

INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO SOLAR NA SOBREVIVÊNCIA DE
Vairimorpha (Nosema) necatrix (PROTOZOA: MICROSPORA)
EM FOLÍOLOS DE CAUPI¹

Maria G.A. Lima²

Jeffrey C. Lord³

Americo I. Ciociola⁴

ABSTRACT

Survival of *Vairimorpha (Nosema) necatrix* (Protozoa: Microspora) spores on leaflets of cowpea (*Vigna unguiculata*) under solar radiation

Survival of binucleate spores of *Vairimorpha necatrix* on leaflets of cowpea (*Vigna unguiculata*) exposed to solar radiation was evaluated in field experiments at the National Research Center for Rice and Bean/EMBRAPA, Brazil, during December, 1985.

Purified spores were applied on either the upper or lower surface of leaflets, and unpurified spores were applied only on the upper surface of leaflets. Treated plants were taken to the field and exposed to solar radiation for 0, 24, 48, 72 or 96 hours. Leaflets collected at 24 hour intervals were used in bioassays with *Spodoptera latifascia* Walker, 1856. All treatments showed higher percentages of dead larvae than infected live larvae through 24 hours. This indicates the occur-

Recebido em 15/05/87

¹ Parte da Dissertação apresentada pelo primeiro autor, como um dos requisitos ao grau de Mestre em Agronomia, área de concentração Fitossanidade - ESAL, Lavras, MG.

² Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), EMBRAPA, Caixa Postal 179, CEP 74000 Goiânia, GO.

³ Insects Affecting Man and Animals Lab., P.O. Box 14565, Gainesville, FL 32604, USA.

⁴ Departamento de Fitossanidade da Escola Superior de Agricultura de Lavras, Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG.

rence of septicemia caused by ingestion of a high number of viable spores. It was further observed that unpurified binucleate spores survived better than purified spores.

RESUMO

O trabalho foi desenvolvido no CNPAF, em dezembro de 1985, para avaliar, no campo, a influência da radiação solar na sobrevivência de esporos binucleados de *Vairimorpha necatrix* aplicados sobre folíolos de caupi (*Vigna unguiculata*).

Foram feitas aplicações de esporos purificados, nas partes adaxial e abaxial dos folíolos, e de esporos não purificados na parte adaxial. Após as aplicações, as plantas foram levadas ao campo e submetidas à radiação solar, por 0, 24, 48, 72 e 96 horas. Foram feitas amostragens de folíolos para bioensaios com lagartas de *Spodoptera latifascia* Walker, 1856. Observou-se, em todos os tratamentos nas duas primeiras leituras, que a porcentagem de lagartas mortas por septicemia e microsporidiose foi maior do que a de lagartas vivas infectadas com microsporídio. Verificou-se, ainda, que os esporos binucleados não purificados sobreviveram mais quando expostos à radiação solar do que os purificados.

INTRODUÇÃO

O microsporídio *Vairimorpha necatrix* é patogênico a várias espécies de lepidópteros, principalmente noctuídeos (MADDOX et al., 1981). Para utilização deste patógeno como agente de controle biológico, é necessário conhecer o efeito de alguns fatores do ambiente sobre sua sobrevivência no campo, entre os quais, a radiação ultravioleta é um dos mais importantes.

O tempo máximo de sobrevivência de esporos de *V. necatrix* expostos à radiação solar sobre lâminas de vidro, folhas de milho, dieta artificial para lagartas e misturados ao solo foram, respectivamente, de três, quatro e meia, nove e mais de 28 horas após a aplicação (MADDOX, 1977). Esporos pulverizados no ápice e na parte basal do feijoeiro causaram infecção respectivamente, em 24 e 90% das lagartas de *Estigmene acrea*, 60 horas após a aplicação (KAYA, 1977).

A porcentagem de infecção em lagartas de *Heliothis zea* por *V. necatrix* aplicado na folhagem de soja decresceu de 91 para 14% num intervalo de 10 dias (GARDNER et al., 1977). Por outro lado, FUXA & BROOKS (1978) acharam que a persistência dos esporos do mesmo microsporídio após a aplicação na folha

gem de soja foi maior (dez dias) do que na de fumo ou algodão (quatro dias). Segundo os autores, essa diferença pode estar relacionada às diferentes características de crescimento das plantas das duas espécies e, como a soja cresce mais desuniformemente, as folhas mais novas sobrepõem-se às mais velhas.

Considerando-se a importância da estabilidade de *V. necatrix* e sua potencialidade para o controle biológico, nas condições do Brasil, realizou-se esta pesquisa, para avaliar a influência da radiação solar sobre os esporos do microsporídeo em folíolos de caupi no campo.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada, no CNPAF, no campo e em laboratório, em dezembro de 1985. Para a produção do inóculo, uma suspensão de esporos de *V. necatrix* isolado de *Pseudaletia unipuncta*, proveniente de Illinois, EUA, foi pulverizada sobre folíolos de caupi. Em seguida, os folíolos foram fornecidos em placa de Petri a lagartas de *Spodoptera latifascia* Walker, 1856, com nove dias de idade, mantidas na dieta artificial de POITOUT & BUES (1970). Após a inoculação, as lagartas foram acondicionadas em incubadoras, à temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante um intervalo de dez a quinze dias, e, em seguida, armazenadas a -10°C , por um período de oito a 40 dias.

As suspensões de esporos foram preparadas a partir de lagartas maceradas em almofariz, filtradas em gaze tripla, agitadas e centrifugadas a 2000 rpm durante 15 minutos. Após cada centrifugação, o sobrenadante foi examinado em microscópio ótico com aumento de 400x. Quando detectada a presença de esporos, era feita uma nova centrifugação, a 3000 rpm durante 30 minutos. Caso contrário, o sobrenadante era descartado, e o precipitado suspenso em água destilada e submetido a novas centrifugações a 2000 rpm durante 15 minutos. Após as centrifugações, as suspensões de esporos foram armazenadas a 4°C durante oito dias até a realização dos bioensaios. Foram utilizadas também suspensões de esporos não purificados (não centrifugado).

Para verificar a sobrevivência dos esporos, após exposição em luz solar, procedeu-se à inoculação de plantas de caupi, com 18 dias de idade, em laboratório. Os folíolos da primeira folha trifoliolada foram pulverizados com $3,5 \times 10^3$ esporos/ mm^2 . Em seguida, as plantas pulverizadas foram levadas para o campo e submetidas a cinco períodos de exposição à luz solar (0, 24, 48, 72 e 96 horas). Esporos purificados, do microsporídeo, foram pulverizados na parte abaxial e adaxial dos folíolos, enquanto que, na parte adaxial, pulverizaram-se esporos não purificados. As plantas testemunhas foram pulverizadas com água destilada.

Utilizaram-se blocos inteiramente casualizados, num arranjo fatorial 5 x 4 x 4. Cada parcela consistiu de 7 lagartas, totalizando 28 lagartas por tratamento.

A temperatura e a radiação no local, onde as plantas permaneceram, foram registradas através de um termohigrógrafo e de um medidor de radiação solar eletrônico (localizados a 20 cm das plantas), a intervalos de 30 e 10 minutos, respectivamente.

Após a exposição, as plantas foram levadas ao laboratório, para avaliação da viabilidade dos esporos através de bioensaios com lagartas de *S. latifascia*. Com auxílio de um vazedor de 11mm de diâmetro, três a quatro discos de cada folíolo pulverizado foram retirados e colocados, individualmente, em placas de Petri (3,4 cm x 1,0 cm), contendo papel de filtro umedecido. Em cada placa foi colocada uma lagarta, submetida a um jejum de oito a 12 horas. Após 24 horas, as lagartas que consumiram pelo menos 75% do disco do folíolo foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato, com 2,5 cm de diâmetro e 8,5 cm de comprimento, contendo uma camada de 4 cm da dieta artificial antes referida.

As avaliações foram diárias até o 12º dia após as inoculações, época em que, tanto as lagartas vivas como as mortas, foram perfuradas na região pleural, para retirada de uma gota de hemolinfa a ser observada em microscópio ótico com aumento de 400x. Foram consideradas infectadas as lagartas com esporos na hemolinfa e/ou tecido gorduroso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A temperatura e a radiação solar registradas durante a experimentação constam no Quadro 1.

Devido à alta dose de *V. necatrix* utilizada ($3,5 \times 10^3$ esporos/mm²), verificaram-se três maneiras de manifestação da doença: 1) presença do microsporídio e sobrevivência das lagartas; 2) presença do microsporídio e morte das lagartas; e 3) morte por septicemia, em consequência da ingestão de um grande número de esporos, que perfuraram a parede do intestino, facilitando a penetração de bactérias, fato este constatado também por FUXA (1981). Nas duas primeiras leituras foi observado que em todos os tratamentos a percentagem de lagartas mortas por septicemia e microsporidiose foi maior do que a de lagartas vivas, infectadas com microsporídio (Quadro 2).

Na testemunha, constatou-se, nas lagartas morte por septicemia e infecção por microsporidiose em todos os tempos de exposição. Provavelmente, este fato indica contaminação no campo. Contudo, o número de mortes devido à contaminação foi baixo em relação ao número observado nos outros tratamentos (Quadro 2).

QUADRO 1 - Radiação cumulativa, temperaturas máxima, mínima e média, no período de 4 a 8 de dezembro de 1985, em condições de campo.

Horas	Radiação cumulativa cal/cm ²	Temperaturas (°C)		
		Máxima	Mínima	Média
24	563	39,5	17,5	26,2
48	1.207	48,0	16,0	29,3
72	1.806	47,0	17,0	29,9
96	2.339	47,0	18,0	30,3

Observou-se nas primeiras 24 horas, um início de queda na viabilidade dos esporos purificados expostos na parte adaxial do folíolo. Nos tratamentos com esporos na parte abaxial e esporos não purificados, não foi detectada perda na viabilidade, até 24 horas. Quarenta e oito horas após a aplicação do inóculo, observou-se um decréscimo na sua viabilidade. Em todos os tratamentos, houve um decréscimo mais acentuado após 72 horas. Verificou-se, também, que em 96 horas os esporos não purificados sobreviveram mais à radiação solar do que nos outros tratamentos, provavelmente devido à presença de fragmentos de lagarta que os protegeram contra a radiação.

Os resultados deste trabalho parecem discordar dos relatados por MADDIX (1977), que observou que os esporos sobre folhas de milho foram totalmente inativados quatro horas e meia após a aplicação. Mas isto pode estar relacionado com a dose mais baixa ($5,0 \times 10^2$ esporos/lagarta), com a maneira de expor os esporos (em folhas destacadas) e com o grau de purificação e também, com a cultura usada. Por outro lado, os resultados obtidos nesta pesquisa assemelham-se aos de KAYA (1977), segundo o qual os esporos purificados expostos no ápice da planta de feijão mantiveram-se totalmente infectivos durante 12 horas, seguindo-se de uma perda brusca de infectividade, 28 horas após a aplicação. Já os expostos nas folhas da parte basal da planta mantiveram sua infectividade durante 28 horas, com pequeno decréscimo, 60 horas após a aplicação.

Os resultados indicam também que os esporos não devem ser purificados e, quando aplicados no campo, deve-se tentar sua pulverização nas partes da planta menos expostas à radiação solar. A eficácia deste patógeno, no controle de lagartas, aumentaria bastante com o desenvolvimento de substâncias ou métodos de aplicação que atenuem o efeito destas radiações.

QUADRO 2 - Mortalidade de lagartas de *Spodoptera latifascia* alimentadas com folíolos de caupi pulverizados com esporos binucleados de *Vairimorpha necatrix* ($3,5 \times 10^3$ esporos/mm²) e expostos à radiação solar.

Parte do folíolo pulverizado	Reação ao microsporídio	Mortalidade (%)/Tempo de exposição (h)				
		0	24	48	72	96
Adaxial ¹	Morte/septicemia	89	32	10	3	7
	Morte/microsporidiose	7	25	19	18	11
	Vivas/microsporidiose	0	28	57	53	18
	Sadias	4	15	14	26	64
Abaxial ¹	Morte/septicemia	58	61	11	3	0
	Morte/microsporidiose	28	25	32	24	7
	Vivas/microsporidiose	14	14	39	46	28
	Sadias	0	0	18	27	65
Adaxial ²	Morte/septicemia	68	40	15	3	4
	Morte/microsporidiose	32	28	28	26	21
	Vivas/microsporidiose	0	32	50	57	46
	Sadias	0	0	7	14	29
Testemunha (água)	Morte/septicemia	14	14	10	0	7
	Morte/microsporidiose	0	0	0	0	0
	Vivas/microsporidiose	0	0	0	7	0
	Sadias	86	86	90	93	93

¹Esporos purificados.

²Esporos não purificados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao convênio EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão e Instituto Boyce Thompson através do Programa Cooperativo de Apoio a Pesquisa (CRSP - Title XII/USAID), que dispôs todo o apoio necessário à realização da pesquisa.

LITERATURA CITADA

- FUXA, J.R. Susceptibility of lepidopterous pest to two types of mortality caused by the microsporidium *Vairimorpha necatrix*. *J. econ. Ent.* 74(1): 99-102, 1981.
- FUXA, J.R. & BROOKS, W.M. Persistence of spores of *Vairimorpha necatrix* on tobacco, cotton, and soybean foliage. *J. econ. Ent.* 72(2): 169-172, 1978.
- GARDNER, W.A.; SUTTON, R.M.; NOBLET, R. Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea riley*, and *Nosema necatrix* on soybean foliage. *Environ. Ent.* 6(5): 616-618, 1977.
- KAYA, H.K. Survival of spores of *Vairimorpha (Nosema) necatrix* (Microsporida: Nosematidae) exposed to sun light, ultraviolet radiation, and high temperature. *J. Invertebr. Pathol.* 30(2): 192-198, 1977.
- MADDOX, J.V. Stability of entomopathogenic protozoa. *Misc. Publ. ent. Soc. Am.* 10(3): 3-18, 1977.
- MADDOX, J.V.; BROOKS, W.M.; FUXA, J.R. *Vairimorpha necatrix*, a pathogen of agriculture pest potential for pest control. In: BURGESS H.D., *Microbial control of pests and plant diseases*. London, Academic Press, 1981. p.587-594.
- POITOUT, S. & BUES, R. Élevage de plusieurs espèces de lépidoptères Noctuidae sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* 2: 79-91, 1970.