

Patogenicidade do *nucleopolyhedrovirus* (NPV) (*Baculoviridae*) isolados em larvas de *Spodoptera exigua* e *S. littoralis* sobre larvas de *S. frugiperda*

F. R. Guimarães¹
E. B. Beserra¹
C. Santiago-Alvarez²
E. Vargas-Osuna²

RESUMEN. Patogenicidad de aislamientos de nucleopolyhedrovirus (NPV) procedentes de larvas de *Spodoptera exigua* y *S. littoralis* sobre larvas de *S. frugiperda*. El noctuid *Spodoptera frugiperda* Smith es una de las principales plagas del maíz en Brasil. El uso de insecticidas químicos para el control de la especie puede ocasionar diversos daños al ecosistema, por lo que es de gran interés la búsqueda de agentes alternativos de control, entre los que se encuentran los nucleopolyhedrovirus (NPV) como los candidatos más prometedores para este fin. Se ha estudiado la patogenicidad de aislamientos de NPV obtenidos de larvas de *S. exigua* Hübner y de *S. littoralis* Boisduval, sobre larvas de *S. frugiperda*, lo que nos ha permitido conocer mejor el espectro de actividad de los NPV dentro del género *Spodoptera*. De los seis aislamientos probados, dos de ellos (NPVSe4 y NPVSI) presentaron resultados altamente significativos en cuanto a la mortalidad larvaria.

Palabras clave: *Spodoptera*, Noctuidae, patogenicidad, nucleopolyhedrovirus, baculovirus.

ABSTRACT. Pathogenicity of nuclear polyhedrosis viruses (NPV) isolated from *Spodoptera exigua* and *S. littoralis* on *S. frugiperda* larvae. The noctuid *Spodoptera frugiperda* Smith is a key pest of maize crops in Brazil. The use of chemical insecticides in the control of this species can result in damage to the ecosystem, so it is important to research alternative control agents. Nuclear polyhedrosis viruses (NPVs) are considered potential candidates with good possibilities for practical application. We have determined the pathogenicity of NPVs isolated from *S. exigua* Hübner and *S. littoralis* Boisduval larvae on *S. frugiperda* Smith larvae and a better knowledge of the NPV host range in the *Spodoptera* genus has been obtained. Two from the six tested isolates (SeNPV4 and SINPV) caused high larval mortalities.

Key words: *Spodoptera*, Noctuidae, pathogenicity, nuclear polyhedrosis virus, baculovirus.

Introdução

Durante o ciclo da cultura, o milho está sujeito a um complexo de pragas que podem ocorrer desde o plantio até o armazenamento (Cruz *et al.* 1987). Dentre estas pragas, a lagarta do cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* Smith, caracteriza-se como o principal problema entomológico da cultura do milho no Brasil (Vendramin e Francelli 1988, Valicente e Costa 1995).

Diversos patógenos são citados como reguladores das populações naturais de *S. frugiperda*, dentre estes, os baculovírus do gênero *Nucleopolyhedrovirus* (NPV), os quais são candidatos promissores como agentes de controle biológico da referida praga (Valicente e Costa 1995). Os baculovírus são bastante específicos e geralmente restritos a um só hospedeiro, fato que limita as possibilidades econômicas de

¹ Núcleo de Controle Biológico, Departamento de Farmácia e Biologia, Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Av. Marechal Floriano Peixoto, 718 (Centro), CEP. 58.100-001, Campina Grande, Paraíba, Brasil.

² Unidad de Entomología Agrícola y Forestal, Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales, E.T.S.I.A.M. Universidad de Córdoba, Apartado 3048, 14080 Córdoba, España.

exploração de seu uso como agente de controle natural (Evans 1986), apesar de que alguns NPV apresentarem espectro de ação mais amplo para gêneros, famílias e ordens (Ibarra e Del Rincón Castro 2001).

Hamm e Styer (1985) fizeram estudos dentro do gênero *Spodoptera*. Estes autores estudaram a patogenicidade de dois isolados do NPV de *S. frugiperda* (NPVSf) obtidos de multiplicação *in vivo* nos hospedeiro primário e alternativo *S. exigua*, sobre larvas neonatas de *S. frugiperda* e *S. exigua*, observando um percentual de mortalidade por NPVSf de 100% e de 94,2 a 100% em *S. frugiperda* e *S. exigua*, respectivamente.

Suspensões virais de NPV foram obtidas nos anos de 1993 e 1994 de adultos e larvas de *S. exigua* coletados em campos de alfafa na província de Córdoba - Espanha (Guimarães *et al.* 1994) e caracterizados morfológicamente por análise de DNA (Guimarães 1996). Com o objetivo de indicar o espectro de ação de cada vírus e selecionar o mais virulento para larvas de *S. frugiperda*, estudou-se a ação dos NPV isolados em Espanha de larvas de *S. exigua* e um NPV isolado em Marrocos de larvas de *S. littoralis*.

Materiais e métodos

Larvas de *S. frugiperda* utilizadas nos ensaios de patogenicidade foram obtidas a partir da descendência de indivíduos coletados em campos de milho e mantidos no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Estadual da Paraíba a temperatura de 26°C e fotoperíodo 12 horas.

Foram utilizados seis cepas de NPV: cinco isolados de NPV de *S. exigua* obtidos a partir de larvas coletadas em campo nas províncias de Badajoz (NPVSe1), Almería (NPVSe2) e Córdoba (NPVSe3 e NPVSe5) ou a partir de populações estabelecidas em laboratório originadas da captura de adultos em

armadilha luminosa (NPVSe4) (Guimarães 1996), e uma cepa Marroquina de NPV de *S. littoralis* (NPVSI) procedente da Station de Lutte Biologique de La Minière (INRA) - França. Os isolados foram purificados seguindo a metodologia descrita por Griffith (1982) com algumas modificações (Vargas-Osuna *et al.* 1994).

Para os ensaios de patogenicidade, seguiu-se a metodologia descrita Por Vargas-Osuna e Santiago-Alvarez (1988). Assim, larvas de segundo estágio de *S. frugiperda* foram acondicionadas em caixas plásticas transparentes de 26 mm de diâmetro e 10 mm de altura, com tampa sem abertura de ventilação. No interior desta colocou-se um papel de filtro umedecido e discos de alfafa de 5 mm de diâmetro como substrato alimentar, sobre os quais aplicou-se, com uma pipeta automática, 3 ml de uma dose diluída da décima parte da concentração inicial de cada isolado viral (Tabela 1). Utilizaram-se 30 larvas por tratamento e 30 como testemunha que foram tratadas com água destilada que continha espalhante adesivo Agral a 0,1%. Quando do consumo total dos discos e no máximo 48 horas após, trocaram-se as tampas das caixas por outras com abertura central de ventilação (malha metálica) e as larvas passaram a se alimentar com dieta semi-sintética de alfafa (Santiago-Alvarez e Vargas-Osuna 1986) sem formaldeído. Larvas que não se alimentaram ou que morreram sem consumir os discos integralmente foram eliminadas do bioensaio. Foram feitas observações diárias para se acompanhar o desenvolvimento larval e verificar a ocorrência de mortalidade. Larvas mortas foram dissecadas e seus diversos tecidos, entre os quais o corpo graxo e o epitelial, foram observados em microscópio de contraste de fases para se detectar a presença de inclusão de poliedros ou outros agentes patogênicos, segundo Poinar e Thomas (1984).

Tabela 1. Isolados virais utilizados nos ensaios de patogenicidade.

Suspensão viral	Procedência	Titulação (CO/ml)*
NPVSe1	Badajoz (Espanha)	1,50 x 10 ⁹
NPVSe2	Almeria (Espanha)	1,20 x 10 ⁹
NPVSe3	Córdoba (Espanha)	2,98 x 10 ⁹
NPVSe4	Córdoba (Espanha)	1,36 x 10 ⁹
NPVSe5	Córdoba (Espanha)	3,18 x 10 ⁹
NPVSI	Marrocos	1,73 x 10 ⁹

*CO = Corpo de oclusão poliédrica.

Resultados e discussão

Das cinco suspensões de NPV obtidas de *S. exigua*, somente o isolado NPVSe4 causou mortalidade larval em 85,4% do total de larvas tratadas. Por outro lado, o NPVSI ocasionou mortalidade na ordem de 81,8% (Tabela 2). Não foi observada mortalidade larval no grupo controle. Estes resultados confirmam a (alta) especificidade dos isolados NPVSe1, NPVSe2, NPVSe3 e NPVSe5 e registra o maior espectro de ação do isolado NPVSe4 que também causou mortalidade em larvas de *Spodoptera littoralis* e *Helicoverpa armigera* (Guimarães 1996). Com relação aos resultados obtidos com o tratamento de *S. frugiperda* com o VPNSI, ampliou-se o espectro de ação deste baculovírus dentro do gênero *Spodoptera*, já que anteriormente Maracajá *et al.* (1994) tinha obtido mortalidade de *S. exigua* infectada pelo NPVSI.

Três aspectos devem ser ressaltados: o primeiro é de que um vírus polipatogênico ou inespecífico apresenta uma vantagem ecológica em relação àqueles de característica monoespecífica, uma vez que

a sincronização entre o hospedeiro e o vírus é fundamental para os baculovírus. Um baculovírus com um amplo espectro de ação terá mais possibilidade de replicação e produção na natureza do que um baculovírus específico. Segundo é que do ponto de vista de sua utilização prática no controle de pragas, um vírus que apresenta alta especificidade tem inconvenientes, em especial do tipo comercial, pois será incapaz de controlar outras espécies presentes no mesmo ou em outros cultivos do ecossistema (Evans 1986). O terceiro aspecto refere-se à possibilidade de produção do isolado não específico em hospedeiro alternativo. Para *S. frugiperda* é muito importante esse fato, já que as lagartas são canibais e essa característica dificulta o processo de produção (Alves, com. pessoal).

Os resultados obtidos indicam a necessidade de se aprofundar nos aspectos da atividade inseticida em laboratório e em campo dos isolados de NPV inespecíficos (NPVSe4 e NPVSI) e, inclusive, de comparar o poder inseticida dessas duas cepas com o próprio baculovírus isolado em *S. frugiperda*.

Tabela 2. Mortalidade de larvas de *Spodoptera frugiperda* infectadas com isolados de NPV.

Tratamento	N	Causas de mortalidade			
		NPV		CD	
		n	%	n	%
Testemunha	54	0	0	0	0
NPVSe1 *	27	0	0	0	0
NPVSe2 *	24	0	0	1	4,1
NPVSe3 *	21	0	0	0	0
NPVSe4 **	48	41	85,4	2	4,2
NPVSe5 **	45	0	0	6	13,3
NPVSI **	44	36	81,8	2	4,5

N = Número total de larvas.

n = Número de larvas mortas.

* Resultado de uma repetição.

** Resultado de duas repetições.

CD = Causa conhecida.

Literatura citada

- Cruz, I; Waquil, JHE; Viana, PA. 1987. Manejo de pragas da cultura do milho. Informe Agropecuário. p. 21-25.
- Evans, HF. 1986. Ecology and epizootiology of baculoviruse *In* Granados, RR; Federici, BA. eds. The biology of baculoviruses. Practical application for insect control. Florida, US, CRC Press. v. 2, p. 89-132.
- Griffith, LP. 1982. A new approach to the problem of identifying baculoviruses. *In* Kurstak, E. ed. Microbial and viral pesticide. New York, Marcel Dekker. p. 507-531.
- Guimarães, FR. 1996. Caracterización morfológica, bioquímica y biológica de cepas de *Nucleopolyedrovirus* (Baculoviridae) aisladas de poblaciones naturales de *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) con persistentes infecciones virales. Tesis Doctoral. España, Universidad de Córdoba. 205 p.
- _____; Vargas Osuna, E; Maracajá, PBE; Santiago-Alvarez, C. 1995. Presencia de *Spodoptera exigua* Hb. (Lep.:Noctuidae) y sus agentes bióticos asociados en la provincia de Córdoba. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas 21:641-646.
- Hamm, JE; Styer, EL. 1995. Comparative pathology of isolates *Spodoptera frugiperda* Nuclear Polyhedrosis Virus in *S. frugiperda* and *S. exigua*. Journal of General Virology 66: 1249-1261.
- Ibarra, JE; Del Rincón Castro, MC. 2001. Capacidad insecticida de los baculovirus. *In* P. Caballero, M, P; López-Ferber, T; Williams. eds. Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Valencia, ES, Phytoma 7: 203-224.
- Maracajá, PB; Vargas Osuna, EE; Santiago-Alvarez, C. 1994. Actividad biológica de biopreparados del virus de la

- polyhedrosis nuclear de *Spodoptera littoralis* obtenidos en el hospedador natural y en el alternativo *Spodoptera exigua*. Boletín de Sanidad Vegetal y Plagas 20:495-499.
- Poinar, GO, Jr; Thomas, GM. 1978. Laboratory guide to insect pathogens and parasites. New York, Plenum Press. 514 p.
- Santiago-Alvarez, C; Vargas-Osuna, E. 1986. Differential mortality between male and female *Spodoptera littoralis* larvae infected with a baculovirus. Journal of Invertebrate Pathology 47:374-376.
- Valicente, FH.; Costa, EF. 1995. Controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Anais da Sociedad Entomologica do Brasil 17:141-149.
- Vargas-Osuna, E; Aldebis, HK; Caballero, P; Lipa, JJ; Santiago-Alvarez, C. 1994. A newly described *Baculovirus* (subgroup B) from *Ocnogyna baetica* (Rambur) (Lepidoptera: Arctiidae) in Southern Spain. Journal of Invertebrate Pathology 63:31-36.
- Vargas Osuna, E; Santiago-Alvarez, C. 1988. Differential response of male and female *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lep.: Noctuidae) Individuals to a nuclear polyhedrosis virus. Journal of Applied Entomology 105:374-378.
- Vendramim, JD; Francelli, M. 1988. Efeito de genótipos de milho na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Anais da Sociedad Entomologica do Brasil 17: 141-149.