

SUSCETIBILIDADE DE TRÊS ESPÉCIES DE LEPIDÓPTEROS ASSOCIADOS À SOJA
A TRÊS ISOLADOS DO FUNGO *Nomuraea rileyi* (FARLOW) SAMSON

Flávio Moscardi¹, Josiane G. Kastelic² e Daniel R. Sosa Gómez¹

ABSTRACT

Susceptibility of three lepidopterous species associated to soybeans to three isolates of the fungus *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson.

Three isolates of the entomopathogenic fungus *N. rileyi*, obtained in soybeans fields of northern Paraná State, respectively from larvae of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (velvetbean caterpillar), *Pseudoplusia includens* (Walker) (soybean looper) and *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (fall armyworm), were assayed on these species at 5, 20, 80, and 180 conidia/mm² of soybean leaf surface, aiming to determine their relative virulence to the test insects. Lethal median concentrations (LC₅₀) were 27.8, 33.9, and 48.3 conidia/mm² of leaf surface for each isolate on its original host, respectively *A. gemmatalis*, *S. frugiperda*, and *P. includens*. A high variability among isolates was observed, with each isolate showing high virulence to the respective original host, but very low activity to the other species. KEYWORDS: *Nomuraea rileyi*; specificity; virulence; pathotypes; lepidopterous.

RESUMO

Três isolados do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi*, obtidos respectivamente de larvas de *Anticarsia gemmatalis* (lagarta da soja), *Pseudoplusia includens* (lagarta falsa-medideira) e *Spodoptera frugiperda* (lagarta do cartucho do milho) coletadas em lavouras de soja no Norte do Paraná, foram testados sobre estas espécies, em condições de laboratório, nas doses de 5, 20, 80 e 180 conídios/mm² de superfície foliar de soja, visando determinar sua virulência relativa aos insetos-teste. A concentração

Recebido em 03/04/91

1 Centro Nacional de Pesquisa de Soja - EMBRAPA, Caixa Postal, 1061, 86001-970 Londrina PR.

2 Bolsista do CNPq.

letal média (CL₅₀) foi de 27,8, 33,9 e 48,3 conídios/mm² para cada isolado sobre seu hospedeiro original, respectivamente *A. gemmatalis*, *S. frugiperda* e *P. includens*. Houve grande variabilidade entre os isolados e cada um deles mostrou alta virulência ao seu hospedeiro original, mas com atividade muito reduzida sobre as outras espécies. PALAVRAS-CHAVE: *Nomuraea rileyi*; especificidade; virulência; patótipos; lepidópteros.

INTRODUÇÃO

A ocorrência natural do fungo *N. rileyi* é reconhecida como fator importante para a regulação de populações de lepidópteros em várias culturas, especialmente em soja, onde este organismo é capaz de dizimar populações da lagarta da soja, *A. gemmatalis* e da lagarta falsa-medideira, *P. includens*, quando as condições climáticas lhe são favoráveis (ALLEN *et al.*, 1971; CORREA & SMITH, 1975; KISH & ALLEN, 1978; HEINRICHS *et al.*, 1979; HOFFMANN *et al.*, 1979; IGNOFFO, 1981; MOSCARDI, 1984, 1990).

O desenvolvimento desse agente como inseticida microbiano vem sendo considerado (IGNOFFO, 1981; BELL *et al.*, 1982; SILVA & LOCH, 1987). A seleção de isolados virulentos a complexos definidos de pragas torna-se importante (BOUCIAS *et al.*, 1982), uma vez que grandes variações têm sido observadas em *N. rileyi*, tanto para isolados obtidos de distintas regiões geográficas (COSTA-MILAN, 1989) como de diferentes espécies de lepidópteros (BOUCIAS *et al.*, 1984). IGNOFFO *et al.* (1976), por exemplo, demonstraram que larvas de *Trichoplusia ni* (Hübner) foram igualmente suscetíveis a isolados de *N. rileyi* oriundos dos estados do Mississippi e Missouri, EUA, e do município de Guaíba, RS, Brasil; entretanto, um isolado obtido na Flórida, EUA, mostrou-se sete a 17 vezes menos virulento que aquelas provenientes das outras regiões. Desses isolados, o único que apresentou elevada virulência para *A. gemmatalis* foi o proveniente de Guaíba; os demais mostraram baixa ou nenhuma atividade. Da mesma maneira, COSTA-MILAN (1989) verificou diferenças na suscetibilidade de *A. gemmatalis* a isolados de *N. rileyi* coletados em diferentes regiões do Rio Grande do sul.

PUTTLER *et al.* (1976) testaram um isolado de *N. rileyi*, obtido de *Heliothis zea* (Boddie), sobre nove espécies de lepidópteros, verificando que uma das espécies, *Pieris rapae* (Linnaeus), não foi suscetível, enquanto, para as demais espécies, observaram diferença de 23 vezes entre a menos suscetível (*A. gemmatalis*) e a mais suscetível (*Spodoptera exigua* Hübner). Da mesma forma, BOUCIAS *et al.* (1982), trabalhando com os isolados FL-74 e FL-78 de *N. rileyi* obtidos respectivamente de *P. includens* e *A. gemmatalis*, verificaram que o FL-78 apresentou alta atividade sobre *A. gemmatalis*, *P. includens*, *H. zea* e *S. exigua*, mas baixa atividade sobre *S. frugiperda*. O FL-74, no entanto, apresentou baixa atividade sobre *A. gemmatalis* e alta virulência às demais espécies. Esses dois isolados também mostraram diferenças quanto à exi-

gências nutricionais para germinação de conídios (BOUCIAS & PENDLAND, 1984) e a outros comportamentos, quando comparados a outros isolados de *N. rileyi* (BOUCIAS *et al.*, 1984).

Considerando essas variações, buscou-se, no presente trabalho, comparar a atividade biológica de três isolados de *N. rileyi*, obtidos de três espécies de lepidópteros associados a cultura da soja, no Norte do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de *N. rileyi* utilizados foram obtidos respectivamente, de larvas de *A. gemmatilis*, *P. includens* e *S. frugiperda*, em lavouras de soja, na região de Londrina, PR, durante a safra 1984/85. Cada um foi mantido, em laboratório, sobre o hospedeiro do qual foi originalmente obtido, através de multiplicações periódicas (6-8 passagens, durante um período de seis meses), antes da realização dos bioensaios. As três espécies de insetos utilizadas foram provenientes de colônias mantidas no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSo) - EMBRAPA, segundo HOFFMANN-CAMPO *et al.* (1985).

Para a realização dos bioensaios, conídios recém obtidos de cada isolado foram misturados a água destilada + Tween 0,1% e sua concentração determinada em câmara de Neubauer. A avaliação de viabilidade de conídios foi realizada em placas de Petri (9cm de diâmetro), contendo meio Saboraud Maltose Agar + extrato de levedura, sendo a leitura realizada em microscópio óptico, após incubação por 12 horas, contando-se o número de conídios germinados e não germinados em quatro campos de quatro placas por isolado. Em seguida, as suspensões-estoque de cada isolado foram diluídas, de modo a propiciar doses de 5, 20, 80 e 180 conídios viáveis/mm² de superfície foliar, e pipetadas em volume de 0,05ml sobre discos de folhas de soja com 11,36cm², previamente imersos em solução de hipoclorito de sódio 4,0% e depois lavados em água destilada + Tween 0,1%. Para um total de 60 larvas/isolado/dose, de cada uma das espécies testadas, foi oferecido um disco contaminado a cada três larvas do 3º instar em placas de Petri contendo papel filtro umedecido, incubadas a 26 ± 1°C e sob fotofase de 12 horas. As larvas-testemunha foram fornecidos discos tratados apenas com água destilada+Tween 0,1%. Após 24 horas, as larvas foram transferidas para copos plásticos (30 ml) contendo dieta artificial (GREENE *et al.*, 1976) não contaminada e novamente incubadas nas condições anteriormente descritas. Foi anotada, diariamente, a mortalidade provocada por *N. rileyi* ou outras causas, até a mortalidade total ou a transformação em pupas. Os dados foram submetidos à análise de probites (Programa SAEG - Universidade Federal de Viçosa, MG), visando determinar as concentrações letais médias (CL₅₀) para os diferentes isolados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação de cada isolado de *N. rileyi* sobre seu hospedeiro original, através da análise de probites, mostrou que as concentrações letais médias (CL₅₀) foram de 27,8, 33,9 e 48,3 conídios/mm², respectivamente, para os isolados obtidos de *A. gemmatalis*, *S. frugiperda* e *P. includens*, com os valores de 4,7, 6,0 e 9,1 para a CL₁₀ e de 164,8, 191,5 e 255,8 conídios/mm² para a CL₉₀ (Quadro 1). Os isolados, portanto, comportaram-se de maneira semelhante quanto a atividade aos respectivos hospedeiros, com o de *P. includens* mostrando-se ligeiramente inferior aos das outras espécies, como evidenciado pelos intervalos de confiança da CL₅₀. Não foi possível determinar as equações de regressão e, conseqüentemente, os valores de CL₁₀, CL₅₀ e CL₉₀, para cada um dos isolados sobre as espécies que não o hospedeiro original, em função de sua baixa suscetibilidade às doses utilizadas.

Os dados relativos à mortalidade provocada pelos isolados sobre as três espécies de insetos encontram-se no Quadro 2. Verificou-se que cada isolado apresentou alta virulência ao hospedeiro do qual foi originalmente obtido a campo, entretanto, com atividade nula para as outras espécies nas três primeiras doses (5, 20 e 80 conídios/mm²). Mesmo na dose mais elevada, as mortalidades foram baixas nas espécies que não o hospedeiro original, para os três isolados.

Os resultados mostram grande variabilidade entre os três isolados, embora tenham sido coletados em uma mesma cultura e região. Estes dados estão de acordo com a literatura existente, a qual mostra que raças de *N. rileyi* obtidas de um determinado hospedeiro tendem a se manter altamente virulentas a este, mas com respostas variadas a outras espécies de lepidópteros (IGNOFFO *et al.*, 1976; PUTTLER *et al.*, 1976; BOUCIAS *et al.*, 1982, 1984; FRANÇA *et al.*, 1989). Deste modo, embora o fungo seja normalmente constatado em populações naturais de diferentes lepidópteros associados à soja, suas relações com os hospedeiros podem ser tão específicas quanto as observadas no presente trabalho. Nestas circunstâncias, considerando a ocorrência relativa das três espécies de lepidópteros em lavouras de soja, o isolado de *A. gemmatalis* tenderia a predominar, dada sua especificidade e maior abundância de seu hospedeiro em relação às outras espécies de inseto estudadas.

A especificidade verificada nos isolados trabalhados pode ter sido acentuada pelo tipo de multiplicação "in vivo" realizado em condições de laboratório, pois, antes da instalação dos experimentos, cada isolado foi passado 6-8 vezes exclusivamente pelo hospedeiro original. IGNOFFO *et al.* (1982) não detectaram alterações significativas na virulência de um isolado de *N. rileyi* multiplicado mediante 12 passagens seriadas "in vitro" e "in vivo". Entretanto BOUCIAS *et al.* (1982) observaram diferenças evidentes entre dois isolados mantidos respectivamente sobre *A. gemmatalis* e *P. includens*, os quais também mostraram exigências nutricionais distintas para a germinação de conídios

(BOUCIAS & PENDLAND, 1984). Em consequência, o conhecimento da variabilidade natural de *N. rileyi*, bem como de alterações de virulência decorrentes de sua multiplicação "in vivo" ou "in vitro", serão importantes para a seleção de isolados virulentos a determinados complexos de pragas, com o objetivo de seu uso como inseticida microbiano.

CONCLUSÃO

Os isolados de *N. rileyi* utilizados no presente trabalho, coletados de larvas de *A. gemmatilis*, *P. includens* e *S. frugiperda*, em lavouras de soja, são de alta virulência aos respectivos hospedeiros originais, mas de atividade reduzida às outras espécies.

QUADRO 1 - Concentrações letais, expressas em conídios/mm² de superfície foliar, para obtenção de 10% (CL₁₀), 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) de mortalidade em lagartas de *Anticarsia gemmatilis*, *Spodoptera frugiperda* e *Pseudoplusia includens*, tratadas pelos respectivos isolados do fungo *Nomuraea rileyi* coletados nessas espécies em lavouras de soja, na região de Londrina, PR.^{1,2}

Isolado obtido e testado em	CL ₁₀	CL ₅₀	CL ₉₀	Equação ³
N1- <i>A. gemmatilis</i>	4,69 (3,01-6,55)	27,81 (22,49-34,03)	164,82 (122,76-241,80)	$y = 2,60832 + 1,65613 x$
N2- <i>S. frugiperda</i>	6,00 (3,95-8,22)	33,88 (27,64-41,30)	191,47 (142,70-280,86)	$y = 2,39623 + 1,70183 x$
N3- <i>P. includens</i>	9,12 (6,18-12,26)	48,32 (39,80-58,73)	255,84 (189,31-381,06)	$y = 2,2213 + 1,76823 x$

¹ Foram utilizadas 60 lagartas do 3º instar de cada espécie/isolado/dose.

² Números em parêntese indicam intervalo de confiança (95%).

³ y = probite; x = log dose.

QUADRO 2 - Mortalidade observada em lagartas de *Anticarsia gemmatalis*, *Spodoptera frugiperda* e *Pseudoplusia includens*, após sua inoculação com isolados do fungo *Nomuraea rileyi* obtidos dessas espécies em lavouras de soja na região de Londrina, PR.

Isolado de <i>N. rileyi</i> /hospedeiro original	Dose do fungo (conídios/mm ²) ¹	MORTALIDADE (%)		
		Inseto - Teste		
		<i>A. gemmatalis</i>	<i>S. frugiperda</i>	<i>P. includens</i>
N1 - <i>A. gemmatalis</i>	5	17,5	0	0
	20	31,2	0	0
	80	68,7	0	0
	180	100,0	3,7	10,0
N2 - <i>S. frugiperda</i>	5	0	15,0	0
	20	0	23,7	0
	80	0	65,0	0
	180	11,2	98,7	8,7
N3 - <i>P. includens</i>	5	0	0	10,0
	20	0	0	17,5
	80	0	0	50,0
	180	12,5	15,0	97,5

¹ Doses administradas na superfície de discos de folhas de soja fornecidos a lagartas de 3^o ínstar de cada espécie.

LITERATURA CITADA

- ALLEN, G. E.; GREENE, G. L.; WHITCOMB, W. H., 1971. An epizootic of *Spicaria rileyi* on the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, in Florida. *Fla Ent.* 54:189-191.
- BELL, J. V.; HAMALLE, R. J.; IGNOFFO, C. M., 1982. Methods and costs of producing *Nomuraea rileyi* conidiospores. *Advances in Agricultural Technology, Southern Series nr. 24, USDA/ARS*, 7p.
- BOUCIAS, D. G., SCHOBORG, E. A.; ALLEN, G. E., 1982. The relative susceptibility of six noctuid species infection by *Nomuraea rileyi* isolated from *Anticarsia gemmatalis*. *J. Invertebr. Pathol.* 39:238-240.
- BOUCIAS, D. G.; BRADFORD, D. L.; BARFIELD, C.S., 1984. Susceptibility of the velvetbean caterpillar and soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) to *Nomuraea rileyi*: Effects of pathotype, dosage, temperature, and host age. *J. econ. Ent.* 77 (1): 247-253.
- BOUCIAS, D.G. & PENDLAND, J. C., 1984. Nutritional requirements for conidial germination of several host range pathotypes of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *J. Invertebr. Pathol.* 43:288-292.
- CORREA, B. S. & SMITH, J. G., 1975. *Nomuraea rileyi* attacking the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, in Paraná. *Fla Ent.* 58: 280.
- COSTAMILAN, L. M., 1989. Aspectos de variabilidade em nove isolados do fungo entomôgeno *Nomuraea rileyi*. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 107p.
- FRANÇA, M. M.; TIGANO, M. S.; CARVALHO, R. S., CORDEIRO, C.M.T., 1989. Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* aos fungos entomopatogênicos de *Beauveria bassiana* e *Nomuraea rileyi*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 12, Belo Horizonte, Soc. Ent. Brasil, p.254. Resumos.
- GREENE, G. L., LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A., 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. econ. Ent.* 69(4):487-488.
- HEINRICHS, E. A., GASTAL, H. A. de O.; GALILEO, M. H. M. 1979. Incidence of natural control agents of the velvetbean caterpillar and response of its predators to insecticide treatments in Brazilian soybean fields. *Pesqui. Agrop. bras.* 14: 79-87.
- HOFFMANN, C. B.; FOERSTER, L. A.; NEWMAN, G. G., 1979. Incidência estacional de doenças e parasitas em populações naturais de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Plusia* spp. em soja. *An. Soc. ent. Brasii* 8(1):115-124.

- HOFFMANN-CAMPO, C. B.; OLIVEIRA, E. B. de; MOSCARDI, F., 1985. Criação massal da lagarta da soja. Londrina, EMBRAPA Centro Nacional de Pesquisa de Soja, 23p. (EMBRAPA-CNPSo, Documentos 10).
- IGNOFFO, C. M., 1981. The fungus *Nomuraea rileyi* as microbial insecticide p.513-538. In: H. D. BURGESS, (ed) *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. New York, Academic Press.
- IGNOFFO, C. M.; PUTTLER, B.; HOSTETTER, D. L.; DICKERSON, W. A., 1976. Susceptibility of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*, to several isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *J. Invertebr. Pathol.* 28:259-262.
- IGNOFFO, C. M., McINTOSH, A.H.; GARCIA, C.; KROHA, M.; JOHNSON, J. M., 1982. Effects of successive "in vitro" and "in vivo" passages on the virulence of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *Entomophaga* 27(4): 371-378.
- KISH, L. P. & ALLEN, G. E., 1978. *The biology and ecology of Nomuraea rileyi and a program for predicting its incidence on Anticarsia gemmatilis in soybean*. Gainesville. Florida Agric. Exp. Stn. Bull. nr. 795. 48p
- MOSCARDI, F., 1984. Microbial control of insects pests in grain legume crops. p. 189-222. In: P. C. MATESON, (ed.) *Proceedings of the international workshop in Integrated Pest Control for grain Legumes*. Brasília. EMBRAPA-CNPAP/Univ. of California - CICP.
- MOSCARDI, F., 1990. Uso de entomopatôgenos no manejo de pragas de soja no Brasil, p. 207-220. In: O. A. FERNANDES; A. C. B. CORREA; S. A. DE BORTOLI. (eds.) *Manejo integrado de Pragas e Nematoides*, Jaboticabal, Simpósio de Manejo Integrado de Pragas, FUNEP/UNESP.
- PUTTLER, B.; IGNOFFO, C. M.; HOSTETTER, D. L., 1976. Relative susceptibility of nine caterpillar species to the fungus *Nomuraea rileyi*. *J. Invertebr. Pathol.* 27:269-270.
- SILVA, L. da & LOCH, L. C., 1987. Esporulação do fungo entomopatogênico *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson em meio de cultura à base de grãos de arroz polidos. *An. Soc. ent. Brasil*, 16 (1):213-222.