

Atividade do Vírus de Poliedrose Nuclear de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) Após sua Passagem pelo Aparelho Digestivo de Insetos Predadores

Flávio Moscardi¹, Sandra L.B. Pollato¹ e Beatriz S. Corrêa-Ferreira¹

¹EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Caixa postal 231, 86061-970, Londrina, PR.

An. Soc. Entomol. Brasil 25(2): 315-320 (1996)

Activity of the *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)
Nuclear Polyhedrosis Virus After Passage Through the Digestive
Tract of Predatory Insects

ABSTRACT - Seven predator species of *Anticarsia gemmatalis* Hübner were fed with NPV-dead larvae in the laboratory, and the activity of polyhedron inclusion bodies (PIB), excreted 24 hours after virus ingestion, was compared with that of PIB obtained directly from dead larvae of the host. The hemipterans *Nabis capsiformis* Germar and *Podisus* sp., and the coleopterans *Callida* spp. (two species), *Calosoma granulatum* Perty, *Eriopis connexa* (Germar), and *Lebia concinna* (Brullé) were studied. All predators excreted high amounts of PIB one day after virus ingestion, with activity on *A. gemmatalis* larvae being not significantly different from the activity of PIB extracted directly from NPV-dead larvae. Adults of *C. granulatum* excreted an average > 93% of ingested PIB, 24 hours after feeding on infected larvae, with mean values of 4.0×10^7 PIB/male and 2.7×10^6 PIB/female. After the 1st day, PIB excretion decreased rapidly and could not be detected beyond the 4th day after virus intake.

KEY WORDS: Insecta, velvetbean caterpillar, predators, baculovirus dissemination.

RESUMO - Sete espécies de predadores de larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner foram alimentados com lagartas desta espécie mortas por vírus de poliedrose nuclear (VPN), em laboratório. A atividade de corpos poliédricos de inclusão (CPI), eliminados nas fezes desses predadores, depois de 24 horas, foi comparada com a de CPI obtidos de lagartas mortas pelo vírus. Os predadores estudados foram os hemípteros *Nabis capsiformis* Germar, e *Podisus* sp. e os coleópteros *Callida* spp. (duas espécies), *Calosoma granulatum* Perty, *Eriopis connexa* (Germar) e *Lebia concinna* Brullé. Todas as espécies estudadas excretaram grande quantidade de CPI em 24 horas, com a atividade do vírus obtido nas fezes dos predadores não diferindo significativamente daquele extraído de lagartas mortas pelo patógeno. Adultos de *C. granulatum* excretaram mais de 93% dos CPI decorridas 24 horas da ingestão do vírus, com valores de $4,0 \times 10^7$ CPI/macho e $2,7 \times 10^6$ CPI/fêmea. Após o 1º dia, a quantidade de CPI nas fezes decresceu rapidamente, sendo que não foram detectados CPI excretados após o 4º dia.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, lagarta-da-soja, predadores, disseminação de baculovirus.

A ocorrência de parasitóides e predadores em agroecossistemas é importante fator de disseminação de vírus entomopatogênicos em populações de pragas (Smirnoff 1959, Bergoin 1966, Vago et al. 1966, Capinera & Barbosa 1975, Cooper 1981, Biever et al. 1982, Young & Hamm 1985). A contaminação de pragas pode ocorrer através das fezes ou pelas partes externas de inimigos naturais, ao se alimentarem de hospedeiros infectados, sendo a atividade viral geralmente mantida após passagem pelo trato digestivo de predadores. Por exemplo, o hemíptero *Pilophorus uhleri* (Knight) e o himenóptero *Vespula rufa consobrina* (Saus.) ao se alimentarem de larvas infectadas foram capazes de transmitir o vírus de poliedrose nuclear (VPN) de *Neodiprion swainei* Midd. para colônias sadias do hospedeiro (Smirnoff 1959).

Com relação a predadores associados às pragas da soja, Abbas & Boucias (1984) mostraram que o VPN de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, além de não se multiplicar em *Podisus maculiventris* (Say), passou intacto pelo trato digestivo deste predador, sendo a quantidade ingerida e excretada de vírus maior para adultos. Young & Yearian (1987) verificaram que *Nabis roseipennis* Reuter excretou vírus infectivo por 10 dias, após alimentação com larvas de *A. gemmatalis* infectadas por VPN. A quantidade média de VPN eliminada nas fezes foi de $5,3 \times 10^6$ corpos poliédricos de inclusão (CPI) por predador, sendo 98% excretada durante os dois primeiros dias após a ingestão. Kring et al. (1988) verificaram que a aranha *Oxyopes salticus* Hentz excretou o VPN de *A. gemmatalis* com alta infectividade ao hospedeiro. A disseminação do vírus por predadores em populações de *A. gemmatalis*, na cultura da soja, foi estudada nos Estados Unidos da América (Boucias et al. 1987, Young & Yearian 1992, Fuxa et al. 1993). Em função do uso extensivo do VPN da lagarta-da-soja no Brasil (Moscardi & Sosa-Gomez 1992) e a necessidade de maiores informações sobre os fatores que induzem epizootias deste vírus em populações naturais da praga, conduziu-se esse estudo. Avaliou-se a

atividade do VPN após sua passagem por diferentes espécies de predadores de *A. gemmatalis* e quantificou-se o patógeno nas fezes de *Calosoma granulatum* Perty, após a ingestão de lagartas infectadas pelo vírus.

Material e Métodos

Adultos dos predadores *Nabis capsiformis* Germar, *Podisus* sp., *Lebia concinna* Brullé, *Eriopis connexa* Germar e duas espécies de *Callida* foram coletados com rede entomológica em campos de soja da Fazenda Experimental da EMBRAPA-CNPSo em Londrina, PR, e de Bela Vista do Paraíso, PR. Adultos de *C. granulatum* foram coletados com armadilhas luminosas, instaladas em lavoura de soja, e sob postes de iluminação, nos subúrbios de Londrina. Os insetos coletados foram levados para o laboratório e acondicionados em placas de Petri (8,6x1,4 cm), contendo papel filtro umedecido com água destilada, sendo alimentados com lagartas de *A. gemmatalis* mortas pelo VPN por 24 horas. Em seguida, foram transferidos para placas contendo papel filtro e alimentados com lagartas sadias por mais 24 horas. Após esse período, as porções do papel filtro contendo fezes dos predadores foram recortadas e colocadas em tubos de vidro com água destilada + sulfato dodecílico de sódio (SDS) a 0,01%. Esses tubos foram mantidos em agitação por 24 horas, para extrair os corpos poliédricos de inclusão (CPI) do VPN. A suspensão resultante em cada tubo foi centrifugada a 7.000 rpm por 20 minutos, sendo o precipitado obtido diluído em água e o número de CPI/ml determinado em câmara de Neubauer. As suspensões obtidas foram diluídas para 10^5 e 10^6 CPI/ml, sendo utilizadas para contaminar discos de 5 cm² de folha de soja, pipetando 0,08 ml em cada disco, previamente descontaminado com hipoclorito de sódio (4,0%) e lavado por quatro vezes em água esterilizada. Cada disco foi então fornecido a quatro lagartas de *A. gemmatalis* do 3º instar (80/tratamento), por 24 horas, em placas de Petri contendo papel filtro umedecido. Em seguida, as lagartas

foram transferidas, em grupos de quatro, para copos de plástico (50ml) contendo dieta artificial de *A. gemmatalis* (Hoffmann-Campo *et al.* 1985). A atividade do VPN passado pelo trato digestivo de cada predador foi comparada com a do VPN obtido diretamente de lagartas mortas e purificado. Como testemunhas foram utilizadas lagartas alimentadas com discos de folha tratados com água esterilizada. O experimento foi implantado com grupos de predadores, totalizando quatro ensaios, cada um deles contemplando o tratamento a base de vírus purificado, obtido de lagartas mortas pelo VPN.

A quantificação do número de CPI do vírus, expelido diariamente nas fezes, foi realizada com adultos de *C. granulatum*, em função da sua grande capacidade de consumo de lagartas. Os adultos utilizados nesse teste foram obtidos de larvas alimentadas com lagartas sadias, no laboratório. Ao atingirem o estágio adulto, quatro fêmeas e três machos foram alimentados durante três dias com lagartas contaminadas pelo VPN. Em seguida, foram individualizados em placas de Petri contendo papel filtro e alimentados com lagartas sadias, por seis dias consecutivos. As placas, o papel filtro e o alimento foram substituídos diariamente, sendo as porções de papel, contendo as fezes do predador, recortadas e colocadas em tubos de vidro com 5 ml de água + SDS a 0.01%. Após agitação por 24 horas, as suspensões resultantes foram quantificadas quanto ao número de CPI/ml, em câmara de Neubauer.

Os dados relativos aos bioensaios com VPN passado pelo trato digestivo dos predadores foram submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados permitiram verificar que as sete espécies avaliadas eliminaram corpos poliédricos de inclusão (CPI) intactos após se alimentarem de lagartas de *A. gemmatalis* mortas pelo vírus (Tabela 1). A atividade do VPN que passou pelo trato digestivo dos

predadores não sofreu perda significativa ($P < 0,05$) em relação à atividade do VPN purificado, obtido de lagartas mortas pelo patógeno. Resultados semelhantes foram obtidos com o VPN de *A. gemmatalis* e outros predadores, como *P. maculiventris* (Abbas & Boucias 1984) e *N. roseipennis* (Young & Yearian 1987) e com a aranha *O. salticus* (Kring *et al.* 1988). Fezes do pássaro *Molothrus* sp., coletadas em um campo de soja tratado com este VPN, na Louisiana, EUA, apresentaram vírus ativo em 80% das amostras coletadas (Fuxa & Richter 1994).

Quanto ao VPN excretado por adultos de *C. granulatum*, o maior nível do patógeno nas fezes ocorreu no 1º dia após a interrupção do fornecimento de lagartas contaminadas, sendo que os machos expeliram maior quantidade ($4,0 \times 10^7$ CPI) do que as fêmeas ($2,7 \times 10^6$ CPI), representando, respectivamente, 99,8 e 87,4% do total de VPN eliminado durante o período de observação (Tabela 2). Nos dias subsequentes, a quantidade de VPN nas fezes decresceu rapidamente e apenas um macho de *C. granulatum* expeliu VPN detectável no 4º dia. Verificou-se, ainda, que as fêmeas eliminaram uma quantidade total de VPN cerca de 13 vezes menor do que aquela observada para os machos. A eliminação de vírus por quatro dias, com rápido declínio após o 1º dia, também foi observada para *P. maculiventris* (Abbas & Boucias 1984) e para *C. sayi* (Young & Hamm 1985) alimentados com lagartas de *A. gemmatalis* e de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), respectivamente, infectadas por seus VPN. Adultos de *N. roseipennis*, alimentados com lagartas de *A. gemmatalis* contaminadas por VPN, excretaram vírus infectivo durante 10 dias (Young & Yearian 1987), embora 98% o tenha sido nos dois primeiros dias. Por outro lado, as ninfas do pentatomídeo *Oeochalia schellenbergii* (Guérin-Ménéville), têm como característica reter CPI, que somente são excretados por ocasião da muda final de tegumento (Cooper 1981). A permanência de VPN por 10-15 dias no trato digestivo deste predador resultou em redução na infectividade do vírus para 4,2%. A rápida eliminação de

Tabela 1. Mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* tratadas com duas doses de vírus de poliedrose nuclear extraído, de fezes de predadores alimentados com lagartas infectadas pelo vírus.

Ensaio/Tratamento	Mortalidade por Vírus (No. e %) ¹	
	Dose de VPN - Em CIP/ml	
	1,0 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁶
I. <i>Nabis capsiformis</i>	62(77,5%)NS ³	70(87,5%) NS
<i>Eriopsis connexa</i>	53(66,2%)	67(83,7%)
Vírus purificado ²	57(71,2%)	72(90,0%)
II. <i>Calosoma granulatum</i>	71(88,7%)NS	77(96,2%) NS
Vírus purificado	77(96,2%)	77(96,2%)
III. <i>Lebia concinna</i>	—	56(70,0%) NS
<i>Callida</i> sp.1	—	69(86,2%)
<i>Nabis capsiformis</i>	—	66(82,5%)
Vírus purificado	—	68(85,0%)
IV. <i>Calosoma granulatum</i>	—	80(100%) NS
<i>Podisus</i> sp.	—	80(100%)
<i>Callida</i> sp.2	—	80(100%)
Vírus purificado	—	80(100%)

¹A mortalidade nas testemunhas foi inferior a 7,5%, em todos os testes.

²Vírus obtido diretamente de lagartas mortas pelo VPN.

³Não houve diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste de Duncan, a 5 % de probabilidade.

VPN ingerido parece constituir-se em importante mecanismo de disseminação de vírus entomopatogênicos.

Os resultados obtidos mostraram que os sete predadores estudados eliminaram poliedros do VPN de *A. gemmatalis* altamente infectivos, com grande quantidade detectável nas primeiras 24 horas após a ingestão de lagartas mortas pelo patógeno. No caso de *C. granulatum*, mais de 93% dos CPI foram excretados em 24 horas. Após a aplicação do VPN em lavoura de soja, lagartas de *A. gemmatalis* contaminadas tornam-se debilitadas, perdem os mecanismos

de defesa, constituindo-se, assim, em presas fáceis para os vários predadores (Moscardi & Corrêa-Ferreira 1985). Portanto, em áreas onde se aplica o vírus, é válido assumir que a principal fonte alimentar de predadores se constitua de lagartas de *A. gemmatalis* infectadas pelo VPN. Dessa forma, esses predadores podem se constituir em importantes agentes de disseminação do vírus, tanto nas áreas de uso do patógeno como para fora delas, contribuindo para a formação de focos primários da doença, os quais são importantes para promover epizootias do patógeno em populações da praga.

Tabela 2. Número médio e percentagem de corpos poliédricos de inclusão (CPI) do vírus de poliedrose nuclear (VPN) de *Anticarsia gemmatalis* expelidos nas fezes do predador *Calosoma granulatum*, após terem sido alimentados por 24 horas com lagartas infectadas pelo VPN.

Adultos Avaliados por Sexo	Número Médio e Percentagem de CPI nas Fezes			
	Dias Após a Ingestão do VPN			
	1	2	3	4
Machos (3)	4,0 x 10 ⁷ (99,8%)	4,2 x 10 ⁴ (<0,2%)	3,1 x 10 ⁴ (0,03%)	1,0 x 10 ⁴ (0,01%)
Fêmeas (4)	2,7 x 10 ⁶ (87,4%)	9,4 x 10 ⁴ (6,7%)	7,0 x 10 ⁴ (5,8%)	—
Média	2,2 x 10 ⁷	6,8 x 10 ⁴	5,0 x 10 ⁴	0,5 x 10 ⁴

Literatura Citada

Abbas, M.S.T. & D.G. Boucias. 1984.

Interaction between nuclear polyhedrosis virus-infected *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and predator *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). Environ. Entomol. 13: 599-602.

Bergoin, M. 1966. Passage des corps d'inclusion de virus d'une polyédrie nucléaire dans le tube digestif d'un orthoptère détritivore, *Acheta domesticus* L. Entomophaga 2: 253-259.

Biever, K.D., P.L. Andrews & P.A. Andrews. 1982. Use of a predator, *Podisus maculiventris*, to distribute virus and initiate epizootics. J. Econ. Entomol. 75: 150-152.

Boucias, D.G., M.S.T. Abbas, L. Rathbone & N. Hostetter. 1987. Predators as potential dispersal agents of the nuclear

polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis* (Lep.: Noctuidae) in soybean. Entomophaga 32: 97-108.

Capinera, J.L. & P. Barbosa. 1975.

Transmission of nuclear polyhedrosis virus to gypsy moth larvae by *Calosoma sycophanta*. Ann. Entomol. Soc. Am. 68: 593-594.

Cooper, D.J. 1981. The role of predatory hemiptera in disseminating a nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis punctiger*. J. Austr. Entomol. Soc. 20: 145-150.

Fuxa, J.R. & A.R. Richter. 1994. Distance and rate of spread of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus released into soybean. Environ. Entomol. 23: 1308-1316.

Fuxa, J.R., A.R. Richter & M.S. Strother. 1993. Detection of *Anticarsia gemmatalis*

- nuclear polyhedrosis virus in predatory arthropods and parasitoids after viral release in Louisiana soybean. *J. Econ. Entomol.* 28: 51-60.
- Hoffmann-Campo, C.B., E.B. de Oliveira & F. Moscardi. 1985.** Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, Documentos 3, 21p.
- Kring, T.J., S.Y. Young & W.C. Yearian. 1988.** The striped lynx spider, *Oxyopes salticus* Hentz (Araneae: Oxyopidae), as a vector of a polyhedrosis virus in *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Entomol. Sci.* 23: 394-398.
- Moscardi, F. & B.S. Corrêa-Ferreira. 1985.** Biological control of soybean caterpillars, p.703-711. In R. Shibles (ed.), World soybean research conference III : Pro- ceedings. Boulder and London, Westview Press, 1262 p.
- Moscardi, F. & D.R. Sosa-Gomez. 1992.** Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil, p.98-109. In L.G. Copping, M.B. Green & R.T. Rees (eds.), Pest management in soybean. London, Elsevier Applied Science, 369p.
- Smirnof, W.A. 1959.** Predators of *Neodiprion swainei* Midd. (Hymenoptera: Tenthredinidae) as larval vectors of virus diseases. *Can. Entomol.* 91: 246-249.
- Vago, C., J. Fosset & M. Bergoin. 1966.** Disséminacion des virus de polyédries par les éphippigères prédateurs d'insectes. *Entomophaga* 2: 177-178.
- Young, O.P. & J.J. Hamm. 1985.** The consumption of two fall armyworm pathogens with a predaceous beetle, *Calosoma sayi* (Coleoptera: Carabidae). *J. Entomol. Sci.* 20: 212-218.
- Young, S.Y. & W.C. Yearian. 1987.** *Nabis roseipennis* adults (Hemiptera: Nabidae) as disseminators of nuclear polyhedrosis virus to *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Environ. Entomol.* 16: 1330-1333.
- Young, S.Y. & W.C. Yearian. 1992.** Movement of nuclear polyhedrosis virus into velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) larval populations on soybean by *Nabis roseipennis* (Heteroptera: Nabidae). *J. Entomol. Sci.* 27: 126-134.

Recebido em 06/07/95. Aceito em 24/06/96.