

Avaliação do potencial entomopatogênico do Baculovírus no controle biológico da lagarta-da-soja

Rosane Krohling Lira¹, Simone Boschetti Soder¹, Antônio Marcos Camozzato² e Monalisa Wolski Pereira³

¹Universidade Paranaense – UNIPAR, Curso de Ciências Biológicas. Rua Rui Barbosa 611, CEP: 85.810-240, Centro, Cascavel, PR.

²Universidade Federal de Pelotas – UFPel, Departamento de Sementes, Pelotas, RS.

³Universidade Estadual de Maringá – UEM, Departamento de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

rosanek20@hotmail.com, siboschetti@yahoo.com.br, amcamozzato@hotmail.com, wolski@hotmail.com

Resumo: Devido aos problemas acarretados pelo uso indiscriminado de inseticidas químicos para a redução de pragas agrícolas se torna necessário o desenvolvimento de práticas alternativas. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial entomopatogênico do Baculovírus no controle biológico da *Anticarsia gemmatilis* (Lagarta-da-soja), considerada uma das principais pragas na cultura da soja. As lagartas entre terceiro e quarto ínstar foram acondicionadas de dez em dez em um delineamento inteiramente casualizado, tomando-se cinco amostras como tratamento e duas amostras como controle. Os potes foram mantidos em estufa a 28°C. A inoculação do vírus foi realizada na preparação da dieta das lagartas tratamento onde se utilizou 0,4 g/ L do pó dissolvido em água destilada. As lagartas controle receberam a dieta sem a inoculação do vírus. A verificação da patogenicidade constou da observação das lagartas infectadas quanto às mudanças morfológicas, comportamentais, alimentícias e quanto à duração do ciclo de vida quando comparadas com as lagartas não infectadas. Com os resultados constatou-se que o Baculovírus possui boa efetividade no controle biológico da *Anticarsia gemmatilis*, onde 28% das lagartas foram levadas à morte em 3 dias, 98% em 7 dias e em oito dias 100% das lagartas foram levadas à morte.

Evaluation of entomopathogenic potential of baculovirus in the biological control of caterpillar soybean

Abstract: Due to the problems caused by the indiscriminate use of chemical insecticides for the reduction of agricultural plagues, it becomes necessary the development of practical alternatives. The objective of this work was evaluate the entomopathogenic potential of Baculovirus in biological control of the *Anticarsia gemmatilis* (soybean caterpillar), considered one of the main plagues in the culture of soybean. The caterpillar between third and fourth ínstar had been conditioned of ten in ten in a casual delineation, were 5 samples as treatment and 2 samples as control. The pots were kept in incubation at 28°C. The inoculation of the virus was carried through in the preparation of the diet of the caterpillar treatment where 0,4 g/ L of the powder dissolved in distilled water was used. The caterpillar control had received the diet without the virus. Characteristics as morphologic differences, behaviour, changes in feeding patterns and longevity of life cycle were observed, to compare caterpillar infected from not infected. With the results it was evidenced that Baculovirus have effectiveness in the biological control of the *Anticarsia gemmatilis*, where 28% of the caterpillar had been led to the death in 3 days, 98% in 7 days and eight days 100% had been taken to the death.

Key words: *Anticarsia gemmatilis*, Baculovirus, biological control.

Introdução

A soja, *Glycine max*, é considerada a mais importante oleaginosa cultivada no mundo, sendo que sua produção mundial está restrita principalmente aos Estados Unidos (EUA), Brasil e Argentina (Arantes e Souza, 1993). Dados da Companhia Nacional de Abastecimento (2004) designaram o Brasil como sendo o segundo maior produtor mundial de soja, depois dos EUA.

A perda da produtividade e os maiores prejuízos causados nas lavouras são devido à presença de insetos denominados pragas, os quais causam importantes danos às culturas se não forem disseminados a tempo (Moscardi e Souza, 2002).

Na cultura da soja, a *Anticarsia gemmatalis* “Lagarta-da-soja” é encontrada em locais de cultivo e é considerada o desfolhador mais comum da soja no Brasil, podendo chegar a 100% de desfolhamento (Hoffmann *et al.*, 2000).

O controle de pragas, principalmente em sistemas de produção agrícola, é realizado mediante aplicações de inseticidas químicos com o fim de reduzir os danos econômicos em lavouras, mesmo sabendo que a utilização desses produtos de alta toxicidade podem causar efeitos adversos ao homem e ao ambiente. O mercado mundial de defensivos agrícolas chega a valores próximos de US\$ 1,8 bilhões sendo 30% destinado aos acaricidas e pesticidas e apenas 1% aos bioinseticidas (Moscardi e Souza, 2002; Almeida e Batista Filho, 2001).

O controle biológico é uma alternativa viável para o combate de pragas e patógenos e vantajosa em relação ao controle químico, especialmente quanto ao impacto ambiental, ao custo, à especificidade e ao desenvolvimento de resistência (Franceschini *et al.*, 2001).

O controle biológico, assumiu um papel importante nos últimos anos, especialmente com a adoção de programas de manejo integrado de pragas (MIP), implementados como consequência do uso indiscriminado de agroquímicos que levaram a inúmeros problemas, desde a resistência de insetos e ácaros aos inseticidas e acaricidas até as próprias contaminações ambientais, fatores estes, que levaram o desenvolvimento deste método utilizando inimigos naturais como insetos, vírus, fungos, bactérias, nematóides, protozoários e outros, visando manter as pragas abaixo do nível de dano econômico (Parra, 2002).

Atualmente, o controle biológico assume importância cada vez maior em programas de manejo (MIP) o qual é sustentado além do controle biológico ao lado da taxonomia, do nível de controle e da amostragem. Nesse MIP devem ser adotados os procedimentos básicos de controle biológico que são: introdução de inimigos naturais, conservação e multiplicação (Parra, 2002).

O uso de vírus como o Baculovírus no controle da *Anticarsia gemmatalis* pode ser integrado neste programa de manejo graças as suas características de conferir segurança à saúde humana e ao ambiente. A partir do início da década de 1980, no Brasil, o uso desse vírus para o controle de insetos foi ampliado e considerado o maior programa para o controle da lagarta-da-soja, *A. gemmatalis*, um inseto de importância nacional e que demanda cerca de 60% das aplicações de inseticidas realizadas na soja no país (Souza *et al.*, 2002; Moscardi e Souza, 2002).

Para as pragas principais (lagartas desfolhadoras e percevejos), as amostragens devem ser realizadas com um pano-de-batida, preferencialmente de cor branca, preso em duas varas, com um metro de comprimento, o qual deve ser estendido entre duas fileiras de soja. As plantas da área compreendida pelo pano devem ser sacudidas vigorosamente sobre ele, havendo, assim, a queda das pragas sobre o pano, as quais deverão ser contadas. Este procedimento deve ser repetido em vários pontos da lavoura, considerando como resultado final a média dos vários pontos amostrados. Recomenda-se vistoriar a lavoura pelo menos uma vez por semana, iniciando as amostragens no princípio do ataque das pragas, intensificando o processo ao aproximar-se o nível de ação (Borkert *et al.*, 1994).

Este trabalho teve como objetivo verificar o potencial do Baculovírus como entomopatógeno no controle biológico *Anticarsia gemmatalis* na cultura da soja.

Material e Métodos

O Baculovírus foi obtido do estoque da Prof. Monalisa Wolski Pereira, mantido no Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense Campus de Cascavel.

As lagartas de *Anticarsia gemmatalis* foram cedidas pela Embrapa - Soja de Londrina - PR e mantidas em estufa no Laboratório de Microbiologia da Universidade Paranaense até a realização dos experimentos.

Para a preparação da dieta para *Anticarsia gemmatalis* realizou-se conforme a Tabela 1 três misturas: Mistura 01: proteína de soja; germe de trigo; levedura de cerveja; caseína. Mistura 02: Ácido ascórbico; formol; tetraciclina. Mistura 03: Agar bacteriológico.

Em seguida, cozinhou-se o feijão com 1L de água destilada, e separaram-se os grãos do filtrado. O filtrado foi completado com água destilada para 1L, e então, aquecido até 80°C.

No liquidificador colocou-se o feijão ainda quente com a mistura 1 e acrescentou-se um pouco do filtrado para que a mistura ficasse bem líquida.

Tabela 1: Dieta para *Anticarsia gemmatalis*

Feijão cru	62,5	g
Germe de trigo	50,0	g
Proteína de soja	25,0	g
Caseína hidrolisada	25,0	g
Levedura de cerveja	31,2	g
Ágar bacteriológico	10,0	g
Ácido ascórbico	3,0	g
Tetraciclina	0,125	g
Formaldeído 40%	3,0	mL

Posteriormente, colocou-se à mistura 3 com restante do filtrado e conduziu ao fogo, sempre mexendo, após levantar fervura, contou-se 1 minuto e, em seguida, acrescentou-se a mistura do liquidificador e ferveu-se por mais 2 minutos. Colocou-se a mistura novamente no liquidificador e acrescentou-se a mistura 2, à 70°C e batido até que a mistura ficasse bem homogênea.

Dividiu-se o preparado em dois recipientes: em um, quando a temperatura ficou abaixo de 50°C, adicionou-se 0,4 g de pó do Baculovírus dissolvido em água destilada (dieta para tratamento), no outro recipiente, não foi inoculado o vírus (dieta para controle).

Para o teste de Patogenicidade, lagartas entre o terceiro e o quarto ínstar foram acondicionadas de dez em dez (amostra) em potes descartáveis de plástico com tampa, em um delineamento inteiramente casualizado. Tomaram-se duas amostras como controle e cinco como tratamentos. As lagartas de *Anticarsia gemmatalis* tratamento foram alimentadas com a dieta contendo o Baculovírus, as lagartas controle receberam a dieta sem a inoculação do vírus. Estes potes foram mantidos em estufa a 28°C. Para verificar a patogenicidade do vírus nas lagartas de *Anticarsia gemmatalis* foram realizadas observações diárias quanto às mudanças morfológicas externas, comportamentais, alimentícias e a duração do ciclo de vida entre as lagartas infectadas e as não infectadas.

Resultados e Discussão

Os dados referentes à quantidade de lagartas que foram levadas à morte no intervalo de oito dias são apresentados na tabela 2.

TABELA 2 - Resultado do teste de patogenicidade do *Baculovírus* considerando o número de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* que foram levadas à morte em um intervalo de 8 dias.

Intervalo de dias	Número de lagartas mortas	
	Tratamento	Controle
3	14	00
4	00	00
7	35	00
8	01	00
Total:	50	00

De acordo com os dados citados na literatura, as lagartas quando infectadas tendem a morrer de 4 à 14 dias após a infecção (Hoffmann, 2000; Ribeiro e Pinedo, 2001; Secchi, 2002). Após a inoculação do *Baculovírus*, das cinquenta lagartas designadas para o tratamento, ao 3º dia, 14 foram levadas à morte, no 4º dia não houve morte, no 7º dia, 35 lagartas estavam mortas e, no 8º dia, as cinquenta lagartas estavam mortas, ou seja, em oito dias de tratamento, obteve-se um percentual de morte de 100%.

Na figura 1, pode-se observar que a infectividade do vírus foi de 28% em três dias, 98% em sete dias e 100% em oito dias, dados estes que estão dentro do intervalo de dias citados na literatura.

Este método de controle mostrou-se eficiente num intervalo curto de três a oito dias, sendo que, 28% das lagartas infectadas morreram em três dias após o início do tratamento, 98% foram levadas à morte em sete dias e, em oito dias, 100% das lagartas estavam todas mortas e apresentando seu corpo completamente degenerado.

Aconselha-se o uso do *Baculovírus* quando as lagartas estiverem nos primeiros estágios de desenvolvimento (1º, 2º, 3º e 4º ínstars) por serem mais susceptíveis e, consequentemente mais fáceis de serem controladas. À medida que crescem aumentam sua voracidade e tornam-se mais resistentes (Secchi, 2002).

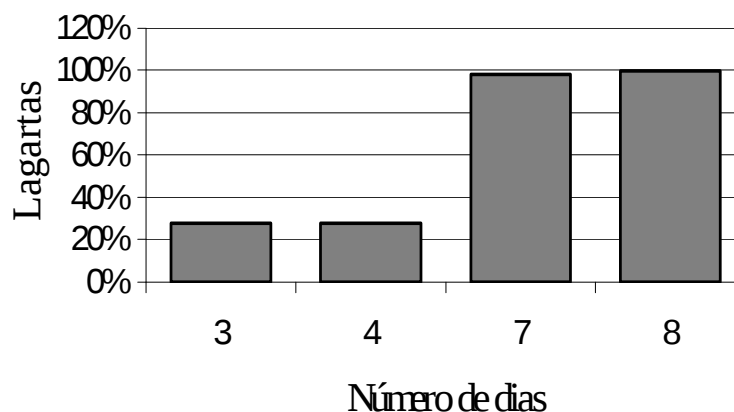


FIGURA – 1: Resultado do teste de patogenicidade do *Baculovírus* considerando a porcentagem de lagartas infectadas que foram levadas à morte no intervalo de 8 dias.

Este método de controle biológico através da utilização de *Baculovírus* tende a crescer cada vez mais devido as suas características de apresentar especificidade para a *Anticarsia gemmatalis*, não prejudicando os seres humanos, insetos benéficos e organismos não-alvo; não causando impacto ambiental nem desenvolvimento de resistência além de apresentar baixo custo (Alves e Batista Filho, 1998; Franceschini *et al.*, 2001; Souza, 2001).

O teste de patogenicidade feito para demonstrar a eficiência do *Baculovírus* no controle biológico da *Anticarsia gemmatalis* revelou que este vírus desempenha um importante papel entomopatogênico.

O *Baculovírus* age quando as lagartas ao se alimentarem de partes da planta contendo o *Baculovírus*, os corpos protéicos de inclusão (CPIs) presentes no *Baculovírus* propiciam a penetração dos CPIs virais no sistema digestivo do inseto e, ao chegar no intestino médio em contato com o pH altamente alcalino, estes CPIs são dissolvidos e liberam os vírions (nucleocapsídeo + envelope), cujas membranas se fundem às membranas das microvilosidades das células epiteliais do ventrículo (intestino médio) (Moscardi e Souza, 2002).

Em seguida, os nucleocapsídeos migram através do citoplasma da célula e penetram através dos poros nucleares atingindo o núcleo onde liberam o DNA viral ocorrendo a transcrição dos genes do vírus e a replicação do seu genoma. Estes nucleocapsídeos formados passam através da membrana nuclear e atravessam a membrana basal das células adquirindo

um novo envelope, nessa fase são chamados de budded virions (BVs) os quais atingem a hemolinfa e o sistema traqueal do inseto espalhando-se e provocando infecções secundárias em outros tecidos do hospedeiro onde, dentro da célula desses tecidos, formam-se BVs que se disseminam célula para célula. Nos estágios avançados da infecção formam-se CPIs nos quais ocorrem oclusão de vírions. Gradativamente, os núcleos das células infectadas tornam-se repletos de CPIs causando a ruptura das membranas celulares e a liberação de CPIs na hemolinfa do hospedeiro (Moscardi e Souza, 2002).

Confirmando as características citadas por Hoffmann (2000) e Secchi (2002), foi observado que as lagartas quando infectadas apresentam o corpo mole, amarelado e perdem a mobilidade ficando presas ao substrato apenas pelas falsas pernas. Após a morte apresentam o corpo escuro, completamente degenerado e com forte cheiro.

Conclusão

A partir dos dados obtidos relevaram a importância do uso do Baculovírus como uma boa opção para o combate da lagarta – da - soja, *Anticarsia gemmatilis*. Outros fatores que também relevam a escolha desse método de controle são: possuir um custo mais baixo que os inseticidas químicos e o próprio agricultor pode obtê-lo através da maceração das lagartas mortas pelo vírus; por permanecer na lavoura após uma aplicação podendo controlar as lagartas subsequentes; não causa riscos aos seres humanos e organismos não-alvo (especificidade para a *Anticarsia gemmatilis*).

Referências

- ALMEIDA, J. E. M.; BATISTA FILHO, A. Banco de Microrganismos Entomopatogênicos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 20, maio/junho 2001. Disponível em: <<http://biotecnologia.com.br/edicoes/ed20.asp>>. Acesso em: 22 mar. 2004.
- ALVES, L. F. A.; BATISTA FILHO, A. Formulação de entomopatógenos: uma boa formulação é a base para o sucesso de um inseticida microbiano. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 1, n. 5, março/abril 1998. Disponível em: <<http://biotecnologia.com.br/edicoes/ed05.asp>>. Acesso em: 22 mar. 2004.
- ARANTES, N. E.; SOUZA, P. M. I. **Cultura da Soja nos Cerrados**. 3º ed. Piracicaba: Potafos, 1993.

BORKERT, C. M. et al. Pragas: diagnóstico e controle. **Informações Agronômicas**. n.66, junho 1994. (Arquivo do Agrônomo n. 5). Disponível em: <<http://www.potafos.org>>. Acesso em: 04 abril 2004.

CONAB. **Terceiro levantamento safra 2003/2004**. Brasília, DF. Fev. 2004. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/safra.asp>> Acesso em: 22 mar. 2004.

FRANCESCHINI, M. et al. Biotecnologia aplicada ao Controle Biológico: o entomopatógeno *Metarhizium anisopliae*. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 23, nov./dez. 2001. Disponível em: <<http://biotecnologia.com.br/edicoes/ed23.asp>>. Acesso em: 22 mar. 2004.

HOFFMANN-CAMPO, C. B. et al. **Pragas da Soja no Brasil em seu Manejo Integrado**. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento – EMBRAPA. Londrina: EMBRAPA Soja, 2000. 70p. – (Circular Técnica/EMBRAPA Soja; n. 30. Dez. 2000).

MOSCARDI, Flávio; SOUZA, Marlinda L. Baculovírus para o controle de pragas. Panacéia ou realidade? **Revista Biotecnologia Ciência & Tecnologia**, n. 24. p. 22-29 jan/fev. 2002.

PARRA, J. P. R. et al. **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

RIBEIRO, B. M.; PINEDO, F. J. R. Baculovírus recombinante para controle de praga - Construção de um baculovírus *Anticarsia gemmatilis* nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) geneticamente modificado para o controle da lagarta da soja, *A. gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 22, set./out. 2001. Disponível em: <<http://biotecnologia.com.br/edicoes/ed22.asp>>. Acesso em: 22 mar. 2004.

SECCHI, V. A. Baculovírus, mais do que uma grande descoberta: uma revolucionária alternativa aos agrotóxicos. **Alternativa Tecnológica. Agroecologia e desenvolvimento rural sustentável**, Porto Alegre, v.3, n.3, p.49-54, jul/set. 2002.

SOUZA, M. L. Utilização de microrganismos na agricultura – Uso de agentes microbianos na agricultura brasileira. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 4, n. 21, jul/ago. 2001. Disponível em: <<http://biotecnologia.com.br/edicoes/ed22.asp>>. Acesso em: 22 mar. 2004.

SOUZA, M. L. et al. Caracterização de Baculovírus utilizados no Controle de Pragas - Técnicas de caracterização de vírus de insetos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.4, n.24, p.18-20, jan/fev. 2002.

Recebido em: 01/12/2010

Aceito para publicação em: 10/12/2010