

UTILIZAÇÃO DE ADJUVANTE PROTETOR CONTRA RADIAÇÃO SOLAR E FAGOESTIMULANTE, EM MISTURA COM UM VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR DE *ANTICARSA GEMMATALIS* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

L.F.A. Alves*, A.E.F. Leitão**, N.T. Augusto***, L.G. Leite****,
A. Batista Filho****

RESUMO

Um adjuvante à base de óleo vegetal foi utilizado em mistura com *Baculovirus anticarsia*, visando à proteção contra a inativação pela radiação solar e a fagoestimulação. O vírus na forma impura, usualmente empregado (lagartas infectadas, maceradas e coadas), serviu como padrão e a água destilada, como testemunha. Sob condições de campo, os tratamentos foram aplicados com auxílio de um pulverizador costal, em área experimental formada por soja, na Estação Experimental do Instituto Biológico, em Campinas. Os folíolos foram coletados periodicamente e fornecidos às lagartas de *A. gemmatalis* em laboratório. No teste de fagoestimulação, os folíolos, em condições de laboratório, receberam, por pulverização, as preparações em teste e em seguida foram oferecidos aos insetos. Os resultados evidenciaram o efeito protetor do adjuvante, sendo observado, 7 dias após a aplicação, redução de 13,33% de atividade do patógeno acrescido de adjuvante e 36,67% de inativação viral na ausência do adjuvante. Com relação à fagoestimulação, o adjuvante acresceu a ingestão de $1,4 \times 10^4$ CIP/lagarta, causando já no 6º dia após a inoculação, 60% de mortalidade contra 20% observada na preparação do vírus sem adjuvante.

PALAVRAS-CHAVE: Adjuvante; *Baculovirus anticarsia*; protetor solar; fagoestimulante.

SUMMARY

USE OF PROTECT ADJUVANT AGAINST RADIATION AND STIMULANT, IN COMBINATION WITH A NPV OF *ANTICARSA GEMMATALIS* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) - An adjuvant made of vegetable oil and mixed with *Baculovirus anticarsia* was used to protect against solar radiation and to stimulate feeding and resulting mortality among pests. Application was made by manual sprayer, in an experimental area of soybean at the Experimental Station, Instituto Biológico, Campinas (State of São Paulo, Brazil). Foliolles were collected at intervals and fed to larvae of *Anticarsia gemmatalis* in the laboratory. For gustatory stimulation tests under laboratory conditions, foliolles were sprayed for each treatment and fed to the larvae. The protective effect of the adjuvant was demonstrated. Seven days after application, the activity of the pathogen mixed with the adjuvant fell by 13.33%; without the adjuvant it fell by 36.67%. The adjuvant increased ingestion by 1.4×10^4 CIP/larva; on the 6th day after inoculation mortality was 60%, as opposed to 20% observed for the virus without adjuvant.

KEY WORDS: Adjuvant; *Baculovirus anticarsia*; sun protector; feeding stimulant.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos têm sido incrementadas as pesquisas que envolvem preparo de formulações de agentes microbianos que ofereçam viabilidade de uso para o controle de pragas. Nessas pesquisas, o estudo do efeito de agentes capazes de proteger os microrganismos de processos de degradação constitui-se em um importante item

para a elaboração dos bioinseticidas, pois contribuem para torná-los mais eficazes e persistentes. Em seus estudos, YOUNG & YEARIAN (15) e JQUES (8) observaram que a atividade dos microrganismos entomopatogênicos é afetada, principalmente, pela radiação solar, através da fração ultravioleta, a qual atua sobre os ácidos nucleicos, inativando-os já nas primeiras 48 horas após a liberação do microrganismo no ambiente.

* Estagiário, Seção de Controle Biológico das Pragas, Instituto Biológico, C.P. 70, CEP 13001-970, Campinas-SP. Bolsista da FAPESP.

** Estagiária, Seção de Controle Biológico das Pragas, Instituto Biológico, Campinas-SP. Bolsista do CNPq.

*** Pesquisador Científico, Centro Piloto de Formulações de Defensivos Agrícolas, Instituto Biológico, Campinas-SP.

**** Pesquisador Científico, Seção de Controle Biológico das Pragas, Instituto Biológico, Campinas-SP.

Uma das formas de minimizar o problema consiste na aplicação do patógeno nas primeiras horas da manhã, ou após as 16:00 horas, quando os raios ultravioleta do espectro solar são de maior comprimento de onda, portanto, de menor poder de penetração. Existe também a possibilidade de se explorar determinados adjuvantes minerais e vegetais, que apresentem características fagoestimulantes, retardantes de evaporação e protetoras contra a radiação solar (7, 10).

Estudos de laboratório e campo mostraram que adjuvantes, tais como açúcares e óleos vegetais (soja, milho e algodão), quando adicionados ao VPN de *Heliothis* spp., provocaram maior consumo de alimento e, conseqüentemente, maior mortalidade em lagartas do que o vírus em suspensão aquosa (1, 9, 14).

Técnicas envolvendo formulações de vírus entomopatogênicos e protetores contra radiação ultravioleta têm sido estudadas por IGNOFFO & BATZER (6); SHAPIRO *et al.* (13) e BATISTA FILHO *et al.* (3).

O presente trabalho teve por objetivo determinar o efeito protetor e fagoestimulante de um adjuvante baseado em óleo vegetal quando adicionado à suspensão aquosa de *Baculovirus anticarsia*.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento nº 1 - Persistência da atividade viral no campo

O ensaio foi realizado em Campinas, na Estação Experimental do Instituto Biológico, em três áreas de 4m², demarcadas em um campo experimental de soja, cultivar IAC-8. Nessas áreas, as suspensões relativas aos tratamentos a serem estudados foram aplicadas com um pulverizador costal, marca BRUDDEN P₅, na concentração de 50 LE/ha (1 LE=uma Lagarta Equivalente, isto é, uma lagarta de *Anticarsia gemmatilis* maior ou igual a 2,5cm de comprimento, morta por *Baculovirus anticarsia*). As aplicações foram executadas a partir das 12:00 horas do dia 21 de janeiro de 1992 e o consumo de calda foi equivalente a 625 litros/ha. Foram considerados os seguintes tratamentos: a) *Baculovirus anticarsia* impuro (obtido por maceração e coagem de lagartas mortas); b) *B. anticarsia* impuro + adjuvante (emulsão de óleo de soja a 10%); c) testemunha (água destilada).

Após uma hora da aplicação, e ao acaso, foram coletados em cada área 60 folíolos de soja

do terço superior das plantas. Em seguida, foram levados ao laboratório e individualizados em tubos de vidro (8,5cm de altura x 2,5cm de diâmetro), contendo uma lagarta de *Anticarsia gemmatilis* com aproximadamente 1,4cm de comprimento. O material foi mantido no interior de uma câmara de germinação tipo B.O.D., com temperatura de 25°C, U.R. próxima a 65% e fotoperíodo de 14 horas.

Constatado o consumo (cerca de 48 horas após o fornecimento dos folíolos), as lagartas foram transferidas para tubos de vidro com dieta artificial (5) e mantidas sob condições controladas (temperatura: 27°C±1; U.R. 65%±5 e fotoperíodo: 14 horas). Repetiu-se o mesmo procedimento (coleta e fornecimento de folíolos) às lagartas de *A. gemmatilis* sempre às 12:00 horas após um, três, cinco e sete dias da aplicação.

Nas avaliações diárias, em laboratório, considerou-se a mortalidade e o agente causal.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e confronto das médias pelo teste de Duncan. O nível de significância adotado foi 5% de probabilidade.

Experimento nº 2 - Efeito fagoestimulante

Com esse objetivo foram elaboradas 4 preparações, a saber: a) água destilada; b) água destilada + adjuvante; c) *Baculovirus anticarsia* impuro; d) *B. anticarsia* impuro + adjuvante. O adjuvante (emulsão de óleo de soja) foi adicionado na concentração de 10% do volume preparado.

A inoculação foi feita em laboratório, no interior de uma câmara, por meio de pulverização de 2ml de cada preparação, sobre 20 folíolos de soja, cultivar IAC-8, previamente desinfestados em solução de hipoclorito de sódio 0,5% e lavados em água corrente. Antes de receber os tratamentos, determinou-se a área superficial dos folíolos, através de um medidor de área foliar marca Li-COR, Li-3000.

Após a secagem, os folíolos foram individualizados em tubos de vidro (8,5cm de altura x 2,5cm de diâmetro) juntamente com uma lagarta de *Anticarsia gemmatilis* com 1,3cm de comprimento. Decorridas 24 horas, os folíolos foram retirados e submetidos novamente ao medidor de área foliar, o que permitiu determinar o consumo alimentar. As larvas foram transferidas para dieta artificial e mantidas sob condições controladas (temperatura: 26°C±1, U.R.: 67,5% e fotoperíodo: 14 horas) até que atingissem a fase de pupa. Durante esse período foram registrados a mortalidade e o agente causal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento nº 1 - Persistência da atividade viral no campo

Os dados expressos na tabela 1 mostram que até o 3º dia após a aplicação não houve qualquer alteração na atividade do patógeno nos tratamentos com e sem adjuvante, sendo observados, nestes, valores de mortalidade próximos a 100%. No 5º dia, o tratamento em que o patógeno não recebeu o adjuvante já apresentava 26,67% de perda de eficiência em relação ao preparado com adjuvante; percentual que caiu para 21,67% no 7º dia. Convém ressaltar que no 5º dia *Baculovirus anticarsia* impuro apresentou decréscimo de 35% da atividade original, enquanto que no tratamento com adjuvante observou-se apenas 6,66% de perda de eficiência. Aos 7 dias, observou-se elevado nível de mortalidade provocada pelo *B. anticarsia*

+ adjuvante (83,33%) com pouca redução de sua viabilidade inicial (13,33%). Por outro lado, a eficiência de *B. anticarsia* impuro decresceu para 61,66%, o que mostra uma queda de 36,67% em relação ao dia da aplicação. MOSCARDI & CORSO (11) obtiveram resultados semelhantes comparando a atividade do *B. anticarsia* impuro e purificado, desprovido e acrescido de adjuvante, observaram que o patógeno na forma impura permaneceu ativo em 60%, aos 6 dias após a aplicação. Do mesmo modo, OLIVEIRA & MOSCARDI (12), comparando a atividade de 3 patógenos contra *A. gemmatilis*, sob condições de campo e laboratório, observaram o maior efeito residual do *Baculovirus anticarsia*, em relação à persistência do fungo *Nomuraea rileyi* e do *Bacillus thuringiensis*, aos 6 dias da aplicação, quando o vírus apresentava atividade superior a 55%.

TABELA 1 — Porcentagem de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* mortas por *Baculovirus anticarsia* em função da persistência de duas preparações do patógeno em folíolos de soja, cultivar IAC-11. Campinas, 1992.

Tratamentos	Dias após a aplicação ⁽¹⁾ e ⁽²⁾				
	0	1	3	5	7
<i>B. anticarsia</i> impuro	98,33A	100,00A	100,00A	63,33CD	61,66D
<i>B. anticarsia</i> impuro + adjuvante	96,66A	100,00A	100,00A	90,00AB	83,33B
Testemunha	0,00F	0,00F	5,00F	0,00F	8,33E

CV(%) = 11,615; DMS (5%) = 0,673

(1) Os valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade; Teste de Duncan.

(2) Para efeito de análise foram consideradas as médias dos valores de mortalidade obtidos.

BATISTA FILHO (2), utilizando adjuvantes minerais associados ao *B. anticarsia*, obteve valores de mortalidade próximos a 50% da atividade original, após 7 dias da aplicação e cerca de 40% de preservação da eficiência com o vírus associado a adjuvante vegetal, no mesmo período de observação. Por outro lado MOSCARDI & CORSO (11) incorporaram um adjuvante mineral ao *B. anticarsia* e obtiveram, aos 6 dias da aplicação, 80% de manutenção da atividade viral.

Os dados climáticos registrados no período de observação no campo são apresentados na tabela 2 e complementam as informações sobre o experimento. É importante observar que, apesar da pulverização ter sido executada a partir das 12:00 horas, o microrganismo não foi desativado nas primeiras 72 horas de exposição. Prova-

velmente a alta persistência de atividade, nos primeiros 3 dias, esteja associada com o baixo número de horas de insolação, entre o 2º e 3º dias. Ainda considerando, que na maioria dos dias do período de observação tenham sido registradas mais de 7 horas de inoculação/dia (média para Campinas no mês de janeiro = 9 a 10 horas/dia), fica evidente o efeito protetor do óleo emulsionável de soja, como evidenciou BATISTA FILHO (2), analisando a ação do óleo emulsionável de soja, que manteve a atividade viral 36% superior em relação ao vírus purificado, durante 48 horas de exposição considerando uma média de 9,3 horas de insolação/dia. Durante o 3º dia de observação foram computados 27mm de precipitação pluviométrica. A este fato po-

de-se associar um provável efeito da chuva sobre os depósitos de vírus nas folhas de soja, pois a partir do 3º dia, mesmo sob baixa intensidade de insolação, observou-se uma acentuada queda na eficiência no tratamento com o patógeno desprovido de adjuvante em cerca de 36%. Este valor não foi encontrado no tratamento com o adjuvante, provavelmente pela maior aderência do *Baculovirus anticarsia* sobre os folíolos de soja, pela ação espalhante adesiva do óleo emulsionável, diminuindo as perdas mecânicas, prolongando o efeito residual, conforme salientou BULLOCK (4).

Experimento nº 2 - Efeito fagoestimulante

Os resultados apresentados na tabela 3 mostram que após 24 horas da instalação do ensaio, as lagartas alimentadas com folíolos tratados com adjuvante consumiram 19,91% e 12,90% de área foliar, respectivamente para água + adjuvante e *Baculovirus anticarsia* + adjuvante. Os tratamentos sem adjuvante, que serviram como controle,

tiveram níveis de consumo de 10,46% e 11,89%. A diferença no consumo entre os folíolos tratados com o vírus + adjuvante e vírus sem adjuvante foi menor quando comparada à diferença observada entre os outros dois tratamentos (1,01% e 9,45%, respectivamente). Entretanto há que se considerar que 1,01% de consumo representa 0,27cm² de área foliar, contendo $1,4 \times 10^4$ CIP a mais que foram ingeridos pelos insetos. O maior consumo de partículas virais provocou a morte de 60% da população de insetos no 6º dia, enquanto no tratamento com o patógeno isolado apenas 20% de indivíduos morreram nesse período.

Os dados convergem com os resultados de IGNOFFO *et al.* (7) e LUTTRELL *et al.* (9), para lagartas de *Heliothis zea* infectadas com *Baculovirus heliothis*. Nesses estudos realizados em laboratório, os adjuvantes comerciais testados aumentaram significativamente o consumo de folíolos de soja. Entretanto os autores não observaram qualquer efeito sobre a mortalidade dos insetos.

TABELA 2 — Dados climáticos observados durante o período de avaliação da persistência de atividade de duas preparações de *Baculovirus anticarsia* sobre folhas de soja do cultivar IAC-II. Campinas, 1992.

Dias após aplicação	HI ⁽¹⁾	U.R. ⁽²⁾	Temperatura (°C)			Precipitação ⁽³⁾ (mm)
		Média	Max	Min	Média	
0	7,9	78,5	29,4	19,0	24,2	0,0
1	3,9	88,5	29,6	19,4	24,5	0,0
2	0,1	76,0	32,4	17,8	25,1	27,0
3	7,1	77,5	27,6	19,0	23,3	0,0
4	7,8	81,0	30,6	19,6	25,1	0,0
5	3,5	76,5	27,6	18,0	22,8	11,0
6	9,0	70,0	27,8	19,0	23,4	0,0
7	10,4	70,5	31,6	18,6	25,1	0,0
Média	6,2	77,31	29,6	18,8	24,2	4,8

FONTE: Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas (IAC)

⁽¹⁾ Horas de insolação

⁽²⁾ Umidade relativa

⁽³⁾ Obtida na Estação Experimental de Campinas, do Instituto Biológico (IB)

TABELA 3 — Avaliação do consumo foliar e mortalidade de lagartas de *Anticarsia gemmatilis* em função de adjuvante adicionado à suspensão de *Baculovirus anticarsia*.

Tratamentos	Área foliar consumida (%)	Mortalidade (%)		
		6º dia	7º dia	TOTAL
Água destilada	10,46	0,00	0,00	0,00
Água destilada + adjuvante	19,91	0,00	0,00	0,00
<i>B. anticarsia</i> em suspensão aquosa	11,89	20,00	80,00	100,00
<i>B. anticarsia</i> + adjuvante	12,90	60,00	40,00	100,00

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos experimentos indicam que a utilização do óleo de soja, em mistura com o vírus impuro, favorece a atividade do patógeno em condições de campo. Além disso, sua capacidade fagoestimulante pode também acentuar significativamente a eficiência do inseticida viral, pelo aumento na ingestão de vírus, ou ainda permitir uma redução da dose recomendada do patógeno para aplicação no controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS, G.L.; HARRIS, F.A.; SIKOROWSKI, P.P.; McLANGHIN, R.E. Evaluation of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus in a cotton seed oil bait for control of *Heliothis virescens* and *H. zea* on cotton. *J. Econ. Entomol.*, **68** (1): 87-90, 1975.
- BATISTA FILHO, A. Estudo sobre formulações de *Baculovirus anticarsia* em condições de laboratório e campo. Piracicaba, 1990. 72p. [Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP]
- BATISTA FILHO, A.; ALVES, L.F.A.; AUGUSTO, N.T.; ALVES, S.B. Efeito da radiação ultravioleta sobre *Baculovirus anticarsia* formulado em condições de laboratório. In: Reunião Anual do Instituto Biológico, 4., São Paulo, 1991. *Resumos. Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, **58** (supl.):16, 1991.
- BULLOCK, H.R. Persistence of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus on cotton foliage. *J. Invertebr. Pathol.*, **9**(3): 434-36, 1967.
- GREENE, L.G.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.D. Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.*, **69**(4): 487-88, 1976.
- IGNOFFO, C.M. & BATZER, O.F. Microencapsulation and ultraviolet protectants to increase sunlight stability of an insect virus. *J. Econ. Entomol.*, **64**(4): 850-3, 1971.
- IGNOFFO, C.M.; HOSTETTER, D.L.; SMITH, D.B. Gustatory stimulant, sunlight protectant, evaporation retardant: three characteristics of a microbial insecticidal adjuvant. *J. Econ. Entomol.*, **69**(2): 207-10, 1976.
- JAQUES, R.A. Stability of insect viruses in the environment. In: MARAMOROSCH, K. & SHERMAN, K.E. (ed.) *Viral insecticides for biological control*. New York, Academic Press, 1985.
- LUTTREL, R.G.; YEARIAN, W.C.; YOUNG, S.Y. Effect of spray adjuvants on *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus efficacy. *J. Econ. Entomol.*, **76**(1): 162-7, 1983.
- MOSCARDI, F. Utilização de *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. *Comun. Téc. EMBRAPA - CNPSO*, Londrina (23): 1-21, 1983.
- MOSCARDI, F. & CORSO, I. Efeito de três preparações de *Baculovirus anticarsia* sobre *Anticarsia gemmatilis* em laboratório, e sua persistência sobre folhas de soja. *Result. Pesqui. Soja EMBRAPA/CNPSO-Londrina*, 1979/80. p.151-5.
- OLIVEIRA, R.F. & MOSCARDI, F. Persistência de *Baculovirus anticarsia*, *Nomuraea rileyi* e *Bacillus thuringiensis* sobre folhas de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 9., Londrina, 1984. *Resumos*. p.144.
- SHAPIRO, M.; AGIN, P.P.; BELL, R.A. Ultraviolet protectants of *Gypsy moth* (Lepidoptera: LYMAN-TUIDAE) nucleopolyhedrosis virus. *Environ. Entomol.*, **12**(3): 982-5, 1983.
- SMITH, D.B.; HOSTETTER, D.L.; PINNELL, R.E.; IGNOFFO, C.M. Laboratory studies of viral adjuvants: formulation development. *J. Econ. Entomol.*, **75**(1): 16-20, 1982.
- YOUNG, S.Y. & YEARIAN, W.C. Persistence of *Heliothis* NPV on foliage of cotton, soybean, and tomato. *Environ. Entomol.*, **3**(2): 253-5, 1974.