

EFEITO DE VÍRUS DA POLIEDROSE NUCLEAR DE *ANTICARSIA GEMMATALIS*
AGVPN SOBRE *CHRYSOPERLA EXTERNA* (NEUROPTERA:
CHRYSOPIDAE) E *TRICHOGRAMMA PRETIOSUM* (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE)

THE EFFECT OF THE NUCLEAR POLYHEDROSIS OF *ANTICARSIA GEMMATALIS*
ON AGVPN ON *CHRYSOPERLA EXTERNA* (NEUROPTERA:
CHRYSOPIDAE) AND *TRICHOGRAMMA PRETIOSUM* (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE)

Clovis LAMAS*
Antonio BATISTA FILHO**
Luis Garrigos LEITE**
Laerte Antonio MACHADO**
José Eduardo Marcondes de ALMEIDA**
Luiz Francisco Angeli ALVES***

RESUMO

Avaliou-se o efeito de AgVPN sobre larvas e adultos do predador Chrysoperla externa e do parasitóide Trichogramma pretiosum. Para C. externa, foi observado que as larvas de primeiro instar alimentadas com ovos contaminados com o vírus, demoraram mais tempo para alcançar a fase de pupa. Em T. pretiosum, a presença do vírus não interferiu na oviposição deste parasitóide, mas houve interferência na longevidade da primeira geração, pois os adultos provenientes de ovos tratados com vírus após o parasitismo apresentaram significativa menor longevidade que a testemunha (6:66 e 8:42 dias, respectivamente), não havendo diferença para os adultos descendentes dos parasitóides desenvolvidos em ovos previamente expostos ao parasitismo.

Palavras-chave: AgVPN, parasitóide, predador, compatibilidade.

ABSTRACT

The effect of AgNPV was evaluated on larvae and adults of the predator Chrysoperla externa and the parasitoid Trichogramma pretiosum. For C. externa, it was verified

(*) Eng. Agrônomo - Bolsista do CNPq - Projeto financiado pelo CNPq.

(**) Instituto Biológico. CEIB C.P.70 13001-970 Campinas-SP.

(***) UNIOESTE, Cascavel-PR.

that coming pupas of larvae of first instar fed with the virus, took longer reach the pupa phase. In *T. pretiosum*, the presence of the virus did not interfere with the oviposition of this parasitoid but there was interference in the longevity of the first generation. This was because the coming adults of treated eggs with virus after the parasitism presented significantly shorter longevity than the control group (6:66 and 8:42 days, respectively). There was no difference from the adult descendants of the parasitoids previously developed in eggs exposed to the parasitism.

Key-words: AgNPV, parasitoid, predator, and compatibility.

INTRODUÇÃO

Os agentes microbianos de controle de pragas são considerados seguros para o ambiente, homem e inimigos naturais. Entretanto, é necessário a realização de estudos que comprovem essa segurança ou o impacto que determinado microrganismo entomopatogênico venha a causar.

Segundo MAGALHÃES *et al.* (1998), os microrganismos entomopatogênicos podem causar diferentes efeitos sobre parasitóides, predadores e insetos benéficos, causando morte de ovos, larvas e adultos, alteração do ciclo biológico, dificuldade de encontrar o hospedeiro e disseminação do patógeno. A interação entre vírus e predadores é menos estudada, porém existem constatações quanto à disseminação de partículas de vírus pelas fezes ou a diminuição da população do predador por transmissão horizontal. Na maioria dos predadores, as partículas de vírus passam ilesas no seu intestino.

Com relação aos estudos de impacto dos vírus entomopatogênicos a insetos benéficos ao homem, ALVES *et al.* (1996) inocularam operárias de *Apis mellifera* com iridovírus, vírus da granulose, vírus da poliedrose nuclear e os fungos *Nomuraea rileyi*, *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* em laboratório e campo. Não constatarem mortalidade por vírus e *N. rileyi* em nenhum dos tratamentos. Observaram baixa mortalidade de abelhas por *M. anisopliae* e *B. bassiana* em condições de campo, sem ocorrer epizootia. Em condições de laboratório, constatarem alta mortalidade a 35°C no caso de *B. bassiana* inoculada na dieta. Porém, concluíram que *M. anisopliae* e *B. bassiana* são incapazes de causar epizootia em campo e, conseqüentemente mortalidade significativa em abelhas quando usados no controle de pragas.

MOSCARDI *et al.* (1996) também avaliaram a atividade do AgVPN sobre os predadores: *Nabis capsiformis*, *Podisus* sp., *Callida* sp. (duas espécies), *Calosoma granulatum*, *Eriopsis connexa* e *Lebia concinna*, oferecendo lagartas de *Anticarsia gemmatalis* infectadas pelo vírus AgVPN, em laboratório. Esses autores compararam a atividade de corpos de inclusão poliédrica (CIP) obtidos de lagartas mortas pelo vírus com aqueles eliminados pelas fezes dos predadores após 24 horas da alimentação. Todas as espécies estudadas excretaram grande quantidade de CIP em 24 horas. O vírus obtido das fezes do predador não difere significativamente daquele extraído do hospedeiro, quanto a sua atividade. Adultos de *C. granulatum* excretaram 93% do CIP decorridos 24 horas da ingestão do vírus, com valores de 4×10^7 CIP/macho e $2,7 \times 10^6$ CIP/fêmea. Após o primeiro dia, a quantidade de CIP nas fezes decresceu rapidamente, não sendo detectados CIP após o quarto dia.

Além dos estudos de impacto, alguns pesquisadores verificaram a contaminação de suspensões de vírus com outros microrganismos entomopatogênicos, demonstrando a importância das análises de qualidade de bioinseticidas. GRZYWACZ *et al.* (1997) encontraram espécies de *Streptococci* sp., *Bacillus sphaericus* e *B. cereus* em concentrados de SfVPN, utilizados para o controle de *Spodoptera littoralis* em algodão no Egito. Esses contaminantes podem atuar sobre insetos benéficos como predadores, parasitóides ou polinizadores, causando um desequilíbrio ecológico.

WATANABE *et al.* (1997) também estudaram o efeito de AgVPN sobre *Podisus nigrispinus* em condições de laboratório. Verificaram que quando as ninfas desse predador alimentaram-se exclusivamente de lagartas infectadas por AgVPN, foram afetadas no seu crescimento e reprodução,

sendo que ocorreu uma diminuição da população do predador nas segundas e terceiras gerações, em condições de laboratório. De acordo com os autores, seriam necessários testes de campo para a comprovação destes resultados.

Esse trabalho teve como objetivo estudar o efeito de AgVPN sobre o predador *Chrysoperla externa* e o parasitóide *Trichogramma pretiosum*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Controle Biológico do Centro Experimental do Instituto Biológico, localizado em Campinas-SP.

O vírus utilizado foi testado na forma purificada. Inicialmente, lagartas mortas, cerca de 40 gramas, foram maceradas com 50 ml de água destilada e coadas através de camadas de gaze, pano e peneira de 0,42 mm de abertura.

Em seguida, a suspensão obtida foi distribuída em tubos e submetida a centrifugação na rotação de 4.000 rpm durante 4 minutos. O sobrenadante foi transferido para uma ultracentrífuga UP65 – VEB MLW MEDIZINTECHNIK LEIPZIG com 10°C de temperatura de trabalho e rotação de 8.000 rpm por um período de 20 minutos. Após essa operação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado diluído em água destilada e coado, obtendo-se a suspensão de vírus que foi utilizada no trabalho.

CHRYSOPERLA EXTERNA X AGVPN

Larvas de 1º instar

Larvas de primeiro instar de *Chrysoperla externa*, provenientes de criação artificial em laboratório, foram alimentadas com ovos de *Anticarsia gemmatalis*, também oriundos de criação artificial.

Os ovos de *A. gemmatalis* foram tratados com AgVPN a uma concentração de $2,7 \times 10^8$ poliedros/ml. Esses ovos foram mergulhados na suspensão de vírus por 3 minutos e, em seguida, secados em câmara de fluxo laminar. Cerca de 30 ovos tratados foram servidos aos predadores. Para

a testemunha foram oferecidos ovos tratados com água destilada.

Cerca de 60 insetos, subdivididos em 4 repetições de 15 indivíduos, receberam ovos de *A. gemmatalis* tratados com e sem AgVPN. Foram utilizados 120 tubos de vidro com 8,5 cm de altura e 2,5 cm de diâmetro sendo colocado um inseto por tubo.

Foram avaliados a duração da fase larval e pupal com os dados submetidos a um teste de comparação de médias (Tukey 5%).

Adultos

Os insetos foram separados em casais e mantidos em gaiolas. Foram utilizadas 20 gaiolas, sendo 10 gaiolas para o tratamento com vírus e outras 10 gaiolas para a testemunha. Cada gaiola foi constituída de um tubo de PVC (de 20 cm de altura e 10 cm de diâmetro), revestidos internamente com papel sulfite branco umedecido com água destilada. Na parte superior da gaiola foi colocada uma tela de tule (25/25 cm) presa com elástico de borracha. Na parte inferior, utilizou-se uma base de placa de Petri (15 cm de diâmetro) com papel de filtro (10 cm de diâmetro).

Esses insetos foram alimentados com dieta artificial a base de mel e levedura de cerveja. A esta dieta foi incorporada uma suspensão de AgVPN na concentração de $2,7 \times 10^8$ CIP/ml. Forneceu-se também um pequeno chumaço de algodão umedecido com a mesma suspensão e colocada na base superior da gaiola. Para a testemunha foi usado o mesmo procedimento, porém sem a suspensão de vírus.

Para a observação da viabilidade dos ovos, os mesmos foram coletados de cada gaiola e colocados em placa de Petri (9 cm de diâmetro) onde foram mantidos até a eclosão das larvas. As larvas eclodidas foram retiradas e individualizadas em tubos de vidro (8,5 cm de altura/ 2,5 cm diâmetro).

Para avaliação do experimento foram considerados a taxa de oviposição, período de incubação e duração das fases larval e pupal das progênes dos insetos. Esses dados foram analisados pelo teste de Tukey a 5%.

Trichogramma pretiosum x AgVPN

O hospedeiro *Anagasta kuehniella* e o parasitóide *T. pretiosum* foram fornecidos pelo Departamento de Entomologia da ESALQ/USP.

Os ovos do hospedeiro foram colocados em uma cartolina azul (0,5 cm de largura x 5,5 cm de comprimento), sendo o espaço demarcado para os ovos de 0,5 cm². Esses ovos foram colados com goma arábica. Depois de colados, as tiras de cartolina foram levadas a uma câmara e os ovos foram expostos a radiação ultra violeta por um período de 45 minutos, a uma distância de 10 cm, visando a sua inviabilização. Após esse procedimento, os ovos foram submetidos a três tratamentos, quais sejam: 1- imersão em suspensão de AgVPN seguida de exposição aos parasitóides; 2-exposição aos parasitóides seguida de imersão na suspensão de vírus e 3-imersão em apenas água (testemunha). O tempo de imersão e a concentração do patógeno foram respectivamente 1 minuto e 4 x 10⁶ CIP/ml. Em seguida esses ovos foram colocados em tubos de vidro de 8,5 cm de altura x 2,5 cm de diâmetro, os quais receberam previamente um fino risco de mel, que serviu como fonte de energia para o parasitóide. As fêmeas de *T. pretiosum* foram colocadas em tubos tamponados com filme plástico, e finalmente acondicionados em câmara para B.O.D. à temperatura de 25°C, Umidade Relativa de 60% e fotofase de 14 horas.

Para a avaliação do experimento foram considerados os ovos parasitados e adultos emergidos. Os dados foram submetidos a um teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 2. Fecundidade média de *Chrysoperla externa* exposta a AgVPN e duração da fase larval e pupal dos progênes do inseto (Temperatura 25±1°C, Umidade Relativa 70±10% e fotofase de 14 horas).

Parâmetro biológico ¹	Exposição		CV (%)
	Adultos não tratados	Adultos tratados	
Fecundidade ²	136,8 (132,4 - 141,2)A	189,0 (185,4 - 192,6)A	41
Período de incubação	4,5 (4,34 - 4,6) A	4,4 (4,3 - 4,5) A	11
Duração larval	13,2 (14,3 - 15,5) A	14,9 (12,7 - 13,7) B	13
Duração pupal	10,4 (10,0 - 10,9) A	10,4 (10,1 - 10,7) A	13

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

⁽²⁾ Refere-se ao número médio de ovos/fêmea durante toda a fase adulta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO**Chrysoperla externa x AgVPN**

O vírus não causou mortalidade significativa nas larvas de *C. externa*. Por outro lado, nas pupas provenientes de larvas alimentadas com o vírus, a mortalidade foi diferente das pupas de larvas não infectadas (Tabela 1).

A mortalidade não diferiu significativamente entre os tratamentos com e sem vírus no substrato, apesar de se observar que as fêmeas alimentadas com vírus ovipositaram em média 30% mais que as da testemunha (Tabela 2). Contudo, observou-se grande variação entre as repetições, o que indica não ser este um parâmetro biológico mais adequado.

Tabela 1. Mortalidade de larvas e pupas de *Chrysoperla externa* infectadas com AgVPN (Temperatura 25±1°C, Umidade Relativa 70±10% e fotofase de 14 horas).

Fase	Mortalidade (%)		CV (%)
	sem AgVPN	com AgVPN	
larva ¹	5,00 (0 - 10,0) a	5,00 (3,33 - 6,67) a	66
pupa ¹	3,35 (1,42 - 5,28) a	15 (10,0 - 20,0) b	53

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra na mesma linha e dentro de cada um dos períodos não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

Não houve diferença significativa ao se correlacionar a oviposição diária x exposição ao vírus ($F = 0,81$; $P = 0,56$). Entre os dias 10 e 15 houve alta taxa de oviposição, para ambos os grupos de fêmeas (tratadas e não tratadas), tendo as mesmas colocado cerca de 40% de ovos (Figura 1).

O período de incubação dos ovos não foi afetado pela presença do vírus no alimento das fêmeas, sendo a média para ambos os tratamentos,

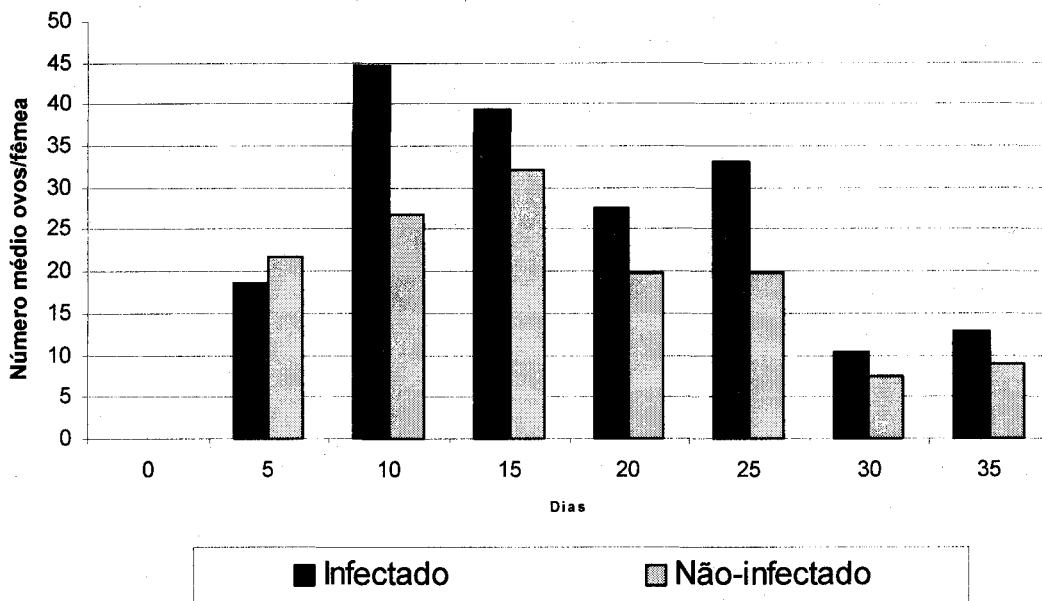


Figura 1. Variação da fecundidade média de *Chrysoperla externa* em função da exposição alimentar ao AgVPN.

Os resultados encontrados nesse experimento estão de acordo com MOSCARDI *et al.* (1996) que trabalhando com os predadores *Nabis capsiformis*, *Podisus sp.*, *Callida sp.* (duas espécies), *Calosoma granulatum*, *Eriopis connexa* e *Lebia concinna*, verificaram que quando foram oferecidas lagartas de *A. gemmatilis* infectadas pelo AgVPN não houve interferência nos adultos desses insetos, já que 93% da quantidade de poliedro ingerida era eliminada pelas fezes.

WATANABE *et al.* (1997) verificaram que quando as ninfas do predador *P. nigrispinus* se alimenta exclusivamente de lagartas de *A. gemmatilis* ocorre um efeito na no crescimento das ninfas e reprodução, verificando mortalidade de insetos nas segundas e terceiras gerações, indicando o efeito vírus sobre esse predador. A constatação de algum efeito maléfico do vírus sobre *C. externa* foi encontrada nesta pesquisa, verificando que o vírus

próxima de 4,4 dias ($F = 0,127$; $P = 0,724$). Por outro lado, o período larval da progênie foi significativamente maior, havendo aumento em cerca de um dia para os indivíduos provenientes de fêmeas expostas ao vírus ($F = 4,83$; $P = 0,037$), com 14,92 dias contra 13,2 da testemunha.

A duração da fase pupal não foi afetada pela presença do entomopatôgeno, sendo aproximadamente de 10 dias ($F = 0,002$; $P = 0,962$).

chegou causar 15% de mortalidade nas pupas. Em contrapartida, não se observou diferença no período de desenvolvimento das pupas, mas somente no período larval, demonstrando o efeito do vírus sobre este predador.

MAGALHÃES *et al.* (1998) constatou que os predadores que se alimentam de insetos infectados por vírus eliminam os poliedros através das fezes, não causando interferência nos adultos desses insetos, porém, pode haver interferência nas fases imaturas, à exemplo do que ocorreu nesta pesquisa.

Trichogramma pretiosum x AgVPN

Houve diferença significativa na porcentagem de parasitismo dos ovos tratados com vírus dos ovos não tratados com vírus. A porcentagem de ovos parasitados tratados previamente à exposição

ao parasito não diferiu da porcentagem dos ovos não tratados com o patógeno (Tabela 3), sugerindo não haver nenhum efeito do vírus na aceitação do hospedeiro por parte do parasitóide.

Como reflexo do menor parasitismo, para os ovos tratados com vírus após a sua exposição ao parasitóide, houve menor média de adultos emergidos em relação aos ovos tratados previamente a sua exposição ao *T. pretiosum*. Porém, não houve diferença significativa deste parâmetro em relação à testemunha, o que em última análise não afeta parasitismo no campo, mesmo em áreas tratadas com AgVPN.

Os indivíduos da geração F_2 não foram afetados pelo AgVPN. Os insetos provenientes de ovos não tratados e tratados não tiveram sua atividade alterada tendo os mesmos gerados número de progêneses semelhantes. Entretanto, a longevidade de F_2 não seguiu o mesmo comportamento. Os adultos provenientes de ovos parasitados e em seguida, tratados com vírus, apresentaram significativa menor longevidade em relação à testemunha (6,66 e 8,42, respectivamente) indicando haver alguma interferência do entomopatógeno sobre o parasitóide. Não houve diferença para os adultos originados de ovos parasitados, previamente tratados com vírus.

Tabela 3. Porcentagem de ovos de *Anticarsia gemmatalis* parasitados por *Trichogramma pretiosum* e porcentagem de adultos do parasitóide emergidos de ovos do hospedeiro tratados com vírus AgVPN, previamente ou após a exposição ao parasitóide, e de ovos não tratados, avaliados em duas gerações do agente de parasitismo (Temperatura $25 \pm 1^\circ\text{C}$, Umidade Relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas).

Parâmetro ¹	Ovos não tratados	Ovos tratados antes	Ovos tratados depois
F¹			
Ovos parasitados ²	33,4 A	31,7 AB	26,5 B
Adultos emergidos ³	33,8 AB	38,5 A	29,9 B
F²			
Ovos parasitados ⁴	18,54 A	9,86 A	19,34 A
Adultos emergidos ⁵	8,42 A	7,14 A	6,66 B

¹) Médias seguidas de mesma letra, na linha e em cada um das gerações, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

²) CV = 12,5%; ³) CV = 6,2%. Dados transformados por $\sqrt{x+0,5}$; ⁴) CV = 19,7%. Dados transformados por $\log x+10$ e ⁵) CV = 9,5%.

Segundo MAGALHÃES et al. (1998), para a interação de vírus entomopatogênicos e parasitóides podem haver aumento da suscetibilidade do hospedeiro, discriminação do hospedeiro infectado, morte prematura do hospedeiro e alteração da imunidade do hospedeiro. No caso de *T. pretiosum* não houve problemas com relação à perda de atratividade do parasitóide e o hospedeiro (ovo), porém ocorreu interferência no ciclo biológico na primeira geração de indivíduos que cresceram em hospedeiro infectado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B.; MARCHINI, L. C.; PEREIRA, R. M.; BAUMGRATZ, L. L. Effects of some insects pathogens on the Africanized honey bee, *Apis mellifera* L. (Hym., Apidae). *J. Appl. Entomol.*, v. 120, p. 559-564, 1996.
- GRZYNACZ, D.; MCKINLEY, D.; JONES, K. A.; MOAWAD, G. Microbial contamination in *Spodoptera littoralis* Nuclear Polyhedrosis produced in insects in Egypt. *J. Invert. Pathol.*, v. 69, p. 151-156, 1997.

- MAGALHÃES, B. P.; MONNERAT, R.; ALVES, S. B. Interações entre entomopatógenos, parasitóides e predadores. p. 195-216. In: ALVES, S. B. *Controle Microbiano de Insetos*. cap. 7. Ed. FEALQ: Piracicaba, 1998, 1163 p.
- MOSCARDI, F.; POLLATO, S. L. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Atividade do vírus de Poliedrose Nuclear de *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera; Noctuidae) após sua passagem pelo aparelho digestivo de insetos predadores. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 25, n. 2, p. 315-320, 1996.
- WATANABE, M. A.; DE NARDO, E. A. B.; MORAES, G. J.; MARIGO, A. L. Avaliação do efeito do *Baculovirus anticarsia* sobre *Podisus nigrispinus* (Dollár, 1851), predador da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* (Hubner, 1818). *Pesquisa em andamento*, EMBRAPA:CNPDA, nº 1, 1997, 4 p.