

CONTROLE BIOLÓGICO

Efeito do Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) na Biologia de *Nabis* sp. (Heteroptera: Nabidae)

MARIA A. WATANABE, ELIZABETH A. B. DE NARDO E ALINE DE H.N. MAIA

Embrapa Meio Ambiente, Caixa postal 69, 13820-000, Jaguariúna, SP.

An. Soc. Entomol. Brasil 28(3): 461-468 (1999)Effect of a Nucleopolyhedrovirus of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) on the Biology of *Nabis* sp. (Heteroptera: Nabidae)

ABSTRACT - Bioassays to evaluate effects of biopesticides on non-target organisms are generally restricted to measuring such effects on mortality rates, caused either by pathogenicity or toxicity and changes in their predation or parasitism rate. Evaluations on survivorship and reproduction, necessary to construct fertility life tables, are also important by allowing a measurement of population growth rates of those organisms. The intrinsic rate of increase (r_m), net reproduction rate (R_0), mean generation time (MGT) and doubling time (DT) of *Nabis* sp. were evaluated during two consecutive generations for predators fed healthy *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) caterpillars and predators fed caterpillars infected by a formulation of a nucleopolyhedrovirus (NPV) of this host. Such parameters and their respective variances were estimated using jack-knife method. No significant differences were observed in this study for these parameters, what indicates that the biopesticide does not affect *Nabis* sp., even when it is fed exclusively virus-infected caterpillars.

KEY WORDS: Insecta, predator, NPV, velvetbean caterpillar, pathogenicity, toxicity.

RESUMO - Bioensaios para avaliação do efeito de biopesticidas sobre organismos não visados, geralmente restringem-se à quantificação de tais efeitos sobre a taxa de mortalidade, seja ela causada por patogenicidade ou toxicidade, ou alterações da capacidade benéfica do organismo (predação, parasitismo). Avaliações baseadas em informações relativas à sobrevivência e reprodução ao longo do tempo, necessárias para construção de tabelas de vida de fertilidade, são também muito importantes, uma vez que determinam o efeito do biopesticida sobre o potencial de crescimento populacional do organismo benéfico. No presente estudo, foi feita a comparação da taxa intrínseca de crescimento (r_m), taxa líquida de reprodução (R_0), intervalo médio entre gerações (T) e tempo de duplicação (TD) de *Nabis* sp., predador da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), quando alimentado durante duas gerações consecutivas com lagartas sadias ou com lagartas infectadas com uma formulação do nucleopoliedrovirus de *A. gemmatalis*. Esses parâmetros e suas respectivas variâncias foram estimados

utilizando o método jackknife. A comparação dos parâmetros associados às tabelas de vida e fertilidade não mostrou diferenças significativas entre o tratamento e a testemunha. Os resultados indicam que o bioinseticida avaliado não oferece risco à população de *Nabis* sp., mesmo sob condições de máxima chance de ocorrência de dano: insetos criados em laboratório e alimentados exclusivamente com lagartas infectadas.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, predador, VPN, lagarta-da-soja, patogenicidade, toxicidade.

A lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), é uma das principais pragas dessa cultura. O controle biológico de *A. gemmatalis* é efetuado com aplicações de um nucleopoliedrovírus (VPN), patógeno específico da lagarta (Moscardi 1983, 1987, 1998; Moscardi et al. 1996). Cerca de 1 milhão de hectares de soja são pulverizados anualmente no Brasil com esse inseticida biológico, principalmente no Paraná, Rio Grande do Sul e em estados do Centro-Oeste do Brasil (Moscardi 1983, 1987, 1998). A lagarta é atacada por vários predadores, entre os quais *Nabis* sp. (Heteroptera: Nabidae). Nos campos em que o vírus é aplicado, seu contato com os predadores ocorre principalmente quando os últimos se alimentam de lagartas infectadas (Boucias et al. 1987, Young & Yearian 1987, Pollato 1990).

Segundo Abbas & Boucias (1984), Young & Yearian (1987) e Young & Kring (1991), o consumo de lagartas infectadas pelo vírus não afeta os predadores. Quando infectadas, as lagartas apresentam movimentos lentos, o que as torna presas fáceis, havendo, inclusive, preferência do predador *Nabis roseipennis* Reuter por lagartas infectadas, quando oferecidas simultaneamente com lagartas sadias (Young & Yearian 1989, Moscardi et al. 1996). Após alimentarem-se de lagartas infectadas, os predadores defecam poliedros do vírus, ajudando a disseminar o patógeno no campo (Young & Yearian 1987, Pollato 1990). Os efeitos do vírus sobre os predadores ainda são pouco conhecidos. Abbas &

Boucias (1984) observaram que a sobrevivência e o desenvolvimento de *Podisus maculiventris* Say não foram afetados pela alimentação com lagartas de *A. gemmatalis* infectadas por VPN. Ruberson et al. (1991) relataram, contudo, que ninfas de *N. roseipennis* alimentadas com lagartas de *Pseudoplusia includens* (Walker) infectadas pelo seu VPN originaram adultos com menor fecundidade que os predadores do grupo testemunha. Também, o consumo de lagartas infectadas durante a fase adulta do predador reduziu significativamente sua longevidade, independentemente da dieta na fase ninfal. A fase de preoviposição de fêmeas alimentadas com lagartas infectadas foi significativamente maior que a de fêmeas alimentadas com lagartas sadias.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de VPN sobre parâmetros biológicos de *Nabis* sp., quando este predador é alimentado durante todo o seu ciclo de vida com lagartas de *A. gemmatalis* infectadas com o seu VPN.

Material e Métodos

Os predadores utilizados foram obtidos de uma criação iniciada a partir de adultos e ninfas coletados na região de Guaíra, SP. Espécimes "Voucher" dos predadores utilizados foram depositados no museu de insetos do Laboratório de Quarentena Costa Lima e enviados ao USDA para identificação, mas não foram obtidas respostas. A criação e o experimento foram realizados em sala

climatizada a $25 \pm 2^\circ \text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12h de luz e 12h de escuro.

O experimento foi iniciado com a coleta de 100 ovos de mesma idade, que foram colocados em placas de Petri até a eclosão das ninfas. Estas foram alocadas aleatoriamente em dois lotes de 50 indivíduos. Os predadores do primeiro lote foram alimentados com lagartas infectadas por VPN durante todo o ciclo de vida, constituindo o grupo tratado. Os do segundo lote foram alimentados com lagartas sadias durante todo o ciclo de vida, constituindo o grupo testemunha. Para se obterem lagartas infectadas, cerca de 0,5 ml suspensão do VPN, contendo $1,0 \times 10^9$ poliedros/ml foi colocado sobre um bloco de dieta artificial de *A. gemmatalis* (Greene *et al.* 1976, modificada por Hoffmann-Campo *et al.* 1985), pesando 7,0 gramas. Essa dieta contaminada foi oferecida para lagartas de primeiro instar, deixando-se desenvolver a infecção. As ninfas de *Nabis* sp. de primeiro instar receberam como alimento lagartas de primeiro e segundo instares; as de terceiro, lagartas de segundo instar; as de quarto, lagartas de terceiro instar; e os adultos, lagartas de quarto instar. Durante a fase imatura foi quantificada a taxa de mortalidade em cada instar. Após a emergência, os adultos de *Nabis* sp. foram sexados, estimou-se a razão sexual e formaram-se os casais. Estes foram acompanhados diariamente desde o acasalamento até a morte, registrando-se o início e fim da oviposição de cada fêmea, o número de ovos por fêmea a cada dia e a longevidade.

Na segunda geração foram utilizados ovos de mesma idade, colocados pelas fêmeas da primeira geração, dos tratamentos correspondentes, sendo avaliados os mesmos parâmetros biológicos da geração anterior. Os períodos de pré e pós-oviposição, duração do período de oviposição, longevidade e número de ovos/fêmea foram comparados pelo teste t de Student, adaptado por Cochran & Cox para o caso de variâncias heterogêneas (Steel & Torrie 1980), utilizando o PROC TTEST

do SAS®; a mortalidade na fase imatura, razão sexual e porcentagem de fêmeas que ovipositaram, pelo teste exato de Fisher (Zar 1984), utilizando o PROC NPAR1WAY, do SAS®.

Os dados de sobrevivência e fecundidade ao longo do tempo, observados em cada grupo e geração, foram condensados em tabelas de vida de fertilidade, construídas segundo Southwood (1980). Com base na informação das tabelas de vida, foram estimados os seguintes parâmetros: taxa líquida de reprodução (R_0); taxa intrínseca de crescimento (R_m); razão finita de crescimento (λ); tempo médio entre gerações (TM) e tempo de duplicação (TD). Tais parâmetros e suas respectivas variâncias foram estimados pelo método jackknife (Meyer *et al.* 1986), utilizando um programa SAS® (SAS 1989).

Resultados e Discussão

Na primeira geração, o grupo tratado apresentou mortalidade na fase imatura de 24,0%, enquanto não houve mortalidade no grupo testemunha, sendo essa diferença significativa ($p = 0,001$). Na segunda geração, não houve mortalidade na fase imatura no grupo tratado, enquanto o grupo testemunha apresentou mortalidade de 13,0%, não sendo essa diferença significativa (Tabela 1).

Um total de 17 machos e 19 fêmeas foi obtido na primeira geração do grupo tratado, resultando em razão sexual de 0,53; no grupo testemunha, obtiveram-se 24 machos e 24 fêmeas, com razão sexual de 0,50. Na segunda geração, seis machos e seis fêmeas chegaram à fase adulta no grupo tratado; no grupo testemunha, 13 machos e 13 fêmeas chegaram à fase adulta, proporcionando, em ambos os casos, razão sexual de 0,50 (Tabela 1).

As fêmeas da primeira geração do grupo tratado produziram, em média, 18,9 ovos, e as do grupo testemunha, 10,0 ovos. Na segunda geração, esses valores foram de 131,5 e 99 ovos, respectivamente. Portanto, as fêmeas da segunda geração de ambos os tratamentos foram mais férteis que as da

Tabela 1. Estimativas e seus respectivos erros-padrão (E.P.) de parâmetros biológicos relacionados à sobrevivência e oviposição de *Nabis* sp. alimentado com lagartas de *A. gemmatalis* sadias ou infectadas por seu vírus de poliedrose nuclear, em duas gerações consecutivas.

Parâmetro	Geração	Estimativa (E.P.)		
		Testemunha	Tratado	Valor p ^(*)
Início do período de oviposição (dias)	I	31,6 (0,98)	31,5 (1,01)	0,9212 ^(a)
	II	33,6 (1,86)	31,3 (1,56)	0,5393 ^(a)
Duração do período de oviposição (dias)	I	4,7 (1,11)	7,2 (2,18)	0,3339 ^(a)
	II	19,9 (2,67)	21,8 (3,40)	0,5480 ^(a)
Duração do período de pós-oviposição (dias)	I	2,4 (0,56)	2,2 (0,85)	0,8972 ^(a)
	II	9,9 (2,00)	14,7 (3,47)	0,2826 ^(a)
Longevidade (dias)	I	37,1 (1,37)	33,7 (1,83)	0,0702 ^(b)
	II	59,0 (3,62)	66,8 (5,30)	0,7378 ^(b)
No. médio de ovos por fêmea	I	10,0 (2,86)	18,9 (8,54)	0,8331 ^(b)
	II	99,1 (21,86)	131,5 (29,99)	0,7909 ^(b)
No. médio de ovos por fêmea fértil	I	16,5 (3,80)	40,0 (15,58)	0,9120 ^(b)
	II	107,3 (22,00)	131,5 (29,99)	0,7303 ^(b)
Mortalidade na fase imatura (%)	I	0,0 (0,00)	24,0 (6,04)	0,0012 ^(c)
	II	13,0 (6,21)	0,0 (0,00)	1,0000 ^(c)
Razão sexual (%)	I	50,0 (7,22)	52,8 (8,32)	0,8290 ^(c)
	II	50,0 (9,81)	50,0 (14,43)	1,0000 ^(c)
Oviposição (%)	I	92,3 (7,39)	47,4 (11,45)	0,0099 ^(c)
	II	100,0 (0,00)	92,3 (7,39)	0,6840 ^(c)

* Valor p correspondente ao teste t estatístico utilizado.

(a) Teste t bilateral considerando variâncias heterogêneas.

(b) Teste t unilateral à direita considerando variâncias heterogêneas.

(c) Teste exato de Fisher.

primeira geração. Foi observada maior fecundidade em fêmeas da segunda geração, provavelmente pelo fato de as fêmeas terem sido criadas durante o experimento em placas de Petri, quando, normalmente, esses insetos vêm sendo criados em gaiolas maiores. As fêmeas da primeira geração provavelmente encontraram dificuldades de adaptação, o que não deve ter sido o caso das fêmeas da segunda geração, criadas durante toda a vida em placas de Petri e já serem descendentes de fêmeas que tiveram que ovipositar nesses recipientes.

Não se observaram diferenças significativas entre o grupo tratado e o grupo testemunha quanto ao período de pré-

oviposição em ambas as gerações, o mesmo acontecendo com o período de oviposição e com o período de pós-oviposição (Tabela 1, Fig. 1). Não se observaram, ainda, diferenças significativas na longevidade entre o grupo tratado e a testemunha, em ambas as gerações (Tabela 1). Os valores de R_0 , r_m , λ , TM e TD não diferiram entre si para os grupos tratado e testemunha, para ambas as gerações ($p > 0,01$) (Tabela 2).

Esses resultados mostraram que o VPN de *A. gemmatalis* não afetou negativamente a sobrevivência e os parâmetros reprodutivos de *Nabis* sp., ao contrário do observado por Ruberson et al. (1991) para lagartas de *P. includens* infectadas pelo seu VPN, o qual

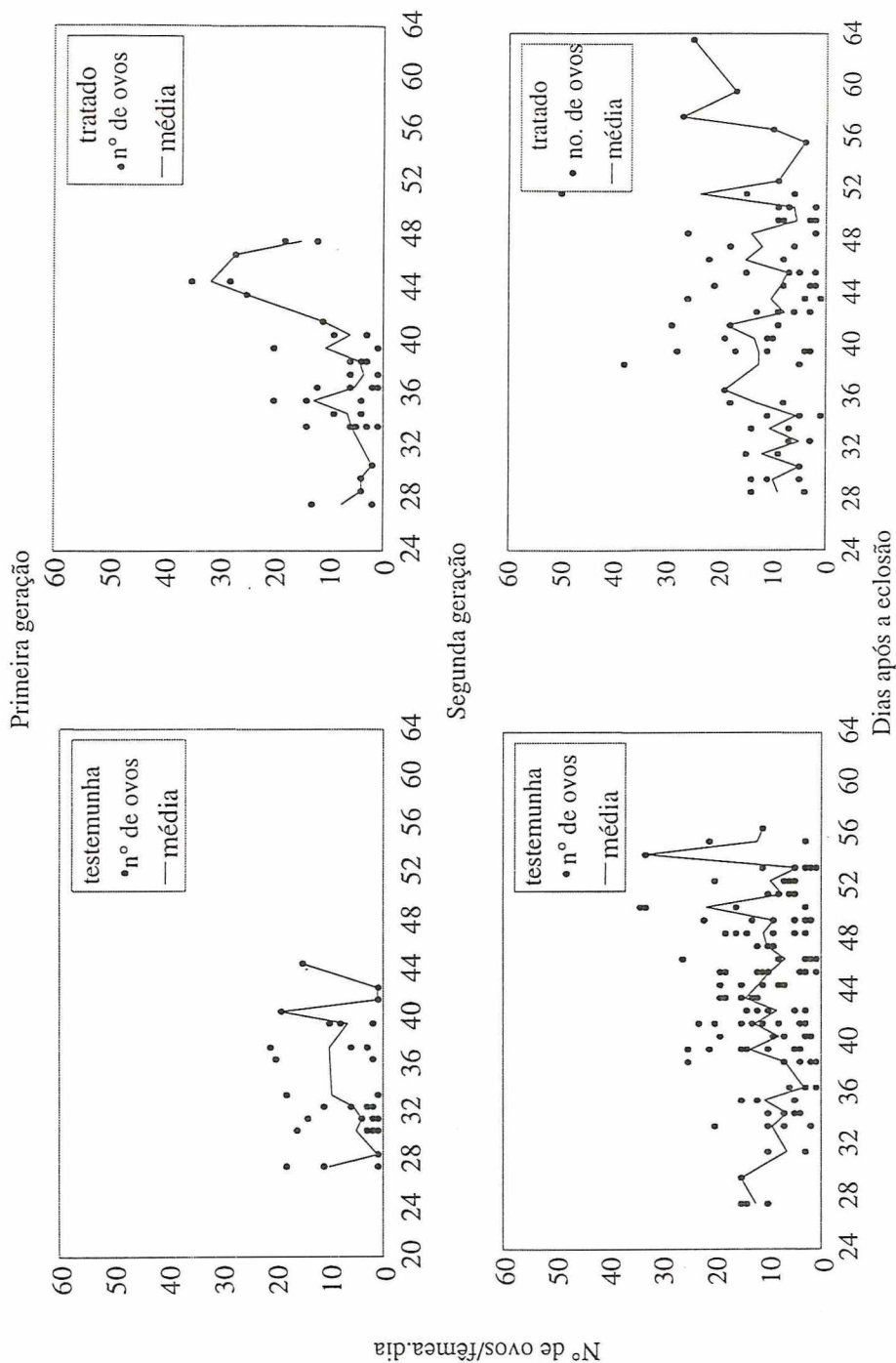


Figura 1. Oviposição de *Nabis* sp. alimentados com lagartas de *A. gemmatilis* sadias ou infectadas por seu vírus de poliedrose nuclear, em duas gerações consecutivas.

Tabela 2. Estimativas jackknife de parâmetros associados às tabelas de vida e fertilidade de *Nabis* sp. alimentados com lagartas de *A. gemmatalis* sadias ou infectadas por seu vírus de poliedrose nuclear.

Parâmetro	Geração 1				
	Testemunha		Tratado		Valor p
	Estimativa	Erro padrão	Estimativa	Erro padrão	
Ro (fêmea/fêmea)	4,352	1,238	9,473	4,272	0,8708 ^(a)
r_m	0,052	0,001	0,070	0,013	0,8611 ^(a)
λ (fêmea/fêmea/dia)	1,053	0,010	1,073	0,014	0,8611 ^(a)
TM (dias)	29,069	1,322	34,025	1,782	0,0152 ^(b)
TD (dias)	12,737	2,860	9,424	2,219	0,8174 ^(b)
Parâmetro	Geração 2				
	Testemunha		Tratado		Valor p
	Estimativa	Erro padrão	Estimativa	Erro padrão	
Ro (fêmea/fêmea)	46,071	10,164	57,860	13,195	0,7581 ^(a)
r_m	0,1062	0,006	0,112	0,007	0,7141 ^(a)
λ (fêmea/fêmea/dia)	1,1120	0,007	1,118	0,008	0,7139 ^(a)
TM (dias)	36,310	0,316	36,470	1,955	0,4680 ^(b)
TD (dias)	6,504	0,398	6,173	0,417	0,5709 ^(b)

* Valor p correspondente ao teste t utilizando estimativas jackknife da variância.

(a) Teste unilateral à esquerda e (b) teste unilateral à direita.

afetou negativamente o desenvolvimento, a sobrevivência e a reprodução do predador *N. roseipennis*. Todavia, ninfas alimentadas com lagartas infectadas desenvolveram mais rapidamente que as ninfas alimentadas com lagartas sadias; a sobrevivência das ninfas não foi afetada pelo consumo de lagartas infectadas. O período de preoviposição dos predadores alimentados com lagartas infectadas foi significativamente maior que o dos predadores alimentados com lagartas sadias, durante a fase ninfal ou fase adulta ou ambas as fases, indicando que o vírus afeta a ovigênese. A taxa de oviposição diária foi maior para fêmeas de *N. roseipennis* alimentadas com lagartas sadias, na fase ninfal, independente do tipo de alimentação na fase adulta. A fecundidade total foi maior para fêmeas que receberam lagartas sadias na fase adulta, independente do tipo de alimentação na fase ninfal. O consumo de

lagartas infectadas na fase adulta reduziu significativamente a longevidade dos predadores, independentemente do tipo de alimentação na fase ninfal.

Em outro estudo, Abbas & Boucias (1984) mostraram que o consumo de lagartas de *A. gemmatalis* infectadas pelo VPn não afetou o desenvolvimento, sobrevivência ou taxa de reprodução do predador *P. maculiventris*. Resultados semelhantes foram encontrados por M.A. Watanabe e colaboradores (dados não publicados) com relação ao predador *Podisus nigrispinus*. E.A.B. De Nardo e colaboradores (dados não publicados) observaram diferenças quanto ao parâmetro r_m da tabela de vida de fertilidade desse predador alimentado com lagartas tratadas com vírus inativado quando comparado com os r_m 's de predadores alimentados com lagartas infectadas com vírus ativo ou lagartas sadias. Em outro experimento com vírus ativo, vírus

purificado e vírus inativado, M.A. Watanabe e colaboradores (dados não publicados) chegaram à conclusão de que o vírus ativo (formulado), obtido a partir de maceração de lagartas infectadas, foi mais prejudicial ao desenvolvimento de *P. nigrispinus*, seguido do vírus purificado, vírus inativado e testemunha (lagartas sadias). Esses resultados evidenciaram de que esse vírus não é prejudicial ao predador e que o vírus formulado foi prejudicial, provavelmente devido aos ingredientes utilizados na formulação ou à presença de contaminantes, como bactérias e fungos.

O experimento foi realizado de modo a envolver duas gerações sucessivas do predador para simular as condições que ocorrem no campo, durante a safra de soja. Os predadores colonizam a cultura no início de seu estabelecimento, reproduzem-se no campo, produzindo a segunda e, provavelmente, a terceira geração. É preciso salientar que no experimento os predadores foram alimentados durante toda a vida com lagartas infectadas. No campo, tal condição provavelmente não se verifica, já que na população de lagartas existem indivíduos de *A. gemmatalis* infectados bem como indivíduos sadios, além de outras espécies de insetos que servem de alimento ao predador. Assim, a dieta dos predadores no campo é variável, reduzindo as chances de efeitos negativos do VPN, eventualmente verificados em condições de laboratório, em suas populações.

Literatura Citada

- Abbas, M.S.T. & D.G. Boucias. 1984. Interaction between nuclear polyhedrosis virus-infected *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and predator *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). Environ. Entomol. 13:599-602.
- Boucias, D.G., M.S.T. Abbas, L. Rathbone & N. Hostetter. 1987. Predators as potential dispersal agents of the nuclear polyhedrosis virus of *Anticarsia gemmatalis* (Lep.: Noctuidae) in soybean. Entomophaga 32: 97-108.
- Greene, G.L., N.C. Leppa & W.A. Dickerson. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69: 487-488.
- Hoffmann-Campo, C.B., E.B. de Oliveira & F. Moscardi. 1985. Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa da Soja. Londrina, Documentos 10, 21p.
- Meyer, J.S., C.G. Ingersoll, L.L. McDonald & M.S. Boyce. 1986. Estimating uncertainty in population growth rates: Jackknife vs. Bootstrap techniques. Ecology, 67: 1156-1166.
- Moscardi, F. 1983. Utilização de *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. Londrina, PR, EMBRAPA-Centro Nacional Pesquisa de Soja, Comunicado Técnico 23, 21p.
- Moscardi, F. 1987. Uso de vírus no controle de pragas, p. 191-262. In 1º Encontro Sul Brasileiro de Controle Biológico. Passo Fundo-RS. Anais. Associação dos Engenheiros Agrônomos, Passo Fundo, RS.
- Moscardi, F. 1998. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo, p. 509-539 In S.B. Alves (ed.), Controle microbiano de insetos, Piracicaba, Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1163 p.
- Moscardi, F., S.L.B. Pollato & B.S. Corrêa-Ferreira. 1996. Atividade do vírus da poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) após sua passagem pelo aparelho digestivo de insetos predadores. An. Soc. Entomol. Brasil. 25: 315-320.

- Pollato, S.L.B. 1990.** Disseminação do vírus da poliedrose nuclear VPNAg *Baculovirus anticarsia* através do predador da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Huebner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná.
- Ruberson, J.R., S.Y. Young & T.J. Kring. 1991.** Suitability of prey infected by nuclear polyhedrosis virus for development, survival and reproduction of the predator *Nabis roseipennis* (Heteroptera: Nabidae). *Environ. Entomol.* 20: 1475-1479.
- SAS Institute Inc. 1989.** SAS/STAT® User's Guide, Version 6, Fourth edition, Volume 2, Cary, NC: SAS Institute Inc., 846 p.
- Southwood, T.R.E. 1980.** Ecological methods. London, Chapman & Hall Ltd., 381 pp.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1980.** Principles and procedures of statistics. 2nd ed., New York, Mc Graw-Hill. 633 p.
- Young, S.Y. & W.C. Yearian. 1987.** *Nabis roseipennis* adults (Hemiptera: Nabidae) as disseminators of nuclear polyhedrosis virus to *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Environ. Entomol.* 16: 1330-1333.
- Young, S.Y. & W.C. Yearian. 1989.** Nuclear polyhedrosis virus-infected and healthy *Anticarsia gemmatalis* larvae as prey for *Nabis roseipennis* adults in the laboratory. *J. Invertebr. Pathol.* 54: 139-143.
- Young, S.Y. & T.J. Kring. 1991.** Selection of healthy and nuclear polyhedrosis virus infected *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lep.: Noctuidae) as prey by nymphal *Nabis roseipennis* Reuter (Hemiptera: Nabidae) in laboratory and soybean. *Entomophaga* 36:55-63.
- Zar, J.H. 1984.** Biostatistical analysis. New Jersey, Prentice-Hall Internacional. p. 390 - 395.
- Young, S.Y. & W.C. Yearian. 1987.** *Nabis* *Recebido em 21/01/98. Aceito em 04/06/99.*
-