

## EFEITO DO VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR DE *Pseudaletia sequax* FRANCL. (VPNPs) SOBRE TRÊS ESPÉCIES DE NOCTUÍDEOS

Josué Sant'Ana<sup>1</sup> e Rogério F.P. Silva<sup>1</sup>

### ABSTRACT

Effects of Nuclear Polyhedrosis Virus of *Pseudaletia sequax* Francl. (VPNPs) on Three Noctuid Species

This work was carried out in the laboratory to observe possible adverse effects of *Baculovirus pseudaletia* at the concentrations of  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  and  $1 \times 10^7$  polyhedra/ml, on larvae and pupae of *Pseudaletia sequax* Francl., *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott), and *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). The NPVPs showed to be highly virulent to larvae of *P. sequax*, with a death rate of 95.8% at dose of  $1 \times 10^7$  pol/ml. The mean lethal concentration ( $LC_{50}$ ) for this species was  $1 \times 10^{3.2}$  pol/ml. Larvae of *A. gemmatilis* also showed susceptibility to the pathogen, with 56.2% mortality at high virus concentration of virus; the  $LC_{50}$  for this species was  $1 \times 10^{6.2}$  pol/ml. Larvae of *S. frugiperda* were susceptible to the highest concentration of *B. pseudaletia*, but death rate was low (6.25%).

KEY WORDS: Insecta, biological control, *Baculovirus*, *Anticarsia gemmatilis*, *Spodoptera frugiperda*.

### RESUMO

O trabalho foi conduzido em laboratório com o objetivo de avaliar os possíveis efeitos adversos do *Baculovirus pseudaletia* nas concentrações de  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^7$  poliedros/ml, sobre lagartas e crisálidas de *Pseudaletia sequax* Francl., *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) e *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). O VPNP apresentou alta virulência para lagartas de *P. sequax*, com mortalidade de 95,8% na dose de  $1 \times 10^7$  pol/ml; a concentração letal média ( $CL_{50}$ ) para esta espécie foi de  $1 \times 10^{3.2}$  pol/ml. Lagartas de *A. gemmatilis* também apresentaram suscetibilidade ao patógeno, com 56,2% de mortalidade na maior concentração de vírus; a  $CL_{50}$  para esta espécie foi de  $1 \times 10^{6.2}$  pol/ml. Lagartas de *S. frugiperda* foram suscetíveis a maior concentração do *Baculovirus pseudaletia*, no entanto, com baixo nível de mortalidade (6,25%).

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, controle biológico, *Baculovirus*, *Anticarsia gemmatilis*, *Spodoptera frugiperda*.

Recebido em 21/10/93. Aceito em 29/09/94.

<sup>1</sup> Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Caixa postal 776, 90012-970, Porto Alegre, RS.

## INTRODUÇÃO

Os baculovírus constituem um dos mais conhecidos e bem estudados grupos de vírus. Sua ocorrência é relatada somente no Filo Arthropoda, sendo que quase a totalidade está dentro da Classe Insecta (Alves 1986). São conhecidos como baculovírus, o vírus de poliedrose nuclear (VPN) e o vírus de granulose (VG). Estes vírus são seletivos, efetivos, seguros e, sob condições favoráveis, apresentam estabilidade (Burgess *et al.* 1980). Harrap (1974), citado por Moscardi & Corso (1982) enfatiza que a transmissão de viroses de insetos para outras espécies, que não o hospedeiro original, é considerada uma ocorrência comum dentro da classe Insecta. Ignoffo (1968, 1975), citado pelos mesmos autores, observou que o vírus tem uma possibilidade maior de ser patogênico a espécies do mesmo gênero e família, daquela do hospedeiro natural, do que para outras famílias, havendo poucos exemplos de infectividade para outras ordens. No entanto, dentro do grupo dos baculovírus, os VPNs têm se mostrado com amplo espectro. Fiuza (1991), observou o efeito de diferentes concentrações do VPNs sobre lagartas de *Pseudaletia sequax* Francl. Segundo o autor, as lagartas pequenas (cerca de 13,5 mm) e médias (cerca de 25,5 mm) foram altamente suscetíveis ao vírus, onde a concentração de  $3,1 \times 10^5$  pol/ml, causou mortalidade de 76,6 e 72%, respectivamente. Tanada (1961), estudou a patogenicidade do VPN e VG de *P. unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre o 1º, 2º, 3º e 4º instares de lagartas de *Spodoptera mauritia* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae), e constatou que nenhuma lagarta em experimento apresentou os sintomas da doença. O mesmo autor também testou a virulência do VPN de *S. mauritia* em lagartas de *P. unipuncta* e chegou a mesma conclusão. No entanto, Chang & Tanada (1977) constataram que lagartas de 3º instar de *Spodoptera exigua*, *Autographa californica* e *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), quando inoculadas com suspensões não purificadas do vírus de granulose de *P. unipuncta* (VGpu), através de discos de folhas de alfafa ou milho, apresentaram-se suscetíveis ao VG. Yamoto & Tanada (1980), em pesquisas laboratoriais com VPN nas concentrações de  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  e  $10^8$ , avaliaram que a concentração letal média (CL50) para lagartas de *P. unipuncta* foi de  $5 \times 10^5$  poliedros/ml, sendo que na concentração de  $10^8$  pol/ml, a infecção foi de 100%.

Neste trabalho, estudou-se efeitos adversos do *Baculovirus pseudaletia* sobre lagartas e crisálidas de *P. sequax*, *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, uma vez que estas espécies aparecem associadas a diversas culturas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Testou-se as seguintes espécies de noctuídeos: *P. sequax* (lagarta do trigo), obtidas na Estação Experimental da Secretaria de Agricultura (Viamão-RS), em lavouras de trigo; *S. frugiperda* (lagarta-do-cartucho-do-milho), coletadas na Estação Experimental da Faculdade de Agronomia da UFRGS (Eldorado do Sul-RS), em plantações de milho; e *A. gemmatalis*, (lagarta da soja) provenientes da criação artificial da GEMATEC (Cruz Alta-RS). O vírus foi obtido de lagartas do gênero *Pseudaletia*, coletadas nas regiões de Ubiratã, PR e São Borja, RS, em 1982. O vírus foi multiplicado em lagartas de terceiro instar de *P. sequax*, inoculadas com folhas de trigo contendo poliedros virais. As lagartas infectadas foram maceradas com água destilada (2ml/lagarta morta), e o líquido resultante foi coado duas vezes, através de três camadas de gaze estéril. A suspensão final de poliedros foi, então, deixada em repouso por dois minutos para que houvesse a precipitação do material e, mensurada com o auxílio de um hemocitômetro (câmara de Neubauer), ao microscópio óptico, sob aumento de 400X.

Posteriormente, foi realizada a contagem desses poliedros nos quatro grandes quadros de cada canto da câmara e no quadrado central, de modo a viabilizar a preparação das quatro diluições com diferentes concentrações, ou seja,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  e  $1 \times 10^7$  poliedros/ml. Cada suspensão foi quantificada duas vezes e, no final, foi considerada a média. Para inoculação do VPNTs via oral, pequenos discos de folhas (1 cm de diâmetro) de *Brachiaria plantaginea* capim papuã para *P. sequax* e *S. frugiperda* e, de soja para *A. gemmatilis*, foram imersos nas diferentes suspensões correspondentes aos tratamentos utilizados e colocados em placas de acrílico contendo 24 cavidades. Cada disco recebeu um volume médio de 0,03 ml de suspensão de VPN. Nas testemunhas, a suspensão viral foi substituída por água destilada. Foi colocado, então, uma lagarta de terceiro instar em cada cavidade. Para assegurar a individualização, estas placas foram fechadas com papel laminado e, para evitar o ressecamento dos discos foliares, as placas foram transferidas para câmaras úmidas e estas, por sua vez, foram mantidas a uma temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas. Depois de consumir todo o disco de folha inoculado com o vírus ou água destilada (24 à 48 horas), as lagartas foram novamente individualizadas em copos plásticos (50 ml) contendo dieta de realimentação, sem vírus e sem formaldeído, pois, segundo Ignoffo & Garcia (1968), o formaldeído possui atividade antiviral. Deste modo, poderia se concluir que a mortalidade de lagartas ou de crisálidas que viesse a ocorrer seria devido a uma única e conhecida dose de vírus inoculada. Os copos plásticos contendo as lagartas, foram mantidos à temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas. A mortalidade foi verificada diariamente até a fase de crisálida. As lagartas, quando mortas, foram maceradas, diluídas e a suspensão foi observada ao microscópio óptico para que se pudesse confirmar a infecção. O delineamento utilizado foi completamente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão. As médias foram agrupadas através do teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o VPNTs foi capaz de infectar e desenvolver-se em outras espécies de noctuídeos, causando diferentes níveis de mortalidade (Tabela 1). Constatou-se que *P. sequax*, o hospedeiro natural do vírus, foi altamente suscetível a este patógeno. A mortalidade larval na menor dose ( $1 \times 10^4$  pol/ml) diferiu significativamente da maior ( $1 \times 10^7$  pol/ml), com mortalidade de 66,6 e 95,8%, respectivamente. As demais doses, no entanto, não diferiram significativamente entre si. Os mesmos parâmetros de significância foram observados para o somatório de mortalidade de lagartas e crisálidas, contudo, os índices de mortalidade aumentaram para 77% na menor dose e para 100% na maior. Segundo os resultados obtidos, os percentuais de mortalidade tanto para lagartas, como para o somatório de lagartas e crisálidas, apresentaram um incremento, a medida que a dose de poliedros inoculada aumentou. Resultados semelhantes foram encontrados por Yamoto & Tanada (1980) e Fiuza (1991).

Verificou-se que lagartas de *P. sequax* submetidas a diferentes doses de VPN, não apresentaram na fase de crisálida, diferença significativa de mortalidade. Este fato também foi observado por Fiuza (1991). Lagartas e crisálidas de *S. frugiperda*, todavia, apresentaram baixa suscetibilidade ao VPNTs, com apenas 6,2% de mortalidade larval e 10,4% de mortalidade de crisálidas, na maior concentração. A resistência de lagartas do gênero *Spodoptera* à viroses que não do hospedeiro original, foi constatada por Tanada (1961). No entanto Chang & Tanada (1978), verificaram que lagartas pequenas de *S. exigua* foram

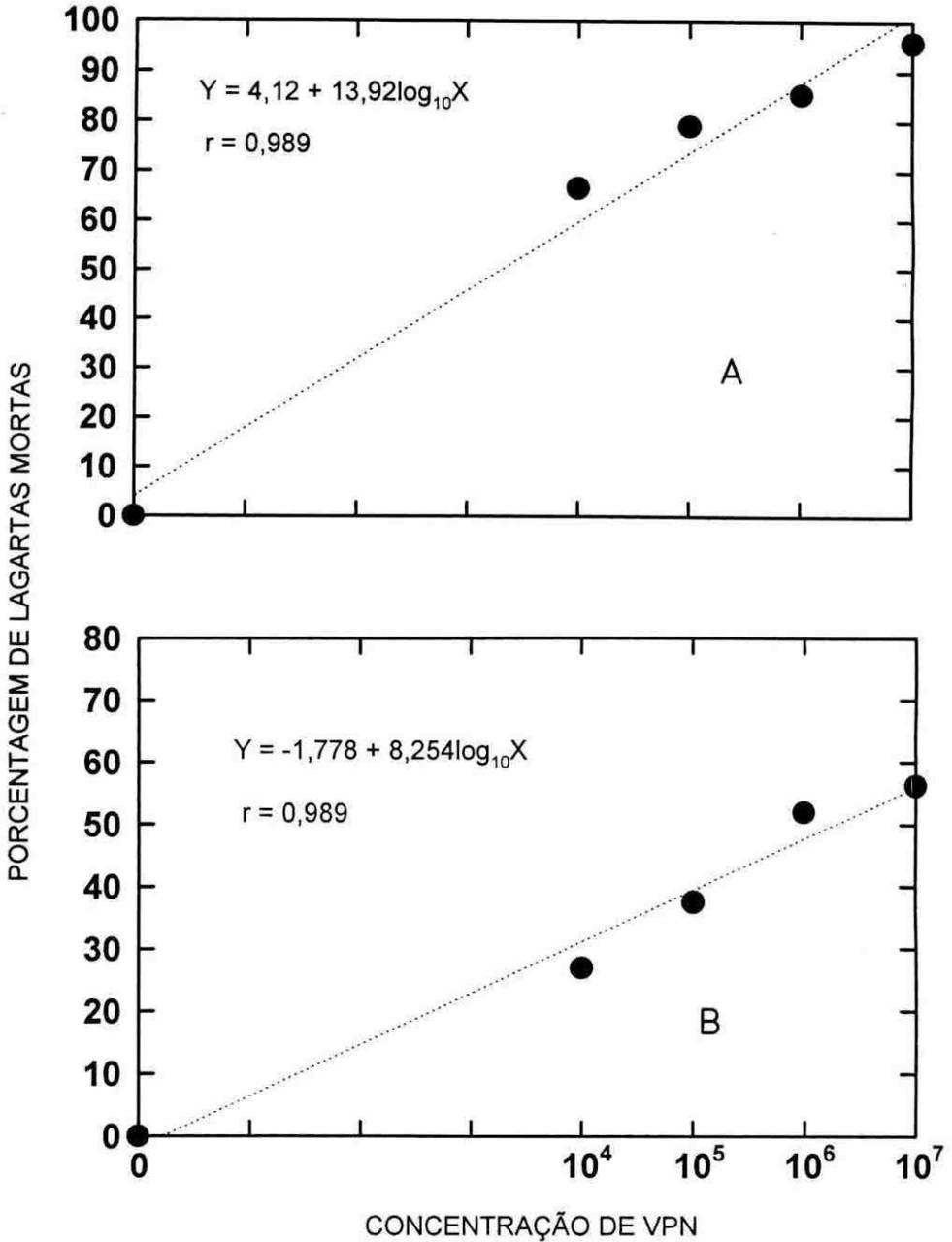


Figura 1. Diagrama de pontos e reta de regressão para mortalidade de lagartas de *Pseudaletia sequax* (A) e *Anticarsia gemmatalis* (B), e concentração do vírus de poliedrose nuclear.

Tabela 1. Mortalidade de lagartas e crisálidas de *Pseudaletia sequax* (Ps), *Spodoptera frugiperda* (Sf) e *Anticarsia gemmatalis* (Ag), submetidas a diferentes dosagens de *Baculovirus pseudaleitia* em condições de laboratório.

Doses (n° pol/ml)	Fase larval(%) <sup>1</sup>			Fase de crisálida(%) <sup>1</sup>			Total(%) <sup>1</sup>		
	Ps	Sf	Ag	Ps	Sf	Ag	Ps	Sf	Ag
Testem.	2,0a	0	4,1a	2,0	0a	0a	4,0a	0a	4,1a
1 x 10 <sup>4</sup>	66,6 b	2,0	27,1 b	10,4	0a	6,2ab	77,0b	2,0a	33,3b
1 x 10 <sup>5</sup>	79,1bc	0	33,5bc	4,1	0a	2,0abc	83,2b	0a	39,5b
1 x 10 <sup>6</sup>	85,4bc	0	52,1cd	6,2	0a	8,3bc	91,6b	0a	60,4c
1 x 10 <sup>7</sup>	95,9c	6,2	56,2d	4,1	10,4b	12,5c	100,0c	16,6b	68,7c
CV <sup>2</sup>	9,1%	11,7%	29,3%	29,7%	13,4%	18,4%	7,5%	10,5%	10,5%

<sup>1</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%. Total = Σ das fases larval e pupal.

<sup>2</sup> CV = Coeficiente de variação.

suscetíveis a *Baculovirus pseudaleitia*. O VPn foi mais patogênico para lagartas de *A. gemmatalis*, com níveis de mortalidade superiores a *S. frugiperda*, mas inferiores ao hospedeiro original. Os índices de mortalidade de *A. gemmatalis* variaram de acordo com a dose inoculada, ou seja, as lagartas inoculadas com a menor dose (1 x 10<sup>4</sup> pol/ml), diferiram significativamente das lagartas inoculadas com as doses de 1 x 10<sup>6</sup> pol/ml e 1 x 10<sup>7</sup> pol/ml, com mortalidade de 27, 52 e 56,2%, respectivamente.

Os resultados da concentração letal média (CL<sub>50</sub>) para as espécies de *P. sequax* (Fig. 1A) e *A. gemmatalis* (Fig. 1B) indicam que houve um incremento uniforme na mortalidade de lagartas, com o aumento da concentração viral, ou seja, houve uma relação aproximadamente linear entre as duas variáveis. Por meio da equação de regressão pode-se observar que a CL<sub>50</sub> para *P. sequax* foi de 10<sup>3,2</sup> pol/ml, ou seja, sensivelmente menor que a CL<sub>50</sub> para lagartas de *A. gemmatalis*, com 10<sup>6,2</sup> pol/ml. Yamoto & Tanada (1980) encontraram uma dose intermediária de CL<sub>50</sub> entre esses dois pontos, ou seja, 5 x 10<sup>5</sup> pol/ml em lagartas de *P. unipuncta*, inoculada com o VPnPu. Não foi possível determinar a CL<sub>50</sub> para lagartas de *S. frugiperda*, pois a maior concentração do vírus não alcançou índices de mortalidade de 50% para esta espécie.

#### LITERATURA CITADA

- Alves, S.B. 1986. Vírus entomopatogênicos, p. 171-187. In S.B. Alves (ed.) Controle microbiano de insetos. São Paulo, Manole, 407p.
- Burges, H.D., G. Croizier & J. Huber. 1980. A review of safety tests on *Baculoviruses*. Entomon. 25: 329-340.

- Chang, P. & Y. Tanada. 1977.** Serological study on the transmission of a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) to other lepidopterous species. *J. Invertebr. Pathol.* 31: 106-117.
- Fiuza, L.M. 1991.** Efeitos do vírus de poliedrose nuclear em diferentes concentrações sobre lagartas de *Pseudaletia sequax* Franclemont 1951 (Lep.: Noctuidae). Tese de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 86p.
- Ignoffo, C.M. & C. Garcia. 1968.** Formalin inactivation of nuclear polyhedrosis virus. *J. Invertebr. Pathol.* 10: 430-432.
- Moscardi, F. & I.C. Corso. 1982.** Ação de *Baculovirus anticarsia* sobre a lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818) e outros lepidópteros. *Anais Semin. Nac. Pesq. Soja*, vol. 2, p. 51-57.
- Tanada, Y. 1961.** The epizootiology of virus diseases in field populations of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Haworth). *J. Insect Pathol.* 3: 310-323.
- Yamoto, T. & Y. Tanada. 1980.** Acylamines enhance the infection of a *Baculovirus* of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lep.: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.* 35: 265-268.
-