

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura e Pecuária**

DOCUMENTOS 453

18^a Jornada Acadêmica da Embrapa Soja Resumos expandidos

*Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite
Larissa Alexandra Cardoso Moraes
Kelly Catharin*
Editoras Técnicas

Embrapa Soja
Londrina, PR
2023

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja
Rod. Carlos João Strass, s/n
Acesso Orlando Amaral, Distrito da Warta
CEP 86065-981
Caixa Postal 4006
Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000
www.embrapa.br/soja
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Comitê Local de Publicações
da Embrapa Soja**

Presidente
Adeney de Freitas Bueno

Secretária-Executiva
Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Membros
*Claudine Dinali Santos Seixas, Edson Hirose,
Ivani de Oliveira Negrão Lopes, José de Barros
França Neto, Leandro Eugênio Cardamone
Diniz, Marco Antonio Nogueira, Mônica Juliani
Zavaglia Pereira e Norman Neumaier*

Supervisão editorial
Vanessa Fuzinato Dall’Agnol

Bibliotecária
Valéria de Fátima Cardoso

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica e capa
Marisa Yuri Horikawa

1ª edição
PDF digitalizado (2023).

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Soja

Jornada Acadêmica da Embrapa Soja (18. : 2023: Londrina, PR).

Resumos expandidos [da] XVIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja / Regina
Maria Villas Bôas de Campos Leite... [et al.] editoras técnicas – Londrina:
Embrapa Soja, 2023.

161 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937 ; n. 453).

1. Soja. 2. Pesquisa agrícola. I. Leite, Regina Maria Villas Bôas de Campos. II.
Moraes, Larissa Alexandra Cardoso. III. Catharin, Kelly. IV. Série.

CDD: 630.2515 (21. ed.)

Efeitos sinérgicos entre isolados virais da família Baculoviridae com potencial de controle de *Spodoptera frugiperda*

LIRA, J. K. F.¹; ALMEIDA, A.²; TORRES, G. V. H.³; OLIVEIRA, M. C. N. de⁴; SOSA-GÓMEZ, D. R.⁴

¹UNOPAR, Universidade do Norte do Paraná, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR; ²UFPR; Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, ³UNIFIL, Centro Universitário Filadélfia, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR; ⁴Pesquisador(a), Embrapa Soja.

Introdução

A espécie vegetal *Glycine max* (L.) Merrill é uma das principais commodities agrícolas cultivadas no território brasileiro. Na safra 2021/2022, foram destinados 40,9 milhões de hectares para o plantio desta cultura, resultando em uma produção de 123,8 milhões de toneladas (Embrapa Soja, 2022). Apesar do elevado potencial produtivo, a soja tem enfrentado ao longo dos anos diversos desafios fitossanitários (Nardon et al., 2021), incluindo o ataque de pragas pertencentes a diferentes ordens, com destaque para lepidópteros, hemípteros e coleópteros (Cazado et al., 2013; Silva et al., 2014; Murúa et al., 2018).

Dentre os lepidópteros, destaca-se a família Noctuidae, que abrange diversos insetos como destaque para *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Bueno et al., 2011; Moscardi et al., 2011; Marques et al., 2016), uma praga polífaga que afeta várias culturas cultivadas no Brasil, incluindo soja, milho e algodão (Barros et al., 2010). Embora inseticidas sejam amplamente utilizados para mitigar os danos causados por esse inseto, estudos têm demonstrado a ocorrência de resistência de populações dessa praga a proteínas Cry e a inseticidas químicos, o que demanda a busca por diferentes alternativas de controle (Farias et al., 2014).

Nesse sentido, o uso de agentes de controle biológico tem se mostrado cada vez mais uma alternativa para o manejo, minimização dos danos provocados por essa praga. Nesse contexto, o uso do controle biológico aplicado com agentes microbianos é uma ferramenta essencial para o Manejo Integrado de Pragas (MIP), apresentando como principal vantagem a segurança tanto para seres humanos quanto para animais invertebrados (Sosa-Gómez et al.,

2022). Além disso, os baculovírus podem ser produzidos em larga escala e, devido à sua virulência, são letais para a maioria dos seus insetos hospedeiros (Jehle et al., 2006). Essa abordagem pode levar a uma redução do uso de inseticidas sintéticos e portanto, pode ser introduzida como uma alternativa eficaz para o manejo de insetos na cultura da soja, tornando-se valiosos agentes de controle natural, que além de proporcionarem um controle seguro, eficaz e sustentável tem ação sobre uma variedade de lepidópteros-praga, incluindo *S. frugiperda*.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a virulência dos isolados de baculovírus CNPSo-SfMNPV 156 e CNPSo-SfGV 178, aplicados isoladamente e em mistura sobre lagartas de *S. frugiperda*.

Material e Métodos

No presente estudo, foram utilizados isolados virais de granulovirus e múltiplo nucleopoliedrovirus de *S. frugiperda* provenientes do Banco de Entomopatógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da Embrapa Soja (Londrina, PR). O inoculo inicial dos isolados virais foram multiplicados por meio de inoculação de superfícies em dieta artificial de Greene et al. (1976) os quais foram oferecidos a lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*, em seguida, as lagartas com sintomas da infecção foram maceradas com água destilada, filtradas em dupla camada de musseline, e o líquido resultante da filtração foi centrifugado a 10.000 rpm por 15min a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o pellet ressuspenso em água destilada estéril. As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas nos experimentos foram criadas no laboratório e mantidas em dieta artificial a temperatura de 26±1°C, umidade 60±10% e fotofase de 14 horas.

Para a execução dos bioensaios inicialmente determinou-se a concentrações letais 50 e 25% dos isolados virais de SfGV e SfMNPV. Os virus foram incorporados a dieta sem anti-contaminantes quando se encontrava no processo de esfriamento a 55°C. As diluições utilizadas do SfGV foram 8,4 x 10⁸; 4,2 x 10⁸; 2,1 x 10⁸; 1,0 x 10⁸; 5,2 x 10⁷; 2,6 x 10⁷; já para SfMNPV foram 1,5 x 10⁵; 7,7 x 10⁴; 3,8 x 10⁴; 1,9 x 10⁴; 9,6 x 10³; 4,8 x 10³; 2,4 x 10³. Os corpos de oclusão (OBs) dos vírus foram quantificados com o auxílio de câmara de Neubauer espelhada, em microscópio óptico com contraste de fases. Para determinar as concentrações letais médias dos isolados foi utilizado o programa PoloPlus (LeOra Software, 2002) aplicando o modelo de Probit.

Determinadas as concentrações letais dos isolados virais o bioensaio de sobrevivência foi instalado com seis tratamentos (T1-Testemunha= Dieta artificial sem anti-contaminantes (sem formol, metil-parabeno e antibióticos), T2-SfMNPV (CL_{50}) = $2,4 \times 10^4$ OBs/mL, T3- SfMNPV (CL_{25})= $5,6 \times 10^3$ OBs/mL, T4- SfGV (CL_{5050})= $2,9 \times 10^7$ OBs/mL, T5- SfGV (CL_{25})= $9,5 \times 10^6$ OBs/mL, T6-Mix SfMNPV (CL_{25})= ($5,6 \times 10$) OBs/mL + SfGV (CL_{25})= $9,5 \times 10^6$) OBs/mL, Lagartas de *S. frugiperda* (n=60 por tratamento) foram individualizadas em recipientes plásticos de 50 mL, divididas em quatro repetições com 15 subamostras (lagartas). A alimentação com a dieta contendo os isolados virais foi realizada durante 96 horas, após este período as sobreviventes foram transferidas para dieta sem anti-contaminantes. Os insetos foram mantidos em câmaras com controle de temperatura ($26 \pm 1,5^\circ\text{C}$), fotofase de 14 h e umidade relativa ($75 \pm 10\%$). A mortalidade dos insetos com sintomas típicos de infecção por baculovírus foi registrada também após 96 h de inoculadas. O bioensaio teve duração de 14 dias, registrando-se diariamente o número de lagartas mortas e vivas, esses dados foram codificados da seguinte forma: 0- lagarta viva e 1- lagarta morta por vírus. A hipótese é que se entender a interação entre os diferentes tratamentos e a atividade dos dois tipos de vírus, poliedrose e granulose de *S. frugiperda*, permitirá potencializar o controle de pragas. Essas respostas categóricas referentes a sobrevivência e a morte das lagartas foi avaliada pelo estimador não-paramétrico de Kaplan-Meier (1958) para a função de sobrevivência e o teste de comparações dos tratamentos dois a dois pelo teste *logrank* (Mantel, 1966). O modelo para melhor entender esse processo é o que segue:

$$Y_{ijk} = m + \text{tratamentos}_i + \text{subamostras}_k + \text{tratamentos} * \text{subamostras}_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

em que, Y_{ijk} é o efeito da variável resposta tempo de sobrevivência; m é o efeito da média geral; tratamentos_i é o efeito de concentrações de doses de poliedrose e granulose nuclear; subamostras_k é o efeito da pseudorreplicação dos tratamentos; $\text{tratamentos} * \text{subamostras}_{ik}$ é o efeito da interação entre os fatores em estudo e ε_{ijk} é o efeito do erro aleatório com distribuição).

Os dados de mortalidade foram analisados com o programa R versão 4.2.3 (R Core Team, 2008) pelos pacotes *cmprsk*, *lattice*, *lattice Extra* e *survival*.

Resultado e Discussão

Verificou-se que os tratamentos 2-SfMNPV (CL_{50}) e 4-SfGV (CL_{50}) causaram uma taxa de mortalidade de 57,8% e 55,4%, respectivamente. Em contraste, os tratamentos 3-SfMNPV (CL_{25}) e 5-SfGV (CL_{25}) ocasionaram uma taxa de mortalidade de 26,4% e 20% (Figura 1). Ao realizar a comparação entre os tratamentos utilizando o teste de qui-quadrado, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos 3-SfMNPV (CL_{25}) e 5-SfGV (CL_{25}) em relação à mortalidade observada ($p=0,06\%$), o mesmo ocorreu para os tratamentos 2-SfMNPV (CL_{50}) e 4-SfGV (CL_{50}) que apresentaram valor de $p=0,07\%$. Esses resultados indicam que esses quatro tratamentos podem ser considerados como semelhantes em termos de eficácia no controle da mortalidade das lagartas (Figura 1). Ao observar a mortalidade ocasionada pelo tratamento 6-Mix SfMNPV (CL_{25}) + SfGV (CL_{25}), constatou-se uma taxa de mortalidade de 100% dos indivíduos até o quinto dia de avaliação (Figura 1) o que indica que o método de Kaplan-Meier foi eficiente para avaliar as diferenças entre as curvas de tratamentos na sobrevivência de *S. frugiperda*. Os demais tratamentos causaram mortalidade significativamente menor para o mesmo período de tempo, sendo de 57,6% para o tratamento 2-SfMNPV (CL_{50}), 25% para o tratamento 3-SfMNPV (CL_{25}) e 6,7% para o tratamento 4-SfGV (CL_{50}), no mesmo período. A combinação de tratamentos (6-Mix SfMNPV (CL_{25}) + SfGV (CL_{25})) apresentou alta eficiência em relação a mortalidade dos indivíduos quando comparado aos outros tratamentos avaliados (Figura 1). Essa interação observada nos resultados dos bioensaios também vem sendo apontados por estudos disponíveis na literatura que indicaram que os isolados virais de *S. frugiperda* assim como de outros insetos, quando aplicados em mistura são altamente virulentos à praga e apresentam potencial para uso no manejo integrado de pragas (Valderrama et al., 2010; Toprak et al., 2012; Cuartas-Otálora et al., 2013).

Sinergismo entre os vírus de poliedrose nuclear e de granulose de *S. frugiperda*
 Data de Avaliação 06/01/2023

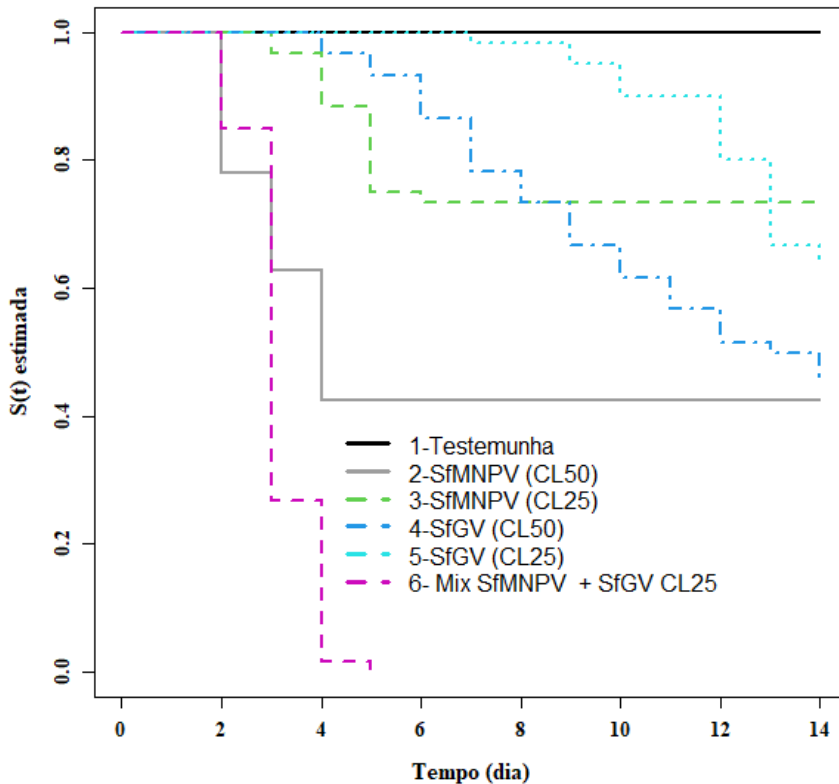


Figura 1. Sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* inoculadas com isolados virais de baculovirus em diferentes concentrações letais.

O teste de *logrank* (Tabela 1) indicou que existe diferença significativa pelo teste de qui-quadrado entre as curvas de sobrevivência apresentadas na Figura 1. A mortalidade no tratamento 3-SfMNPV (CL_{25}) finalizou em 6 dias, a mortalidade no tratamento 5-SfGV (CL_{25}) ocorreu até o dia 14 e no tratamento com mistura 6-Mix SfMNPV (CL_{25}) + SfGV (CL_{25}) houve mortalidade total no dia 5.

Tabela 1. Resultados do teste de *logrank* (Mantel, 1966) comparando os tratamentos.

Tratamentos	N	Valor Observado	Valor Esperado	(O-E) ² /E	(O-E) ² /V
1-Testemunha	60	0	35,5	35,511	49,414
2-SfMNPV (CL ₅₀)	60	34	21,1	7,810	9,786
3- SfMNPV (CL ₂₅)	60	16	31,2	7,440	9,972
4-SfGV (CL ₅₀)	60	33	30,5	0,203	0,272
5-SfGV (CL ₂₅)	60	22	34,0	4,255	5,833
6-[Mix SfMNPV + SfGV] (CL ₂₅)	60	60	12,6	179,391	234,381

$\chi^2 = 284$ GL=5 Pr= 2×10^{-16} O= valor observado E= valor esperado

Conclusão

A utilização combinada dos isolados CNPSo-SfMNPV 156 e CNPSo-SfGV 178 demonstrou efeito sinérgico no controle de *Spodoptera frugiperda*, causando 100% de mortalidade desses indivíduos quando comparada à aplicação isolada de cada um desses vírus.

Referências

- BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R.; OLIVEIRA, M. D. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. **Entomologia Experimentalis at Applicata**, v.137, n. 3, p. 237-245, 2010.
- BUENO, A. de F.; BATISTELA, M. J.; BUENO, R. C. O. de F.; FRANÇA-NETO, J. de B.; NISHIKAWA, M. A. N.; LIBÉRIO FILHO, A. Effects of integrated pest management, biological control and prophylactic use of insecticides on the management and sustainability of soybean. **Crop Protection**, v. 30, p. 937-945, 2011.
- CAZADO, L. E.; MURÚA, M. G.; CASMUZ, A.; SOCÍAS, M. G.; VERA, M. T.; O'BRIEN, C. W.; GASTAMINZA, G. Geographical distribution and new host associations of *Rhyssomatus subtilis* (Coleoptera: Curculionidae) northwestern in Argentina. **The Florida Entomologist**, v. 96, n. 2, p. 663-669, 2013.
- CUARTAS-OTÁLORA, P. E.; GÓMEZ-VALDERRAMA, J. A.; RAMOS, A. E.; BARRERA-CUBILLOS, G. P.; VILLAMIZAR-RIVERO, L. F. Bio-insecticidal potential of nucleopolyhedrovirus and granulovirus mixtures to control the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Viruses**, v. 11, n. 8, p. 684, 2019.

EMBRAPA SOJA. **Soja em números (safra 2021/22)**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>. Acesso em: 11 maio 2023.

- FARIAS, J. R.; ANDOW, D. A.; HORIKOSHI, R. J.; SORGATTO, R. J.; FRESIA, P.; SANTOS, A. C.; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v. 64, p. 150-158, 2014.
- JEHLE, J. A.; BLISSARD, G. W.; BONNING, B. C.; CABRERA-OZUNA, M. D.; CORY, J. S. On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. **Archives of Virology**, v. 151, p. 1257-1266, 2006.
- KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.
- MANTEL, N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. **Cancer Chemotherapy Reports**, v. 50, p. 163-170, 1966.
- MARQUES, L. H.; CASTRO, B. A.; ROSSETTO, J.; SILVA, O. A. B. N.; MOSCARDINI, V. F.; ZOBIOLE, L. H. S.; SANTOS, A. C.; VALVERDE-GARCIA, P.; BABCOCK, J. M.; RULE, D. M.; FERNANDES, A. O. Efficacy of soybean's event das-81419-2 expressing Cry1F and Cry1Ac to manage key tropical lepidopteran pests under field conditions in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 109, n. 4, p. 1922-1928, 2016.
- MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. de; CASTRO, M. E. B. de; MOSCARDI, M. L.; SZEWCZYK, B. Baculovirus pesticides: present state and future perspectives. In: AHMAD, I.; AHMAD, F.; PICHTEL, J. (ed.). **Microbes and microbial technology**. New York: Springer, 2011. p. 415-445.
- MURÚA, M. G.; VERA, M. A.; HERRERO, M. I.; FOGLIATA, S. V.; MICHEL, A. Defoliation of soybean expressing Cry1Ac by lepidopteran pests. **Insects**, v. 9, n. 3, p. 93, 2018.
- NARDON, A. C.; MATHIONI, S. M.; SANTOS, L. V. dos; ROSA, D. D. Primeiro registro de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) sobrevivendo em soja Bt no Brasil. **Entomological Communications**, v. 3, p. ec03028, 2021.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2008. 204 p. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 22 maio 2023. ISBN 3-900051-07-0.
- SILVA, G. V.; PASINI, A.; BUENO, A. de F.; BORTOLOTTO, O. C.; BARBOSA, G. C.; CRUZ, Y. K. S. No impact of Bt soybean that express Cry1Ac protein on biological traits of *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) and its egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygastridae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 58, p. 285-290, 2014.
- SÓSA-GOMEZ, D. R.; ARDISSON-ARAÚJO, D. M. P.; RIBEIRO, B. Manejo de pragas com vírus entomopatogênicos. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. de F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (ed.). **Bioensumos na cultura da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2022. cap. 22. p. 377-399.
- TOPRAK, U.; HARRIS, S.; BALDWIN, D.; THEILMANN, D.; GILLOTT, C.; HEGEDUS, D. D.; ERLANDSON, M. A. Role of enhancin in *Mamestra configurata* nucleopolyhedrovirus virulence: selective degradation of host peritrophic matrix proteins. **Journal of General Virology**, v. 93, n. 4, p. 744-753, 2012.
- VALDERRAMA, J. A. G.; AGUDELO, E. J. G.; CUBILLOS, G. P. B.; PRADO, A. M. C.; RIVERO, L. F. V. Aislamiento, identificación y caracterización de nucleopoliedrovirus nativos de *Spodoptera frugiperda* en Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín**, v. 63, n. 2, p. 5511-5520, 2010.