simonato et al., 2014). Ela possui a capacidade de produzir cristais proteicos denominados delta-endotoxinas durante o processo de esporulação e acumulando esses cristais no compartimento da célula mãe durante a esporulação, podendo corresponder até 25% do peso seco das células (Salles et al., 1998). Esses cristais podem possuir várias formas, como: bipiramidal, esférica, retangular, cuboide e irregular (Boucias et al., 1998; Valicente et al., 2009). Cada um desses cristais pode ser formado por uma ou mais proteínas codificadas pelos genes *cry* que são classificadas em 42

diferentes tipos de delta-endotoxina em 14 grupos, conforme a atividade biológica dos produtos dos genes *cry* e com sua sequência de aminoácidos. Até 1998 eram cinco genes principais: *cryI*, *cryII*, *cryIII*, *cryIV* e *cryV*, mas atualmente, pela grande quantidade de genes estudados e sequenciados, usa-se a classificação com números arábicos, como por exemplo: *cry1*, *cry2*, *cry3* e assim até *cry51*, além das subclasses como por exemplo os genes *cry1* possui as subclasses *cry1A* a *F*. (Salles et al., 1998). Os genes *cry1*, *cry2* e *cry9* são específicos para lepidópteros (Valicente et al., 2009).

Os cristais proteicos possuem propriedades inseticidas específicas, o que é inofensivo para outros organismos, mas letalmente tóxicas para insetos. Os produtos à base da bactéria *Bt* geralmente contêm uma mistura de esporos e de cristais secos das toxinas. Esses produtos serão aplicados na parte foliar das culturas, para que a lagarta se alimente das folhas e assim as proteínas inseticidas da bactéria adentrem o inseto. A degradação dos cristais será ativada pelo pH alcalino do trato digestivo das lagartas, liberando assim as proteínas tóxicas, as delta-endotoxinas. Ocorrendo o rompimento das paredes do intestino médio do inseto, causando o interrompimento na alimentação e posteriormente a morte do hospedeiro (Valicente et al., 2009; Simonato et al., 2014). O consumo da lagarta pode ser reduzido em mais de 95% quando comparado com a lagarta sadia (Simonato et al., 2014). As vantagens relacionadas ao uso de *B. thuringiensis* no controle biológico está na sua alta especificidade, o que permite que os insetos benéficos a plantação, não sejam afetados por esse manejo. Outra vantagem é pelo o fato de que a quantidade de resíduos nas folhas, solos e água são quase nulos, em contraste com os pesticidas químicos, que podem contaminar esses ambientes e seus resíduos podem permanecer por um longo período de tempo. Contudo, essas vantagens podem ser tornar desvantagens, pois sua alta especificidade acaba limitando seu uso a somente uma espécie de inseto praga. Na maioria dos casos as culturas são afetadas com diferentes espécies de pragas agrícolas simultaneamente, o que impossibilita o uso de *B. thuringiensis* para manejo de diversas pragas. Outra desvantagem é pelo fato de necessitar de número maior de novas aplicações do produto, pois seus resíduos não permanecem no ambiente.

Para o controle de *C. includens* no Brasil, existem produtos no mercado como *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (BTK)® da empresa Bom futuro, o Bt-turbo max® do grupo Vittia Fertilizantes e Biológicos S.A, o Bt protection® da empresa Bioma Indústria comércio e distribuição LTDA e Biobac-t® da empresa Vital Brasil Chemical Industria e Comercio de Produtos Químicos Ltda, dentre outros (MAPA, 2022). Todos esses quatro produtos possuem

bula, são formulações de suspensão concentrada, são registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e classificados como inseticida microbiológico.

4. 5 CONTROLE BIOLÓGICO COM VÍRUS

O controle biológico pode ser feito através de aplicações de vírus entomopatogênicos para as pragas agrícolas que são suscetíveis a essa doença. Os vírus são um grupo de organismos que não possuem estrutura celular, nem metabolismo próprio, compostos essencialmente por um tipo de ácido nucleico, DNA fita simples ou dupla ou RNA fita simples ou dupla. Por constituem um grupo de parasitas intracelulares obrigatórios, necessitam infectar uma célula hospedeira e utilizar sua estrutura para replicar seu material genético, sendo provavelmente capazes de infectar todas as formas celulares de vida (Simmonds et al., 2017; de Castro et al., 2020). Os vírus podem ser classificados de acordo com quatro características: natureza do ácido nucleico carregado dentro da partícula viral (DNA ou RNA), simetria do capsídeo (capa proteica envoltória do genoma viral), presença ou ausência de membrana lipídica (envelope viral) e dimensões das partículas virais e dos capsídeos (de Queiroz et al., 2018). Entre os vírus, 18 famílias diferentes infectam os insetos (Dacheux et al., 2014). Dentre elas, a família que mais se destaca é a *Baculoviridae*, cujo os baculovírus têm sido utilizados com sucesso como agentes controladores de pragas devido a sua elevada virulência e especificidade (Raj et al., 2022; Gelaye et al., 2023).

5. BACULOVÍRUS

Entre as famílias ou grupos de vírus de invertebrados descritos, podemos citar os ascovírus, iridovírus, polydnavirus, cipovírus, entomopoxvirus e baculovírus (de Castro et al., 2020). Os baculovírus (Figura 7) são o grupo de vírus mais conhecidos e estudados dentre os vírus entomopatogênicos (Harrison et al., 2018; de Castro et al., 2020) e isso ocorre devido ao seu alto potencial e sua eficácia em controlar pragas agrícolas, além de suas aplicações clínicas e farmacêuticas para humanos através de expressão de proteínas (Tsai et al., 2019; Sosa-Gómez; 2022). Outro fator é sua grande diversidade, o que gera diversos vírus que podem infectar diferentes pragas agrícolas, sempre de forma específica para cada praga. Isso geralmente possibilita um controle somente do inseto-praga suscetível, sem afetar os insetos benéficos ao campo. A primeira instituição de pesquisa responsável por utilizar o baculovírus no Brasil foi a Embrapa Soja, que utilizou o *Anticarsia gemmatilis* Nucleopoliedrovírus (AgMNPV) no

manejo da praga lagarta-da-soja (*A. gemmatilis*) na década de 80 (Simonato et al., 2014). Contudo, em decorrência de desequilíbrio ecológico, causado pela mistura de inseticidas e amplo espectro com herbicidas teve efeitos adversos sobre os inimigos naturais, como predadores e parasitoides. Essa situação favoreceu o aumento de pragas secundárias, como a falsa-medideira, moscas-brancas, *Spodoptera spp* e ácaros que eram considerados pragas secundárias, tornaram-se pragas importantes (Moscardi et al., 2011). Diante desse cenário, os agricultores entraram em um ciclo vicioso, necessitando cada vez mais aplicar inseticidas químicos de largo espectro contra estas “pragas”. Consequentemente, um produto biológico altamente específico como o AgMNPV, tornou-se inviável e a área tratada com este agente entomopatogênico foi reduzida (Moscardi et al., 2011; Sanches et al., 2018).

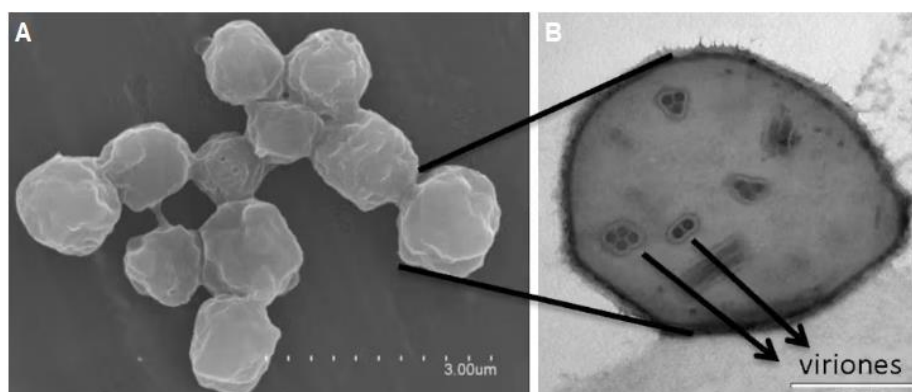


Figura 7 - Imagem ilustrativa de uma microscopia eletrônica de varredura (A) e uma microscopia eletrônica transmissão (B) de um baculovírus. Fonte: <https://theconversation.com/baculovirus-un-aliado-en-la-lucha-contra-la-covid-19-135081>

5. 1 A DESCOBERTA DO BACULOVÍRUS

A descoberta do baculovírus está estreitamente ligada com a história da indústria da seda, mais especificamente com o desenvolvimento dessa indústria há mais de 5000 na China. O início da cultura da seda começou a se estender com a Coréia por volta dos anos 300 d.C., e assim chegou em toda Ásia e ao Japão, onde está presente documentada em gravuras históricas. Na Europa foi por volta do século 55 d.C., enquanto no continente americano, chegou por volta dos anos de 1500 no México. A cultura da seda também sofreu com o surgimento de doenças que atacavam o inseto produtor da seda (*Bombyx mori*, Lineu 1758). Mesmo antes do entendimento de teorias de enfermidades infecciosas proposta por Pasteur, foram relatados diversos tipos de doenças que causavam a morte ou baixa produção de seda pelo bicho-da-seda

Bombyx mori), além da criação de métodos para evitar essas doenças. Com o passar dos anos, foram desenvolvidos métodos de microscopia de luz, o que possibilitou a caracterização de algumas doenças, entre elas uma doença que afetava as lagartas da bicho-da-seda, permitindo a identificação de corpos de oclusão refratários que eram removidos de lagartas afetadas pela doença (Figura 8A). Esses corpos de oclusão apresentavam em sua grande maioria a formato poliédrico, o que fez com que essa doença fosse nomeada como poliedrose, por volta do século XVIII. Posteriormente, foi descoberta outra doença causada por vírus com corpos de oclusão: o cipovírus. Embora a sua forma de infecção e a morfologia dos seus corpos de oclusão seja semelhante às dos baculovírus, os cipovírus foram classificados na ordem *Reovirales*, família *Sedoreoviridae*, do gênero *Cypovirus*, devido aos seus genomas segmentados de RNA fita dupla (Attoui et al., 2021). Além disso, os cipovírus apresentam corpos de oclusão no citoplasma, das células infectadas, enquanto nos baculovírus a poliedrose se desenvolve no núcleo das células dos insetos hospedeiros. Essa levou a criação de uma nova forma de classificação, distinguindo as doenças como poliedrose nucleares (NPV) e poliedrose citoplasmática (CPV) (Rohrmann, 2019). Somente por volta da década de 1940, com a metodologia da microscopia eletrônica já estabelecida, foi possível identificar a presença de partículas infecciosas nos corpos de oclusão (Figura 8B). Essas partículas virais possuíam a forma de bastão ou bastonete, e foi demonstrado da natureza cristalina dos corpos de oclusão. Posteriormente, um segundo tipo desse vírus foi caracterizado. Esse tipo, possuía corpos de oclusão pequenos, granulares (Figura 8C) de forma elipsoidal e foi designado como vírus da granulose, resultando na primeira divisão taxonômica entre esse vírus, a partir da morfologia de seus corpos de oclusão entre os vírus da poliedrose nuclear e os vírus da granulose. O nome desse tipo de vírus sofreu alterações durante o passar dos anos, sendo chamado de Borrelinavírus, Bergoldiavírus, Smithiavírus, Moratorvírus e Vagoiavírus, em homenagem a diferentes figuras históricas que estudaram os vírus da poliedrose nuclear e os vírus da granulose. Somente em 1973 que a nomenclatura do vírus foi alterada e unificada para Baculovírus, como é conhecida atualmente. O nome baculovírus foi proposto por Mauro Martignoni, que sugeriu essa designação com base na forma de bastonete dos vírions, o que o nome em latim baculum, significa bengala, bastão ou cajado (Rohrmann, 2019).

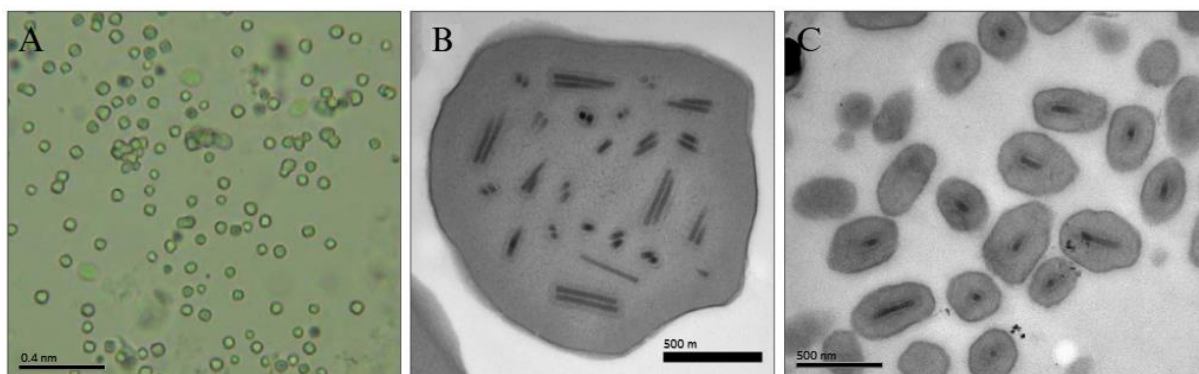


Figura 8 – Morfologia dos corpos de oclusão de baculovírus em diferentes aumentos. **(A)** Corpos de oclusão de *Spodoptera frugiperda* (SfNPV) por microscopia de luz com aumento de 40x. Fonte: Cuartas-Otálora et al., 2010. **(B)** Corpo de oclusão (poliédrico) do baculovírus de *Mythimna unipuncta* (MyunNPV) por microscopia eletrônica de transmissão, Barra: 500 nm. . Fonte: Harrison et al., 2019. **(C)** Corpos de oclusão (granular) do baculovírus de *Erinnyis ello* (ErelGV) por microscopia eletrônica de transmissão, Barra: 500 nm.. Fonte: Sihler et al., 2014.

5. 2 TAXONOMIA DO BACULOVÍRUS

Os baculovírus são divididos taxonomicamente em classe, ordem, família, gênero e espécie. As regras que regem a classificação taxonômica e a nomenclatura de vírus foi atualizada em fevereiro de 2023 com novas classes, ordens, famílias e houve a renomeação das espécies para o formato da nomenclatura binomial de Linnaeus (Zerbini et al., 2023; van Oers et al., 2023). Os baculovírus pertencem à classe *Naldaviricetes*, ordem *Lefavirales* e família *Baculoviridae*. Sua nomenclatura deve conter a primeira palavra começando com uma letra maiúscula e ser idêntica, na ortografia, ao nome do gênero a que a espécie pertence. A segunda palavra componente não deve conter sufixos específicos de taxa de categoria superior. O nome completo da espécie (ambas as palavras componentes) deve ser escrito em itálico (van Oers et al., 2023). A abreviação do vírus é nomeada com o inseto hospedeiro em que o vírus foi descoberto mais a indicação do seu tipo de corpo de oclusão. Por exemplo, a espécie *Alphabaculovirus angemmatilis* foi um baculovírus isolado de *A. gemmatilis* do gênero *Alphabaculovirus* que possui a abreviação de AgMNPV, indicando os corpos de oclusão do tipo poliédrico, enquanto o *Betabaculovirus spofrugiperdae* é um vírus isolado de *Spodoptera frugiperda* do gênero *Betabaculovirus* que possui sua abreviatura SfGV indicando seus corpos de oclusão em forma de grânulo. No início, a forma mais comum nomenclatura utilizava a primeira letra do gênero e a primeira letra da espécie do inseto hospedeiro em que o vírus foi encontrado. Assim, GmNPV era proveniente de *Galleria mellonella*. Em seguida, utilizou-se as duas primeiras letras do gênero mais as duas primeiras letras da espécie para evitar confusão com espécies com as iniciais idênticas. Por tanto, o *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus

e seus isolados são chamados de ChinNPV e não CiNPV. Da mesma forma é chamado PlxyNPV isolado de *Plutella xylostella*. Entretanto, os vírus que já eram bastante conhecidos continuam com a mesma nomenclatura, como é o caso do AcMNPV de *Autographa californica*, que não foi alterado para AucaMNPV. É importante mencionar que essa nomenclatura é usada mesmo que o vírus seja posteriormente descoberto como uma variante de outro vírus, como é o caso dos vírus GmNPV de *G. mellonella*, RoNPV de *Rachiplusia ni* e PlxyNPV de *P. xylostella* que possuem o nível de semelhança dos aminoácidos de 96-98,5% ao vírus AcMNPV de *Autographa californica*, sendo assim, variantes do AcMNPV (Rohrmann, 2019). Atualmente, essa forma de nomenclatura é utilizada para a abreviação da espécie, e a espécie é nomeada no sistema binomial com o primeiro nome pertencendo ao gênero e o segundo epíteto específico, como por exemplo *Alphabaculovirus chrincludentis* o baculovírus de *Chrysodeixis includens* (van Oers et al., 2022; ICTV, 2023).

Outra identificação no nome do vírus é de acordo com o número de nucleocapsídeos presentes nos envelopes virais. Os baculovírus podem ser SNPV's ou NPV's designação para os *single nucleopolyhedrovirus* que são os vírus que possuem apenas um nucleocapsídeo por envelope, como por exemplo o ChinNPV. Enquanto os MNPV's possuem múltiplos nucleocapsídeos por envelope e são nomeados como *multiple nucleopolyhedrovirus*, como por exemplo o AcMNPV (Figura 9). Os MNPV's podem possuir entre 1 a 15 nucleocapsídeos por envelope, com uma pequena predominância de entre 5 a 15 (Rohrmann, 2019). Os granulovírus, no geral, possuem somente um único nucleocapsídeo por envelope, logo, não é preciso esse tipo nomeação (de Castro et al., 2020). Contudo, em alguns raros casos, estudos indicam a presença de GV's com múltiplos nucleocapsídeos por envelope (Falcon et al., 1985; Rohrmann, 2019). Mesmo com características distintas entre os MNPV's e os SNPV, foi verificado que essas diferenças não correspondiam às relações filogenéticas do vírus. Um vírus pode ser MNPV mas ser proximamente relacionado a um SNPV. Essa dificuldade sobre as propriedades dos vírus, se deve ao fato da grande distinção de seu conteúdo genético, o que impossibilita relacionar as características genéticas do vírus com sua característica fenotípica MNPV ou SNPV (Rohrmann, 2019).

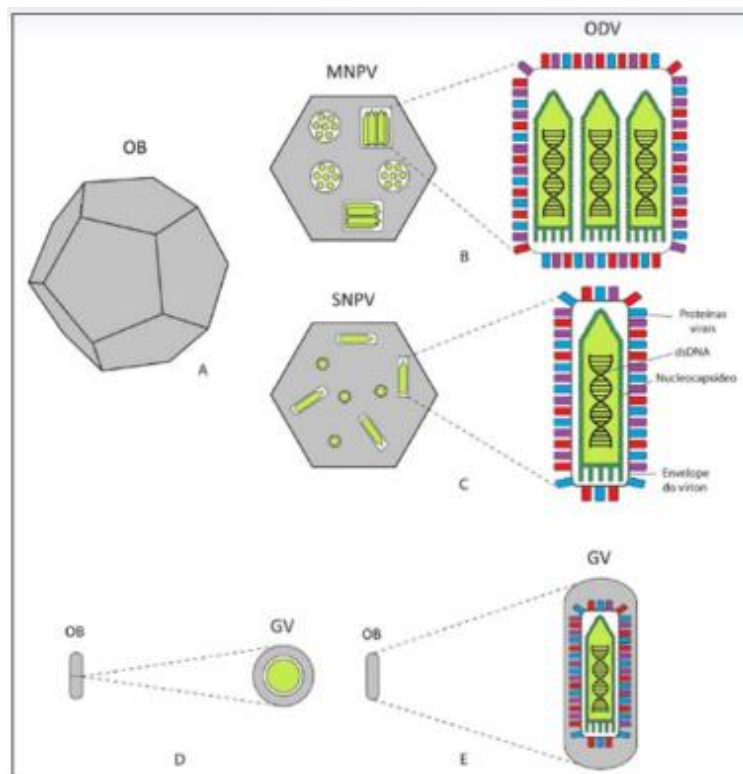


Figura 9 - Exemplificação das diferenças entre os tipos de baculovírus. O corpo de oclusão de um baculovírus de NPV (A), sendo um da característica *multiple nucleopolyhedrovirus* MNPV (B) e outro do tipo *single nucleopolyhedrovirus* SNPV (C). Na parte inferior, um baculovírus do tipo GV (D) e single (E). Fonte: Acervo do Laboratório de Virologia de Insetos, LaVI-UFSM

5. 3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO BACULOVÍRUS

Os membros da família *Baculoviridae* possuem como característica a presença de um corpo de oclusão (do inglês occlusion bodies) que consiste numa matriz cristalina composta por uma proteína chamada de poliedrina, no caso dos vírus NPV's ou por uma proteína chamada granulina, no caso dos GV's. Por possuírem essas proteínas diferentes, os corpos de oclusão nos NPV's podem ser chamados de poliedro, enquanto os dos GV's podem ser chamados de grânulos ou cápsulas. O corpo de oclusão permite que os vírions, presente em seu interior, resistam a maioria das condições adversas impostas pelo ambiente, como dissecação, temperatura, variação de pH e radiação solar (Rohrmann, 2019; Sosa-Gomez et al., 2022). Essa resistência, é consequência da alta estabilidade do cristal proteico. Por mais que essas proteínas tenham nomes diferentes, elas são proximamente relacionadas.

Ao redor da matriz poliédrica de um corpo de oclusão, é encontrado o envoltório poliédrico (PE), que pode ser chamado de membrana poliédrica ou cálice. No início, acreditava-se que o PE era composto por hidratos de carbono, contudo, verificou-se que era composto de uma proteína fosforilada de 34 kDa estava ligada covalentemente ao PE através de uma ligação

tiol. Essa proteína, chamada de pp34 foi observada no AcMNPV. O invólucro do poliedro, aumenta a estabilidade do corpo de oclusão no ambiente e protege os corpos de oclusão do estresse físico (Kelly et al., 2016). Ao realizar uma verificação em um vírus recombinante incapaz de produzir pp34, foi observado que o vírus possuía uma deficiência na formação do envelope poliédrico e de espaçadores eletronicamente densos (*electron dense spacers*), o que se acredita serem os precursores da estrutura do envelope poliédrico (Kelly et al., 2016). O envelope poliédrico e os espaçadores eletronicamente densos foram encontrados em associação com estruturas fibrilares compostas de p10, uma proteína que é produzida em grandes quantidades durante a fase de oclusão, assim como a poliedrina. Essa associação entre o envelope poliédrico com a estruturas fibrilares que possuem p10, indica um envolvimento da proteína na montagem e associação adequada do invólucro do poliedro em torno da matriz do corpo de oclusão (Kelly et al., 2016).

Os baculovírus possuem os vírus derivados de oclusão (do inglês occlusion derived viruses, ODV) e o vírus brotado (do inglês budded viruses) que por mais que eles sejam geneticamente idênticos possuem diferenças em sua morfologia, “timing” e no local de maturação, nas proteínas estruturais, na origem dos envelopes virais, na antigenicidade e na infecciosidade (Figura 10) (Kelly et al., 2016).

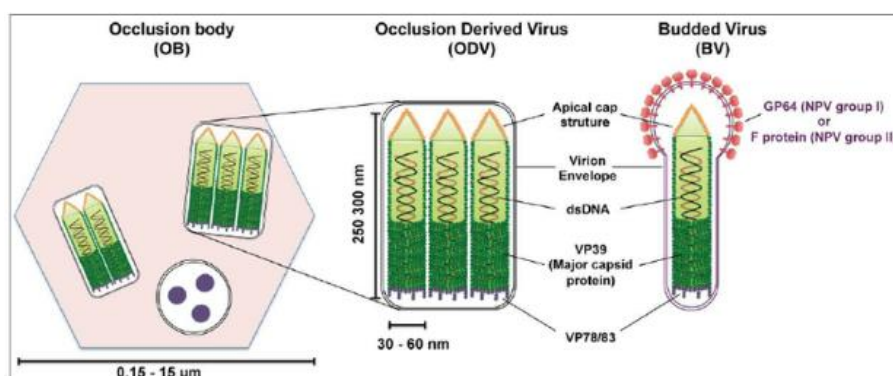


Figura 10 - Imagem esquematizando as partículas virais de baculovírus, o vírus brotado (do inglês budded viruses) e os derivados de oclusão (do inglês occlusion derived viruses, ODV) e suas características morfológicas. Fonte: Miller et al., 1997.

As partículas de BV possuem estruturas compostas pela glicoproteína GP64 para os NPV do grupo I em formas de espinhos ou “spikes”, que são conhecidas como peplômeros (Blissard & Theilmann, 2018). A GP64 é distribuída em todo envelope viral em concentrações menores do que as concentrações encontradas nos peplômeros. Durante a infecção viral, a GP64 localiza-se em regiões discretas da membrana plasmática, locais em que ocorre o brotamento dos vírions. Consequentemente, ao brotarem da membrana plasmática, as partículas virais

adquirem um invólucro originado da mesma membrana plasmática, contendo a proteína GP64 (Kelly et al., 2016). As partículas de BV possuem seu envelope viral originado quando eles atravessam a membrana plasmática da célula hospedeira, que foi modificada por proteínas virais (Rohrmann, 2019).

A partícula de ODV, diferente da BV, não possui GP64 ou qualquer homólogo dessa proteína, elas possuem a proteína p74. A p74 é uma proteína de envelope codificada pelo vírus e está associada ao exterior do vírus. Por estar no exterior do vírus, sua presença pode indicar que ela esteja associada à função de fixação do vírus nas células do intestino médio do inseto. Outra proteína estrutural identificada no invólucro do ODV são as PIFs, codificadas pelo gene *per os infectivity factor (pif)*, homólogo à ORF 119 do AcMNPV. Esses genes são necessários para a infecção do tecido intestinal (Kelly et al., 2016). Outras proteínas que são específicas para os ODV são as ODV-E25, ODV-E66, ODV-E56, ODV-E18 e ODV-E35. Essas proteínas juntamente com a p74, estão associadas com estruturas de microvesículas intranucleares que aparecem no núcleo da célula durante o processo de infecção (Kelly et al., 2016). Como elas possuem esse papel, é possível que essas microvesículas sejam associadas com a função de envelopamento do ODV. A fonte dessas microvesículas pode ser o processo de invaginação da membrana nuclear interna observada durante a infecção por baculovírus. Outra proteína específica ao ODV é a GP41 que foi identificada como uma glicoproteína localizada na região entre o invólucro do vírus e o nucleocapsídeo, em uma área referida como tegumento (Kelly et al., 2016). A GP41 é necessária para a liberação dos nucleocapsídeos do núcleo durante a produção do BV, mesmo ela não esteja presente na forma de vírus brotado. Outra proteína estrutural do envelope é do capsídeo do ODV são as ODV-EC27. Essa proteína é uma homóloga de ciclina e está relacionada com a pausa do ciclo celular do hospedeiro, durante a infecção por baculovírus. Por fim, a proteína BV/ODV-E26, é uma proteína encontrada tanto nas partículas de ODV quanto nas BV. Elas estão presentes no envelope dessas partículas e estão associadas a microvesículas intranucleares (Kelly et al., 2016). O ODV obtém seu envelope no núcleo da célula e este pode ser derivado de membranas nucleares modificadas com várias proteínas virais (Rohrmann, 2019).

5. 4 CLASSIFICAÇÃO DOS BACULOVÍRUS

Inicialmente a família *Baculoviridae* foi dividida em dois grupos de acordo com sua morfologia, os NPV's com os representantes que possuíam nucleopoliedrovírus e os GV's com os granulovírus como seus representantes. Após o avanço da biologia molecular, estudos

moleculares, filogenéticos e a integração de novas técnicas para classificação taxonômica, a família *Baculoviridae* foi dividida em quatro respectivos gêneros de acordo com a ordem de seus insetos hospedeiros (Harrison et al, 2018): *Alphabaculovirus* (Lepidópteras), *Betabaculovirus* (Lepidópteras), *Gammabaculovirus* (Hymenoptera) e *Deltabaculovirus* (Diptera)

Entre os NPV's está o gênero *Alphabaculovirus* que são baculovírus específicos de lepidópteros e possuem 456 espécies infectadas já reportadas (Rohrmann, 2019). Seus corpos de oclusão possuem forma poliédrica e com diâmetro de 0,15 µm a 5,0 µm com 80 kb a 180 kb de genoma. Esse gênero é dividido em dois grupos com base em análises filogenéticas, o Grupos I e Grupo II (Rohrmann, 2019; de Castro et al, 2020). Esses dois grupos se diferem no conteúdo genético pelas suas proteínas de fusão de membrana (Blissard & Theilmann, 2018). Os NPV do Grupo I possuem a proteína GP64 e F, utilizam a GP64 como proteína de fusão do *budded virus* e com o genoma de aproximadamente 130 kb. Enquanto os NPV do Grupo II não possuem a GP64 e utilizam a proteína F e possuem um genoma entre 130 kb até 170 kb (Figura 11). Esse tamanho de genoma, pode ser atribuído a uma combinação de genes repetitivos chamados de *bro* (*baculovirus repeated orf*), são 16 genes *bro* que adicionam 30 kb no tamanho do genoma dos vírus do Grupo II. Outra distinção entre os grupos, é que no Grupo I são encontrados 11 genes que não pertencem ao Grupo II (ORFs de AcMNPV: Ac1 - *ptp*, Ac16 - *BV-ODV26*, Ac27 - *iap-1*, Ac30, Ac42 - *gta*, Ac72, Ac73, Ac114, Ac124, Ac132, Ac151 - *ie2*) (Rohrmann, 2019; de Castro et al, 2020).

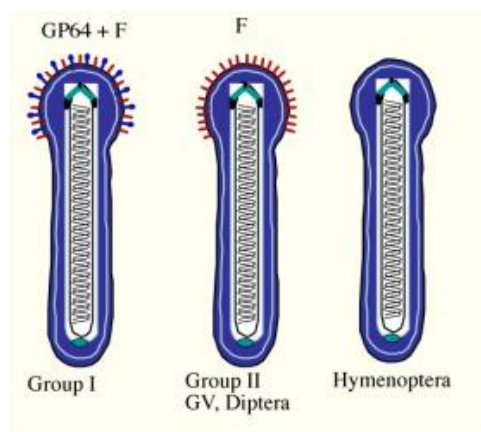


Figura 11 - Imagem que exemplifica a diferença entre os NPV's do grupo I e grupo II. Na imagem, é exemplificado as diferenças do capsídeo do Grupos I, II e mais o capsídeo de um baculovírus do gênero *Gammabaculovirus*. Fonte: Rohrmann, 2019.

O gênero *Betabaculovirus* também é constituído por baculovírus específicos de lepidópteros, também chamados de granulovírus (GV), sendo reportadas até o momento, cerca de 128 espécies infectadas por GVs foram descritas (Rohrmann, 2019). Seus corpos de oclusão possuem forma cilíndrica com diâmetro de 0,12 µm a 0,50 µm e com genoma similar ao genoma dos *Alphabaculovirus* e variam entre 98,392 bp a 178 kb (Rohrmann, 2019; de Castro et al., 2020).

O gênero *Gammabaculovirus* é representado pelos baculovírus que infectam os himenópteros. Já foram reportadas 30 espécies infectadas por esse vírus (Rohrmann, 2019). Seus principais representantes são *Neodiprion lecontei* (NeleSNPV), *Neodiprion sertifer* (NeseSNPV) e *Neodiprion abietis* (NeabNPV). Seus corpos de oclusão possuem diâmetro com cerca de 0,4 µm a 1,1 µm e possuem o genoma de 82 kb a 86 kb, os menores entre os baculovírus (Jehle et al., 2006; de Castro et al., 2020).

O gênero *Deltabaculovirus* está representado pelos baculovírus de dípteros. Esses baculovírus são específicos a essa ordem e já foram registradas 27 espécies infectadas por esse vírus (Rohrmann, 2019). Seu principal representante é o *Culex nigripalpus* (CuniNPV) que infectam os mosquitos do gênero *Culex*. Seus corpos de oclusão possuem diâmetro de 0,4 µm e seu genoma possui cerca de 108,252 bp (Afonso et al., 2001; de Castro et al., 2020).

5. 5 ORGANIZAÇÃO GENÉTICA DO BACULOVÍRUS

Baculovírus são vírus de DNA fita dupla e circular que possuem o genoma que varia entre 80 a mais de 180 kb e que codificam entre 90 a 180 genes. Dentre esses genes, existem 38 genes homólogos que são encontrados em todos os genomas de baculovírus. Desses genes conservados, aproximadamente metade está relacionada a proteínas associadas ao vírus que possuem papel na estrutura do capsídeo, no envelope dos ODV's e na infecção larval. Enquanto, a maior parte dos outros genes estão relacionado com a replicação, o processamento do DNA e a transcrição tardia e muito tardia. Dentre os 38 core genes do baculovírus podemos citar os *Ac6 Lef2 primase associated*, *Ac14 Lef1 primase*, *Ac65 DNA polimerase*, *Ac95 DNA helicase* e *Ac133 Alkaline nuclease*, todos relacionados a replicação e processamento do DNA. Na transcrição e na RNA polimerase, podemos citar os genes *Ac50 LEF-8*, *Ac62 LEF9*, *Ac40 p47*, *Ac90 LEF-4*, *Ac77 VLF-1* e *Ac99 LEF-5*. Os genes conservados responsáveis pela estrutura do vírus são os *Ac54 vp1054*, *Ac66*, *Ac80 gp41 tegument*, *Ac83 VP91*, *Ac89 VP39 capsid*, *Ac100 p6.9*, *Ac94 ODV-E25*, *Ac109*, *Ac142*, *Ac143 odv-E18* e *Ac144*. Os da estrutura dos ODV's são *Ac22 pif2*, *Ac68 pif6*, *Ac96 pif4*, *Ac110 pif7*, *Ac115 pif3*, *Ac119 pif1*, *Ac138 p74 (pif0)* e *Ac148*

odv-e56 (pif5). Os presentes genes codificadores de enzimas são os *Ac53 ubiquitin ligase*, *Ac92 sulfhydryl oxidase* e *Ac98 38K phosphatase*. Por fim, possuem outros genes conservados que não estão relacionadas as atividades mencionadas anteriormente, que são os genes *Ac78*, *Ac81*, *Ac93*, *Ac101* e *Ac103* (Rohrmann, 2019). O genoma dos vírus é encontrado envelopado dentro dos nucleocapsídeos que possuem forma de bastão que possuem de 230 a 385 nm de comprimento e 40 a 60 nm de diâmetro (Akermann et al., 1983; Federici et al., 1986; Rohrmann, 2019).

Além dos principais genes homólogos encontrados em todos os baculovírus, os gêneros *Alphabaculovirus* e *Betabaculovirus*, conseguem codificar um conjunto de 25 genes auxiliares que pertencem ao seu genoma, dentre eles, uma parte também pode ser codificada nos genomas dos *Gammabaculovirus* (Rohrmann, 2019). Esses genes são os *Ac8*, *Ac10*, *Ac13*, *Ac23*, *Ac25*, *Ac28*, *Ac29*, *Ac32*, *Ac36*, *Ac37*, *Ac46*, *Ac38*, *Ac53a*, *Ac61*, *Ac67*, *Ac75*, *Ac76*, *Ac82*, *Ac102*, *Ac106/107*, *Ac110*, *Ac139*, *Ac145*, *Ac146* e *Ac147*. Dentre esses genes, os *Ac8*, *Ac25*, *Ac37*, *Ac75*, *Ac76*, *Ac106/107* e *Ac145* são encontrados em *Gammabaculovirus*.

5. 6 INFECÇÃO POR BACULOVÍRUS (CICLO DE VIDA)

Os baculovírus, evoluíram para conseguir iniciar a infecção no intestino médio do inseto e depois espalhá-la para outros tecidos do inseto. Essa evolução permitiu a existência de dois tipos de vírions diferentes: os vírus derivados dos corpos de oclusão e os vírus brotados ou extracelulares (Rohrmann, 2019). Os vírus utilizam a célula hospedeira para se replicar e se desenvolver. Para que a infecção por baculovírus em insetos seja realizada, é necessário que o corpo de oclusão (poliedro ou grânulo) seja ingerido pelo o inseto alvo, pois a principal via de entrada do vírus no inseto é a via oral. Ao serem ingeridos pelos insetos, a matriz cristalina dos corpos de oclusão (poliedro ou grânulo) se dissolve devido a ação de proteases e pelo pH altamente alcalino ($\text{pH} > 11$) do suco digestivo do inseto, o que libera as partículas de ODV (Sosa-Gómez et al., 2022). O baculovírus, possuem um ciclo biológico bifásico, ou seja, ele possui duas fases em sua infecção. A primeira fase ou infecção primária no inseto hospedeiro é realizada pelo ODV que irá atravessar a membrana peritrófica que é formada pela secreção de quitina juntamente com outros polissacarídeos e proteínas das células intestinais. Essa secreção, forma um filtro que permite tanto a passagem de alimento digerido no intestino quanto a proteção contra microrganismos, além de separar a camada de células do bolo alimentar. Essa passagem pode ser auxiliada por proteínas enhancinas, metaloproteinases, que possuem a capacidade de degradar as glicoproteínas presentes na membrana peritrófica, o que ocasionaria

na formação de poros, permitindo a passagem dos ODV's . Ao passar pela membrana peritrófica, os ODV's conseguem alcançar as células epiteliais colunares do intestino médio da lagarta com o auxílio das proteínas pif's (fatores de infecciosidade *per os*), que auxilia na fusão entre a membrana do envelope do ODV e a membrana das microvilosidades celulares (de Castro et al., 2020; Sosa-Gómez et al., 2022). A infecção primária irá ocorrer com a replicação viral no núcleo da célula, o que irá gerar uma segunda partícula viral, o vírus brotado ou extracelular que é responsável pela segunda fase de infecção ou a infecção secundária. O BV quando atinge o sistema traqueal e a hemolinfa dos insetos, é responsável pela disseminação da infecção nos tecidos do inseto, estabelecendo infecções secundárias nos tecidos do inseto. Mas para que o BV consiga chegar no sistema respiratório ou no sistema circulatório do inseto, é preciso que eles atravessem a lâmina basal das células intestinais. A lâmina basal é uma espécie de matriz extracelular que envolve praticamente todos os tipos de células no corpo do inseto, somente os hemócitos não possuem essa característica. A lâmina basal é composta basicamente de polissacarídeos e proteínas que são secretadas pelas próprias células do tecido. No intestino do inseto, ela separa as células dos tecidos que possuem contato direto com epitélio intestinal, logo, ela separa as células musculares, células da hemolinfa e as células da traqueia. A lâmina basal é uma barreira contra a entrada de patógenos, por possuir poros menores que as dimensões de microrganismos, como no caso, as partículas de baculovírus. Contudo, seus componentes estão em renovação constante, o que pode ocorrer, durante essa renovação, a formação de poros transientes em que as partículas de baculovírus. Além disso, pode ocorrer a secreção de enhancinas, que degradam a lâmina basal, facilitando a progressão da infecção (de Castro et al., 2020). Os BV's podem infectar as células do sistema traqueal, os hemócitos e as células do tecido adiposo do inseto (Sosa-Gómez et al., 2022). É muito importante para o vírus infectar o sistema respiratório e o circulatório, pois são locais chave para a disseminação da doença. O sistema respiratório leva oxigênio para todos os tecidos do inseto, o que constitui uma via de dispersão da infecção viral, enquanto o sistema circulatório facilita a dispersão do vírus pelo fato que o sistema circulatório dos insetos ser aberto, logo, a hemolinfa circula livremente dentro do corpo dos insetos e entra em contato direto com outros órgãos . Após a produção massiva de BV's em diversos tecidos do inseto, irá ocorrer uma mudança na produção para ODV que serão envoltos por uma membrana sintetizada *de novo*. Então os ODV's serão imersos em uma matriz proteica cristalina formando novos corpos de oclusão e assim encerrando o ciclo infectivo do vírus. Os corpos de oclusão se acumulam no núcleo da célula infectada, o que gera a morte e a lise dessas células (Sosa-Gómez et al., 2022). Esse acúmulo

de OB's causa a morte da maioria das lagartas infectadas entre 5 dias a 3 semanas após o início da infecção (Sosa-Gómez et al., 2022). A morte das células provoca alterações morfofisiológicas e comportamentais nos insetos infectados. Os insetos apresentam uma inibição de sua alimentação, a sua movimentação é afetada e ocorre a descoloração do tegumento, causando uma mudança de cor das lagartas para um branco leitoso. Nos estágios mais avançados da doença, em que os OB's são liberados na hemolinfa da lagarta, as mudanças comportamentais são evidentes no inseto (Sosa-Gómez et al., 2022). O inseto apresenta comportamento fototrópico positivo com a tendência de subir para a parte mais alta da planta antes de sua morte. Com o rompimento da cutícula da lagarta, ocorrerá a liberação dos OB's no ambiente para assim possibilitar uma infecção de outras lagartas, proporcionando uma transmissão horizontal do vírus (Figura 12)..

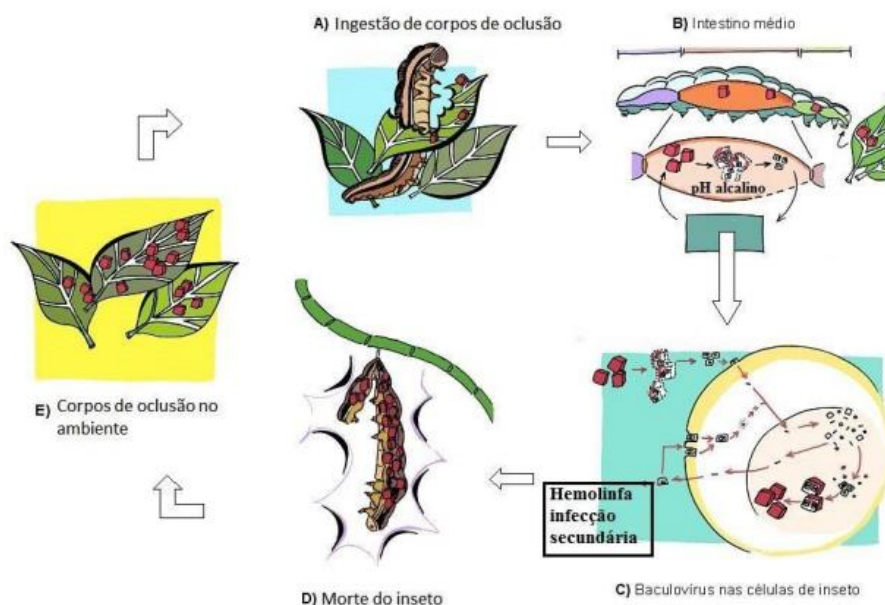


Figura 12 – Ciclo de infecção do baculovírus. (A) A lagarta se alimenta da planta com o poliedro viral em sua superfície. (B) No intestino médio da lagarta, o poliedro é dissolvido liberando as partículas de OVD que irão penetrar as células epiteliais do intestino médio. (C) Os nucleocapsídeos irão ser transportados para o núcleo da célula onde serão replicados e terá a formação de um segundo tipo de vírus os BV que irão atingir o sistema circulatório e respiratório do inseto e assim disseminar a infecção para outros tecidos. (D) A lagarta perderá o apetite, e terá o comportamento de migrar para a parte superior das plantas, onde elas irão se pendurar e morrer. (E) Irá acontecer o rompimento da cutícula e as lagartas que irão se liquefazer e liberar assim, novos poliedros no ambiente. Fonte: Modificado de BARROS, 2012.

Durante os estágios finais do desenvolvimento das larvas, em muitas espécies de lepidópteras, ocorre o comportamento de dispersão (do inglês wander ou wandering) das larvas provavelmente para dispersar a população, reduzir a predação e também para buscar o local mais adequado para se tornarem pupa. No mandaróv do fumo (*Manduca sexta*) esse comportamento é amplificado pelo aumento limitado no nível de ecdisteróides na hemolinfa.

Esse aumento está associado à cessação da alimentação e do início da formação da pupa. A infecção por baculovírus aparenta ser capaz de reforçar esse tipo de comportamento, fazendo que o inseto migre para o topo das plantas para melhorar ou facilitar a dispersão dos corpos de oclusão. Mesmo que em diferentes genes de baculovírus tenham sido colocados como os genes que influenciam esse comportamento, como por exemplo o *ptp* (Ac1) e *egt* (Ac15), até o momento, nenhum gene foi comprovado como o responsável por esse tipo de movimento ascendente das lagartas nos estágios finais da infecção. Possivelmente, esse comportamento é influenciado por uma interação complexa de genes virais (Rohrmann, 2019).

Alguns baculovírus utilizam quitinases (Ac126) e catepsinas (Ac127) para facilitar o processo de desintegração das lagartas nos períodos finais da infecção. As quitinas e quitinases são componentes integrais dos insetos. Os insetos possuem um exoesqueleto de quitina que por ser rígido, precisam ser removidos e reconstruídos periodicamente para que larvas e ninfas possam se desenvolver e crescer. Essa transição entre as fases de crescimento, envolve na digestão é a absorção de parte do exoesqueleto e a eliminação do restante. Logo, por serem componentes essenciais, os vírus, muito provavelmente, tiveram acesso imediato aos genes da quitinase dos seus insetos hospedeiros. Esses genes estão presentes em vários genomas dos gêneros de *betabaculovirus* e na maioria dos *alphabaculovirus* dos grupos I e II. As quitinases do vírus estão filogeneticamente agrupadas com as dos seus lepidópteros hospedeiros. Contudo, essas enzimas possuem propriedades diferentes entre os insetos e o baculovírus. A enzima do hospedeiro é segregada e funciona com atividade reduzida em um pH elevado, enquanto a do vírus é retida no retículo endoplasmático e funciona em condições alcalinas e em conjunto com uma proteinase viral, mais conhecida como catepsina. Essas proteínas participam na liquefação no final da infecção nos insetos. Alguns baculovírus possuem essas enzimas suprimidas, o que permite que nos estágios finais da infecção, o inseto não se liquefaça e permaneçam intactos. Esse fator foi um dos responsáveis pela facilidade para o processamento do vírus AgMNPV em um agente de controle biológico no manejo da praga da soja (*A. gemmatilis*) por permitir o recolhimento dos insetos mortos pela virose. As catepsinas virais possuem uma distribuição parecida com as quitinases e estão presentes em vários genomas do gênero dos *betabaculovirus* e na maioria dos *alphabaculovirus*, parecendo funcionar em conjunto. Assim como os genes da quitinase viral e a de insetos, as catepsinas virais estão estreitamente relacionadas com as de insetos. A catepsina viral é sintetizada em uma forma inativa que somente é ativada após a morte do inseto, otimizando ainda mais seu papel na liquefação dos insetos. Além de que, tanto as catepsinas quanto as quitinases parecem ter desenvolvido mecanismos para evitar a sua

ativação prematura e assim, prolongar a infecção do inseto e permitir que a dispersão do vírus seja no momento correto da infecção (Rohrmann, 2019).

5. 7 *Alphabaculovirus chrincludentis* (ChinNPV) O BACULOVÍRUS DE *C. includens*

O ChinNPV ou Chrysodeixis includens nucleopoliedrovírus é um isolado de baculovírus que é específico para a lagarta falsa-medideira (*C. includens*). Esse isolado tem despertado interesse pelo fato de conseguir controlar esse inseto praga que ataca diversos tipos de importantes culturas no Brasil e no mundo. O ChinNPV é um baculovírus com bastante diversidade, tendo isolados pertencendo ao Brasil, México e Estados Unidos, dentre outros países. Ele pertence à família *Baculoviridae* e ao gênero *alphabaculovirus* do grupo II (Sanches et al., 2018) e foi relatado pela primeira vez no Brasil em 2006 (ChinNPV-IB) em lagartas falsa-medideira presentes em plantações de soja em Londrina-PR, e em 2014 em Buritis-MG na região do cerrado (Alexandre et al., 2010; Craveiro et al., 2013, Souza et al., 2016, Sanches et al., 2018). O ChinNPV possui um impacto direto e indireto na população de larvas de *C. includens*. O impacto direto é sua letalidade na população das lagartas, causando a morte dos indivíduos entre 5 a 10 dias. O impacto indireto é com os efeitos sub-letais que o vírus causa na população das lagartas, como por exemplo: redução do peso das lagartas, redução da fecundidade e fertilidade dos insetos, alteração na proporção dos sexos e a redução do número de fêmeas geradas por postura (Führ et al., 2021). Foi observado que o ChinNPV não possui resistência cruzada a alguns inseticidas químicos, como os lambda-cialotrina e ao teflubenzurão, o que o torna bastante promissor o uso desse baculovírus no controle de populações de lagartas resistentes a inseticidas químicos (Godoy et al., 2019). Outro estudo comprovou que a utilização de ChinNPV em conjunto com alguns herbicidas e fungicidas não influenciou a taxa de mortalidade das lagartas falsa-medideira. Além disso, ChinNPV demonstrou consistência suficiente para manter sua eficácia tanto em condições de campo quanto em ambiente laboratorial (Maciel et al., 2021). Esse estudo foi realizado com herbicidas e fungicidas mais comuns utilizados no controle de fungo e ervas daninhas na cultura da soja, dentre eles os Poquer®, Clorimuron Master Nortox®, Trop® e Piori Xtra®. O ChinNPV é uma ferramenta versátil para o manejo dessa praga e no Brasil existe o produto Chrysogen® (AgBiTech, Fort Worth, TX, U.S.A.) que possui como base o ChinNPV, tornando-o assim específico para lidar com essa praga agrícola. Esse produto está registrado no Brasil desde de

2018, enquanto tem sido explorado o registro desse produto em outros países como o Estados Unidos (Führ et al., 2021).

5. 8 BACULOVÍRUS COMO INSETICIDA BIOLÓGICO - A HISTÓRIA DO USO DE AgMNPV NA DÉCADA DE 80 NO BRASIL

Um dos exemplos de inseticidas biológicos utilizados no Brasil, foi o uso do AgMNPV na década de 1980 para o controle da lagarta da soja (*A. gemmatalis*). Esse foi o programa mais extenso de utilização de baculovírus para o controle da lagarta da soja no Brasil na cultura da soja. Foi desenvolvido também no Paraguai, mas com uma escala menor quando comparada ao Brasil. Esse programa foi iniciado na década de 80, em escala laboratorial, o que foi considerado economicamente viável, e assim, a produção foi para o campo, onde em 2005 a área que foi tratada com o AgMNPV já se estendia para milhões de hectares (Szewczyk et al., 2006; Rohrmann, 2019). As plantações de soja que estavam naturalmente infestadas por *A. gemmatalis*, foram pulverizadas com suspensão viral com preparações de cerca de $1,5 \times 10^{11}$ OB/ ha e após 8 a 10 dias, foram recolhidas as lagartas mortas, o que, em média, representava cerca de 1,8 kg de lagartas por dia. A produção na década de 1990 era de vírus suficiente para tratar 650.000 a 1,7 milhões de hectares por ano. Contudo, em 1999 a produção de vírus chegou a não ser suficiente para satisfazer a procura, pois, houve problemas com a produção no campo. Existiam dois principais problemas: a quantidade de lagartas infectadas dependia da prevalência natural do inseto hospedeiro, que poderia variar anualmente, e a mudança no procedimento de recolher as lagartas infectadas (Moscardi et al., 2011, Rohrmann, 2019). A lagartas eram coletadas com a metodologia de pano de batida, o que incluía outros insetos, detritos, além de lagartas que não estavam nas fases finais de infecção pelo AgMNPV. Isso resultava em um produto de má qualidade, um produto menos infeccioso. Outro fator é que o recolhimento de detritos causava o entupimento dos equipamentos utilizados na aplicação do vírus. Para conseguir reverter esses processos que estavam causando problemas, a criação do vírus em campo foi realocada em criação em laboratório, para o crescimento das lagartas com uma dieta artificial em condições controladas. Por mais que essa mudança na produção do vírus seja economicamente mais cara, a qualidade do produto final era muito superior à do produto feito no campo. A empresa selecionada para a reprodução deste projeto foi ampliada para empregar 45 pessoas e infectar cerca de 800.000 a 1.000.000 lagartas por dia e assim, a produção do vírus subiu para tratar até 2 milhões de hectares por ano. Uma outra mudança foi que as lagartas infectadas eram processadas em um molhável para a formulação de vírus mais o caulim. O

caulim é um aditivo mineral descoberto na China na região de Kaolin que possui em sua composição aluminossilicato que é comumente utilizado como um transportador inerte ou um preenchedor (Rohrmann, 2019).

Existem algumas razões para a viabilidade deste programa de controle biológico utilizando o vírus de AgMNPV no Brasil. Uma delas é a alta virulência contra as lagartas da soja (*A. gemmatilis*), permitindo, na maioria dos casos, a necessidade de apenas uma aplicação, o que difere dos inseticidas químicos que geralmente requerem duas aplicações. Outra característica é pelo fato do AgMNPV não possui os genes da quitinase e da catepsina, que são os genes que fazem com que o inseto ao morrer se liquefaça (Oliveira et al., 2006; Rohrmann, 2019). Não apresentando essa característica, as lagartas mortas pelo AgMNPV podem ser facilmente recolhidas para a produção do produto. Outra razão é que a planta da soja consegue sobreviver a taxas significativas de desfolha, sem afetar o seu rendimento. Além disso, a doença pode ser disseminada pelos coleópteros e hemípteros predadores naturais desse inseto praga, pois, os corpos de oclusão podem sobreviver o trato digestivo desses insetos e assim serem transportados para diferentes lugares de maneira indireta (Moscardi et al., 1993; Moscardi et al., 2011; Rohrmann, 2019). Algumas limitações do uso desse produto é a relutância dos agricultores em monitorar seus campos para assim determinar o momento ideal para aplicação do vírus. Outra limitação é na utilização do vírus em regiões com temperaturas mais baixas, pois essas temperaturas mais amenas prolonga o tempo necessário para matar os insetos. Outro limitador é que em períodos de seca prolongados, eles afetam negativamente a eficácia da preparação do vírus (Szewczyk et al, 2006).

A mudança do método de cultivo da soja ocasionou na diminuição significativa do uso do vírus (Moscardi et al., 2011; Rohrmann, 2019). Essa mudança está relacionada com a adoção de um sistema de plantio direto o que implica na aplicação de herbicidas no solo antes do plantio da soja para o controle de ervas daninhas. Além de que, ocorre a mistura de inseticidas de largo espectro com herbicidas, de modo que todas as ervas daninhas e os insetos fossem eliminados e após duas a três semanas da emergência da soja, a plantação é novamente tratada com essa mistura. Isso ocasiona a morte de insetos e plantas benéficas ao campo. Essa redução, proporcionou o surgimento de diversos insetos pragas, incluindo ácaros, moscas brancas, espécies do complexo *Spodoptera* e a falsa-medideira (*C. includens*) que eram consideradas como pragas secundárias. Consequentemente, para agravar a situação, por não conseguir controlar a lagarta da soja com a aplicação de AgMNPV, foi necessário a utilização de inseticidas alternativos com espectro grande de ação. A situação se tornou ainda mais

complicada com a doença da ferrugem da soja, que exigiu a aplicação de fungicidas que reduziram a presença de fungos entomopatogênicos naturais benéficos que controlavam naturalmente algumas das espécies pragas secundárias, dentre elas a falsa-medideira. Esses fatores proporcionaram a redução da área tratada com AgMNPV para cerca de 300.000 hectares por ano, o que resultou também no fim da produção laboratorial do vírus (Moscardi et al., 2011, Rohrmann, 2019).

2. JUSTIFICATIVA

Os baculovírus são vírus altamente específicos a seus hospedeiros, mesmo quando testados em outros insetos proximalmente relacionados, a infecção pode não ocorrer. Como no caso do isolado *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus #1 que era altamente específico a *C. includens* não infectando outros insetos da subfamília *Plusiinae* como, *Trichoplusia ni* (Harrison, 2019). Contudo, há poucos casos de infecção em diferentes espécies de insetos e, quando ocorre essa infecção, a taxa de mortalidade é afetada drasticamente. No caso do complexo *Spodoptera* em que o *Spodoptera ornithogalli* nucleopoliedrovírus (SporNPV) na diluição 1×10^8 OBs/ mL mata 100% da população de *Spodoptera ornithogalli* e somente 48% na população de *Spodoptera frugiperda* (Barrera et al., 2021). Contudo, uma das características desses vírus é a alta diversidade genotípica, com genótipos clonados apresentando fenótipos distintos, como variações na letalidade (tempo e a dose viral necessários para matar o inseto) entre diferentes isolados de uma mesma espécie. Os baculovírus, quando ocorrem naturalmente em populações de campo, apresentam grande variação genética, resultante de mutações como inserções/deleções (indels) e polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), o que leva à formação de populações com diferentes genótipos (Theze et al., 2014). Isso permite que novos isolados virais possuam características únicas, podendo ter um melhor desempenho nas interações de virulência entre o vírus e hospedeiro.

O controle de *C. includens* normalmente é realizado com a utilização de inseticidas de amplo espectro. O seu uso pode causar diversos impactos negativos, incluído danos ao meio ambiente, declínio de insetos benéficos às plantações, como os predadores, detritívoros e os polinizadores. Além de causar danos na saúde dos humanos por estarem relacionados a indução de toxicidade em células humanas através de vias de apoptose dependentes da mitocôndria (Wang et al., 2025) e ao aumento da quantidade de metemoglobina no sangue (Shih et al., 2011). Uma forma alternativa para o manejo dessa praga é com o baculovírus *Alphabaculovirus chrincludentis*, específico para essa praga. Por ser específico, a virose não compromete o meio ambiente, os insetos benéficos as plantações e a saúde humana. A infecção ocorre quando a lagartaingere os corpos de oclusão do vírus (OBs), desencadeando uma série de processos que culminam na morte do hospedeiro. O ChinNPV é o princípio ativo de diversos produtos de controle biológico da lagarta falsa-medideira, dentre eles o Chrysogen, (AgBiTech, Fort Worth, TX), produto licenciado para o uso no Brasil. A caracterização de novos isolados de ChinNPV

nos permite encontrar novas ferramentas para possíveis produtos sustentáveis de manejo de pragas agrícolas no Brasil.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar dois novos isolados do baculovírus *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV) em nível fenotípico e genotípico, investigando possíveis relações causais entre suas características biológicas e genéticas, com o objetivo de aprimorar o desenvolvimento de agentes de controle biológico mais eficazes e contribuir para a promoção de uma agricultura sustentável.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar ultraestruturalmente os poliedros do isolado CNPSo-168 de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV). .
- Sequenciar os genomas dos isolados ChinNPV-CNPSo 168 e ChinNPV- Tabatinga para identificar possíveis alterações genômicas.
- Caracterizar geneticamente os dois isolados de baculovírus.
- Identificar genótipos diferenciais nos isolados de baculovírus comparando com genomas de referência.
- Analisar relações filogenéticas com outros ChinNPV proximamente relacionados.
- Identificar a presença de possíveis genes únicos nos dois isolados de ChinNPV.
- Avaliar os efeitos biológicos da infecção viral, incluindo a taxa de pupação, emergência, postura e eclosão de ovos de *C. includens*, após exposição subletal ao ChinNPV.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 INSETOS, AMPLIFICAÇÃO, PURIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO VIRAL.

No início do trabalho, lagartas *C. includens* foram obtidas através da Colônia de insetos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). Contudo, a produção desses insetos foi interrompida no decorrer do projeto. Com isso, as lagartas falsa-medideira foram adquiridas da empresa Pragas.com (R. Princesa Isabel, 575 - Jardim Pacaembu, Piracicaba – SP) que cedeu as lagartas em conjunto ao projeto de Inovação e Tecnologia, realizado na Embrapa-Cenargen. O isolado ChinNPV-CNPSO-168 (BRM 064873) foi coletado e identificado pelo Dr. Daniel Sosa Gomez e depositado na Coleção de Vírus de Invertebrado (CVI), enquanto o isolado ChinNPV-Tabatinga (BRM 063868), coletado pelo Dr. Raul Alberto Laumann e identificado pelo Dr. Marcio Martinelo Sanches e depositado na CVI. Ambos os isolados virais foram cedidos gentilmente pela Dra. Marlinda Lobo de Souza, provenientes da Coleção de Virus de Invertebrados da Embrapa Cenargen. Foram utilizados os isolados ChinNPV-CNPSO-168 e ChinNPV-Tabatinga. Para as amplificações virais, foi utilizado o método de suspensão viral na superfície de dieta artificial sólida na concentração de 1×10^7 poliedros/ mL. As lagartas *C. includens* no 3º e 4º instar larval eram colocadas em copos de 30 ml com dieta artificial com a suspensão viral na superfície. Foi utilizado 120 lagartas por amplificação, sendo que 15 lagartas eram o controle sem suspensão viral. A amplificação foi feita durante o período de 10 dias ou até a mortalidade das lagartas tratadas com o vírus chegasse ao 100%. Os cadáveres com claros sinais de morte viral eram coletados e submetidos a um processo de purificação. Os cadáveres eram macerados em cadinho de porcelana junto com um tampão de homogeneização (1% de ácido ascórbico, 2% de SDS, 0,01M Tris pH 7.8 e 0,001M EDTA) e filtradas com três camadas de gaze para remoção de detritos e grandes pedaços de tecido. Após a filtragem, o líquido era centrifugado na centrífuga (HERMLE Z 326K) em tubos de acrílicos (NALGENE de 38 mL) na rotação de 10.000 RPM por 15 minutos. O sobrenadante era descartado e o pellet era ressuspenso em tampão TE (0,01M Tris pH 7.8 e 0,001M EDTA) para uma nova centrifugação de 12.000 RPM por 12 minutos. O sobrenadante era removido e as amostras eram ressuspendidas em tampão TE novamente e armazenadas na temperatura de -20 °C (Maruniak, 1986). Para a quantificação das amostras, foi utilizado um hemocítmetro de Neubauer na diluição de 1/1000. As contagens foram realizadas três vezes

nos quatro quadrantes nas pontas e um no meio. Foi retirado a média das contagens e calculado com a fórmula de acordo com Alves (1986).

4.2 EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS E QUANTIFICAÇÃO DE DNA

Para a extração de ácidos nucleicos, foi utilizado a metodologia de fenol, clorofórmio e álcool isoamílico (25:24:1). Na primeira etapa é adicionado 125 µL de solução alcalina (0,3 M Na₂CO₃, 0,51 M NaCl e 0,03 M EDTA) para 250 µL de suspensão viral na concentração de 1×10^9 OBS/ mL em um microtubo e incubado a 37 °C por 30 minutos. Em seguida é adicionado 12,5 µL de SDS 20% e incubado por 10 minutos a 37 °C. Por fim, é adicionado 12,5 µL de proteinase K (20 mg/ml) e incubado a 37 °C por 6 horas ou overnight. Na segunda etapa, as amostras são submetidas a centrifugações pontuais na centrífuga (EPPENDORF 5427 R) de 3 minutos a rotação 16.050 x *g*. Essa etapa inicia com a adição de 400 µL fenol, seguida de centrifugação a rotação 16.050 x *g* por 3 minutos e a troca da fase aquosa para um novo microtubo. Após, é adicionado 400 µL de fenol, clorofórmio e álcool isoamílico (25:24:1) e centrifugado a rotação 16.050 x *g* por 3 minutos. A fase aquosa é trocada novamente para um novo microtubo, adiciona-se 400 µL de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1) e uma nova centrifugação a rotação 16.050 x *g* por 3 minutos é realizada. A fase aquosa é transferida para um novo microtubo e é adicionado 500 µL de etanol 70% para uma centrifugação a rotação 16.050 x *g* por 10 minutos. É removido o sobrenadante e adicionado 1 ml de etanol 100% e as amostras são centrifugadas a rotação 16.050 x *g* por 30 minutos. O sobrenadante é removido e o após o pellet estar seco, é adicionado 50 µL de tampão TE ou H₂O milliQ.

Para a quantificação do DNA, foi utilizado 4 µL de tampão TE ou água milliQ para o branco e 2 µL DNA viral extraído para ser quantificado no aparelho NanoDrop Life Plus.

Para visualização do resultado da extração de DNA foi utilizado a análise de eletroforese em gel de agarose. A qualidade do DNA foi verificada por eletroforese em gel de agarose (0,8%), corado com brometo de etídio a 0,01 %, visualizado sob luz ultravioleta e fotografado em AlphaImager Mini (Alpha Innotech).

4.3 DETERMINAÇÃO DAS DOSES LETAIS

Para os ensaios de dose letal dos dois isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga), foi utilizado dois tratamentos, um controle negativo que possuía somente água e o tratamento

com as diferentes concentrações de suspensão viral de cada isolado para determinar a LC₅₀ e LD₉₅. Foi utilizado 40 *C. includens* no 2º a 3º instar larval no controle negativo e 30 *C. includens* por triplicata no grupo com a suspensão viral. No grupo tratado com a dose viral, foi utilizado as concentrações de 1 x 10⁴ OBs/ mL, 5 x 10⁴ OBs/ mL, 1 x 10⁵ OBs/ mL, 5 x 10⁵ OBs/ mL, 1 x 10⁶ OBs/ mL, 5 x 10⁶ OBs/ mL e 1 x 10⁷ OBs/ mL. Cada concentração viral era feita a diluição seriada de forma individual, de modo que cada tratamento possuía 3 alíquotas em cada concentração. A metodologia utilizada foi de acordo com Morales e Moscardi (1993), em que utiliza a suspensão viral na superfície da dieta artificial solida para a alimentação das larvas. A dieta artificial utilizada era a base de feijão, levedo de cerveja e trigo (Apêndice suplementar A, tabela 1), cortadas em cilindros de 0,8 cm de diâmetro e 3 mm de espessura, pesando aproximadamente 2 g. As lagartas passaram por um período de 14 h (*overnight*) sem disponibilidade de alimento individualizadas em placas de cultura de célula de 24 poços. Após esse período, era disponibilizado individualmente a dieta artificial com a água utilizada na diluição dos isolados virais para o grupo controle e a dieta com a suspensão viral nas determinadas concentrações para o grupo tratado. As lagartas permaneceram nessas placas por 24 h e posteriormente eram transferidas a copos de 30 mL de volume com dieta artificial solida fresca sem a adição de vírus ou água. A troca da dieta ou a inserção de nova dieta era feito a cada três dias ou caso a dieta estivesse seca ou terminasse. A checagem do ensaio foi feita diariamente contabilizando as lagartas com claros sinais de morte viral.

4. 4 ENSAIO DE TEMPO DE MORTE

Para o ensaio de tempo de morte dos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) foi utilizado a mesma metodologia do ensaio de dose letal, com a diferença no N de larvas utilizadas por tratamento. Foi estipulado a concentração de LD₉₅ para os isolado ChinNPV-CNPSO-168 e ChinNPV-Tabatinga. Foram utilizadas 50 larvas para o controle negativo e 40 larvas para cada triplicata do grupo tratado. *C. includens* foram analisadas durante 10 dias, sendo que no 8º dia, em ambos os tratamentos, 100% da população de larvas tinham chegado a óbito pela doença viral. O resultado do tempo de morte foi analisado através de uma Kaplan-Mayer pelo programa PRISM 8.0.2.

4. 5 ENSAIO DE ASPECTOS BIOLOGICOS

Foram utilizadas as lagartas sobreviventes do ensaio de dose letal de ambos os isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) para uma análise de aspectos biológicos durante todo ciclo de vida do inseto. As diluições 1×10^6 OBs/ mL, 5×10^6 OBs/ mL e 1×10^7 OBs/ mL não foram utilizadas pela a baixa quantidade de indivíduos. As lagartas foram transferidas para novos copos de 30 mL volume com dieta fresca até entrarem na fase de pupa. As mariposas emergidas, foram transferidas para um becker de plástico de 2 litros de volume com a disponibilidade de dieta líquida fresca a base de água, açúcar e cerveja (Apêndice suplementar C, tabela 3) e permaneceram até o fim do ciclo de vida. As pupas não emergidas, mariposas mortas de forma natural ou com alguma deformação, foram armazenadas em $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para futuras análises. Os ovos foram posturados na parede do becker e algumas lagartas que eclodiram foram separadas em copos de 30 mL para futuras observações. Ovos que não apresentaram eclosão de lagartas foram coletados e armazenados em $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para futuras análises.

4. 6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

Para a microscopia eletrônica de transmissão, foi utilizado 100 μL de OBs purificados de ambos os isolado de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) na concentração de 10^9 OBs/ mL. A suspensão viral foi fixada por 2 h em uma mistura de glutaraldeído 2,5% e tampão cacodilato 0,1 M e lavados duas vezes com tampão cacodilato 0,1M e centrifugadas a $7000 \times g$ por 5 minutos em cada após cada lavagem. A pós-fixação foi realizada com ósmio 1% mais ferrocianeto (1:1) por 1 hora e as amostras foram lavadas com água destilada e centrifugadas a $7000 \times g$ por 5 minutos duas vezes. Em seguida, foi realizada a etapa de contrastação *in Bloc* com acetato de uranila 0,5% por 2 h ou overnight e as amostras foram lavadas duas vezes com água destilada. Foi realizado uma série de desidratação gradual com acetona, iniciando com 30% por 15 min; 50% por 15 min; 70% por 15 min; 90% por 15 min e 100% por 10 min três vezes para assim, iniciar a etapa de inclusão com resina. Essa etapa e iniciada com acetona e resina (3:1) por 6 h; acetona e resina (2:1) overnight; acetona e resina (1:1) por 6 h; acetona e resina (1:2) overnight e resina pura por no máximo 6 h com a tampa do microtubo aberta para a evaporação de todo o resquício de acetona. As amostras são colocadas na estufa a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 ou 3 dias. As amostras foram cortadas com o auxílio do micrótomo (Leica Microsystems) e visualizadas no microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM-1011 (JEOL, Japão).

4. 7 SEQUENCIAMENTO

Para sequenciar o genoma completo dos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) foi utilizado a plataforma HiSeq 2000 TM (Illumina). O método utilizado no sequenciamento *Illumina* foi o sequenciamento ‘*paired-end*’ que sequencia as duas extremidades conhecidas do fragmento de DNA escolhido e gerar dados de sequências alinháveis de alta qualidade. Algoritmos de sequenciamento usam essa informação para mapear os *reads* das regiões repetitivas com mais precisão, diferente do sequenciamento de leitura única, essa técnica facilita a detecção de rearranjos genômicos e elementos de sequência repetitiva, bem como fusão de genes e novas transcrições (Gaia et al., 2019). Aproximadamente 5 µg de DNA genômico purificado foi utilizado para o sequenciamento. As leituras (*reads*) resultantes do sequenciamento foram analisadas para remoção de regiões de baixa qualidade e montados utilizando o programa Geneious R.10.1 comparando com o genoma de referência de ChinNPV-IE. Os ‘*contigs*’ gerados foram identificados pela ferramenta BLASTx contra o banco de dados de sequências extraídas do *GenBank*. Posteriormente, as sequências foram estendidas usando os *reads* aparados, tanto quanto possível, para completar os genomas dos dois isolados sem gerar falsas sequências. A anotação dos genomas foi realizada com o mesmo software, em que as ORFs identificadas, foram confirmadas usando BLASTx contra o banco de dados de proteínas do NCBI (01/2025).

4. 8 ANOTAÇÕES DOS GENOMAS DOS DOIS ISOLADOS

Foi utilizado o *ORF Finder* (NCBI) e Geneious R.10.1 para a predição das ORFs identificadas. Foram selecionadas as regiões de sequências nucleotídicas que codifiquem polipeptídeos com mais de 50 aminoácidos a partir do códon de início ATG e as ORFs com menos de 50% de suas regiões sobrepostas por outras ORFs. Foi utilizado o Geneious R.10.1 para visualização e anotação das ORFs preditas que foram confirmadas utilizando o BLASTx (Altschul et al., 1997). O genoma dos dois isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) foi comparado com os genomas de outros 14 ChinNPV: ChinNPV-IA, ChinNPV-IB, ChinNPV-IC, ChinNPV-ID, ChinNPV-IE, ChinNPV-IF, ChinNPV-IG, ChinNPV-MG.A, ChinNPV-MG.B, ChinNPV-MT.A, ChinNPV-MT.B, ChinNPV-MT.C, ChinNPV-MT.D e ChinNPV-MT.E. A porcentagem de identidade entre os genes homólogos foi calculada através do alinhamento utilizando BLASTx com corte de *e-value* 10e-50 (Altschul et al., 1997). O

alinhamento das sequências de aminoácidos dos dois isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) com o genoma de outros ChinNPV foi realizado utilizando o software Mauve v. 2.0 implementado no pacote Geneious R10.1 (Huang e Zhang, 2004).

4. 9 INFERÊNCIA FILOGENÉTICA DOS DOIS ISOLADOS

A inferência filogenética foi realizada com o alinhamento do genoma completo dos dois isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) com 14 genomas de outros ChinNPV depositados no *GenBank* com o método MAFFT implementado no pacote Geneious R.10.1. A árvore filogenética foi gerada pelo método FastTree (Liu K et al., 2011) enraizada no ponto médio pelo programa FigTree v1.4.4. O suporte dos ramos foi calculado com base no método semelhante a Shimodaira-Hasegawa com valor máximo de suporte igual a 1. Nessa análise, os genes compartilhados entre os isolados de ChinNPV foram associados e usados para construir a árvore filogenética. Foi realizada uma análise de distância nucleotídica entre os isolados de ChinNPV com 14 genomas dos outros isolados de ChinNPV para identificar o grau de identidade de nucleotídeos entre os isolados de ChinNPV. A análise de identidade foi realizada com base no alinhamento par-a-par do genoma completo utilizando o método MAFFT.

5. RESULTADOS

5. 1 ENSAIO DE DOSE LETAL DOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSO-168 E ChinNPV-TABATINGA

A avaliação da letalidade dos isolados de ChinNPV revelou diferenças na virulência entre CNPSO-168 e Tabatinga, além de confirmar padrões já descritos na literatura. No ensaio de dose letal comparando os isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga), as lagartas tiveram morte com rompimento do tegumento em ambos os isolados (Figura 13A-D), como descrito anteriormente por Craveiro (2017). Além disso, foi observado que o isolado ChinNPV-CNPSO-168 foi mais letal que o ChinNPV-Tabatinga, como visto na figura 13E. O isolado CNPSO-168 era mais letal em todas as diluições quando comparado com o Tabatinga, principalmente nas menores diluições. A concentração letal média (LC_{50}) do isolado CNPSO-168 foi de $6,16 \times 10^5$ OBs/ mL com limite fiducial de $4,9 \times 10^5$ (*lower limit*) e $7,3 \times 10^5$ (*upper limit*) e o isolado Tabatinga foi de $1,4 \times 10^6$ OBs/ mL com limite fiducial de $1,2 \times 10^6$ (*lower limit*) e $1,7 \times 10^6$ (*upper limit*). Essa distinção entre as concentrações letais teve diferença significativa na concentração 1×10^6 OBs/ mL (Figura 13E). Contudo, suas LD_{95} foram bem similares, sendo que a LD_{95} do isolado CNPSO-168 foi 1×10^7 OBs/ mL, enquanto a do isolado Tabatinga foi de $1,04 \times 10^7$ OBs/ mL.

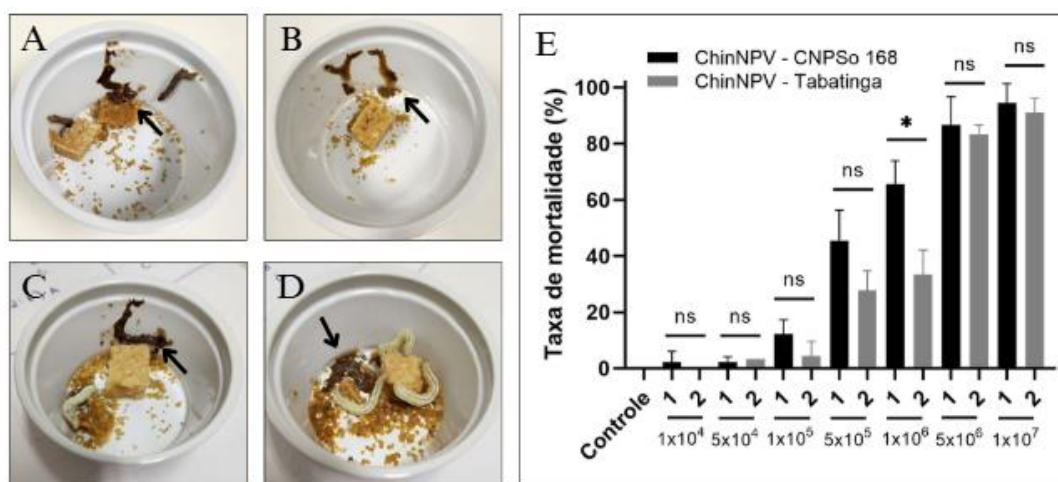


Figura 13. Resultado do ensaio de dose letal. (A e B) Lagartas com claro sinais de mortes sintomáticas pela doença viral do isolado ChinNPV-CNPSO-168. As setas pretas indicam as mortes com rompimento do tegumento e liquefação dos cadáveres. (C e D) Lagartas com claro sinais de mortes sintomáticas pela doença viral do isolado ChinNPV-Tabatinga. Assim como o isolado CNPSO-168, as lagartas tiveram as mortes com rompimento do tegumento e liquefação de seus cadáveres, indicado nas setas pretas. (E) Resultado do ensaio de dose letal entre

os isolados *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV). Em preto, o isolado CNPSo -168, e em cinza, o isolado Tabatinga. O controle negativo não teve mortes com sintomas virais e as mortes assintomáticas foram menores que 2,5%. A única concentração que teve diferença significativa entre os isolados foi na diluição 1×10^6 OBs/ mL com o valor de $p < 0.0101$ (*) do test t. Nas outras diluições, não teve diferença significativa (ns).

5. 2 ENSAIO DE TEMPO DE MORTE DOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSo-168 E ChinNPV-TABATINGA

Para aprofundar a análise da letalidade dos isolados de ChinNPV, foi realizado um ensaio de tempo de morte utilizando a LD_{50} de cada isolado, permitindo a comparação da velocidade de ação dos vírus sobre as lagartas. Os resultados mostraram que o isolado ChinNPV-CNPSo-168 foi mais rápido em causar mortalidade do que o isolado ChinNPV-Tabatinga, diferença mais evidente no 8º dia de experimento (Figura 14). O tempo médio de morte foi estimado em 6 dias para ambos os isolados, conforme análise pelo modelo Kaplan-Meier no software PRISM 8.0.2. No final do experimento, todas as lagartas expostas aos vírus morreram até o 8º dia, enquanto no controle negativo apenas um indivíduo morreu, sem apresentar sintomas de infecção viral.

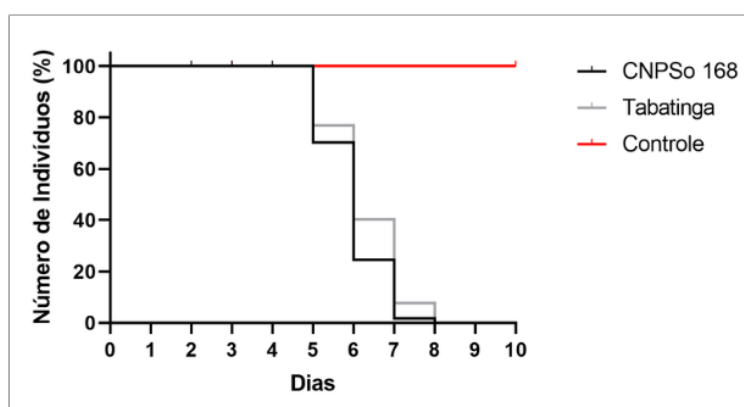


Figura 14. Resultado do ensaio de tempo de morte. O ensaio de tempo de morte está representado na curva de sobrevivência de Kaplan-Meier com os isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV). A linha preta representa o isolado CNPSo-168 (C168), a linha cinza o isolado Tabatinga (Tb) e a linha vermelha o controle negativo. O controle negativo do experimento não teve mortes sintomáticas e as mortes assintomáticas foram de 2%. No log-rank Mantel-Cox test o valor de $p < 0.0002$ (***), no logrank test $p < 0.0009$ e no Gehan-Breslow-Wilcoxon test $p < 0.0135$ (*).

5. 3 ENSAIO DE ASPECTOS BIOLÓGICOS DOS ISOLADOS ChinNPV

Para avaliar os efeitos subletais dos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) sobre as lagartas, foi realizado um ensaio de dose letal, com o objetivo de observar não apenas a mortalidade, mas também as alterações fenotípicas em lagartas sobreviventes. Durante o ensaio de dose letal, foi observado que as lagartas que sobreviveram ao ensaio com ambos os isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) apresentavam uma redução de tamanho quando comparada as lagartas do controle sem vírus (Figura 15A e B). Foi calculada a média do tamanho de três lagartas aleatórias do grupo controle e dos grupos tratados com os dois isolados virais, nas concentrações de 1×10^4 OBs/mL, 5×10^4 OBs/mL, 1×10^5 OBs/mL e 5×10^5 OBs/mL (Figura 15C). Foi observado uma redução de 1.4 cm na concentração maior em relação ao controle não infectado para CNPSO-168 e 1.2 cm para o isolado Tabatinga. A partir desses dados, foi realizado um novo experimento utilizando as lagartas sobreviventes dos tratamentos com os isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) nas referidas concentrações, com o objetivo de observar as características fenotípicas durante o ciclo de vida das lagartas e analisar possíveis diferenças em comparação com o grupo controle.

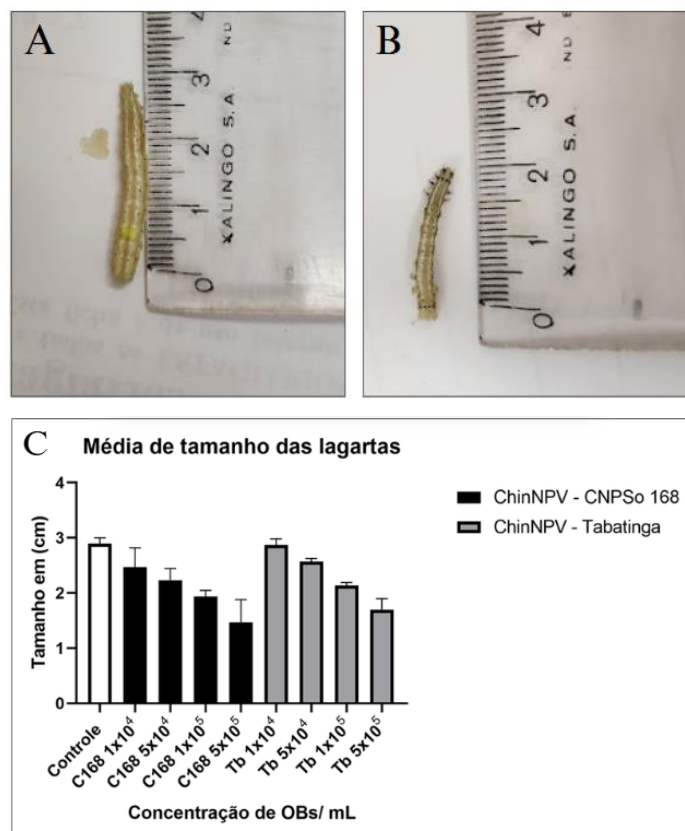


Figura 15. Representação da inibição de crescimento entre os tratamentos com *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV). **(A)** Lagarta pertencente ao grupo controle que não se alimentou de suspensão viral, com tamanho aproximado de 3 cm. **(B)** Lagarta pertencente ao grupo tratado com suspensão viral na

concentração de 1×10^5 OBs/ mL de ChinNPV-CNPSO-168. A lagarta está aparentemente menor com o tamanho de 2 cm, 1 cm a menos que a lagarta da figura 15A. Foi retirado a média do controle e de cada tratamento com diluição viral. **(C)** Gráfico com a média de tamanho das lagartas. As lagartas com os tratamentos com menores concentrações virais, possuíam o tamanho mais parecido com as lagartas do controle.

Durante o ciclo de vida das lagartas tratadas com os isolados de ChinNPV, observou-se uma diferença significativa no número de lagartas que atingiram o estágio de pupa em comparação com o grupo controle não-infectado. Essa diferença foi analisada em função das concentrações virais e da taxa de muda das lagartas para a fase de pupa. Ao atingirem o estágio de pupa, as lagartas do grupo controle, não expostas aos isolados virais, completaram a pupação de forma mais rápida, até um dia antes, com 100% da população alcançando essa fase. Já entre as lagartas sobreviventes tratadas com os isolados de ChinNPV, a taxa de pupação foi inferior a 100%, com uma redução mais acentuada nas concentrações virais mais altas. Na diluição de 1×10^4 OBs/mL, as taxas de pupação foram de 86,44% para o isolado CNPSO-168 e 85% para Tabatinga, enquanto na diluição de 5×10^4 OBs/mL, os valores caíram para 80,46% e 80,77%, respectivamente. Curiosamente, na concentração de 1×10^5 OBs/mL, observou-se um leve aumento na taxa de pupação, atingindo 88,24% para CNPSO-168 e 91,03% para Tabatinga. No entanto, na concentração mais elevada (5×10^5 OBs/mL), a pupação foi reduzida quando comparado com a menor concentração, com apenas 55,55% das lagartas tratadas com CNPSO-168 e 51,16% das tratadas com Tabatinga alcançando essa fase. Além disso, algumas lagartas não conseguiram completar a transição para a pupa, apresentando deformações durante o processo ou dificuldades para romper o tegumento pupal, resultando em mortalidade aparentemente assintomática (Figura 16).

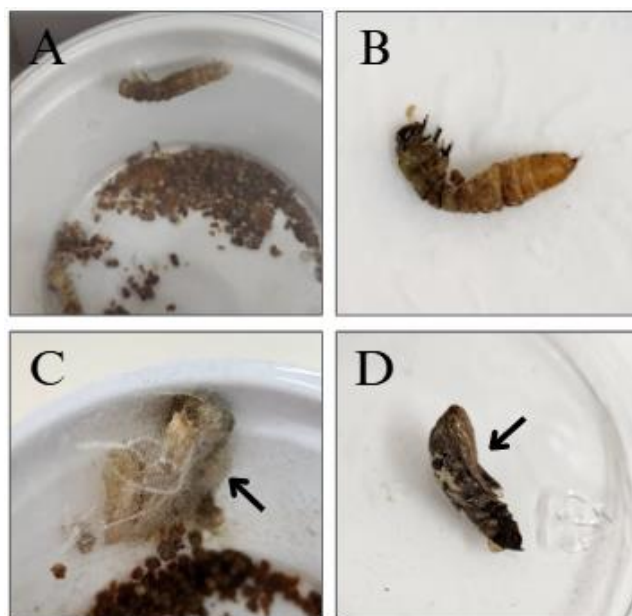


Figura 16. Pupas mortas de *C. includens* com deformações evidentes em sua morfologia externa. **(A e B)** Pupas nos tratamentos com a virose em que os insetos não conseguiram passar do estágio de pré-pupa. **(C e D)** Pupas nos tratamentos com a virose em que os insetos tiveram dificuldade de romper a pupa ou o fio de teia gerado por eles, esse fato levou os insetos a óbito. Nesses casos, os insetos possuíam características da fase adulta, como o aparelho bucal e as escamas, mas não conseguiram se tornar uma mariposa.

Para a taxa de emergência dos insetos, o padrão não se repetiu para os grupos tratados com vírus. No controle, a taxa foi de 100%, todos insetos chegaram a fase adulta de forma mais rápida quando comparada com os tratamentos que passaram pela incubação com os vírus resultando em mariposas aparentemente saudáveis. As pupas dos insetos que foram submetidos ao tratamento com as doses virais a taxa de emergência foi maior nas menores diluições, não seguindo o padrão da taxa de pupas. Na taxa para CNPSO-168 e Tabatinga nas diferentes concentrações foi de 78,02% e 75% na diluição de 1×10^4 OBs/ mL, 77,92% e 76,92% na diluição de 5×10^4 OBs/ mL, 67,65% e 76,92% na diluição de 1×10^5 OBs/ mL e 29,63% e 44,19% na diluição de 5×10^5 OBs/ mL (Tabela 1). Além de que nos grupos tratados com as doses virais, algumas mariposas possuíam deformidades claras nas asas que as impediam de voar o que na natureza seria fatal para esses insetos (Figura 17).

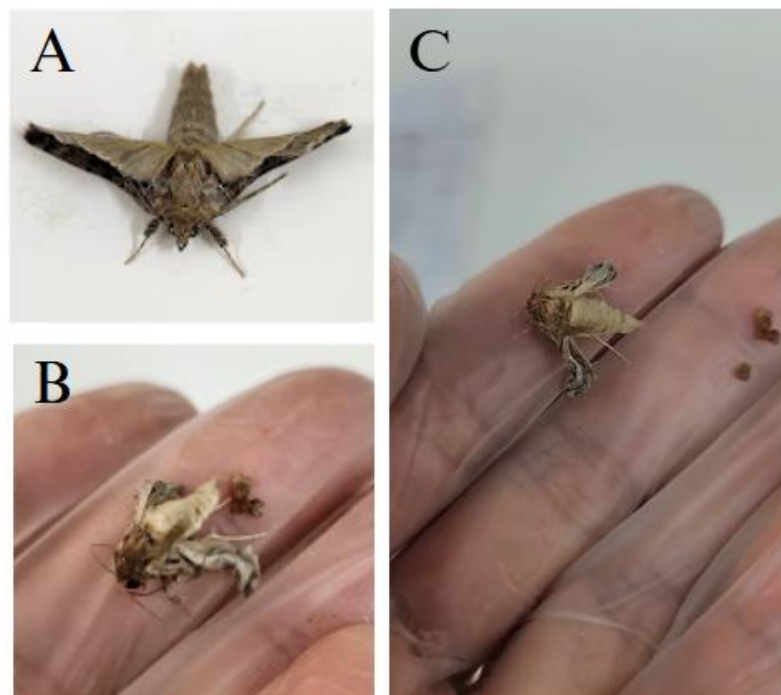


Figura 17. Mariposas de *C. includens* com deformidades nas asas. **(A)** Mariposa com as asas deformadas, com a parte ventral das asas viradas para a parte dorsal. **(B e C)** Mariposa com as asas deformadas. As asas desse inseto estavam retorcidas. Nos três casos, o inseto não sobreviveria na natureza.

As mariposas do controle negativo se reproduziram e geraram ovos que posteriormente eclodiram com novas *C. includens*, assim como as mariposas tratadas com os vírus. Com tudo não foi possível verificar se teve alguma diferença nas taxas de reprodução, postura e eclosão entre os isolados e o controle negativo. É necessário um estudo mais aprofundado para entender se essa diferença entre os tratamentos está sendo causado pelo vírus ou por algum outro fator biótico ou abiótico.

Tabela 1. Resultado do ensaio de aspectos biológicos.

ChinNPV- CNPSO-168	Estágio de desenvolvimento		ChinNPV- Tabatinga	Estágio de desenvolvimento	
	Pupa (%)	Mariposa (%)		Pupa (%)	Mariposa (%)
Controle negativo	100	100	Controle negativo	100	100
1 x 10 ⁴ OBs/ mL	86,46 ± 11,37	77,91 ± 16,28	1 x 10 ⁴ OBs/ mL	84,98 ± 0,63(*)	75,09 ± 4,98(*)
5 x 10 ⁴ OBs/ mL	80,51 ± 3,61	78,05 ± 7,18	5 x 10 ⁴ OBs/ mL	80,95 ± 4,72(*)	77,33 ± 4,71(*)
1 x 10 ⁵ OBs/ mL	88,20 ± 9,52	68,83 ± 11,64	1 x 10 ⁵ OBs/ mL	91,23 ± 7,67(*)	77,00 ± 6,24(*)
5 x 10 ⁵ OBs/ mL	62,85 ± 35,79	35,47 ± 21,31	5 x 10 ⁵ OBs/ mL	51,40 ± 5,18(*)	43,06 ± 16,43(*)

Valor de $p < 0.0101$ (*) do test t.

5. 4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DO ISOLADOS ChinNPV-CNPSO-168

Para avaliar a estrutura do baculovírus ChinNPV, foi realizada a análise por microscopia eletrônica de transmissão (MET), do isolado CNPSO-168, permitindo a observação detalhada da morfologia dos vírions e dos corpos de oclusão (OB). Essa técnica é essencial para confirmar a classificação do vírus dentro do grupo dos baculovírus, além de fornecer informações sobre sua estrutura interna, comparando-as com descrições prévias na literatura. Foi identificado que este isolado apresentava o fenótipo ‘*single*’ nucleopoliedrovírus (Figura 18), contendo somente um nucleocapsídeo por envelope viral. Os vírions possuíam formato de bastão com as dimensões de aproximadamente 0,3 µm de tamanho. Esses resultados são condizentes com o que foi relatado na literatura anteriormente para a morfologia interna dos corpos de oclusão de outros isolados de ChinNPV.

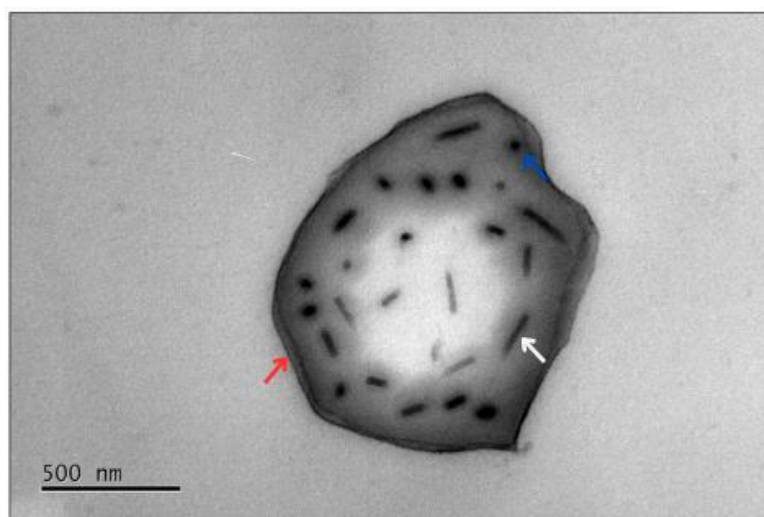


Figura 18. Microscopia eletrônica de transmissão no aumento de 10.000 x de Chrysodeixis includens nucleopoliedrovírus (ChinNPV). Microscopia eletrônica do isolado ChinNPV-CNPSO-168, demonstrando a presença das partículas virais do tipo *single* no interior do corpo de oclusão. A seta branca indica um envelope viral contendo somente um único nucleocapsídeo. A seta azul indica o envelope viral em outro ângulo realizado no corte da amostra. A seta vermelha indica a região do cálix ou envoltório polidrico.

5. 5 ANÁLISE DO SEQUENCIAMENTO DOS GENOMAS de ChinNPV-CNPSO-168 E ChinNPV-TABATINGA

Diante das diferenças observadas entre os isolados de ChinNPV em relação à letalidade e ao tempo de morte, bem como na alteração dos aspectos fenotípicos em larvas infectadas com doses subletais, foi realizado o sequenciamento dos DNAs virais por Illumina para caracterizar suas sequências e identificar possíveis variações. Após a remoção das regiões de baixa qualidade e pareamento par-a-par, o isolado CNPSo-168 apresentou um total de 2.453.865 leituras (reads) para a montagem do genoma. O tamanho médio dos reads foi de 156,6 ($\pm$ 66,6) nucleotídeos (nt), variando entre 30 nt (mínimo) e 294 nt (máximo). O isolado Tabatinga, por sua vez, apresentou 782.587 reads com tamanho médio de 165,5 ($\pm$ 63,1) nt, e variando entre 30 nt e 294 nt. Em ambos os isolados, apenas reads superiores a 30 nt foram considerados para a análise, enquanto aqueles abaixo desse limite foram descartados.

Após análise dos dados brutos dos dois novos isolados de ChinNPV, foi feita a etapa de montagem dos genomas. Os genomas foram montados a partir do genoma de referência de ChinNPV-IE utilizando o software Geneious R10.1. O tamanho do genoma circular do isolado ChinNPV-CNPSo-168 foi de 139,290 pb com cobertura média de 2.764,6 ($\pm$ 484,9), e porcentual GC de 39.2%, enquanto para o isolado ChinNPV-Tabatinga, o tamanho foi de 139.131 pb com cobertura de 937,0 ($\pm$ 180,8) e um teor de GC de 39.2%. Ambos os teores estão de concordância com o teor médio de GC dos *Alphabaculovirus* do Grupo II (GC = 41,6%) (Miele et al., 2011).

5. 7 GENÔMICA COMPARATIVA DOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSo-168 E ChinNPV-TABATINGA.

O critério para identificação de ORFs em baculovírus é geralmente com determinação de sequências nucleotídicas que codifiquem polipeptídeos maiores que 50 aminoácidos e ORFs com menos de 50% de suas regiões sobrepostas por outras ORFs (Ferrelli et al., 2012). Para o isolado ChinNPV-CNPSo-168 foi identificado 152 ORFs que cumprem esse critério, o que cobre 91.5% do genoma. Dentre essas ORFs, estão inclusos os 38 core genes e 14 ORFs que não foram anotadas nos outros genomas sequenciados, embora presentes. Dentre essas 152 ORFs, 69 são proteínas hipotéticas. No genoma do isolado ChinNPV-Tabatinga foi identificado 151 ORFs cobrindo 91.19% do genoma, o que inclui os 38 core genes e 13 ORFs não anotadas. No genoma de ChinNPV-Tabatinga, 68 ORFs são proteínas hipotéticas. Essas ORFs foram encontradas nos genomas de referência de outros baculovírus, contudo, sua atividade funcional ainda não foi descrita, o que torna sua função desconhecida até o momento. As ORFs foram

enumeradas a partir do gene da poliedrina de forma sequencial no sentido horário em ambos os isolados, com o gene *polh* sendo a ORF1 e o *rr1* identificado como a última ORF (ORF 151) no genoma do isolado Tabatinga e a ORF152 no genoma do CNPSo-168. Ambos os isolados, possuem genes homólogos a proteína F, assim como esperado em membros de *Alphabaculovirus* do Grupo II.

Os dois isolados de ChinNPV (CNPSo-168 e Tabatinga) possuem uma elevada porcentagem de identidade quando comparando com o genoma ChinNPV-IE, isolado de referência. Os genomas dos dois isolados possuem identidade nucleotídica de 99,44% e 98,92% (Tabela 2), sendo o CNPSo-168 mais similar ao ChinNPV-IE. A tabela 2 contém os dados das características dos 14 isolados de ChinNPV mais os dois novos isolados, CNPSo-168 e Tabatinga destacados em negrito, demonstrando o tamanho do genoma de cada isolado, o total de ORFs, o percentual GC o acesso ao *GenBank* e a porcentagem de identidade compartilhado com o genoma ChinNPV-IE de todos os isolados publicados.

Tabela 2. Características gerais dos 14 isolados de Chrysodeixis incluídos nucleopoliedrovírus.

Isolados	Tamanho do genoma (pb)	Total de ORFs	Percentual GC (%)	Acesso <i>GenBank</i>	(%) ID ChinNPV-IE
ChinNPV-IA	140,808	142	39.3	KU669289	97,07
ChinNPV-IB	138,869	141	39.2	KU669290	97,72
ChinNPV-IC	140,859	142	39.2	KU669291	96,64
ChinNPV-ID	140,787	142	39.2	KU669292	96,57
ChinNPV-IE	139,132	141	39.2	KJ631622	--
ChinNPV-IF	139,181	141	39.3	KU669293	99,29
ChinNPV-IG	139,116	141	39.2	KU669294	99,30
ChinNPV-MG.A	139,470	140	39.2	MN542939.1	99,16
ChinNPV-MG.B	139,637	140	39.2	MN542938.1	98,98
ChinNPV-MT.A	139,113	140	39.2	MN689112.1	98,98
ChinNPV-MT.B	139,074	140	39.2	MN689113.1	99,00
ChinNPV-MT.C	138,760	140	39.2	MN689114.1	98,45
ChinNPV-MT.D	139,046	140	39.2	MN689115.1	98,92
ChinNPV-MT.E	139,225	140	39.2	MN689116.1	98,40
ChinNPV-CNPSo-168	139,290	152	39.2	--	99,44
ChinNPV-Tabatinga	139,065	151	39.2	--	98,92

5. 7 ÁRVORE FILOGENÉTICA DOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSo-168 E ChinNPV-TABATINGA COMPARADA COM OUTROS ISOLADOS DE ChinNPV

Foi construída uma árvore filogenética com base no genoma completo dos dois isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) com outros 14 genomas de ChinNPV publicados no *GenBank* utilizando o método FastTree. A árvore apresentou características similares como foi descrito em estudos anteriores (Craveiro, 2017). O isolado ChinNPV-CNPSO-168 e Tabatinga foram agrupados no mesmo ramo, assim a topologia obtida sugere que os dois isolados compartilham um ancestral comum recente. Entretanto, o isolado Tabatinga foi agrupado mais externamente, indicando que esse isolado divergiu do ancestral em um período diferente do observado para CNPSO-168 (Figura 19).

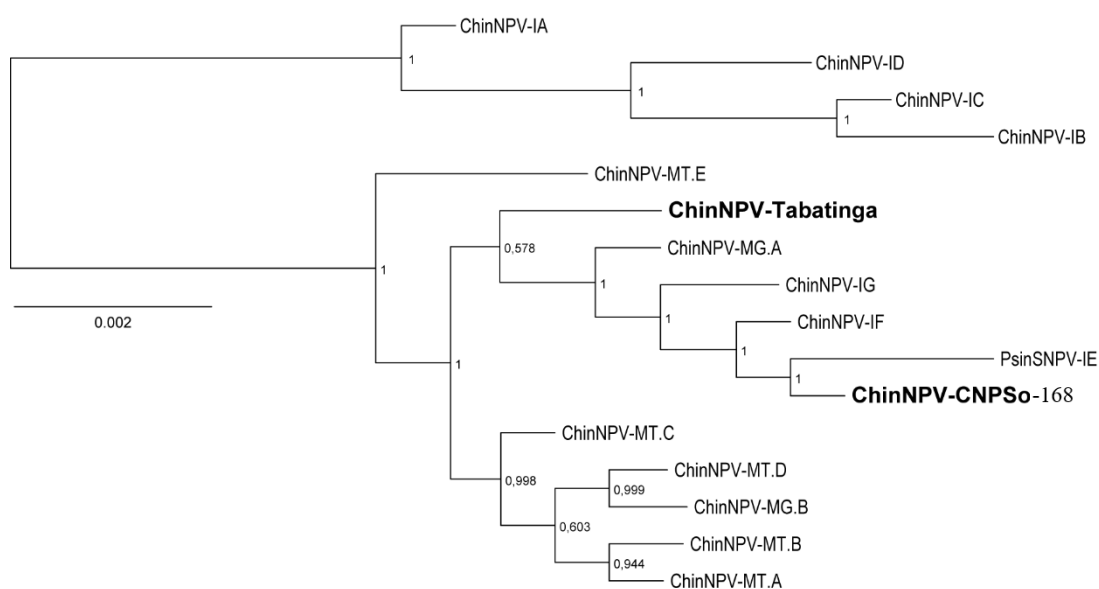


Figura 19. Árvore filogenética dos isolados de ChinNPV gerada pelo método FastTree. O suporte dos ramos foi calculado com base no método semelhante a Shimodaira-Hasegawa, com valor máximo de suporte igual a 1. Os isolados caracterizados neste estudo estão destacados em negrito. Os isolados Tabatinga e CNPSO-168 formaram um único clado, compartilhando o ancestral comum mais recente. O isolado CNPSO-168 é mais proximamente relacionado ao isolado ChinNPV-IE, enquanto o isolado Tabatinga está mais próximo do ancestral comum mais recente do clado que inclui os isolados MG.A, IG, IF, CNPSO-168 e ChinNPV-IE. A análise foi baseada no alinhamento do genoma completo utilizando o método MAFFT. A árvore foi enraizada no ponto médio pelo programa FigTree v1.4.4.

A análise de identidade com base no alinhamento par-a-par do genoma completo utilizando o método MAFFT de todos os isolados de Chrysodeixis incluídos nucleopoliedrovírus (ChinNPV) complementou as informações da árvore filogenética. Foi revelado que ancestral comum mais recente ao isolado CNPSO-168 é o ChinNPV-IE

(PsinNPV-IE) com 99,44% de porcentagem de identidade, enquanto o isolado Tabatinga é mais proximamente relacionado aos isolados ChinNPV-MG.A, ChinNPV-IG, ChinNPV-IF, ChinNPV-IE, CNPSO-168 e ChinNPV-IE, sendo a maior porcentagem de identidade com o ChinNPV-MG.A com 99,33% (Figura 20).

	ChinNPV-CNPSO-168	ChinNPV-Tabatinga	PsinNPV-IE	ChinNPV-MT.D	ChinNPV-MT.B	ChinNPV-MT.A	ChinNPV-MG.B	ChinNPV-MG.A	ChinNPV-MT.C	ChinNPV-IF	ChinNPV-IG	ChinNPV-MT.E	ChinNPV-ID	ChinNPV-IC	ChinNPV-IB	ChinNPV-IA
ChinNPV-CNPSO-168		99,24	99,44	99,28	99,36	99,34	99,31	99,47	98,79	99,66	99,47	98,77	96,83	96,89	97,85	97,31
ChinNPV-Tabatinga	99,24		98,92	99,45	99,36	99,43	99,26	99,33	98,82	99,15	99,22	98,78	96,77	96,90	97,79	97,29
PsinNPV-IE	99,44	98,92		98,92	99,00	98,98	98,98	99,16	98,45	99,29	99,30	98,40	96,57	96,64	97,72	97,07
ChinNPV-MT.D	99,28	99,45	98,92		99,62	99,70	99,41	99,32	99,13	99,25	99,22	98,94	96,85	96,91	97,80	97,31
ChinNPV-MT.B	99,36	99,36	99,00	99,62		99,75	99,35	99,35	99,11	99,34	99,29	98,93	96,83	96,87	97,78	97,28
ChinNPV-MT.A	99,34	99,43	98,98	99,70	99,75		99,44	99,39	99,14	99,33	99,28	99,00	96,83	96,88	97,78	97,29
ChinNPV-MG.B	99,31	99,26	98,98	99,41	99,35	99,44		99,51	98,81	99,26	99,17	98,79	96,75	96,81	97,69	97,21
ChinNPV-MG.A	99,47	99,33	99,16	99,32	99,35	99,39	99,51		98,84	99,41	99,38	98,89	96,79	96,87	97,78	97,28
ChinNPV-MT.C	98,79	98,82	98,45	99,13	99,11	99,14	98,81	98,84		98,78	98,74	98,41	96,28	96,33	97,23	96,75
ChinNPV-IF	99,66	99,15	99,29	99,25	99,34	99,33	99,26	99,41	98,78		99,50	98,75	96,87	96,92	97,88	97,34
ChinNPV-IG	99,47	99,22	99,30	99,22	99,29	99,28	99,17	99,38	98,74	99,50		98,73	96,73	96,78	97,79	97,21
ChinNPV-MT.E	98,77	98,78	98,40	98,94	98,93	99,00	98,79	98,89	98,41	98,75	98,73		96,38	96,42	97,31	96,83
ChinNPV-ID	96,83	96,77	96,57	96,85	96,83	96,83	96,75	96,79	96,28	96,87	96,73	96,38		99,36	97,94	99,27
ChinNPV-IC	96,89	96,90	96,64	96,91	96,87	96,88	96,81	96,87	96,33	96,92	96,78	96,42	99,36		98,37	99,40
ChinNPV-IB	97,85	97,79	97,72	97,80	97,78	97,78	97,69	97,78	97,23	97,88	97,79	97,31	97,94	98,37		97,92
ChinNPV-IA	97,31	97,29	97,07	97,31	97,28	97,29	97,21	97,28	96,75	97,34	97,21	96,83	99,27	99,40	97,92	

Figura 20. Mapa de calor apontando o percentual de identidade nucleotídica entre isolados de Chrysodeixis incluídos nucleopoliedrovírus (ChinNPV) com genomas sequenciados. A análise de identidade foi realizada com base no alinhamento par-a-par do genoma completo utilizando o método MAFFT. O mapa de calor mostra a variação de identidade, onde tons mais intensos de verde indicam maior identidade. Os isolados Tabatinga e CNPSO-168, que são caracterizados no presente trabalho, estão destacados em negrito.

5. 8 COMPARAÇÃO DAS ORFs DOS DOIS NOVOS ISOLADOS COM AS ORFs DE OUTROS ORGANISMOS

Todas as ORFs dos novos isolados de Chrysodeixis incluídos nucleopoliedrovírus foram comparadas com as ORFs de outros organismos para identificar a porcentagem de identidade nucleotídica desses genes. De todas as 152 ORFs do genoma do isolado CNPSO-168, 11 ORFs se destacaram por ter seu *Best hit* ORFs de organismos não presente na subfamília *Plusiinae*, ou não nenhuma semelhança significativa com outros organismos. No apêndice suplementar E, tabela 5, podemos observar todas as ORFs do isolado CNPSO-168 que deram matches com outros organismos. Das 11 ORFs, as ORFs 5, 58, 59, 98 e 152 possuíam nenhuma similaridade significativa com outros organismos. As ORFs 33, 37 e 79 apresentavam maior

similaridade com outros *Alphabaculovirus*, enquanto a ORF 34 com um *Betabaculovirus*. As ORFs com maior divergência foram a ORF 76, que apresentou similaridade com um ascovírus, e a ORF 6, que se assemelhou a um organismo do subfilo *Crustacea* (Apêndice suplementar E). No apêndice suplementar F, tabela 6, temos todas as ORFs anotadas no genoma do isolado ChinNPV-Tabatinga. No genoma do isolado Tabatinga foram 9 ORFs que cumpriram esse mesmo critério. Das 9 ORFs, somente a ORF 6 era diferente das ORFs encontradas no genoma do CNPSo-168. Essa ORF teve como seu *Best hit* a ORF de uma bactéria (Apêndice suplementar F). No apêndice suplementar E e F está listada todos as ORFs dos dois isolados com os *Best hits* de cada ORF, o tamanho em nt (nucleotídeo), posição no genoma e a porcentagem de identidade. Dentre as ORFs dos dois isolados, as ORFs 37 e 151 do CNPSo-168 não foram identificadas no Tabatinga.

5. 9 VARIAÇÕES NUCLEOTÍDICAS NOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSo-168 E ChinNPV-TABATINGA

O alinhamento entre as sequências dos dois isolados de ChinNPV (CNPSo-168 e Tabatinga) apresentou heterogeneidade. Além disso, variações genotípicas foram observadas ao longo do genoma dos dois isolados de ChinNPV com mutações pontuais de polimorfismo de base única. Ao todo, foi identificado um total de 454 polimorfismos de base única (SPNs) (Apêndice suplementar D tabela 4). Entre os 454 SNPs, houve a presença de mutações pontuais de transição (pirimidina para pirimidina ou purina para purina) e de transversão (purina para pirimidina) causaram efeitos de substituição em genes. De todos os SNPs, 305 não apresentam efeitos nas proteínas, enquanto 147 apresentaram.

A região do gene *bro-a* se destacou por apresentar uma extensão e uma interrupção abrupta da fase de leitura e 24 SNPs sendo 14 com efeito de substituição de aminoácidos. Mesmo com as mutações pontuais estando bem distribuídas ao longo do genoma dos isolados, essa foi a região com maior quantidade de polimorfismo. Vale ressaltar que dentre essas substituições, a maior parte delas foi a troca de aminoácidos com as mesmas características de suas cadeias laterais como um aminoácido polar para um polar ou um básico para básico. Contudo, há 14 substituições que mudaram a característica dos aminoácidos. Essas mudanças podem afetar o funcionamento do gene e assim causar pequenas mudanças nas proteínas, afetando seu funcionamento.

Dentre as demais regiões, destacam-se: *p74* com 14 SNPs, dos quais 5 apresentando efeito de substituição de aminoácidos; *rr1* com 13 SNPs, sendo 6 apresentando efeito de substituição de aminoácidos; ORF 5 que possui 7 SNPs, com 6 apresentando efeito de substituição de aminoácidos; *hoar* com 7 SNPs, dos quais 4 apresentando efeito de substituição de aminoácidos; ORF 7 com 6 SNPs, sendo 5 apresentando efeito de substituição de aminoácidos; e a ORF 127 com 5 SNPs, sendo 4 resultaram em efeito de substituição de aminoácidos. Outras regiões como *pk1*, *dbp*, *lef-8*, *helicase*, ORF 111, *egt* e *proteína f* apresentavam mais que 10 SNPs. No entanto, entre esses polimorfismos de base única, no máximo três resultaram em substituição de aminoácidos.

5. 10 COMPARAÇÃO DAS VERSÕES DO GENE *pif-2* EM DIFERENTES ISOLADOS DE ChinNPV

O gene *pif-2* possui importante papel na formação do complexo PIF. Esse gene codifica uma proteína expressa na membrana do envelope das partículas dos ODVs que possuem a função mediar a ligação específica do ODV com as células do intestino médio dos insetos. O gene *pif-2* é uma das sequências mais conservadas dos baculovírus. Essas sequências possuem um baixo grau de variabilidade quando comparada com outros core genes (Miele et al., 2011). Contudo, dos 16 genomas de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV), até então somente um isolado possuía uma variabilidade nessa região do genoma, o isolado ChinNPV-IA) que possuía uma versão curta desse gene, diferente dos outros 16 isolados que possuem uma versão estendida, resultante de uma fusão entre o gene *pif-2* com uma ORF hipotética. Essa versão mais curta desse gene, também foi relatada anteriormente no baculovírus de *Chrysodeixis chalcites* nucleopolyhedrovirus (ChchNPV). Na montagem do genoma dos dois novos isolados, foi observado que ambos possuíam a versão mais curta desse gene. Foi realizado um alinhamento do gene da *pif-2* dos dois novos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga), ChinNPV-IA, ChinNPV-IE e ChchNPV. Nessa análise, foi confirmado que esses novos isolados continham a versão mais curta do gene, ausente nas anotações dos outros isolados de ChinNPV (Figura 21).

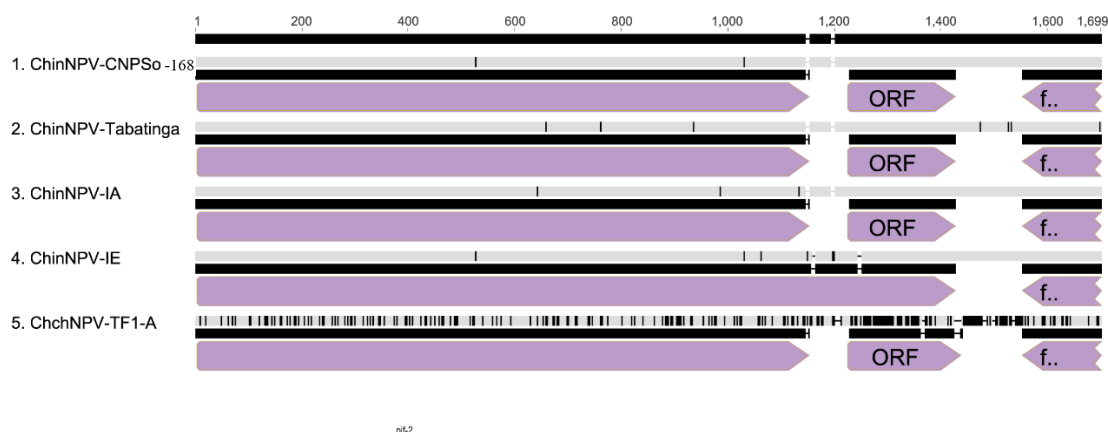


Figura 21. Alinhamento das versões do gene *pif-2* em diferentes isolados. O alinhamento gerado pelo MAFFT compara o gene *pif-2* dos novos isolados caracterizados neste estudo, CNPSO-168 e Tabatinga, com os isolados ChinNPV-IA e ChinNPV-IE (PsinSNPV-IE). Os isolados ChinNPV apresentam duas versões do gene: uma versão curta e outra estendida, resultante da fusão entre o gene *pif-2* e uma ORF hipotética. Esta ORF hipotética, ausente nas anotações dos genomas dos isolados ChinNPV, foi previamente anotada nos genomas dos isolados de ChchNPV.

5. 11 ORFs RELACIONADAS A REPLICAÇÃO, TRANSCRIÇÃO E ORFs ESTRUTURAIS NOS ISOLADO ChinNPV-CNPSO-168 E ChinNPV-TABATINGA.

Foi identificado nos dois isolados 13 genes homólogos aos fatores essenciais de replicação do DNA (Tabela 3). Esses genes são conhecidos por estarem envolvidos nos processos de replicação de DNA viral de diversos baculovírus. Todos esses genes foram descritos no genoma de ChinNPV-IE mas não são observados em todos os baculovírus (Craveiro, 2017).

Dentre os genes relacionados ao sistema de transcrição, foi identificado nos dois isolados 7 genes; *lef-4*, *lef-8*, *lef-9*, *p74*, *transcrição lef-5*, *p47* e *very late factor 1 (vlf-1)* (Tabela 3). Outros genes que não são essenciais, mas estão envolvidos na regulação da transcrição de ChinNPV-IE, estão presentes no genoma dos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga), como os *lef-6*, *lef-11*, *39K*, *lef-10* e *protein kinase 1 (pk1)* (Tabela 3).

O genoma dos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) possuem genes homólogos relacionadas a codificação de proteínas estruturais. Esses genes foram descritos anteriormente no genoma do ChinNPV-IE e em outros baculovírus (Craveiro, 2017). As proteínas estruturais das partículas virais nesse isolado são codificadas pelas as 28 ORFs (Tabela 3). Todos esses genes foram identificados no genoma do isolado ChinNPV-IE com a exceção do gene *pif-6*, ORF 65 (Tabela 3). Ambos os isolados, possuem genes homólogos a

proteína F, assim como esperado em *Alphabaculovirus* Grupo II (Rohrmann, 2019). A tabela 3 apresenta todos os genes relacionados a replicação, transcrição e estruturais nos isolado ChinNPV-CNPSO-168 e ChinNPV-Tabatinga, com o nome da ORF anotada, o nome do gene e a função do respectivo gene.

Tabela 3. ORFs relacionadas a replicação, transcrição e estruturais nos isolado ChinNPV-CNPSO-168 e ChinNPV-Tabatinga.

ORF	Nome	Função
139	<i>lef-1</i>	Replicação do DNA
137	<i>lef-2</i>	Replicação do DNA
64	<i>lef-3</i>	Replicação do DNA
62	<i>DNA polimerase (dnapol)</i>	Replicação do DNA
97	<i>p6.9</i>	Replicação do DNA
95	<i>38K</i>	Replicação do DNA
91	<i>helicase (hel)</i>	Replicação do DNA
16	<i>immediate early 1 (ie-1)</i>	Replicação do DNA
9	<i>major early-transcribed protein 53 (me53)</i>	Replicação do DNA
10	<i>exon-0 / ie-0</i>	Replicação do DNA
22	<i>DNA binding protein (dbp)</i>	Replicação do DNA
71	<i>proliferating cell nuclear antigen (pcna)</i>	Replicação do DNA
129	<i>alkaline exonuclease (alkexo)</i>	Replicação do DNA
87	<i>lef-4</i>	Transcrição do DNA
39	<i>lef-8</i>	Transcrição do DNA
56	<i>lef-9</i>	Transcrição do DNA
17	<i>p74</i>	Transcrição do DNA
96	<i>transcrição lef-5</i>	Transcrição do DNA
35	<i>p47</i>	Transcrição do DNA
80	<i>every late factor 1 (vlf-1)</i>	Transcrição do DNA
21	<i>lef-6</i>	Regulação da Transcrição
30	<i>lef-11</i>	Regulação da Transcrição
29	<i>39K</i>	Regulação da Transcrição
47	<i>lef-10</i>	Regulação da Transcrição
3	<i>protein kinase 1 (pk1)</i>	Regulação da Transcrição
1	<i>poliedrina (polh)</i>	Proteínas Estruturais
2	<i>viral capsid associated protein</i>	Proteínas Estruturais
3	<i>pk1</i>	Proteínas Estruturais
12	<i>occlusion derived envelope protein 18 (odv-e18)</i>	Proteínas Estruturais
13	<i>occlusion derived virus enveloped capsid protein 27 (odv-ec27)</i>	Proteínas Estruturais
18	<i>p10</i>	Proteínas Estruturais
48	<i>viral protein 1054 (vp1054)</i>	Proteínas Estruturais
55	<i>few polyhedra protein/25k (fp25k)</i>	Proteínas Estruturais
63	<i>desmoplakin</i>	Proteínas Estruturais

82	<i>41-kDa glycoprotein (gp41)</i>	Proteínas Estruturais
84	<i>telokinin-like peptide 20 (tlp20)</i>	Proteínas Estruturais
84	<i>viral protein 91 (vp91/p95)</i>	Proteínas Estruturais
86	<i>vp39</i>	Proteínas Estruturais
88	<i>p33</i>	Proteínas Estruturais
90	<i>odv-e25</i>	Proteínas Estruturais
102	<i>p87/vp80</i>	Proteínas Estruturais
104	<i>odv-ec43</i>	Proteínas Estruturais
106	<i>odv-e66</i>	Proteínas Estruturais
107	<i>p13</i>	Proteínas Estruturais
123	<i>calyx/polyhedrin enveloped protein (calyx/pep)</i>	Proteínas Estruturais
135	<i>p24</i>	Proteínas Estruturais
132	<i>pif-1</i>	Proteínas Estruturais
148	<i>pif-2</i>	Proteínas Estruturais
115	<i>pif-3</i>	Proteínas Estruturais
92	<i>odv-e28/pif-4</i>	Proteínas Estruturais
8	<i>odv-e56/pif-5</i>	Proteínas Estruturais
65	<i>pif-6</i>	Proteínas Estruturais
17	<i>per os infectivity factor 0 (p74/pif-0)</i>	Proteínas Estruturais
150	<i>proteína de fusão (F protein)</i>	Proteínas Estruturais

5. 12 GENES RELACIONADOS A METABOLISMO DE NUCLEOTÍDEOS E REPARAÇÃO DE DNA NOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSO-168 E ChinNPV-TABATINGA.

Os isolados ChinNPV-CNPSO-168 e ChinNPV-Tabatinga possuem genes relacionados na biossíntese de nucleotídeos. Ambos os isolados possuem os genes *rr1*, *rr2* e *dut* que codificam a ribonucleotídeo redutase (RR) grande (RR1), pequena (RR2) e as subunidades da proteína dUTPase, assim como os *alphabaculovirus* do grupo II. Como descrito anteriormente no isolado ChinNPV-IE, não foram identificados homólogos de PARG que foram relatados em outros *alphabaculovirus* do grupo II nesses dois novos isolados (Craveiro, 2017).

Assim como no isolado ChinNPV-IE foi identificado o gene DNA fotoliase (*phr*) que codifica a CPD fotoliase, que é responsável no reparo de danos no DNA do tipo dímeros de pirimidina ciclobutano induzidos pela radiação ultravioleta (UV), nos isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga). Algumas espécies de baculovírus possuem até duas cópias desse gene, como no caso do Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus (ChchNPV) com *phr-1* e *phr-2* (Van Oers et al., 2008).

5. 13 GENES AUXILIARES NOS ISOLADOS ChinNPV-CNPSO-168 E ChinNPV-TABATINGA

Em ambos os isolados foram identificados os genes auxiliares, *catepsina* (*v-cath*), *quitinase* (*chiA*), *37 kDa-glicoproteína* (*gp37*), *conotoxina* (*ctl*), *fatores de crescimento de fibroblastos* (*fgf*), *fosfotirosina fosfatase* (*ptp*), *transferase de glucose ecdisona* (*egt*), *fator de infectividade do rearranjo de 66 actina 1* (*arif-1*), *inibidor de apoptose 2* (*iap-2*), *iap-3* e *p35/p49*. Esses genes não são essenciais nos processos da replicação do DNA, tradução ou formação de partículas virais, mas concedem vantagens seletivas aos vírus. Um exemplo são os genes *chiA* e *v-cath*, cujas enzimas causam a degradação e liquefação das lagartas, o que auxilia na transmissão horizontal dos vírus (Rohrmann, 2019). Todos esses genes foram identificados no isolado ChinNPV-IE. No entanto, o gene de *ubiquitina viral* (*vubi*) não está presente nos dois novos isolados, enquanto o gene *pif-6*, ausente no ChinNPV-IE, foi encontrado nos dois novos isolados. O gene *vubi* é relacionado a processos de estabilidade das proteínas, sinalização imunitária, funções antivirais e replicação do vírus (Valerdi KM et al., 2021). Enquanto o gene *pif-6* (*per os infectivity fator-6*) está relacionado a proteínas estruturais envolvidas na penetração do vírus nas células do hospedeiro (Rohrmann, 2019).

Os genes *fgf*, *ptp* e *egt* foram relatados por estarem envolvidos no comportamento hiperativo do inseto-hospedeiro aumentando a motilidade larval, impedindo a muda e prolongando a vida do inseto (Nguyen et al., 2013). Em ambos os isolados foram identificados o gene *ptp* que foi relatado anteriormente apenas *Alphabaculovirus* do Grupo I (Nguyen et al., 2013; Rohrmann, 2019) e em outros ChinNPV (Craveiro, 2017).

5. 14 GENES *BRO* DOS ISOLADOS DE ChinNPV-CNPSOo-168 E ChinNPV-TABATINGA

Ambos os isolados de ChinNPV (CNPSO-168 e Tabatinga) possuem em seu genoma três genes *baculovirus repeated ORFs* (genes *bro*), *bro-a*, *bro-b* e *bro-c*, as ORFs 33, 74 e 117. No isolado ChinNPV-IE foi encontrado somente dois genes *bro* o *bro-a* e *bro-b*. No isolado CNPSO-168, o gene *bro-a* e *bro-b* possuem 96.26% e 99.18% de porcentagem de similaridade com os homólogos do isolado ChinNPV-IE, enquanto o isolado Tabatinga apresentou 91.21% e 99.18%. Sendo que, em ambos os isolados, o organismo mais similar, excluindo os ChinNPV, é o *Lymantria dispar multiple nucleopolyhedrovirus* (LdMNPV) com 64.29% no CNPSO-168 e 61.97% no Tabatinga. Além disso, no gene *bro-a* entre os isolados apresentou maior polimorfismo, com uma extensão e uma interrupção abrupta da fase de leitura. A função desses genes ainda não está clara e sua presença é bem vasta, ocorrendo em diferentes espécies de

baculovírus dos gêneros *Alphabaculovirus*, *Betabaculovirus* e *Gammabaculovirus* e em outros vírus de DNA dupla fita de insetos como entomopoxvirus e entomoiridovirus (Craveiro, 2017), diferenciando entre eles com o número de cópias e tamanho entre os genomas dos vírus (Zhou et al., 2012). Contudo, é proposto que essa proteína pode estar envolvida na replicação de DNA ou na regulação da transcrição do hospedeiro ou em ambas as funções, além de atuar como fator de replicação viral na fase tardia (Bideshi et al., 2003; Craveiro 2017).

5. 15 OUTROS GENES ENCONTRADOS NOS DOIS NOVOS ISOLADOS

Dentre os genes conservados encontrados nos dois novos isolados, foi identificado o gene *p26*. Esses genes são encontrados em alguns baculovírus em duas cópias, *p26a* e *p26b*, o que sugere, a possibilidade de ter um papel básico no ciclo de infecção por baculovírus. A *p26* pode ser transcrita pela RNA polimerase II do hospedeiro tanto no início como no final da infecção (Ge JQ., et al 2021). Nos dois novos isolados, foi relatado a presença dessas duas cópias assim como no ChinNPV-IE. Foi identificado o gene *p40* que está relacionado na expressão de diferentes proteínas e peptídeos, o gene *p45* que associa a NSF (*N-ethylmaleimide-sensitive factor*) e pode estar envolvido na entrada e saída nuclear dos BVs, *gp16* que parece ser associado com envelopes dos nucleocapsídeos virais no citoplasma, mas não está presente no ODV e BV e o gene *pkip* que estar relacionado na superexpressão viral dos genes *very late*. Além dos genes *bjdp*, *38.7 k* e *p128* que também foram relatados no genoma do ChinNPV-IE.

6. DISCUSSÃO

Os resultados desse trabalho revelam diferenças sutis entre os isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus CNPSO-168 e Tabatinga atribuídos à pequena variação nucleotídica apresentada pelos genomas. Ambos os isolados foram eficazes em matar de *C. includens*, sendo que o aumento da concentração viral afetou drasticamente no tempo de morte dos hospedeiros. O isolado CNPSO-168 provou-se ser mais letal que o isolado Tabatinga, sendo mais evidente nas menores diluições e com diferença significativa na concentração de 1×10^6 OBs/ mL. No ensaio de tempo de morte, essa variação também pode ser observada com o isolado CNPSO-168, sendo mais veloz que o Tabatinga. É comum que quando ocorrem naturalmente no campo, os isolados possuam uma grande variação genética (Theze et al., 2014), isso pode levar a formação de isolados com características únicas nesse sentido. As diferenças na taxa de mortalidade entre isolados pode demonstrar uma competição entre os genótipos do vírus para a transmissão a novas lagartas (Hodgson et al., 2001). A infecção por baculovírus é um evento complexo com diferentes genes envolvidos e por ser um vírus com alta diversidade genotípica, essa diversidade pode afetar no desempenho do vírus no seu hospedeiro.

Os baculovírus são vírus que apresentam sintomas de infecção claros em seu hospedeiro na fase larval, mas pouco se sabe em como isso afeta as outras fases do inseto. Nesse trabalho foram observados possíveis efeitos do vírus no ciclo do inseto. Por mais que não tenha sido comprovado que seja de fato o efeito do vírus, é interessante notar como a população que não teve contato com o vírus tenha se saído melhor no desenvolvimento dos insetos a fase adulta. Algumas características dos insetos tratados foram bem evidentes, como a diminuição do tamanho e deformidades ao longo do ciclo de vida do inseto. Os baculovírus possuem 3 genes que podem afetar o inseto após sua fase larval. Esses genes são os *fgf* (*fibroblast growth factor*), *ptp* (*protein tyrosine phosphatase*) e *egt* (*ecdysteroid UDP-glucosyltransferase*). O gene *fgf* parece ter envolvimento na remodelação da lâmina basal, um processo que envolve caspases do hospedeiro e metaloproteases da matriz (Shrestha A et al., 2018). O gene *ptp* induz a um aumento na atividade locomotora dos insetos. Essa atividade é ativada pela luz e é um comportamento normal nos insetos no final da fase larval. Acredita-se que o baculovírus induza essa atividade para melhorar a transmissão do vírus, induzindo as larvas no final da infecção a se locomoverem para o topo das plantas (Kamita SG et al., 2005). O gene *egt* produz uma enzima que interfere com a muda dos insetos, dificultando que as lagartas entrem no estágio de pupa (Cory, J.S et al., 2004). Em conjunto, esses genes podem aumentar a motilidade das

lagartas, impedir a muda e prolongar a vida da fase larval. Foram observados esses 3 genes nos dois isolados virais, o que pode ter sido a razão do tratamento com o vírus ter tido um prolongamento no seu estágio larval em até um dia a mais. Contudo, não foi feita uma análise minuciosa para comparar o tempo necessário para entrar no estágio de pupa. Em uma investigação com *Plodia interpunctella* com amplificação por PCR, foi verificado que as transcrições da granulina de *Plodia interpunctella* granulovirus (PlinGV) nesses insetos estavam presentes em 60-80% da descendência que tinham sobrevivido à exposição a uma dose letal de PlinGV (Burden JP et al., 2002). Essa metodologia pode ser aplicada para complementar a investigação dos efeitos biológicos desse trabalho. Os três genes (*fgf*, *ptp* e *egt*), juntamente com um conjunto de outros genes de baculovírus, podem influenciar o desenvolvimento dos insetos que se alimentaram do vírus. No entanto, esse comportamento provavelmente resulta de uma interação complexa entre genes virais e do hospedeiro (Rohrmann, 2019). Estudos mais aprofundados são necessários para compreender as possíveis interações entre o vírus e os insetos hospedeiros que sobrevivem à infecção.

Os genomas dos novos isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus são bastante similares ao ChinNPV descritos anteriormente. Não houve a presença de ORFs únicas, somente regiões de ORFs não anotadas e poucas regiões com alta densidade de polimorfismos. O genoma do ChinNPV-CNPSO-168 possuía 152 ORFs enquanto o Tabatinga, 151 ORFs. Ambos os isolados possuem os 38 core genes presentes no genoma dos baculovírus. A ORF 76 nos dois genomas conteve similaridade com outros organismos não pertencentes da família *Baculoviridae* e sim com um ascovírus, *Heliothis virescens ascovirus 3h*. Enquanto a ORF 6 era diferente entre os isolados, sendo que no CNPSO-168 teve maior identidade com o organismo *Procambarus clarkii*, enquanto no Tabatinga, com *Clostridia bacterium*. Essas duas ORFs são genes hipotéticos e não se sabe ao certo a sua função. Um estudo mais aprofundado é necessário para identificar melhor a função desses genes e como eles foram adquiridos por esses dois isolados.

A inferência filogenética do genoma completo dos dois novos isolados com os outros ChinNPV anteriormente sequenciados, foi verificada. Os isolados CNPSO-168 e Tabatinga, tiveram uma alta porcentagem de identidade com o isolado ChinNPV-IE, o primeiro isolado de baculovírus de *C. includens* sequenciado. Os dois isolados pertencem ao ramo em que o ChinNPV-IE está presente, demonstrando que os isolados compartilham com um descendente recente e comum. Entretanto, o isolado CNPSO-168 teve maior similaridade quando comparado ao isolado Tabatinga. Além disso, essa elevada porcentagem de similaridade indica um alto

grau de conservação genômica dos dois novos isolados com os isolados de ChinNPV descritos anteriormente, especialmente o isolado ChinNPV-IE, o que pode implicar em uma evolução com divergências sutis ao longo do tempo.

Foram identificados, entre os dois isolados, 454 polimorfismos de base única (SNPs), dos quais 147 apresentam algum tipo de efeito. Dentre as regiões marcadas com mutações, a que mais se destaca é a região do gene *bro-a* com 24 SNPs e uma extensão e uma interrupção abrupta da fase de leitura. As regiões dos genes *bro*, são regiões marcadas com alta variabilidade genética (Craveiro 2017) entre os isolados de baculovírus, tanto que há isolados com até 5 genes *bro* (*bro-a*, *bro-b*, *bro-c*, *bro-d* e *bro-e*), como o caso do Bombyx mori nucleopolyhedrovirus (BmNPV). Contudo, nesses dois novos isolados, somente a região do gene *bro-a* apresentou uma alta taxa de mutações pontuais, enquanto nos genes *bro-b* e *bro-c*, não foi identificado. A função da família de genes *bro* ainda não está clara, mas acredita-se que desempenham um papel importante na infecção viral (WonKyung Kang et al., 2006). Os SNPs nessa região podem causar diferenças significativas na sequência nucleotídica, mudando o aminoácido produzido nessas regiões, o que pode afetar nas características da sequência. Dos 24 SNPs dessa região, 14 tiveram substituição de aminoácidos, representando mudanças como a troca de polaridade dos aminoácidos, podendo causar alterações significativas na estrutura secundária da proteína e modificar sua atividade (Robert F et al., 2018). Em um estudo com clones de isolados do vírus da dengue 2, foi identificado 11 mutações com 10 silenciosas. A única mutação que teve efeito na proteína, alterava o nucleotídeo (G) para (C), gerando uma diferença no resíduo do aminoácido de ácido aspártico para histidina da proteína do envelope (E). Os clones que continham essa mutação, apresentaram uma elevada virulência nos camundongos quando inoculados intracerebralmente. Enquanto, os clones que apresentaram uma substituição de ácido aspártico para asparagina na mesma posição, tiveram a virulência atenuada. Com isso, foi proposto pelo estudo que a substituição de Asp para His tem possibilidade de afetar um elemento estrutural funcionalmente importante que pode ser determinante para a neurovirulência da dengue (Sánchez et al., 1996). Esse exemplo demonstra que mesmo pequenas mudanças genéticas podem causar impactos significativos na biologia do vírus. Estudos adicionais serão cruciais para entender os efeitos dessas modificações para assim determinar as implicações práticas dessas mutações nos novos isolados de ChinNPV e compreender a influência dessas variações na interação vírus-hospedeiro.

O alinhamento do gene *pif-2* dos novos isolados com outros *Alphabaculovirus*, permite analisar a variação estrutural e genética desse gene. A análise gerada pelo MAFFT revelou que

a presença desse gene nesses novos isolados corresponde à versão curta, sendo que essa versão havia sido relatada anteriormente somente no genoma dos isolados ChinNPV-IA e no isolado de *Chrysodeixis chalcites* nucleopoliedrovírus (Van Oers et al., 2004). A presença dessas duas versões pode ser explicada por possíveis eventos de recombinação ou inserção genética ao longo da evolução dos isolados de ChinNPV, o que levou à incorporação de novas regiões codificadoras no gene *pif-2*, alterando possivelmente a funcionalidade da proteína gerada por essa ORF. O surgimento de variações desse tipo no genoma de baculovírus já foi relatado em outras regiões, como no caso do isolado ChinNPV#1 que possuía duas versões do gene *he65* através de um rearranjo genômico (Harrison, 2019). Esse rearranjo acompanhando pela perda e aquisição de genes, pode contribuir para a divergência genética de baculovírus, como no caso das duas versões do gene *pif-2* presente nos isolados ChinNPV.

O genoma dos dois novos isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus apresentam os mesmos genes relacionados a replicação, transcrição e genes estruturais presentes no genoma do ChinNPV-IE, sendo que o gene *p6.9* foi relatado somente no genoma dos isolados de ChinNPV. Nos novos isolados, foi identificado um gene ausente no genoma do ChinNPV-IE: *pif-6*. O gene *pif-6* (*per os infectivity factor-6*) está relacionado a proteínas estruturais envolvidas na penetração do vírus nas células do hospedeiro. Por outro lado, foi identificado um gene presente no genoma do ChinNPV-IE, mas ausente nos dois novos isolados: *vubi*. Esse gene auxiliar desempenha diversas funções, incluindo a estabilização de proteínas, sinalização imunitária, funções antivirais e participação na replicação viral. Essas diferenças genômicas podem indicar a perda desses genes no ChinNPV-IE ao longo da evolução ou sua aquisição recente nos novos isolados.

Os genes da família *bro* são genes distribuídos entre as diferentes espécies de baculovírus existentes e acredita-se que possam estar envolvidos na replicação do DNA e na regulação da transcrição. O número de cópias e o tamanho desses genes podem variar entre as espécies de baculovírus, sendo que, em algumas espécies, podem conter até 16 diferentes genes dessa família (Kuzio et al., 1999). A presença dos genes *bro-a*, *bro-b* e *bro-c* nos novos isolados e a ausência de *bro-c* no isolado ChinNPV-IE pode indicar uma variação genética entre esses isolados. A alta similaridade do gene *bro-b* entre os isolados de ChinNPV, pode sugerir alto grau de conservação funcional, enquanto a maior variação no gene *bro-a*, pode implicar uma possível especialização ou modificação adaptativa nesses isolados.

Outros genes conservados também foram identificados nos novos isolados como *p26*, *p40*, *p45*, *gp16* e *pkip*. No genoma dos novos isolados, o gene *p26* é encontrado em duas cópias,

a *p26a* e *p26b*. Esses genes podem ser encontrados dessa forma em outros baculovírus como no caso do isolado ChinNPV-IE. Esses genes podem agir no ciclo de infecção do baculovírus, onde podem ser transcritos pela RNA polímerase II tanto no início quanto no fim da infecção. A presença de duas cópias pode ser crucial para a eficácia desses genes no genoma desses isolados, possibilitando uma transcrição mais robusta na infecção viral. Outros genes identificados foram os *bjdp*, *38.7k* e *p128*, anteriormente encontrados no genoma do ChinNPV-IE. Esses genes podem estar relacionados a processos adicionais de interação com o hospedeiro ou à eficiência da replicação viral.

7. CONCLUSÃO

O presente trabalho empenhou-se a caracterizar dois novos isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV), os isolados CNPSo-168 e Tabatinga. Ambos os isolados demonstraram ter uma eficácia na letalidade de seu hospedeiro. A morfologia externa desses novos isolados é condizente com os isolados de ChinNPV previamente publicados. Ambos os isolados possuem os 38 core genes compartilhados entre os outros baculovírus. Das 152 ORF do isolado CNPSo-168 e 151 do isolado Tabatinga, não foram identificadas novas ORFs mas sim ORFs não anotadas. Duas ORFs tiveram similaridade com outros organismos além dos baculovírus de *C. includens*, as ORFs 6 e 76. A inferência filogenética do genoma completo dos isolados de ChinNPV, apresentou que esses novos isolados estão presentes no clado do isolado ChinNPV-IE com elevada porcentagem de similaridade. Foram identificados 454 polimorfismos de base única (SNPs) entre os novos isolados, dos quais 305 foram mutações silenciosas, enquanto, 147 resultaram em substituição de aminoácidos, sendo a região do gene *bro-a* a que mais se destaca com 24 SNPs, uma extensão e uma interrupção abrupta da fase de leitura. Os novos isolados continham a presença da versão curta do gene da *pif-2*, assim como relatado no genoma do isolado ChinNPV-IA e ChchNPV. Os dois novos isolados possuem a presença de genes não presentes no isolado ChinNPV-IE, os genes *pif-6*, *vubi* e *bro-c*, identificados em outros isolados de ChinNPV. A caracterização desses dois novos isolados nos permite avançar no estudo do controle da lagarta falsa-medideira. Além disso, o aumento do número de novos genomas sequenciados contribui para o estudo da evolução dessa espécie. Além de possibilitar um melhor entendimento do genoma, o que pode contribuir para a formação de novas estratégias de controle dessa praga ou para a produção de novos produtos sustentáveis a base de ChinNPV, contribuindo para a substituição ou redução do uso de inseticidas químicos.

8. PERSPECTIVAS

Esse trabalho aborda as características de dois genomas de isolados de *Chrysodeixis includens* nucleopoliedrovírus (ChinNPV), o que abre novas estratégias de controle da praga *C. includens* de uma forma sustentável ao meio ambiente. Esses isolados (ChinNPV CNPSo-168 e ChinNPV Tabatinga) possuem características genótípicas e fenotípicas distintas para a produção de novos produtos à base de baculovírus. Dentre as próximas etapas para esse trabalho, a análise por microscopia eletrônica de varredura de ambos os isolados e de microscopia eletrônica de transmissão do isolado Tabatinga será a mais imediata, para fornecer informações valiosas sobre a morfologia externa e sobre a ultraestrutura dos corpos de oclusão, respectivamente. Durante a multiplicação de isolados de ChinNPV em larvas de *C. includens* realizados no Laboratório de Virologia de Insetos da Embrapa/Cenargen foi identificado, por eletroforese em gel de agarose, um padrão de segmentos de DNA não correspondentes ao genoma do baculovírus amostras (Figura 22A). Após tratamento realizado por RNase, foi revelado que esses segmentos extras eram provenientes de RNA de uma provável coinfeção (Figura 22B). O padrão de segmentos de RNA era similar ao padrão do genoma de cipovírus, outro vírus de lepidópteras. Os cipovírus são vírus da família Reoviridae e causam infecções em diferentes tipos de insetos, incluindo membros de Lepidoptera, Diptera e Hymenoptera. Eles possuem dsRNA segmentado entre 10 a 12 segmentos e replicam-se no citoplasma das células infectadas com corpos de oclusão similares aos do baculovírus e podem causar infecções persistentes e subletais, muitas vezes não levando à morte do hospedeiro. Com isso, foram desenvolvidos *primers* específicos para o gene da poliedrina de cipovírus a fim de confirmar a coinfeção nas amostras que possuíam esses padrões de bandas. A técnica de PCR, seguida de Rt-PCR foi empregada utilizando diferentes amostras que apresentavam ou não os segmentos extras de RNA. Como resultado, foi comprovada que a coinfeção viral era com um cipovírus (Figura 22C). Foi também realizada uma microscopia eletrônica de transmissão com as amostras co-infectadas com cipovírus, o que confirmou a presença desse vírus em ambos os isolados de ChinNPV (Figura 23).

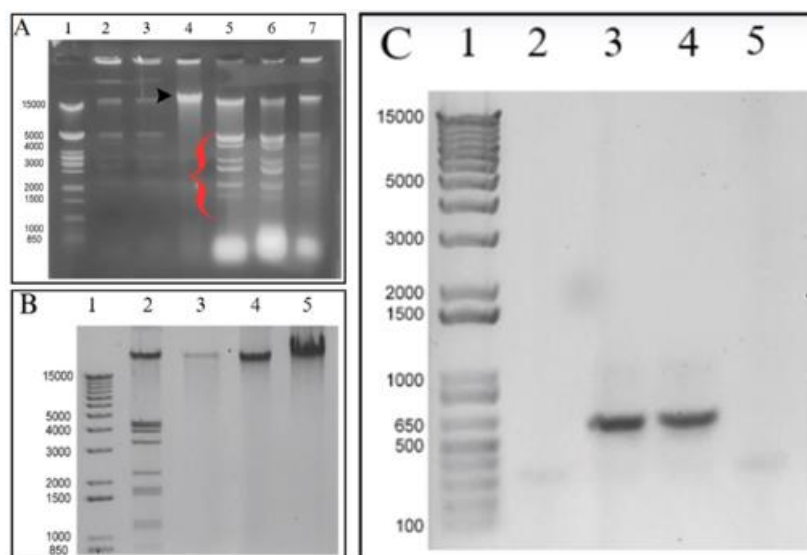


Figura 22. Detecção da contaminação de amostras de baculovírus com cipovírus através de eletroforese em gel de agarose. **(A)** Resultado da extração de ácidos nucleicos visualizado por eletroforese em gel de agarose. Poço (1) marcador de peso molecular, os demais poços, isolados de ChinNPV. A seta preta indica a presença do genoma do baculovírus. O colchete vermelho, indica a presença de bandas não identificadas. **(B)** Resultado da extração de ácidos nucleicos visualizado por eletroforese em gel de agarose. **(C)** Resultado da amplificação por PCR com cDNA produzido na RT-PCR visualizado por eletroforese em gel de agarose.

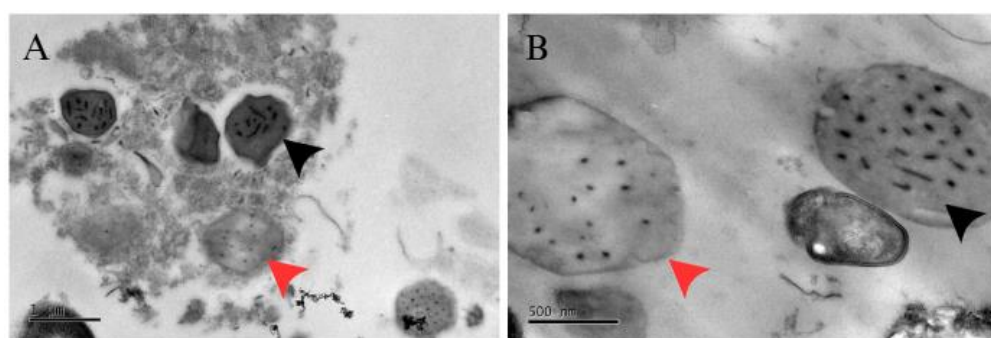


Figura 23. Microscopia eletrônica de transmissão da contaminação por cipovírus. **(A)** Microscopia eletrônica de transmissão no aumento de 4000 x do isolado ChinNPV-CNPSO-168 com coinfeção com um cipovírus de *C. includens*. A cabeça de seta preta indica o corpo de oclusão de baculovírus a cabeça de seta vermelha indica o corpo de oclusão de cipovírus. **(B)** Microscopia eletrônica de transmissão no aumento de 10.000 x do isolado ChinNPV-Tabatinga com coinfeção com um cipovírus de *C. includens*. A cabeça de seta preta indica o corpo de oclusão de baculovírus a cabeça de seta vermelha indica o corpo de oclusão de cipovírus.

Será realizado a caracterização desse cipovírus assim como seus efeitos na coinfeção com os isolados CNPSO-168 e Tabatinga. Os dados do sequenciamento das amostras com a contaminação por cipovírus com os dois isolados de ChinNPV serão explorados posteriormente durante o doutorado para entender as possíveis variações genotípicas e os efeitos fenotípicas

em coinfecção de baculovírus e cipovírus na lagarta falsa-medideira, analisando as interações entre os vírus, bem como investigar as possíveis respostas transcriptômica do inseto para identificar variações na expressão gênica associadas à resistência ou susceptibilidade aos vírus.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMANN, H.-W.; SMIRNOFF, W. A. A morphological investigation of 23 baculoviruses. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 41, n. 3, p. 269-280, 1983.
- AFONSO, C.; TULMAN, E.; LU, Z.; BALINSKY, C.; MOSER, B.; BECNEL, J.; ROCK, D.; KUTISH, G. Genome sequence of a baculovirus pathogenic for *Culex nigripalpus*. **Journal of Virology**, v. 75, p. 11157-11165, 2001. DOI: 10.1128/JVI.75.22.11157-11165.2001.
- AGROFIT. Agrofit - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2023. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 30 jan. 2024.
- AIRES, R. Grandes culturas: Palmo a palmo. **Grupo Cultivar**, 2015. Disponível em: https://issuu.com/grupocultivar/docs/cultivar_191/. Acesso em: 13 jan. 2024.
- ALEXANDRE, T. M., RIBEIRO, Z. M. A., CRAVEIRO, S. R., CUNHA, F., FONSECA, I. C. B., MOSCARDI, F., & CASTRO, M. E. B. (2010). Evaluation of seven viral isolates as potential biocontrol agents against *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars. **Journal of Invertebrate Pathology**, 105(1), 98-104.
- ALTSCHUL, S. F., MADDEN, T. L., SCHÄFFER, A. A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W., LIPMAN, D. J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research** 25(17): 3389-3402, (1997).
- ALVES, S. B. & MORAES, S. A. (1986). Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. **Em Controle Microbiano de Insetos**. 1ª edição, Editora Manole. Capítulo 14: pg. 278 a 288.
- ANDRADE, K. Aspectos bioecológicos de *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. (2014). Dissertação (Mestrado em Agronomia) Programa em Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná 48f.
- ATTOUI, H., MOHD JAAFAR, F., MERTENS, P. P. C. (2021) Abolish the family Reoviridae and promote subfamilies Sedoreovirinae and Spinareovirinae to the rank of family (Sedoreoviridae and Spinareoviridae, respectively) (Reovirales) https://ictv.global/ictv/proposals/2020.028M.R.Reovirales_2nfam.zip
- BARRERA, G. P., VILLAMIZAR, L. F., ARAQUE, G. A., GÓMEZ, J. A., GUEVARA, E. J., CERRUDO, C. S., & BELAICH, M. N. Natural coinfection between novel species of baculoviruses in *spodoptera ornithogalli* larvae. **Viruses**, 13(12), 2520, (2021).
- BASTOS, G. D. B. A Tecnologia RR na produção da soja. 2020. 17 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.
- BATISTA FILHO, E. L. Aspecto da expansão da soja e geração de emprego rural no extremo oeste do Paraná – 1970/1990. 1994. Dissertação (Mestrado em Economia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.

BEDIN, F. A., ASSMANN, E. J., POLO, L. R. T., & SCHUSTER, I. Eficiência de eventos transgênicos de resistência a insetos em soja e milho. **Revista Cultivando o Saber**, v. 8, n. 2, p. 76-88, 2015.

BELCHIOR, D. C. V. de SOUZA SARAIVA, A., LÓPEZ, A. M. C., & SCHEIDT, G. N. Impactos de agrotóxicos sobre o meio ambiente e a saúde humana. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 34, n. 1, p. 135-151, 2017.

BERNARDI, O. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil. 2012. 144f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo.

BIDESHI, D. K., RENAULT, S., STASIAK, K., FEDERICI, B. A., BIGOT, Y. Phylogenetic analysis and possible function of bro-like genes, a multigene family widespread among large double-stranded DNA viruses of invertebrates and bacteria. **Journal of General Virology** 84(9): 2531-2544, (2003).

BLISSARD, G. W.; THEILMANN, D.A. Baculovirus Entry and Egress of Insect Cells, Annual Review of Virology (5) 113-139, 2018.

BORRIS, R. Bacillus, a plant-beneficial bacterium. In: **Principles of plant-microbe interactions: microbes for sustainable agriculture**. Cham: Springer international publishing, p. 379-391, 2014.

BOSCHIERO, B. N. 6 maiores produtores de soja do mundo. **Agroadvance**, 08 set. 2023. Disponível em: <https://agroadvance.com.br/blog-6-maiores-produtores-de-soja-do-mundo/>. Acesso em: 17 jan. 2024.

BOTTON, M. NAVA, D. E. EMBRAPA. Insetos-praga. **Embrapa – Agência de Informação Tecnológica**, 20 dez. 2021. Disponível em: [https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/pessegueiro/producao/manejo-fitossanitario/insetos-praga#:~:text=Entre%20essas%20pragas%20se%20destacam,os%20tripes%20e%20as%20formigas](https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/pessegueiro/producao/manejo-fitossanitario/insetos-praga#:~:text=Entre%20essas%20pragas%20se%20destacam,os%20tripes%20e%20as%20formigas.). Acesso em: 11 jan. 2024.

BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. **Principles of insect pathology**. Springer Science & Business Media, 2012.

BROBOWSKI, V. L.; FIUZA L. M.; PASQUALI, G.; BONADANESE-ZANETTINI, M. H. Characterization of two Bacillus thuringiensis isolates from Brazil and their toxicity against Anticarsia gemmatilis (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, v. 25, n. 2, p. 129-135, 2002.

BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; FREITAS BEUENO, R. C.; NISHIKAWA, M.; HIDALGO, G.; SILV, L.; GARCIA, A.; CORBO, E.; SILVA, R. B. Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 12p. (Circular Técnica, 79).

BUENO, P.; JUNIOR, J.; JUNIOR, M.; & SILVEIRA, D. Controle biológico e manejo de pragas na agricultura sustentável. Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), v. 20, 2015.

BURDEN, JP., GRIFFITHS, CM., CORY, JS., SMITH, P., SAIT, SM. Vertical transmission of sublethal granulovirus infection in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. **Molecular Ecology**. (2002); 11(3):547-55. doi: 10.1046/j.0962-1083.2001.01439.x. PMID: 11918789.

CAMPEÃO, P.; SANCHES, A. C.; MACIEL, W. R. E. Mercado internacional de commodities: uma análise da participação do Brasil no mercado mundial de soja entre 2008 e 2019. **Desenvolvimento em Questão**, v. 18, n. 51, p. 76-92, 24 abr. 2020. Disponível em: <https://www.revistas.unijui.edu.br/index.php/desenvolvimentoemquestao/article/view/8963>. Acesso em: 15 de Jan 2024

de CASTRO, M. E. B., RIBEIRO, B. M., CRAVEIRO, S. R., INGLIS, P. W., VALICENTE, F. H., (2020). Controle de artrópodes-praga com vírus entomopatogênicos. In: FONTES, (org.). Controle biológico de pragas da agricultura. Brasília, DF: Embrapa, Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/212490/1/CBdocument.pdf>. Acesso em: 17 jan. 2024.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Com novo recorde, produção de grãos na safra 2022/23 chega a 322,8 milhões de toneladas. **Conab**, 06 set. 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/5157-com-novo-recorde-producao-de-graos-na-safra-2022-23-chega-a-322-8-milhoes-de-toneladas>. Acesso em: 17 jan. 2024.

CONCEIÇÃO, P. C.; CALEGARI, A.; HOJO, R. H.. Plantas de cobertura e rotação de culturas. In: MAZARO, Sergio Miguel et al. (org.). **Sistema de produção: soja orgânica**. Dois Vizinhos, PR: UTFPR; Porto Alegre, RS: Cinco Continentes, 2017. p. 129-166. ISBN 978-85-86466-59-5.

CRAVEIRO, S. R., MELO, F. L., RIBEIRO, Z. M. A., RIBEIRO, B. M., BÃO, S. N., INGLIS, P. W., CASTRO, M. E. B. *Pseudoplusia includens* single nucleopolyhedrovirus: Genetic diversity, phylogeny and hypervariability of the pif-2 gene. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 114, p. 258-267, 2013.

CRAVEIRO, S R. "Genoma e diversidade genética de populações de *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV)." (2017). Tese (Doutorado em Biologia Molecular) Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal.

CROPLIFE; Produtos transgênicos aprovados no Brasil pela CTNBio. 2019. Disponível em: <<http://croplifebrasil.org/publicacoes/produtostransgenicos-aprovados-no-brasil-pela-ctnbio/>>. Acesso em: 27 jan. 2024.

CORY, J.S., CLARKE, E.E., BROWN, M.L., HAILS, R.S. and O'REILLY, D.R. Microparasite manipulation of an insect: the influence of the *egt* gene on the interaction between a baculovirus and its lepidopteran host. **Functional Ecology**, 18: 443-450 (2004). <https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00853.x>

CUARTAS-OTÁLORA, P. E., GÓMEZ-VALDERRAMA, J. A., RAMOS, A. E., BARRERA-CUBILLOS, G. P., & VILLAMIZAR-RIVERO, L. F. (2019). Bio-insecticidal potential of nucleopolyhedrovirus and granulovirus mixtures to control the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). **Viruses**, 11(8), 684.

DACHEUX, L., CERVANTES-GONZALEZ, M., GUIGON, G., THIBERGE, J.-M., VANDENBOGAERT, M., MAUFRAIS, C., CARO, V., BOURRHY, H., & TSE, H. A preliminary study of viral metagenomics of French bat species in contact with humans: Identification of new mammalian viruses. **PLoS One**, 9(1), e87194 (2014). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087194>.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Dados econômicos - Portal Embrapa. Soja em números (safra 2018/19). 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 20 de jan de 2024.

FALCON, L.A., HESS, R.T., Electron microscope observations of multiple occluded virions in the granulosus virus of the codling moth, *Cydia pomonella*. **Journal of Invertebrate Pathology**. 1985;45:356–359, 1985.

FEDERICI BA. Ultrastructure of baculoviruses, p 61-88. In Granados RR, Federici BA (ed), **The biology of baculoviruses**, vol I, 1986. CRC Press, Boca Raton.

FERNANDES, A. M., MELLO, A. F. S., MOURA, A. P. de, LOPES, C. A., ECHER, F. R., SANTOS, F. H. C. dos, AMARO, G. B., SILVA, G. O. da, GUEDES, I. M. R., PINHEIRO, J. B., GUIMARAES, J. A., SILVA, J. da, VENDRAME, L. P. de C., PILON, L., JORGE, M. H. A., BRAGA, M. B., MELO, R. A. de C. e, PEREIRA, R. B. (2021). Sistema de produção de batata-doce. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1155447>>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

FIGUEIRÓ, R. (Org.). Saúde & ambiente: da educação ambiental à ecologia de doenças. **Volta Redonda: UniFOA**, 2012.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology. Stanford**, v. 34, p. 17– 52, 1989.

FRANCHILI, J. C., da COSTA J. M., and DEBIASE H. "Rotação de culturas: prática que confere maior sustentabilidade à produção agrícola no Paraná." **Piracicaba: International Plant Nutrition Institute-Brasil** 1-13, (2011).

FÜHR, F. M., PRETTO V. E., N. GODOY D. N., GARLET, C. G., HETTWER, B. L., MARÇON, P., HOLLY, J. R., POPHAM, H., J., R., and BERNARDI, O. "Lethal and sublethal effects of *Chrysodeixis includens* nucleopolyhedrovirus (ChinNPV)-based biopesticide infecting different larval ages of soybean looper." **Biocontrol Science and Technology** 31.6 (2021): 619-631.

GAIA, A. S. C. Ferramenta baseada em cuckoo filter para remoção de redundância em dados de sequenciadores de segunda geração (NGS-next generation sequencing). (2019). Dissertação

(Mestrado em Computação Aplicada) Programa de Pós-Graduação em Computação Aplicada, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará.

GE, JQ., WANG, ZH., CHEN, X., CHEN, H., HUANG, J. Bombyx mori Nucleopolyhedrovirus p26 Is Associated with Viral Late Stage Replication. **Insects**. 6;12(8):707, Aug (2021). doi: 10.3390/insects12080707. PMID: 34442273; PMCID: PMC8396461.

GELAYE, Y., & NEGASH, B. (2023). The role of baculoviruses in controlling insect pests: A review. **Cogent Food & Agriculture**, 9(1), 2254139.

GENEIOUS version 10.0 created by Biomatters. Available from <http://www.geneious.com>

GODOY, D. N., FÜHR, F. M., STACKE, R. F., MURARO, D. S., MARÇON, P., POPHAM, H. J., & BERNARDI, O. "No cross-resistance between ChinNPV and chemical insecticides in *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)." **Journal of invertebrate pathology** 164 (2019): 66-68.

GOATER, B., RONKAY, L., FIBIGER, M. Noctuidae Europaeae. Catocalinae, Plusiinae, vol. 10. **Entomological Press**, Sorø (2003). CROPLIFE; Produtos transgênicos aprovados no Brasil pela CTNBio. 2019. Disponível em:. Acesso em: 27 jan. 2024.

HANLON, S. M.; RELYEA, R. Sublethal effects of pesticides on predator-prey interactions in amphibians. **Copeia**, v. 4, p. 691-698, 2013. DOI: 10.1643/CE-13-019.

HARRISON, R. L.; HERNIOU, E. A.; JEHLE, J. A.; THEILMANN, D. A.; BURAND, J. P.; BECNEL, J. J.; KRELL, P. J. M.; OERS, M. van; MOWERY, J. D.; BAUCHAN, G. R. ICTV virus taxonomy profile: *Baculoviridae*. **Journal of General Virology**, v. 99, p. 1185-1186 (2018)

HARRISON, R. L., MOWERY, J. D., BAUCHAN, G. R., THEILMANN, D. A., & ERLANDSON, M. A. (2019). The complete genome sequence of a second alphabaculovirus from the true armyworm, *Mythimna unipuncta*: Implications for baculovirus phylogeny and host specificity. **Virus Genes**, 55(1), 104-116.

HARRISON, R. L.; ROWLEY, D. L.; POPHAM, H. JR. A novel alphabaculovirus from the soybean looper, *Chrysodeixis includens*, that produces tetrahedral occlusion bodies and encodes two copies of he65. **Viruses**, v. 11, n. 7, p. 579, (2019).

HODGSON, D. J., VANBERGEN, A. J., WATT, A. D., HAILS, R. S., & CORY, J. S. Phenotypic variation between naturally co-existing genotypes of a lepidopteran baculovirus. **Evolutionary Ecology Research**, 3(6), 687-701, (2001).

HOFFMANN-CAMPO, C. B., MOSCARDI, F., CORRÊA-FERREIRA, B. S., OLIVEIRA, L. J., SOSA-GÓMEZ, D. R., PANIZZI, A. R., CORSO, I. C., GAZZONI, D. L., & OLIVEIRA, E. D. (2000). **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado** (Vol. 30). Londrina: Embrapa Soja.

HUANG, Y., ZHANG, L. Rapid and sensitive dot-matrix methods for genome analysis. **Bioinformatics** 20(4): 460-466, (2004).

JEHLE, J. A., BLISSARD, G. W., BONNING, B. C., CORY, J. S., HERNIOU, E. A., ROHRMANN, G. F., THEILMANN, D. A., THIEM, S. M., VLAK, J. M. On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. **Archives of Virology**, v. 151, n. 7, p. 1257-1266, May 2006.

KANG, W., KURIHARA, M., & MATSUMOTO, S. The BRO proteins of Bombyx mori nucleopolyhedrovirus are nucleocytoplasmic shuttling proteins that utilize the CRM1-mediated nuclear export pathway. **Virology**, 350(1), 184-191, (2006).

KAMITA, SG., NAGASAKA, K., CHUA, JW., SHIMADA, T., MITA, K., KOBAYASHI, M., MAEDA, S., HAMMOCK, BD. A baculovirus-encoded protein tyrosine phosphatase gene induces enhanced locomotory activity in a lepidopteran host. **Proceedings of the National Academy of Sciences U S A.**;102(7):2584-9. doi: 10.1073/pnas.0409457102. Feb (2005). PMID: 15699333; PMCID: PMC548987.

KELLY, B.J., KING, L.A., POSSEE, R.D. (2007). Introduction to Baculovirus Molecular Biology. In: Murhammer, D.W. (eds) Baculovirus and Insect Cell Expression Protocols. **Methods in Molecular Biology™**, vol 388. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-457-5_2

KREJMER-RABALSKA, M., RABALSKI, L., KOSINSKI, M., SKRZECZ, I., ZIEMNICKA, J., & SZEWCZK, B. (2024). Leucoma salicis nucleopolyhedrovirus (LesaNPV) genome sequence shed new light on the origin of the Alphabaculovirus orpseudotsugatae species. **Virus Genes**, 60(3), 275-286.

KUZIO, J., PEARSON, M. N., HARWOOD, S. H., FUNK, C. J., EVANS, J. T., SLAVICEK, J. M., & ROHRMANN, G. F. (1999). Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for Lymantria dispar. **Virology**, 253(1), 17-34.

LEVIN, G. Controle de pragas agrícolas. Bayer, 2022. Disponível em: <<https://www.bayer.com.br/pt/blog/controle-de-pragas-agricolas#:~:text=No%20Brasil%2C%20a%20perda%20anual,17%2C7%20bilh%C3%B5es%20de%20d%C3%B3lares>>. Acesso em: 11 de jan. de 2024.

LIU, K., LINDER, C. R., WARNOW, T. RAxML and FastTree: comparing two methods for large-scale maximum likelihood phylogeny estimation. **PloS one**, v. 6, n. 11, p. e27731, (2011).

LOPEZ-LASTRA, C. C., BOUCIAS, D. G. Studies on the cellular reactions of *S. exigua* larvae infected with the fungus *N. rileyi*. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 63, n. 1, p. 101-102, Jan. 1994.

LOPES, C. V., and ALBUQUERQUE, G. S. C. "Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática." **Saúde em debate** 42 (2018): 518-534.

MACIEL, R. M. A., AMARO, J. T., COLOMBO, F. C., NEVES, P. M. O. J., & DE FREITAS BUENO, A. (2021). Mixture compatibility of ChinNPV baculovirus with herbicides and fungicides used in soybean. **Semina: Ciências Agrárias**, 42(5), 2629-2638.

MAPA; Produtos Fitossanitários com uso Aprovado para a Agricultura Orgânica Registrados. 2022. Disponível em: < <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/produtos-fitossanitarios/ProdutosFitossanitarioscomusoAprovadoparaaAgriculturaOrgnicaRegistradosatualizadoem31052022.pdf>>. Acesso em: 27 jan. 2025

MARTINS, G. L. M., and TOMQUELSKI, G. V. "Eficiência de inseticidas no controle de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja." **Revista de Agricultura Neotropical** 2.4 (2015): 25-30.

MARUNIAK, I. E. Baculovirus proteins and protein synthesis. In **"The Biology of Baculoviruses: Biological Properties and Molecular Biology"** (R.R. Granados and B.A. Federici, Eds.) Vol. 1, pp. 129-146 (1986). CRC Press, Boca Raton, FL

MESQUITA, E., HU, S., LIMA, T. B., GOLO, P. S., & BIDOCHKA, M. J. Utilization of *Metarhizium* as an insect biocontrol agent and a plant bioinoculant with special reference to Brazil. **Frontiers in Fungal Biology**, 4, (2023).

MEYER, M. C., de FREITAS BUENO, A., MAZARO, S. M., & da SILVA, J. C. Bioinsumos na cultura da soja. **Embrapa Soja** (2022).

MILLER, L. K., ed. The baculoviruses. **Springer Science & Business Media**, 1997.

MORALES, L., and MOSCARDI, F. "Comparação entre duas metodologias de bioensaios para vírus entomopatogênicos." **Anais-sociedade Entomológica de Entomologia do Brasil**. 22 (1993): 535-535.

MORISHITA, F.S., JEFFERSON, R.N., BESEMER, S.T., HUMPHREY, W.A. *Pseudoplusia includens* - A pest of floricultural crops in Southern California. **Journal of Economic Entomology**, v. 60, p. 1758, (1967).

MOSCARDI, F., BUENO, A. F., SOSA-GOMEZ D. R., ROGGIA S., HOFFMANN-CAMPOS C.B., POMARI, A. F., CORSO, I. C., Yano, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja (Eds.), Artrópodes que atacam as folhas da soja. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**, Embrapa, Brasília, pp. 211-334, (2012).

MOSCARDI, F., & SOSA-GÓMEZ, D. R. (1993). A case study in biological control: soybean defoliating caterpillars in Brazil. **International Crop Science I**, 115-119.

MOSCARDI, F., de SOUZA, M. L., De CASTRO, M. E. B., LARA MOSCARDI, M., & SZEWCZYK, B. (2011). Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In **Microbes and microbial technology: Agricultural and environmental applications** (pp. 415-445). New York, NY: Springer New York.

do NASCIMENTO F. P., KUNO R., LEMES V. R. R., KUSSUMI T. A., NAKANO V. E., ROCHA S. B., de OLIVEIRA M. C. C., de ALBUQUERQUE K. I., GOUVEIA N. Organochlorine pesticides levels and associated factors in a group of blood donors in São Paulo, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**. 2017 Aug;189(8):380. doi: 10.1007/s10661-017-6072-6. Epub 2017 Jul 6. PMID: 28685370.

van OERS M. M., HARRISON R. L., ABD ALLAH A. M. M. (2022) Binominal naming system for virus species in the order Lefavirales (Families Baculoviridae, Nudiviridae and Hytrosaviridae) https://ictv.global/ictv/proposals/2022.003D.Lefavirales_106rensp.zip

van OERS, M. M., HERNIOU, E. A., JEHL, J. A., KRELL, P. J., ABD-ALLA, A. M. M., RIBEIRO, B. M., THEILMANN, D. A., HU, Z., HARRISON, R. L. Developments in the classification and nomenclature of arthropod-infecting large DNA viruses that contain pif genes. **Archives of Virology**, v. 168, p. 182, (2023).

OLIVEIRA, C. M., AUAD, A. M., MENDES, S. M., FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Prot.** 56, 50–54, 2014.

OLIVEIRA, T. A. D., SANTOS, J. B. D., CAMELO, G. N., BOTELHO, R. G., & LÁZARI, T. M. D. Effect of sequential nicosulfuron and chlorpyrifos application on seed bank and soil microbial characteristics. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 33, 563-570, (2009)..

OLIVEIRA, J. V. D. C., WOLFF, J. L. C., GARCIA-MARUNIAK, A., RIBEIRO, B. M., de CASTRO, M. E. B., de SOUZA, M. L., MARUNIAK J. E., & ZANOTTO, P. M. D. A. (2006). Genome of the most widely used viral biopesticide: *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus. **Journal of General Virology**, 87(11), 3233-3250.

ONGARATTO, S., BALDIN, E. L., HUNT, T. E., MONTEZANO, D. G., ROBINSON, E. A., & DOS SANTOS, M. C. Effects of intraguild interactions on *Anticarsia gemmatilis* and *Chrysodeixis includens* larval fitness and behavior in soybean. **Pest Management Science**, 77(6), 2939-2947 (2021)..

de QUEIROZ S., SIQUEIRA, R. **Virologia Humana e Veterinária**. Thieme Revinter Publicações LTDA, 2018.

PARRA, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Editora Manole Ltda, 2002.

PEREIRA, R. R. CONTROLE BIOLÓGICO NATURAL DE *Chrysodeixis includens*. (2017). 59 f. Tese (Doutorado em Entomologia). Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

PERINI, C. R., ARNEMANN J. N., CAVALLIN1, L.A., GUEDES, G. A., MARQUES, R. P., VALMORBIDA, I., da SILVA, K., FELTRIN, N. M., PUNTEL, L., FROEHLICH, R., GUEDES, J. V. C. "Challenges in chemical management of soybean looper ('*Chrysodeixis includes*') using several insecticides." **Australian Journal of Crop Science** 13.10 (2019).

PETERSON, A. Egg types among moths of the Noctuidae. **Florida Entomologist**, v. 47, p. 71-100, 1964.

PINHEIRO, J. N. FREITAS, B. M. Efeitos letais dos pesticidas agrícolas sobre polinizadores e perspectivas de manejo para os agroecossistemas brasileiros. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 1, p. 266-281, mar. 2010. DOI: 10.4257/oeco.2010.1401.16.

RAJ, M. N., SAMAL, I., PASCHAPUR, A., & SUBBANNA, A. Entomopathogenic viruses and their potential role in sustainable pest management. In **New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering** (pp. 47–72). Elsevier (2022). <https://doi.org/10.16/B978-0-323-85579-2.00015-0>.

ROBERT, F., PELLETIER, J., Exploring the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Translation. **Front Genet.** 30;9:507, Oct (2018). doi: 10.3389/fgene.2018.00507. PMID: 30425729; PMCID: PMC6218417.

ROHRMANN, G.F. Baculovirus Molecular Biology, 4th ed. **National Center for Biotechnology Information (US)**: Bethesda, MD, USA, (2019).

SALLES, J. F., and J. I. Baldani. *Bacillus thuringiensis* como agente de controle biológico. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/624264/1/doc054.pdf>>. (Documento 54). Acesso 03 de fev de 2024

SANCHES, M. M, SIHLER W., GOMES, A. N. M., BENITO, N. P., SOSA-GÓMEZ, D. R., SILVA, C. E. P., FERREIRA, M. B. C., GOMES, S. D., SOUZA, M. L. de "Avaliação de co-infecção de *Anticarsia gemmatilis* MNPV e *Chrysodeixis includens* NPV em cultura de células de inseto." In **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, p 19, 333 Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (2018).

SÁNCHEZ, I. J., & RUIZ, B. H. (1996). A single nucleotide change in the E protein gene of dengue virus 2 Mexican strain affects neurovirulence in mice. **Journal of general virology**, 77(10), 2541-2545.

SANTOS, N. C. "Bioatividade de óleos essenciais de *Croton grewioides* e seus compostos majoritários: toxicidade sobre *Chrysodeixis includens* e seletividade sobre o predador *Podisus nigrispinus*." (2022). 48 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Biodiversidade) Pós-Graduação em Agricultura e Biodiversidade, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe.

SANTOS, E. R. D. "Genômica de um baculovírus isolado da lagarta praga de leguminosas *Urbanus proteus* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Hesperíidae)". (2018). Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, Universidade de Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

SAVANACHI, Eduardo. Estudo desvenda vassoura-de-bruxa, que quase destruiu a produção de cacau no Brasil. *Revistafruta*, 2021. Disponível em: <<https://www.revistadafruta.com.br/noticias-do-pomar/estudo-desvenda-vassoura-de-bruxa-que-quase-destruiu-a-producao-de-cacau-no-brasil,401147.jhtml#:~:text=A%20doen%C3%A7a%20propagou%2Dse%20pelo,mil%20ton%20nos%20anos%202000&text=Pesquisa%20traz%20novas%20e%20importantes,causado%20pelo%20fungo%20Moniliophthora%20perniciosa>>. Acesso em: 11 de jan de 2024.

SIHLER, W., SANCHES, M. M., FALCAO, R., FAZOLIN, M., ESTRELA, J. L. V., de SOUZA M. L., e CENARGEN. Caracterização De *Erinnyis Ello* Granulovirus Isolado De

Populações De Mandarova Da Mandioca Em Cruzeiro Do Sul, Acre. In **Sidalc** (2014). Disponível em: <https://www.sidalc.net/search/Record/dig-alice-doc-1006702/Description>.

SILVA, G.V. “Efeito de plantas Bt de soja e milho sobre pragas não-alvo e seus inimigos naturais”. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.

SIMMONDS, P., ADAMS, M. J., BENKO, M., BREITBART, M., BRISTER, J. R. Consensus statement: virus taxonomy in the age of metagenomics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, p. 161-168, (2017). DOI: 10.1038/nrmicro.2016.177

SIMONATO, J., GRIGOLLI, J. F. J., OLIVEIRA, H. N. de. Controle biológico de insetos praga na soja. In: LOURENÇÃO, A. L. F., GRIGOLLI, J. F. J., MELOTTO, A. M.; PITOL, C., GITTI, D. de C.; ROSCOE, R. **Tecnologia e produção: Soja 2013/2014**. Maracaju: Fundação MS, 2014. p. 178-193. cap. 8.

SHIH, P. C., & TSAI, T. H. Methemoglobinemia following ingestion of Indoxacarb: A case report. **Journal of Acute Medicine**, 1(2), 55-57, (2011).

SHRESTHA, A., BAO, K., CHEN, Y., CHEN, W., WANG, P., FEI, Z., BLISSARD, GW. Global Analysis of Baculovirus Autographa californica Multiple Nucleopolyhedrovirus Gene Expression in the Midgut of the Lepidopteran Host Trichoplusia ni. **Journal of Virology** 92:10.1128/jvi.01277-18, (2018).

SOARES, J. R. S., da SILVA, R. S., RAMOS, R. S., & PISCANÇO, M. C. Distribution and invasion risk assessments of *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidoptera: Noctuidae) using CLIMEX. **International journal of biometeorology**, 65, 1137-1149, (2021).

SOARES, W. Silva. "Ação de diferentes grupos químicos de inseticidas sobre o desenvolvimento embrionário, emergência de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbot, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seletividade à Vespidae predadores." (2018). 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia), Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais. DOI <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.733>.

SOSA-GÓMEZ, D.R. 2006. Seletividade de agroquímicos para fungos entomopatogênicos. <http://cnpso.embrapa.br/download/artigos/seletiv_fung.pdf>. Acesso: 10 de dez. 2024

SÓSA-GOMEZ, D. R., ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P., and RIBEIRO, B. M. "Manejo de pragas com vírus entomopatogênicos." (2022).

SÓSA-GÓMEZ, D. R., CORRÊA-FERREIRA, B. S., HOFFMANN-CAMPO, C. B., CORSO, I. C., OLIVEIRA, L. J., MOSCARDI, F., PANIZZI, A. R., BUENO, A. de F., HIROSE, E. Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja. Londrina: Embrapa-CNPSo, (2010). 90 p. (Embrapa – CNPSo. Documentos, 269).

SOUZA, M. L. de., SIHLER, W., SANCHES, M. M., SCHMIDT, F. G. V., BENITO, N. P., SILVA, M. L. da, FARIA, M. R. de, LOPES, R. B. Ocorrência de baculovírus em larvas de *Chrysodeixis includens* em cultivo de soja na região do Cerrado. Brasília, DF: Embrapa

Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2016. 19 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 313)

SOSA-GÓMEZ, D. R., SPECHT, A., MURÚA, M. G., & ANDRADE, C. G. T. D. J. (2024). External microstructure of eggs from major owlet moth pests (Lepidoptera: Noctuoidea) associated with Brazilian soybean crops. **Revista Brasileira de Entomologia**, 68(4), e20240079.

SPECHT, A., de PAULA-MORAES, S. V., & SOSA-GÓMEZ, D. R. Host plants of *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera, Noctuidae, Plusiinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, 59(4), 343-345 (2015).

STABACK, D., BLANCK, P. L., MARIUSSI, V., & GALANTE, V. A. (2020). Uso do MIP como estratégia de redução de custos na produção de soja no estado do Paraná. **Revista Americana de Empreendedorismo e Inovação**, 2(1), 187-200.

STACKE, R. F., GODOY, D. N., PRETTO, V. E., FÜHR, F. M., GUBIANI, P. S., HETTWER, B. L., GARLET, S. G., SOMAVILLA, J. C., MURARO, D. S., BERNARDI, O. "Field-evolved resistance to chitin synthesis inhibitor insecticides by soybean looper, *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae), in Brazil." **Chemosphere** (2020): 127499. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127499>

SZEWCZYK, B., HOYOS-CARVAJAL, L., PALUSZEK, M., SKRZECZ, I., & De SOUZA, M. L. (2006). Baculoviruses re-emerging biopesticides. **Biotechnology advances**, 24(2), 143-160.

THEZE, J., CABODEVILLA, O., PALMA, L., WILLIAMS, T., CABALLERO, P., & HERNIOU, E. A. Genomic diversity in European *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus isolates. **Journal of General Virology**, 95(10), 2297-2309, (2014).

THOMAZINI, M. J. "A Comunicação Química entre os Insetos: Obtenção e Utilização de Feromônios no", Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia, p. 338–354, (2009).

TSAI, C. H., WEI, S. C., LO, H. R., CHAO, Y. C. Baculovirus as versatile vectors for protein display and biotechnological applications. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 34, n. 1, p. 231-256, (2019).

USDA. United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. Soybean 2022 World Production. Disponível em: <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2222000&sel_year=2022&rankby=Production>. Acesso: 17 de jan de 2024

VALERDI, KM., HAGE, A., VAN TOL, S., RAJSBAUM, R., GIRALDO, MI. The Role of the Host Ubiquitin System in Promoting Replication of Emergent Viruses. **Viruses**. 2021 Feb 26;13(3):369. doi: 10.3390/v13030369. PMID: 33652634; PMCID: PMC7996891 (2011).

VAN OERS, M. M., HERNIOU, E. A., USMANY, M., MESSELINK, G. J., & VLAK, J. M. Identification and characterization of a DNA photolyase-containing baculovirus from *Chrysodeixis chalcites*. **Virology**, 330(2), 460-470, (2004).

VAN OERS, M. M., LAMPEN, M. H., BAJEK, M. I., VLAK, J. M., & EKER, A. P. Active DNA photolyase encoded by a baculovirus from the insect *Chrysodeixis chalcites*. **DNA repair**, 7(8), 1309-1318, (2008).

VENDAS externas do agronegócio somam US\$ 96,8 bilhões em 2019: milho, carnes e algodão foram destaque nas exportações. Comércio internacional. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/agricultura-e-pecuaria/2020/01/vendas-externas-do-agronegocio-somam-us-96-8-bilhoes-em-2019#:~:text=Em%202018%2C%20a%20participa%C3%A7%C3%A3o%20do,43%2C25%20milh%C3%B5es%20de%20toneladas>. Acesso em: 11 jan. 2024.

WANG, L., QU, Z., XU, Y., YU, G., LIU, X., WANG, M., AN, S., YIN, X Y., NA, R., & HAO, Y. Insecticide chlorfenapyr confers induced toxicity in human cells through mitochondria-dependent pathways of apoptosis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 289, 117502, (2025).

WILLE, P. E., “SUBSÍDIOS PARA O MANEJO INTEGRADO DE *Chrysodeixis includens* (WALKER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM SOJA PARA AS REGIÕES DO PLANALTO SUL E MEIO OESTE DE SANTA CATARINA”. (2016). Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Pós-Graduação em m Produção Vegetal, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina.

YORINORI, J.T. e LAZZAROTTO, J.J. Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul. **Documentos** 236. Londrina: Embrapa Soja, 2004, 27p.

ZERBINI, F. M., SIDDELL, S. G., LEFKOWITZ, E. J., MUSHEGIAN, A. R., ADRIAENSSENS, E. M., ALFENAS-ZERBINI, P., DEMPSEY, D. M., DUTILH, B. E., GARCÍA M. L., HENDRICKSON, R. C., JUNGLEN, S., KRUPOVIC, M., KUHN, J. H., LAMBERT, A. J., ŁOBOCKA, M., OKSANEN, H. M., ROBERTSON, D. L., RUBINO, L., SABANADZOVIC, S., SIMMONDS, P., SMITH, D. B., SUZUKI, N., van DOORSLAER, K., VANDAMME, A. M., & VARSANI, A. (2023). Changes to virus taxonomy and the ICTV Statutes ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2023). **Archives of virology**, 168(7), 175.

ZHOU, J.-B., LI, X.-Q., DE-EKNAMKUL, W., SURAPORN, S., XU, J.-P. Identification of a new *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus and analysis of its bro gene family. **Virus Genes** 44(3): 539-547, (2012).

APÊNDICE SUPLEMENTAR A - Tabela 1. Dieta sólida de *C. includens*

Ingredientes	Quantidade para uma receita (g/ml)
Feijão Branco	125 g
Levedo de cerveja	62,4 g
Gérmen de trigo	100 g
Ágar	63 g
Proteína de soja	100 g
Leite em pó	150 g
Água destilada	1900 ml
Após autoclavar	
Ácido ascórbico	6 g
Ácido sórbico	3 g
Nipagin	5 g
Formol 40%	6 ml
solução vitamínica	10 ml
HCl	10 ml

APÊNDICE SUPLEMENTAR B - Tabela 2. Composição da solução vitamínica

Composto	Quantidade
Niacinamida	1,00 g
Pantotenato de Cálcio	1,00 g
Riboflavina	0,50 g
Tiamina	0,25 g
Piridoxina	0,25 g

Ácido Fólico	0,10 g
Biotina	0,02 g
Vitamina B12 (1000 mg/ml)	2,00 ml
Água	1000,00 ml

APÊNDICE SUPLEMENTAR C - Tabela 3. Dieta líquida de *Chrysodeixis includens*

Ingrediente	Quantidade para uma receita (g/ml)
Ácido ascórbico	1,05 g
Nipagin	1,05 g
Mel	20 g
Açúcar	50 g
1 lata de cerveja	350 ml
Água (completar até chegar 1L)	650 ml

APÊNDICE SUPLEMENTAR D - Tabela 4. Características dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) entre os isolados Tabatinga e CNPSo68 dentro de ORFs.

Nome	Mudança	Códon	Tipo de SNPs	Mudança de Aminoácido	Efeito	
polyhedrin						
G	A -> G	GAA -> GAG	SNP (transition)	R -> K	Nenhum	
A	G -> A	AGG -> AAG	SNP (transition)		Substituição	
T	G -> T	CTG -> CTT	SNP (transversion)		Nenhum	
viral capsid associated protein						
C	T -> C	AAT -> GAT	SNP (transition)	N -> D	Substituição	
C	T -> C	CCA -> CCG	SNP (transition)	V -> I	Nenhum	
T	C -> T	GTA -> ATA	SNP (transition)		Substituição	
pk-1						
A	G -> A	GTG -> GTA	SNP (transition)		Nenhum	
T	C -> T	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum	
T	C -> T	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum	
G	A -> G	TTA -> TTG	SNP (transition)		Nenhum	
C	T -> C	TTA -> CTA	SNP (transition)		Nenhum	
A	T -> A	ATT -> ATA	SNP (transversion)		Nenhum	
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum	
T	C -> T	GAC -> GAT	SNP (transition)		Nenhum	
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum	
T	C -> T	CTA -> TTA	SNP (transition)		Nenhum	
C	T -> C	AGT -> AGC	SNP (transition)		Nenhum	
C	G -> C	GTG -> GTC	SNP (transversion)		Nenhum	
hoar*						
A	G -> A	CCA -> CTA	SNP (transition)	P -> L	Substituição	
T	G -> T	GCA -> GAA	SNP (transversion)	A -> E	Substituição	
A	G -> A	CCT -> TCT	SNP (transition)	P -> S	Substituição	
G	A -> G	ATA -> ACA	SNP (transition)	I -> T	Substituição	
T	C -> T	CCG -> CCA	SNP (transition)		Nenhum	
C	T -> C	CCA -> CCG	SNP (transition)		Nenhum	
A	G -> A	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum	
ORF5*						
T	C -> T	GAT -> AAT	SNP (transition)	D -> N	Substituição	
C	T -> C	AAG -> AGG	SNP (transition)	K -> R	Substituição	
T	C -> T	CCG -> CCA	SNP (transition)	D -> A	Nenhum	
G	T -> G	GAT -> GCT	SNP (transversion)		Substituição	
T	C -> T	GGT -> GAT	SNP (transition)		G -> D	Substituição
T	C -> T	GGT -> GAT	SNP (transition)		G -> D	Substituição
T	C -> T	GGT -> GAT	SNP (transition)		G -> D	Substituição
ORF6*						
C	T -> C	CTA -> CCA	SNP (transition)	L -> P	Substituição	
G	A -> G	CTA -> CTG	SNP (transition)	I -> T	Nenhum	
C	T -> C	ATA -> ACA	SNP (transition)		Substituição	

T	C -> T	CTA -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
ORF7					
A	G -> A	ATG -> ATA	SNP (transition)	M -> I	Substituição
A	G -> A	GAA -> AAA	SNP (transition)	E -> K	Substituição
A	T -> A	CCT -> CCA	SNP (transversion)		Nenhum
C	G -> C	GCT -> CCT	SNP (transversion)	A -> P	Substituição
C	G -> C	GCT -> CCT	SNP (transversion)	A -> P	Substituição
A	C -> A	CCA -> ACA	SNP (transversion)	P -> T	Substituição
odv-e66					
G	A -> G	ATA -> ATG	SNP (transition)	I -> M	Substituição
G	A -> G	TTA -> TTG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GGA -> GGG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
G	C -> G	GTC -> GTG	SNP (transversion)		Nenhum
T	C -> T	TAC -> TAT	SNP (transition)		Nenhum
me53					
G	T -> G	ATA -> ATC	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CAG -> CAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CAC -> CAT	SNP (transition)		Nenhum
T	G -> T	GCC -> GCA	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	AAA -> AGA	SNP (transition)	K -> R	Substituição
exon0/ie-0					
G	C -> G	TCT -> TGT	SNP (transversion)	S -> C	Substituição
T	G -> T	GTG -> GTT	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TGT -> TAT	SNP (transition)	C -> Y	Substituição
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
p49					
C	T -> C	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	CCA -> CCG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	CCA -> CCG	SNP (transition)		Nenhum
odv-e27					
T	C -> T	CTA -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	ACC -> ACT	SNP (transition)		Nenhum
ORF15					
T	G -> T	ACT -> AAT	SNP (transversion)	T -> N	Substituição
T	C -> T	CCG -> CCA	SNP (transition)		Nenhum
ie-1					
G	A -> G	AAT -> AGT	SNP (transition)	N -> S	Substituição

G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
T	A -> T	AAG -> ATG	SNP (transversion)	K -> M	Substituição
p74					
T	A -> T	TTA -> TTT	SNP (transversion)	L -> F	Substituição
C	G -> C	GAA -> CAA	SNP (transversion)	E -> Q	Substituição
A	C -> A	GAC -> GAA	SNP (transversion)	D -> E	Substituição
T	G -> T	CCG -> CCT	SNP (transversion)		Nenhum
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TAT -> TAC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	AGT -> AGC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	ACC -> ATC	SNP (transition)	T -> I	Substituição
C	T -> C	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	ATG -> AAG	SNP (transversion)	M -> K	Substituição
p26a					
C	A -> C	TTT -> TTG	SNP (transversion)	F -> L	Substituição
T	C -> T	CCG -> CCA	SNP (transition)		Nenhum
TAT	CAC -> TAT	GTG -> ATA	Substituição	V -> I	Substituição
G	A -> G	ACT -> ACC	SNP (transition)		Nenhum
G	C -> G	TCG -> TCC	SNP (transversion)		Nenhum
ORF20					
T	C -> T	TCT -> TTT	SNP (transition)	S -> F	Substituição
A	C -> A	ACC -> ACA	SNP (transversion)		Nenhum
A	G -> A	TCG -> TCA	SNP (transition)		Nenhum
lef-6					
C	T -> C	CAA -> CGA	SNP (transition)	Q -> R	Substituição
C	T -> C	AAA -> AGA	SNP (transition)	K -> R	Substituição
dbp					
A	C -> A	CTG -> CTT	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	CTA -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GAG -> GAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CCC -> CCT	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	CAA -> CAG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	CTA -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
C	G -> C	ACC -> AGC	SNP (transversion)	T -> S	Substituição
A	G -> A	GCC -> GCT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
ORF24					
A	G -> A	AGA -> AAA	SNP (transition)	R -> K	Substituição
A	G -> A	TAG -> TAA	SNP (transition)		Nenhum
ORF25					

G	A -> G	TTA -> TTG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
ORF26					
GG	AA -> GG	GCT,TTG -> GCC,CTG	Substituição		Nenhum
ORF27+					
C	T -> C	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
39k					
G	A -> G	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
lef-11					
A	C -> A	TGT -> TTT	SNP (transversion)	C -> F	Substituição
A	C -> A	CTG -> CTT	SNP (transversion)		Nenhum
ORF31					
T	A -> T	TTG -> ATG	SNP (transversion)	L -> M	Substituição
bro-a					
T	A -> T	GGA -> GGT	SNP (transversion)		Nenhum
T	A -> T	AAA -> AAT	SNP (transversion)	K -> N	Substituição
C	A -> C	GAA -> GAC	SNP (transversion)	E -> D	Substituição
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	GGT -> GGA	SNP (transversion)		Nenhum
T	C -> T		SNP (transition)		Truncation
A	G -> A	TGT -> TAT	SNP (transition)	C -> Y	Substituição
A	T -> A	TCA -> ACA	SNP (transversion)	S -> T	Substituição
G	A -> G	AAA -> AGA	SNP (transition)	K -> R	Substituição
A	T -> A	TAT -> AAT	SNP (transversion)	Y -> N	Substituição
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GTC -> ATC	SNP (transition)	V -> I	Substituição
C	T -> C	GTC -> GCC	SNP (transition)	V -> A	Substituição
C	T -> C	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CCG -> CCA	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GAG -> GGG	SNP (transition)	E -> G	Substituição
G	A -> G		SNP (transition)		Extension
C	T -> C	ATG -> ACG	SNP (transition)	M -> T	Substituição
C	T -> C	TTA -> TCA	SNP (transition)	L -> S	Substituição
C	T -> C	GTT -> GTC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	ACC -> ATC	SNP (transition)	T -> I	Substituição
T	A -> T	CAA -> CAT	SNP (transversion)	Q -> H	Substituição
C	G -> C	GCG -> CCG	SNP (transversion)	A -> P	Substituição
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GAT -> AAT	SNP (transition)	D -> N	Substituição
C	G -> C	GCG -> GCC	SNP (transversion)		Nenhum
C	G -> C	GGC -> CGC	SNP (transversion)	G -> R	Substituição
C	A -> C	GCA -> GCC	SNP (transversion)		Nenhum
C	A -> C	AAA -> CAA	SNP (transversion)	K -> Q	Substituição
C	A -> C	AGG -> CGG	SNP (transversion)		Nenhum
C	A -> C	GAG -> GCG	SNP (transversion)	E -> A	Substituição

T	C -> T	CGC -> CGT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CAC -> TAC	SNP (transition)	H -> Y	Substituição
G	A -> G	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> GAA	SNP (transition)	K -> E	Substituição
G	A -> G	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TTC -> TCC	SNP (transition)	F -> S	Substituição
T	C -> T	GTG -> ATG	SNP (transition)	V -> M	Substituição
C	T -> C	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
G	C -> G	TCG -> TCC	SNP (transversion)		Nenhum
G	T -> G	CGA -> CGC	SNP (transversion)		Nenhum
G	A -> G	AAT -> AGT	SNP (transition)	N -> S	Substituição
T	G -> T	TCG -> TCT	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	TTC -> CTC	SNP (transition)	F -> L	Substituição
A	T -> A	CGT -> CGA	SNP (transversion)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GGC -> GGT	SNP (transition)		Nenhum

lef-8

G	A -> G	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GGC -> GGT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CAT -> TAT	SNP (transition)	H -> Y	Substituição
G	A -> G	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AGT -> AGC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GGC -> GGT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CTG -> CTA	SNP (transition)		Nenhum
G	C -> G	GTG -> GTC	SNP (transversion)		Nenhum

bjdp

G	A -> G	CGA -> CGG	SNP (transition)		Nenhum
A	C -> A	CAT -> AAT	SNP (transversion)	H -> N	Substituição

iap3

A	T -> A	ACT -> TCT	SNP (transversion)	T -> S	Substituição
G	A -> G	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GTC -> ATC	SNP (transition)	V -> I	Substituição
C	T -> C	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TTA -> CTA	SNP (transition)		Nenhum

ORF43

T	C -> T	ATG -> ATA	SNP (transition)	M -> I	Substituição
G	A -> G	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TGC -> TGT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CCG -> CCA	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum

T	C -> T	GTT -> ATT	SNP (transition)	V -> I	Substituição
<u>ORF45</u>					
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
<u>vp1054</u>					
C	T -> C	ACT -> ACC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TAT -> TAC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TGC -> TGT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
<u>ORF50</u>					
C	T -> C	GTC -> GCC	SNP (transition)	V -> A	Substituição
C	T -> C	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
<u>ORF52</u>					
G	A -> G	AGT -> GGT	SNP (transition)	S -> G	Substituição
C	A -> C	AAA -> ACA	SNP (transversion)	K -> T	Substituição
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
<u>ORF54</u>					
G	A -> G	CCT -> CCC	SNP (transition)		Nenhum
C	A -> C	CGT -> CGG	SNP (transversion)		Nenhum
<u>fp/25K</u>					
G	A -> G	TTG -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
<u>lef-9</u>					
A	G -> A	ACG -> ACA	SNP (transition)		Nenhum
<u>dnapol</u>					
C	G -> C	CCG -> GCG	SNP (transversion)	P -> A	Substituição
T	C -> T	GAT -> AAT	SNP (transition)	D -> N	Substituição
G	A -> G	TCT -> TCC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ACC -> ACT	SNP (transition)		Nenhum
<u>desmoplakin</u>					
G	A -> G	AGT -> GGT	SNP (transition)	S -> G	Substituição
<u>iap-2</u>					
G	A -> G	AAG -> GAG	SNP (transition)	K -> E	Substituição
A	G -> A	GAC -> AAC	SNP (transition)	D -> N	Substituição
C	G -> C	TGT -> TCT	SNP (transversion)	C -> S	Substituição
<u>p26b</u>					
C	A -> C	GTA -> GTC	SNP (transversion)		Nenhum
<u>v-cath</u>					
A	G -> A	GGC -> GGT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	AAT -> GAT	SNP (transition)	N -> D	Substituição
A	T -> A	TAT -> TTT	SNP (transversion)	Y -> F	Substituição
<u>chiA</u>					
T	C -> T	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum

A	G -> A	AGA -> AAA	SNP (transition)	R -> K	Substituição
ORF70					
C	T -> C	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GTG -> ATG	SNP (transition)	V -> M	Substituição
pcna					
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
T	G -> T	CTC -> CTA	SNP (transversion)		Nenhum
A	G -> A	GAC -> GAT	SNP (transition)		Nenhum
gp37					
G	A -> G	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
bro-b					
C	T -> C	CCA -> CCG	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
ORF75					
C	G -> C	CCA -> GCA	SNP (transversion)	P -> A	Substituição
ORF81					
G	A -> G	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
gp41					
C	T -> C	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
tlp20					
GT	CC -> GT	ACG,GAG -> ACA,CAG	Substituição	TE -> TQ	Substituição
vp39					
C	T -> C	GTA -> GTG	SNP (transition)		Nenhum
C	A -> C	CCT -> CCG	SNP (transversion)		Nenhum
lef-4					
T	C -> T	GCT -> GTT	SNP (transition)	A -> V	Substituição
T	C -> T	TAC -> TAT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> GAA	SNP (transition)	K -> E	Substituição
T	C -> T	TAC -> TAT	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	CAT -> CAC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
ORF89					
A	G -> A	GAG -> GAA	SNP (transition)		Nenhum
odv-e25					
T	C -> T	TCC -> TCT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GTA -> GTG	SNP (transition)		Nenhum
helicase					
G	A -> G	TAT -> TAC	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	TAC -> TTC	SNP (transversion)	Y -> F	Substituição
G	A -> G	AAT -> AAC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTA -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	ATC -> ACC	SNP (transition)	I -> T	Substituição
T	C -> T	TCG -> TCA	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum

C	T -> C	AAC -> AGC	SNP (transition)	N -> S	Substituição
A	G -> A	CCC -> CCT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GTC -> GTT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TTG -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CAC -> CAT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
ORF94					
A	G -> A	AGA -> AAA	SNP (transition)	R -> K	Substituição
G	C -> G	GAC -> GAG	SNP (transversion)	D -> E	Substituição
lef-5					
C	T -> C	CCT -> CCC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GGC -> GGT	SNP (transition)		Nenhum
p40					
G	T -> G	GGA -> GGC	SNP (transversion)		Nenhum
G	A -> G	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	ACT -> ACC	SNP (transition)		Nenhum
p128					
A	G -> A	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ACA -> ATA	SNP (transition)	T -> I	Substituição
p45					
C	T -> C	CTA -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CCC -> CCT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AGG -> AGA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	AGC -> AGT	SNP (transition)		Nenhum
p87					
A	C -> A	ACT -> AAT	SNP (transversion)	T -> N	Substituição
G	A -> G	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ATG -> ATA	SNP (transition)	M -> I	Substituição
G	A -> G	ACT -> GCT	SNP (transition)	T -> A	Substituição
T	C -> T	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
ORF103*					
G	A -> G	ATG -> GTG	SNP (transition)	M -> V	Substituição
odv-ec43					
T	C -> T	AGC -> AGT	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TTA -> CTA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GTT -> GTC	SNP (transition)		Nenhum
odv-e66					
A	G -> A	TAC -> TAT	SNP (transition)		Nenhum

G	A -> G	GTT -> GTC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GCT -> GTT	SNP (transition)	A -> V	Substituição
A	G -> A	TAC -> TAT	SNP (transition)		Nenhum
p13					
T	C -> T	ACG -> ACA	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	CTA -> CTT	SNP (transversion)		Nenhum
G	T -> G	TCA -> TCC	SNP (transversion)		Nenhum
ORF109					
C	A -> C	AAT -> AAG	SNP (transversion)	N -> K	Substituição
A	C -> A	GAT -> TAT	SNP (transversion)	D -> Y	Substituição
A	G -> A	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	AAA -> ATA	SNP (transversion)	K -> I	Substituição
C	T -> C	AGA -> AGG	SNP (transition)		Nenhum
ORF110					
G	A -> G	TTG -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	ATG -> ATA	SNP (transition)	M -> I	Substituição
G	A -> G	AGT -> AGC	SNP (transition)		Nenhum
ORF111					
C	T -> C	GAT -> GAC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	CAA -> CAG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
ORF112					
A	G -> A	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GAC -> GAT	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ACA -> ACG	SNP (transition)		Nenhum
C	G -> C	CCC -> CCG	SNP (transversion)		Nenhum
G	A -> G	ATT -> ATC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GCT -> GCC	SNP (transition)		Nenhum
ORF113					
C	T -> C	GCA -> GCG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GCT -> GCC	SNP (transition)		Nenhum
ORF114					
A	G -> A	GCC -> GCT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TGC -> TGT	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
G	C -> G	CAG -> CAC	SNP (transversion)	Q -> H	Substituição

A	G -> A	GCA -> GTA	SNP (transition)	A -> V	Substituição
A	G -> A	CTA -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	TGC -> TGT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GAG -> GAA	SNP (transition)		Nenhum
pif-3					
C	G -> C	GTC -> GTG	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	AAA -> GAA	SNP (transition)	K -> E	Substituição
G	A -> G	ATT -> ACT	SNP (transition)	I -> T	Substituição
sod					
G	C -> G	CTC -> CTG	SNP (transversion)		Nenhum
ORF119					
T	C -> T	AGC -> AAC	SNP (transition)	S -> N	Substituição
T	C -> T	GAA -> AAA	SNP (transition)	E -> K	Substituição
ORF120					
A	G -> A	AAC -> AAT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTC -> TTC	SNP (transition)	L -> F	Substituição
A	C -> A	AAG -> AAT	SNP (transversion)	K -> N	Substituição
ORF121					
C	T -> C	ACT -> GCT	SNP (transition)	T -> A	Substituição
C	T -> C	CCA -> CCG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TCG -> TCA	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	CAA -> CAG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	CGT -> CGC	SNP (transition)		Nenhum
dut					
T	C -> T	GGT -> GAT	SNP (transition)	G -> D	Substituição
calyx					
G	T -> G	TCT -> TCG	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
A	C -> A	CTC -> CTA	SNP (transversion)		Nenhum
A	G -> A	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
rr2					
A	T -> A	GAA -> GAT	SNP (transversion)	E -> D	Substituição
C	T -> C	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CGG -> CGA	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
ORF125					
C	T -> C	TTA -> CTA	SNP (transition)		Nenhum
ORF126					
A	T -> A	GGT -> GGA	SNP (transversion)		Nenhum
T	C -> T	GCC -> GCT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CAG -> CAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	AGA -> AAA	SNP (transition)	R -> K	Substituição
T	A -> T	GCA -> GCT	SNP (transversion)		Nenhum
ORF127					
C	G -> C	CAC -> CAG	SNP (transversion)	H -> Q	Substituição

T	C -> T	GGC -> AGC	SNP (transition)	G -> S	Substituição
T	C -> T	CGT -> CAT	SNP (transition)	R -> H	Substituição
A	G -> A	CTG -> TTG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GGT -> AGT	SNP (transition)	G -> S	Substituição
ORF128					
C	A -> C	AAA -> ACA	SNP (transversion)	K -> T	Substituição
alkaline exonuclease					
G	T -> G	CAT -> CAG	SNP (transversion)	H -> Q	Substituição
pif-1					
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
A	C -> A	GTT -> TTT	SNP (transversion)	V -> F	Substituição
T	C -> T	CGG -> CGA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CGC -> CGT	SNP (transition)		Nenhum
ORF133					
T	G -> T	GTC -> GTA	SNP (transversion)		Nenhum
T	C -> T	GCG -> GCA	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	TAC -> TTC	SNP (transversion)	Y -> F	Substituição
T	C -> T	GAG -> AAG	SNP (transition)	E -> K	Substituição
T	C -> T	ACG -> ACA	SNP (transition)		Nenhum
p24					
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GGT -> AGT	SNP (transition)	G -> S	Substituição
G	A -> G	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
ORF136					
C	T -> C	GTT -> GTC	SNP (transition)		Nenhum
lef-2					
A	C -> A	CTC -> CTA	SNP (transversion)		Nenhum
G	A -> G	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
G	T -> G	ATT -> AGT	SNP (transversion)	I -> S	Substituição
G	A -> G	CAA -> CAG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TGT -> TGC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GAC -> GAT	SNP (transition)		Nenhum
38.7K					
C	T -> C	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	GAG -> GAA	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ACA -> ACG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ATA -> ATG	SNP (transition)	I -> M	Substituição
C	T -> C	AAA -> AAG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GAC -> GGC	SNP (transition)	D -> G	Substituição
A	G -> A	CAC -> CAT	SNP (transition)		Nenhum
T	A -> T	TTA -> ATA	SNP (transversion)	L -> I	Substituição
lef-1					
T	C -> T	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum
A	T -> A	GCA -> GCT	SNP (transversion)		Nenhum
C	T -> C	GTA -> GTG	SNP (transition)		Nenhum

egt					
C	T -> C	TTG -> CTG	SNP (transition)		Nenhum
ACC	TTT -> ACC	TTT -> ACC	Substituição	F -> T	Substituição
G	A -> G	ATA -> ATG	SNP (transition)	I -> M	Substituição
T	C -> T	GGC -> GGT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GTA -> GTG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TAT -> TAC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CCG -> CCA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTG -> CTA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GTG -> GTA	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum
ORF143					
A	G -> A	GAG -> GAA	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TAC -> TAT	SNP (transition)		Nenhum
ORF144					
A	G -> A	CCT -> CTT	SNP (transition)	P -> L	Substituição
T	C -> T	ACG -> ACA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CCC -> CCT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CCC -> CTC	SNP (transition)	P -> L	Substituição
C	T -> C	ACA -> GCA	SNP (transition)	T -> A	Substituição
A	T -> A	TAT -> TTT	SNP (transversion)	Y -> F	Substituição
ORF145*					
G	A -> G	CAC -> CGC	SNP (transition)	H -> R	Substituição
arif-1					
G	A -> G	ATG -> ACG	SNP (transition)	M -> T	Substituição
G	A -> G	GTA -> GCA	SNP (transition)	V -> A	Substituição
C	G -> C	GCC -> GGC	SNP (transversion)	A -> G	Substituição
G	A -> G	TTT -> TTC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
pif-2					
C	T -> C	CGT -> CGC	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	AGT -> AGC	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AGC -> AGT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	GAA -> GAG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	AAC -> AGC	SNP (transition)	N -> S	Substituição
f protein					
G	A -> G	TGT -> TGC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GCC -> GCT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	TTG -> TTA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum
T	G -> T	ATC -> ATA	SNP (transversion)		Nenhum
A	G -> A	CTG -> TTG	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	ACA -> ACG	SNP (transition)		Nenhum

T	C -> T	AAG -> AAA	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	ATC -> ATT	SNP (transition)		Nenhum
T	C -> T	AGT -> AAT	SNP (transition)	S -> N	Substituição
rr1					
C	T -> C	AAT -> GAT	SNP (transition)	N -> D	Substituição
G	A -> G	GGT -> GGC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum
C	T -> C	TCA -> TCG	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TTG -> TCG	SNP (transition)	L -> S	Substituição
C	T -> C	ATA -> ATG	SNP (transition)	I -> M	Substituição
C	T -> C	ACT -> GCT	SNP (transition)	T -> A	Substituição
T	C -> T	GTT -> ATT	SNP (transition)	V -> I	Substituição
A	G -> A	TTC -> TTT	SNP (transition)		Nenhum
G	A -> G	TCT -> TCC	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	GCC -> GCT	SNP (transition)		Nenhum
A	G -> A	CTC -> CTT	SNP (transition)		Nenhum
C	A -> C	GAT -> GAG	SNP (transversion)	D -> E	Substituição

APÊNDICE SUPLEMENTAR E – Tabela 5. Comparação das 152 ORFs do genoma de ChinNPV CNPSo-168 com genes homólogos de outros organismos.

ORF	Name	Tamanho	Posição	Best hit	Identidade (%)	E-value
1	<i>polyhedrin</i>	741	1 > 741	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	99.59	2,00E-175
2	<i>viral capsid associated protein</i>	1,2	738 < 1,937	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	80.58	0.0
3	<i>pk-1</i>	819	1,961 > 2,779	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.22	0.0
4	<i>hoar</i>	2,804	4,828 < 2,205	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	62.56	8,00E-94
5	<i>unknown</i>	390	4,807 < 5,196	No significant similarity found*		
6	<i>unknown</i>	618	5,292 > 5,909	Procambarus clarkii	71.25	3,00E-15
7	<i>unknown</i>	1,086	6,509 > 7,594	*		
8	<i>odv-e56</i>	1,116	7,693 > 8,808	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.89	0.0
9	<i>me53</i>	1,107	8,907 < 10,013	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	90.76	0.0
10	<i>exon0/ie-0</i>	963	10,309 > 11,271	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.85	0.0
11	<i>p49</i>	1,428	11,288 > 12,715	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	97.26	0.0
12	<i>odv-e18</i>	246	12,725 > 12,97	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	98.77	6,00E-15
13	<i>odv-e27</i>	882	13,011 > 13,892	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	98.28	0.0
14	<i>unknown</i>	282	13,898 > 14,179	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.25	2,00E-46
15	<i>unknown</i>	624	14,23 < 14,853	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.02	4,00E-117
16	<i>ie-1</i>	2,298	14,892 > 17,189	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.60	0.0
17	<i>p74</i>	1,977	17,349 > 19,325	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.16	0.0
18	<i>p10</i>	276	19,369 < 19,644	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.31	3,00E-35
19	<i>p26a</i>	852	19,696 < 20,547	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.33	1,00E-168
20	<i>unknown</i>	300	20,708 > 21,007	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.96	5,00E-61
21	<i>lef-6</i>	471	21,036 < 21,506	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	74.70	3,00E-69
22	<i>dbp</i>	984	21,518 < 22,501	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	86.40	0.0
23	<i>unknown</i>	168	22,5 > 22,667	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	0.008	81.82
24	<i>unknown</i>	432	22,6 > 23,031	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	69.50	2,00E-60

25	<i>unknown</i>	1,23	23,086 > 24,315	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	52.34	1,00E-130
26	<i>unknown</i>	645	24,452 < 25,096	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	91.54	1,00E-107
27	<i>unknown</i>	312	25,202 > 25,513	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	100.00	4,00E-46
28	<i>unknown</i>	231	25,431 > 25,661	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.82	2,00E-35
29	<i>39k</i>	978	25,748 < 26,725	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	82.77	9,00E-168
30	<i>lef-11</i>	468	26,7 < 27,167	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.35	4,00E-91
31	<i>unknown</i>	858	26,993 < 27,85	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	86.32	2,00E-178
32	<i>unknown</i>	528	27,991 < 28,518	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	66.48	1,00E-71
33	<i>bro-a</i>	1,398	28,787 > 30,184	Lymantria dispar multiple nucleopolyhedrovirus	64.29	0.0
34	<i>unknown</i>	519	30,276 < 30,794	Betabaculovirus altermyunipunctae	46.29	1,00E-45
35	<i>p47</i>	1,194	30,936 < 32,129	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.70	0.0
36	<i>unknown</i>	180	32,039 > 32,218	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	86.67	6,00E-08
37	<i>unknown</i>	753	32,329 > 33,081	Spodoptera exempta nucleopolyhedrovirus	33.04	9,00E-28
38	<i>unknown</i>	684	33,267 < 33,95	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	32.43	6,00E-19
39	<i>lef-8</i>	2,835	34,046 < 36,88	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	90.79	0.0
40	<i>bjdp</i>	1,041	36,904 > 37,944	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	83.09	2,00E-168
41	<i>iap-3</i>	843	38,018 < 38,86	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	80.07	2,00E-154
42	<i>unknown</i>	180	39,018 > 39,197	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	74.58	1,00E-07
43	<i>unknown</i>	612	39,194 < 39,805	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	71.10	3,00E-79
44	<i>unknown</i>	417	39,867 > 40,283	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.65	3,00E-93
45	<i>unknown</i>	1,116	40,288 < 41,403	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	74.14	2,00E-158
46	<i>unknown</i>	234	41,444 < 41,677	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	85.71	5,00E-39
47	<i>lef-10</i>	228	41,637 > 41,864	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	94.67	4,00E-43
48	<i>vp1054</i>	1,002	41,725 > 42,726	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	95.54	0.0
49	<i>unknown</i>	237	42,85 > 43,086	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	72.53	7,00E-30
50	<i>unknown</i>	399	42,962 > 43,36	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	80.30	3,00E-68
51	<i>unknown</i>	273	43,418 < 43,69	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.66	1,00E-07
52	<i>unknown</i>	513	43,602 > 44,114	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.46	8,00E-85
53	<i>unknown</i>	498	44,123 < 44,62	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.83	3,00E-66

54	<i>unknown</i>	276	44,642 < 44,917	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.52	4,00E-40
55	<i>fp/25K</i>	687	45,188 < 45,874	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	96.67	1,00E-118
56	<i>lef-9</i>	1,491	45,957 > 47,447	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	97.18	0.0
57	<i>unknown</i>	256	47,554 < 47,809	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	52.63	6,00E-06
58	<i>unknown</i>	156	47,964 > 48,119	No significant similarity found*		
59	<i>unknown</i>	159	48,13 > 48,288	No significant similarity found*		
60	<i>unknown</i>	258	48,619 > 48,876	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.29	3,00E-36
61	<i>unknown</i>	390	48,883 > 49,272	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	94.57	1,00E-82
62	<i>dnapol</i>	3,183	49,294 < 52,476	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	88.71	0.0
63	<i>desmoplakin</i>	2,136	52,475 > 54,61	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	86.22	0.0
64	<i>lef-3</i>	1,404	54,726 < 56,129	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	76.50	0.0
65	<i>pif-6</i>	396	56,128 > 56,523	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.31	1,00E-77
66	<i>iap-2</i>	894	56,575 > 57,468	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.00	9,00E-173
67	<i>p26b</i>	738	57,514 > 58,251	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.89	3,00E-153
68	<i>v-cath</i>	1,035	58,367 < 59,401	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.91	0.0
69	<i>chiA</i>	1,743	59,515 > 61,257	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.54	0.0
70	<i>unknown</i>	702	61,344 > 62,045	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	62.67	3,00E-90
71	<i>pcna</i>	792	62,064 < 62,855	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	73.68	3,00E-124
72	<i>gp37</i>	819	62,987 > 63,805	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.28	0.0
73	<i>phr</i>	1,602	63,833 > 65,434	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	60.32	0.0
74	<i>bro-b</i>	1,461	65,51 < 66,97	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	72.50	0.0
75	<i>unknown</i>	258	67,117 < 67,374	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	51.85	9,00E-09
76	<i>unknown</i>	555	67,533 > 68,087	Heliothis virescens ascovirus 3h	39.75	9,00E-24
77	<i>he65</i>	705	68,238 > 68,942	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	82.68	1,00E-129
78	<i>ctl</i>	150	69,037 > 69,186	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.71	2,00E-22
79	<i>unknown</i>	390	69,218 < 69,607	Plutella xylostella multiple nucleopolyhedrovirus	41.07	3,00E-16
80	<i>vlf-1</i>	1,179	69,716 < 70,894	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.33	0.0
81	<i>unknown</i>	375	70,891 < 71,265	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	83.87	6,00E-64
82	<i>gp41</i>	960	71,288 < 72,247	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	99.67	0.0

83	<i>unknown</i>	717	72,189 < 72,905	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.50	1,00E-141
84	<i>tlp20</i>	723	72,793 < 73,515	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	77.59	7,00E-108
85	<i>vp91</i>	2,484	73,484 > 75,967	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.51	0.0
86	<i>vp39</i>	1,008	76,048 < 77,055	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.21	0.0
87	<i>lef-4</i>	1,416	77,03 > 78,445	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	87.69	0.0
88	<i>p33</i>	756	78,55 < 79,305	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	93.23	1,00E-177
89	<i>unknown</i>	483	79,304 > 79,786	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	98.12	3,00E-110
90	<i>odv-e25</i>	663	79,783 > 80,445	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.00	1,00E-115
91	<i>helicase</i>	3,633	80,567 < 84,199	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	88.14	0.0
92	<i>odv-e28</i>	519	84,156 > 84,674	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.86	1,00E-97
93	<i>unknown</i>	609	84,708 > 85,316	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	65.88	5,00E-73
94	<i>unknown</i>	231	85,343 > 85,573	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	57.14	2,00E-18
95	<i>38K</i>	957	85,604 < 86,56	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	99.69	0.0
96	<i>lef-5</i>	873	86,453 > 87,325	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.76	3,00E-159
97	<i>p6.9</i>	273	87,319 < 87,591	*		
98	<i>unknown</i>	156	87,57 > 87,725	No significant similarity found		
99	<i>p40</i>	1,143	87,678 < 88,82	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.92	0.0
100	<i>p128</i>	366	88,843 < 89,208	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	81.82	1,00E-52
101	<i>p45</i>	1,137	89,195 < 90,331	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.77	0.0
102	<i>p87</i>	1,716	90,366 > 92,081	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	82.76	0.0
103	<i>unknown</i>	186	92,078 > 92,263	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.74	1,00E-15
104	<i>odv-ec43</i>	1,071	92,247 > 93,317	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	99.44	0.0
105	<i>unknown</i>	279	93,36 > 93,638	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.77	2,00E-29
106	<i>odv-e66</i>	2,028	93,681 < 95,708	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	87.08	0.0
107	<i>p13</i>	915	95,794 < 96,708	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	89.14	0.0
108	<i>unknown</i>	432	97,027 > 97,458	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	61.79	1,00E-37
109	<i>unknown</i>	996	97,508 < 98,503	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	45.16	3,00E-71
110	<i>unknown</i>	393	98,674 < 99,066	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	52.58	7,00E-11
111	<i>unknown</i>	1,044	99,26 > 100,303	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	75.45	0.0

112	<i>unknown</i>	687	100,385 < 101,071	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.45	1,00E-134
113	<i>unknown</i>	1,584	101,114 < 102,697	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.04	0.0
114	<i>unknown</i>	957	102,789 < 103,745	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	56.78	2,00E-106
115	<i>pif-3</i>	642	103,844 < 104,485	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	84.91	2,00E-130
116	<i>unknown</i>	429	104,572 < 105	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	57.69	7,00E-36
117	<i>bro-c</i>	588	105,125 > 105,712	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	87.43	5,00E-104
118	<i>sod</i>	456	105,766 > 106,221	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.33	3,00E-96
119	<i>unknown</i>	642	106,295 < 106,936	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	46.01	5,00E-54
120	<i>unknown</i>	273	107,093 < 107,365	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	64.56	1,00E-23
121	<i>unknown</i>	513	107,599 < 108,111	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	64.71	4,00E-70
122	<i>dut</i>	486	108,277 < 108,762	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	40.52	2,00E-31
123	<i>calyx</i>	990	109,016 > 110,005	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	94.86	9,00E-136
124	<i>rr2</i>	957	110,098 < 111,054	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.60	0.0
125	<i>unknown</i>	430	111,175 > 111,604	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.39	1,00E-71
126	<i>unknown</i>	1,125	111,601 > 112,725	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	92.25	0.0
127	<i>unknown</i>	1,29	112,768 < 114,057	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	86.07	0.0
128	<i>unknown</i>	381	114,059 > 114,439	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.71	1,00E-53
129	<i>alkaline exonuclease</i>	1,215	114,441 > 115,655	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	82.04	0.0
130	<i>unknown</i>	744	115,674 < 116,417	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	83.06	1,00E-148
131	<i>fgf</i>	1,125	116,7 > 117,824	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	73.28	5,00E-177
132	<i>pif-1</i>	1,557	117,921 < 119,477	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	89.47	0.0
133	<i>unknown</i>	522	119,527 < 120,048	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	64.53	4,00E-76
134	<i>gp16</i>	288	120,124 < 120,411	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.25	1,00E-44
135	<i>p24</i>	741	120,423 < 121,163	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	86.38	4,00E-139
136	<i>unknown</i>	405	121,291 > 121,695	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	68.57	2,00E-51
137	<i>lef-2</i>	675	121,625 > 122,299	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	80.89	3,00E-124
138	<i>38.7K</i>	1,185	122,358 < 123,542	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	78.54	0.0
139	<i>lef-1</i>	696	123,588 < 124,283	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	88.32	6,00E-129

140	<i>unknown</i>	462	124,272 > 124,733	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	72.08	3,00E-43
141	<i>ptp-2</i>	498	124,735 < 125,232	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	88.34	9,00E-101
142	<i>egt</i>	1,566	125,392 > 126,957	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	91.55	0.0
143	<i>unknown</i>	546	127,16 > 127,705	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	91.16	3,00E-113
144	<i>unknown</i>	2,778	127,917 < 130,694	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	86.12	0.0
145	<i>unknown</i>	156	130,806 > 130,961	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	84.00	7,00E-05
146	<i>pkp</i>	504	131,269 > 131,772	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	85.63	1,00E-98
147	<i>arif-1</i>	987	131,847 < 132,833	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	79.03	1,00E-160
148	<i>pif-2</i>	1,149	132,828 > 133,976	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.15	0.0
149	<i>unknown</i>	201	134,048 > 134,248	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	54.84	2,00E-09
150	<i>f protein</i>	1,977	134,374 < 136,35	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.03	0.0
151	<i>rr1</i>	2,346	136,697 < 139,042	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	84.12	0.0
152	<i>unknown</i>	171	139,06 < 139,23	No significant similarity found		

APÊNDICE SUPLEMENTAR F – Tabela 6. Comparação das 151 ORFs do genoma de ChinNPV-Tabatinga com genes homólogos de outros organismos.

ORF	Nome	Tamanho	Posição	Best hit	Identidade (%)	E-value
1	<i>polyhedrin</i>	741	1 > 741	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	99.59	5,00E-175
2	<i>viral capsid associated protein</i>	1,2	738 < 1,937	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	80.10%	0.0
3	<i>pk-1</i>	819	1,961 > 2,779	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.22%	0.0
4	<i>hoar</i>	1,935	2,804 < 4,738	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	62.56%	6,00E-94
5	<i>unknown</i>	327	4,717 < 5,043	No significant similarity found*		
6	<i>unknown</i>	228	5,311 < 5,538	Clostridia bacterium	72.73%	0.006
7	<i>unknown</i>	1,077	6,302 > 7,378	*		
8	<i>odv-e66</i>	1,116	7,475 > 8,59	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.89%	0.0
9	<i>me53</i>	1,107	8,689 < 9,795	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	90.76%	0.0
10	<i>exon0/ie-0</i>	963	10,091 > 11,053	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	86.79%	0.0
11	<i>p49</i>	1,428	11,07 > 12,497	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	97.26%	0.0
12	<i>odv-e18</i>	246	12,507 > 12,752	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	98.77%	6,00E-15
13	<i>odv-e27</i>	882	12,793 > 13,674	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	98.29%	0.0
14	<i>unknown</i>	282	13,68 > 13,961	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.25%	2,00E-46
15	<i>unknown</i>	624	14,012 < 14,635	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.51%	7,00E-118
16	<i>ie-1</i>	2,301	14,674 > 16,974	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.60%	0.0
17	<i>p74</i>	1,977	17,135 > 19,111	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.16%	0.0
18	<i>p10</i>	276	19,155 < 19,43	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.31%	3,00E-35
19	<i>p26a</i>	852	19,482 < 20,333	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.33%	7,00E-169
20	<i>unknown</i>	300	20,494 > 20,793	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.96%	9,00E-61
21	<i>lef-6</i>	471	20,822 < 21,292	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	79.01%	3,00E-67
22	<i>dbp</i>	984	21,304 < 22,287	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	86.71%	0.0
23	<i>unknown</i>	168	22,286 > 22,453	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	81.82%	0.008
24	<i>unknown</i>	432	22,386 > 22,817	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	70.21%	1,00E-60

25	<i>unknown</i>	1,23	22,872 > 24,101	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	52.34%	1,00E-130
26	<i>unknown</i>	651	24,238 < 24,888	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.16%	2,00E-105
27	<i>unknown</i>	312	24,994 > 25,305	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	100.00%	4,00E-46
28	<i>unknown</i>	231	25,223 > 25,453	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.82%	2,00E-35
29	<i>39k</i>	975	25,54 < 26,514	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	82.72%	4,00E-166
30	<i>lef-11</i>	468	26,489 < 26,956	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.35%	4,00E-91
31	<i>unknown</i>	858	26,782 < 27,639	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.96%	4,00E-178
32	<i>unknown</i>	528	27,78 < 28,307	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	68.00%	1,00E-74
33	<i>bro-a</i>	1,368	28,576 > 29,943	Lymantria dispar multiple nucleopolyhedrovirus	61.97%	0.0
34	<i>unknown</i>	519	30,033 < 30,551	Betabaculovirus altermyunipunctae	46.29%	1,00E-45
35	<i>p47</i>	1,194	30,694 < 31,887	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.95%	0.0
36	<i>unknown</i>	198	31,797 > 31,994	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	90.62%	2,00E-09
37	<i>unknown</i>	756	32,106 > 32,861	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	59.83%	5,00E-94
38	<i>unknown</i>	684	33,047 < 33,73	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	32.43%	6,00E-19
39	<i>lef-8</i>	2,835	33,826 < 36,66	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	90.52%	0.0
40	<i>bjdp</i>	1,041	36,684 > 37,724	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	83.38%	4,00E-169
41	<i>iap3</i>	843	37,798 < 38,64	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	79.36%	4,00E-154
42	<i>unknown</i>	180	38,798 > 38,977	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	74.58%	1,00E-07
43	<i>unknown</i>	615	38,974 < 39,588	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	74.31%	2,00E-81
44	<i>unknown</i>	417	39,65 > 40,066	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.65%	3,00E-93
45	<i>unknown</i>	1,092	40,071 < 41,162	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	75.74%	3,00E-157
46	<i>unknown</i>	234	41,203 < 41,436	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	85.71%	5,00E-39
47	<i>lef-10</i>	228	41,396 > 41,623	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	94.67%	4,00E-43
48	<i>vp1054</i>	1,002	41,484 > 42,485	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	95.54%	0.0
49	<i>unknown</i>	237	42,609 > 42,845	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	72.53%	e-30
50	<i>unknown</i>	393	42,721 > 43,113	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.31%	3,00E-69
51	<i>unknown</i>	273	43,171 < 43,443	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.66%	1,00E-07
52	<i>unknown</i>	513	43,355 > 43,867	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	82.94%	3,00E-90
53	<i>unknown</i>	504	43,876 < 44,379	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	78.51%	4,00E-59

54	<i>unknown</i>	276	44,401 < 44,676	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.52%	4,00E-40
55	<i>fp/24K</i>	687	44,948 < 45,634	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	96.67%	1,00E-118
56	<i>lef-9</i>	1,491	45,717 > 47,207	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	97.18%	0.0
57	<i>unknown</i>	276	47,314 < 47,589	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	84.00%	4,00E-04
58	<i>unknown</i>	156	47,744 > 47,899	No significant similarity found*		
59	<i>unknown</i>	159	47,91 > 48,068	No significant similarity found*		
60	<i>unknown</i>	258	48,399 > 48,656	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	100.00%	6,00E-38
61	<i>unknown</i>	390	48,663 > 49,052	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	94.57%	1,00E-82
62	<i>dnapol</i>	3,183	49,074 < 52,256	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	88.43%	0.0
63	<i>desmoplakin</i>	2,136	52,255 > 54,39	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	86.22%	0.0
64	<i>lef-3</i>	1,404	54,506 < 55,909	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	73.11%	0.0
65	<i>lef-6</i>	396	55,908 > 56,303	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.31%	1,00E-77
66	<i>iap-2</i>	894	56,355 > 57,248	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.00%	7,00E-173
67	<i>p26b</i>	738	57,294 > 58,031	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.89%	3,00E-153
68	<i>v-cath</i>	1,038	58,126 < 59,163	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	94.22%	0.0
69	<i>chiA</i>	1,743	59,277 > 61,019	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.36%	0.0
70	<i>unknown</i>	702	61,106 > 61,807	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	62.21%	1,00E-89
71	<i>pcna</i>	792	61,825 < 62,616	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	73.68%	3,00E-124
72	<i>gp37</i>	819	62,748 > 63,566	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.28%	0.0
73	<i>phr</i>	1,602	63,594 > 65,195	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	60.32%	0.0
74	<i>bro-b</i>	1,461	65,271 < 66,731	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	72.50%	0.0
75	<i>unknown</i>	258	66,878 < 67,135	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	51.85%	8,00E-09
76	<i>unknown</i>	555	67,294 > 67,848	Heliothis virescens ascovirus 3h	39.75%	9,00E-24
77	<i>he65</i>	705	67,999 > 68,703	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	82.68%	1,00E-129
78	<i>ctl</i>	150	68,803 > 68,952	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.71%	2,00E-22
79	<i>unknown</i>	390	68,984 < 69,373	Plutella xylostella multiple nucleopolyhedrovirus	41.07%	3,00E-16
80	<i>vlf-1</i>	1,179	69,482 < 70,66	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.33%	0.0
81	<i>unknown</i>	375	70,657 < 71,031	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	83.87%	6,00E-64
82	<i>gp41</i>	960	71,054 < 72,013	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	99.67%	0.0

83	<i>unknown</i>	717	71,955 < 72,671	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	89.50%	1,00E-141
84	<i>tlp20</i>	723	72,559 < 73,281	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	77.59	2,00E-107
85	<i>vp91</i>	2,484	73,25 > 75,733	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	82.51%	0.0
86	<i>vp39</i>	1,008	75,814 < 76,821	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.21%	0.0
87	<i>lef-4</i>	1,416	76,796 > 78,211	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	87.69%	0.0
88	<i>p33</i>	756	78,317 < 79,072	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.83%	2,00E-176
89	<i>unknown</i>	483	79,071 > 79,553	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	98.12%	3,00E-110
90	<i>odv-e25</i>	663	79,55 > 80,212	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	95.00%	1,00E-115
91	<i>helicase</i>	3,633	80,334 < 83,966	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	88.14%	0.0
92	<i>odv-e28</i>	519	83,923 > 84,441	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.86%	1,00E-97
93	<i>unknown</i>	609	84,475 > 85,083	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	65.88%	5,00E-73
94	<i>unknown</i>	231	85,11 > 85,34	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	58.44%	1,00E-18
95	<i>38K</i>	957	85,371 < 86,327	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	92.11%	0.0
96	<i>lef-5</i>	873	86,22 > 87,092	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.76%	3,00E-159
97	<i>p6.9</i>	273	87,086 < 87,358	*		
98	<i>unknown</i>	156	87,337 > 87,492	No significant similarity found*		
99	<i>p40</i>	1,143	87,445 < 88,587	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.92%	0.0
100	<i>p128</i>	366	88,61 < 88,975	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.99%	9,00E-55
101	<i>p45</i>	1,137	88,962 < 90,098	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.77%	0.0
102	<i>p87</i>	1,716	90,133 > 91,848	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	81.87%	0.0
103	<i>unknown</i>	186	91,845 > 92,03	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	100.00%	2,00E-15
104	<i>odv-ec43</i>	1,071	92,014 > 93,084	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	99.44%	0.0
105	<i>unknown</i>	279	93,127 > 93,405	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.77%	2,00E-29
106	<i>odv-e66</i>	2,028	93,448 < 95,475	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	86.91%	0.0
107	<i>p13</i>	915	95,561 < 96,475	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	89.14%	0.0
108	<i>unknown</i>	432	96,794 > 97,225	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	61.79%	1,00E-37
109	<i>unknown</i>	1,05	97,274 < 98,323	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	45.16%	6,00E-71
110	<i>unknown</i>	393	98,478 < 98,87	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	52.58%	7,00E-11
111	<i>unknown</i>	1,044	99,06 > 100,103	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	75.45%	0.0

112	<i>unknown</i>	687	100,185 < 100,871	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.45%	1,00E-134
113	<i>unknown</i>	1,584	100,914 < 102,497	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	80.04%	0.0
114	<i>unknown</i>	957	102,592 < 103,548	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	56.47%	2,00E-105
115	<i>pif-3</i>	642	103,647 < 104,288	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	85.38%	7,00E-131
116	<i>unknown</i>	429	104,377 < 104,805	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	50.36%	5,00E-36
117	<i>bro-c</i>	588	104,93 > 105,517	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	87.43%	5,00E-104
118	<i>sod</i>	456	105,571 > 106,026	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	92.00%	9,00E-97
119	<i>unknown</i>	642	106,1 < 106,741	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	45.54%	2,00E-53
120	<i>unknown</i>	273	106,898 < 107,17	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	64.56%	2,00E-23
121	<i>unknown</i>	513	107,404 < 107,916	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	64.71%	4,00E-70
122	<i>dut</i>	486	108,083 < 108,568	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	40.52%	1,00E-31
123	<i>calyx</i>	990	108,822 > 109,811	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	94.86%	9,00E-136
124	<i>rr2</i>	957	109,905 < 110,861	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.28%	0.0
125	<i>unknown</i>	408	110,981 > 111,388	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.39%	7,00E-72
126	<i>unknown</i>	1,125	111,385 > 112,509	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	92.25%	0.0
127	<i>unknown</i>	1,29	112,553 < 113,842	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.84%	0.0
128	<i>unknown</i>	381	113,844 > 114,224	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	84.92%	9,00E-52
129	<i>alkaline exonuclease</i>	1,215	114,226 > 115,44	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	82.04%	0.0
130	<i>unknown</i>	744	115,459 < 116,202	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	83.06%	e-148
131	<i>fgf</i>	1,122	116,485 > 117,606	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	77.45%	2,00E-177
132	<i>pif-1</i>	1,557	117,703 < 119,259	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	89.27%	0.0
133	<i>unknown</i>	522	119,309 < 119,83	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	64.16%	5,00E-76
134	<i>gp16</i>	288	119,906 < 120,193	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	91.25%	1,00E-44
135	<i>p24</i>	741	120,205 < 120,945	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	87.23%	2,00E-143
136	<i>unknown</i>	405	121,073 > 121,477	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	68.57%	2,00E-51
137	<i>lef-2</i>	675	121,407 > 122,081	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	80.89%	7,00E-125
138	<i>38.7K</i>	1,185	122,136 < 123,32	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	78.54%	0.0
139	<i>lef-1</i>	696	123,366 < 124,061	Chrysodeixis chalcites SNPV TF1-A	88.32%	6,00E-129
140	<i>unknown</i>	462	124,05 > 124,511	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	72.08%	3,00E-43

141	<i>ptp-2</i>	498	124,513 < 125,01	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	88.34%	9,00E-101
142	<i>egt</i>	1,566	125,168 > 126,733	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	91.75%	0.0
143	<i>unknown</i>	546	126,936 > 127,481	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	91.16%	3,00E-113
144	<i>unknown</i>	2,778	127,689 < 130,466	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	86.00%	0.0
145	<i>unknown</i>	156	130,578 > 130,733	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	88.00%	1,00E-05
146	<i>kip</i>	504	131,041 > 131,544	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.63%	4,00E-101
147	<i>arif-1</i>	987	131,619 < 132,605	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	85.63%	4,00E-101
148	<i>pif-2</i>	1,149	132,6 > 133,748	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	93.42%	0.0
149	<i>unknown</i>	201	133,82 > 134,02	Trichoplusia ni single nucleopolyhedrovirus	54.84%	2,00E-09
150	<i>f protein</i>	1,977	134,146 < 136,122	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	95.19%	0.0
151	<i>rr1</i>	2,346	136,47 < 138,815	Chrysodeixis chalcites nucleopolyhedrovirus	84.51%	0.0