

Compatibilidade do baculovírus da lagarta-falsa-medideira (*ChinSNPV*) com azadiractina

GLOOR, J.V.S.¹; LOPES, E.C.¹; FERREIRA, L.A.I.²; RIGON, F.A.²; CASAROTO FILHO, J.V.³; SITTA, R.B.³; HERMEL, A.O.³; ROGGIA, S.⁴

¹Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, joao_gloor@hotmail.com; ²Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP); ³Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL); ⁴Embrapa Soja.

Introdução

A soja é uma das principais culturas agrícolas do Brasil, com destacada importância econômica e social nas diversas regiões do país em que é cultivada. O Brasil é um dos países que mais produzem soja no mundo, e também um dos principais exportadores. Na safra 2016/2017, a área brasileira de soja foi de 33,85 milhões de hectares, com a produção de 110,16 milhões de toneladas, com produtividade de 3,34 t ha⁻¹ (CONAB, 2017).

O sucesso desta cultura deve-se aos avanços tecnológicos ligados ao uso de cultivares adaptadas e de alta produtividade, mecanização e conhecimento de estratégias adequadas de manejo cultural e fitossanitário, bem como, a ampliação da área cultivada. O ataque de pragas é

um dos principais desafios para a produtividade e para a sustentabilidade da cultura, devido ao seu potencial de perdas e a problemas relacionados ao uso de inseticidas químicos, que é a principal tática utilizada para o controle de pragas.

O controle químico apresenta risco de contaminação humana e ambiental, seu impacto sobre agentes de controle biológico pode intensificar ataque de pragas determinando necessidade de maior número de aplicações de inseticidas ao longo do ciclo da cultura e em cultivos seguintes (CORRÊA-FERREIRA et al., 2010). Além disso, o uso continuado de inseticidas com um mesmo mecanismo de ação pode proporcionar o desenvolvimento de pragas resistentes a esses produtos e consequentemente provocar falhas de controle, perdas de produtividade, aumento do número de aplicações e aumento dos custos de produção (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2010). Nesse contexto, o uso do controle biológico pode ser uma estratégia para a rotação e alternância de produtos e táticas de controle a fim de reduzir os riscos de desenvolvimento de pragas resistentes, bem como, oferece menor risco de contaminação humana e ambiental. O controle biológico aplicado é relativamente mais seletivo do que o controle químico, com reduzido impacto sobre outros agentes de controle biológico de ocorrência natural e organismos benéficos (BUENO et al., 2012).

Uma das principais pragas da soja e que tem se destacado em safras recentes é a lagarta-falsa-medideira, *Chrysodeixis includens*, a qual se alimenta de folhas do terço inferior das plantas, sendo que quando neonatas e ainda nos primeiros instares sua alimentação é basicamente de folhas mais novas e menos fibrosas, porém conforme elas vão se desenvolvendo tornam-se capazes de se alimentar de todo limbo foliar, com potencial de causar elevado nível de desfolha (KOGAN; COPE, 1974; HERZOG, 1980; MOSCARDI et al., 2012).

Existem diversos agentes de controle biológico que atuam na regulação populacional dessa praga (BUENO et al., 2012). Destes, estão disponíveis no mercado para serem aplicados nas lavouras, agentes como parasitoides de ovos e produtos comerciais à base da bactéria *Bacillus*

thuringiensis (Bt). Outra opção de controle biológico é o baculovírus da lagarta-falsa-medideira, *ChinSNPV*, o qual está em processo de registro para uso comercial. Dessas opções de controle biológico os entomopatógenos (Bt e baculovírus) são preferidos pelos agricultores pela maior facilidade de aquisição, armazenagem e transporte, em relação a parasitoides de ovos, e pelo fato de que podem ser aplicados por pulverização, usando métodos amplamente conhecidos no campo.

A lagarta-falsa-medideira é eficientemente controlada pela soja Bt, que contém gene de *Bacillus thuringiensis*, dispensando o uso de inseticidas. Porém, visando o manejo da resistência à soja Bt, é indicado o uso de área de refúgio, que consiste em cultivar 20% de área com soja não-Bt (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2010). Na área de refúgio, é indicado que o controle de lagartas não seja realizado com produtos à base de *Bacillus thuringiensis*. Nesse contexto, ganha importância o uso do baculovírus da lagarta-falsa-medideira. Outra opção de controle é o uso de azadiractina, extrato da planta de neem *Azadirachta indica*. Atualmente existem duas marcas comerciais de azadiractina registradas para uso na agricultura. Em soja, o produto está registrado para controle de mosca-branca (*Bemisia* spp.), a qual pode demandar aplicação no mesmo período em que a lagarta-falsa-medideira. Estudos prévios indicam que a interação de azadiractina com baculovírus pode ser desde sinérgica até antagônica (ZAMORA-AVILÉS et al., 2013; HAASE et al., 2015), sendo, portanto, necessário estudar a sua interação com o baculovírus da lagarta-falsa-medideira.

Assim, foi conduzido um estudo com objetivo de determinar a compatibilidade do baculovírus da lagarta-falsa-medideira (*ChinSNPV*) com azadiractina, no controle de *Chrysodeixis includens* em soja.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido em laboratório com plantas de soja cultivadas em vaso em casa de vegetação. As plantas foram cultivadas em vasos contendo substrato composto por uma parte de composto orgânico, uma parte de areia e sete partes de solo (Latosolo Vermelho distroférico típico, coletado em campo de 0-20 cm de profundidade).

Cada vaso recebeu 4 litros de solo, peneirado e homogeneizado, o pH foi corrigido com calcário dolomítico, para pH de aproximadamente 7,0, com tempo de reação de 30 dias, com umidade em capacidade de campo. Em seguida foi realizada adubação com a fórmula NPK (00-20-20) em dose equivalente a 350 Kg/ha, calculada pela área de vaso, e incorporada superficialmente. A semeadura foi realizada com a cultivar de soja BRS 388 RR, com cinco sementes por vaso tratadas com o inoculante *Bradyrhizobium japonicum*. Uma semana após a emergência a população foi ajustada para três plantas por vaso. As plantas foram conduzidas até o estágio R2, florescimento pleno, quando foram utilizadas para coleta de folhas para serem usadas no experimento.

Os tratamentos estudados foram: T1) baculovírus da lagarta-falsa-medideira (*ChinSNPV*, VirControl®, Simbiose Agrotecnologia Biológica) na dose de 2×10^9 poliedros/1,50L de água; T2) 72 mg de azadiractina (Azamax®, E.I.D. Parry (Índia) Limited) /1,50L de água; T3) a combinação T1 + T2; T4) testemunha, sem inseticida. A fim de evitar possíveis danos por embebição, o baculovírus, que é formulado em pó, foi mantido em câmara úmida por 15 minutos antes de ser diluído em água.

Os produtos foram aplicados sobre folhas de soja obtidas de plantas produzidas em casa de vegetação e a pulverização foi realizada em Torre de Potter utilizando 150 μ L por aplicação. Esse volume de aplicação utilizado na Torre de Potter foi definido com base em ensaios prévios a fim de se obter taxa de cobertura de gotas semelhante ao avaliado em folhas do estrato inferior de plantas de soja na fase reprodutiva (R5.3), após terem sido pulverizadas com volume de calda de 150L/ha. A pulverização foi realizada imediatamente após o preparo da calda.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado e cada tratamento teve 10 repetições. Cada repetição (unidade experimental) foi composta por cinco folhas de soja pulverizadas com os produtos, as quais foram inseridas no interior de caixa tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) e inoculadas cinco lagartas de *C. includens* do 2º instar obtidas de criação em laboratório. As folhas tiveram a base dos

seus pecíolos protegida por algodão umedecido para mantê-la em boas condições ao longo do período de avaliação. As caixas de gerbox com as lagartas e folhas foram mantidas em câmara de crescimento tipo BOD a 25°C, utilizando um datalogger para acompanhar temperatura e umidade, o fotoperíodo utilizado foi: 14 horas luz e 10 horas escuro. As caixas de gerbox foram fechadas com filme plástico para evitar perda excessiva de umidade das folhas.

Diariamente foi realizada a avaliação do número de lagartas vivas e mortas e limpeza da caixa de criação, até o 10º dia após a pulverização. Os dados foram transformados por raiz quadrada quando necessário e submetidos à ANOVA, e havendo significância para o teste *f* as médias foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. A partir dos dados obtidos foi calculada a mortalidade dividindo-se o número de insetos mortos por cinco, que foi o número inicial de lagartas por repetição. A partir dos dados de mortalidade de cada produto isolado foi calculada a mortalidade esperada, pela equação 1 (Adaptado MacVay et al., 1977) abaixo:

$$\text{Mortalidade esperada} = (3xMb + 3xMa)/4$$

Onde Mb e Ma correspondem a mortalidade proporcionada pelo baculovírus e azadiractina, respectivamente.

Resultados e Discussão

Não houve mortalidade de lagartas na testemunha até os 9 DAP (dias após a pulverização) indicando adequação da metodologia experimental (Tabela 1). O número médio de lagartas no tratamento *Chin*SNPV + azadiractina reduziu significativamente, em relação a testemunha, a partir dos 3 DAP, enquanto que nos tratamentos em que cada produto foi aplicado isoladamente essa redução foi observada apenas a partir dos 6 DAP. Esses dados indicam que o baculovírus *Chin*SNPV tem ação mais lenta de mortalidade da lagarta *C. includens*, comparativamente ao tempo médio de morte da lagarta *Anticarsia gemmatalis* pelo baculovírus *AgMNPV*, que é de 7,2 dias (BUENO et al., 2012). Neste enquadramento a associação do baculovírus *Chin*SNPV com azadiractina pode reduzir o tempo médio de morte da lagarta em relação a sua aplicação isolada.

Ao longo do experimento não foram observadas diferenças significativas entre o número médio de lagartas no tratamento com baculovírus e azadiractina, indicando que o desempenho de ambos é equivalente, na concentração utilizada. Porém, para sua indicação para o manejo da lagarta-falsa-medideira em soja é necessário, além de seu registro no MAPA para essa praga, o estudo do desempenho em condições de campo, onde incide o efeito de fatores como radiação solar, temperatura e chuva, que podem afetar o desempenho desses produtos no controle da lagarta.

A análise da mortalidade de lagartas indica que a mortalidade foi crescente até o final do período avaliado (10 DAP) para os tratamentos com os produtos isolados, atingindo 78% e 84% de mortalidade respectivamente. No tratamento em que os dois produtos foram combinados a mortalidade tendeu a estabilidade a partir dos 8 DAP (Tabela 2). Comparando-se o efeito esperado com o observado no tratamento *ChinSNPV* + *Azadiractina* foi observado efeito sinérgico da combinação dos dois produtos ao 3 DAP, quando a mortalidade observada foi de 30,0% e a mortalidade esperada de 10,5%. Nas demais datas, até 9 DAP foi observada interação aditiva indicando que há compatibilidade entre os dois produtos e que, quando associados, ocorre soma dos seus efeitos na mortalidade de lagartas. Também MASCARIN e DELALIBERA JUNIOR (2012) observaram aumento da mortalidade da broca-da-batata *Phthorimaea operculella* pela associação do granulovírus *PhopGV* com uma das formulações de azadiractina avaliada, sendo a interação classificada como aditiva. Porém para outra formulação comercial de azadiractina a interação foi antagônica, indicando que pode haver variação entre marcas comerciais. Adicionalmente, a compatibilidade entre os produtos pode ser caracterizada, em estudos futuros, em relação aos possíveis efeitos da azadiractina sobre a multiplicação do baculovírus nas lagartas e o nível de reinfecção em novas lagartas na população, o que é importante para a permanência do patógeno na lavoura atuando na regulação populacional da praga.

Aos 10 DAP a mortalidade de cada produto isolado foi de aproximadamente 80%, podendo ser considerada satisfatória. Porém é importante destacar que resultados semelhantes foram observados com a associação dos dois produtos, já aos 7 DAP. Atingir valores satisfatórios de mortalidade em menor tempo após a pulverização pode ser importante para a aceitação do método de controle pelos agricultores. Assim, a decisão sobre a pertinência da combinação de baculovírus e azadiractina deve ser tomada de acordo com o contexto de manejo de lagartas em campo, considerando fatores como as espécies de lagartas, seu nível populacional, a taxa de desfolha das plantas, condições climáticas, estágio de desenvolvimento das plantas e ocorrência de outras pragas na lavoura.

Apesar dos resultados promissores de controle proporcionado por esses produtos, a sua indicação de uso para o manejo da lagarta-falsa-medideira em soja, tanto isolados como combinados, depende da realização de estudos em campo. Se por um lado fatores climáticos podem prejudicar a ação dos produtos, devido a sua degradação ou lavagem, por outro, a seletividade, principalmente do baculovírus, e outros agentes de controle biológico podem contribuir para que, se obter resultados em campo até mais promissores do que em laboratório.

Conclusão

O baculovírus da lagarta-falsa-medideira (*ChinSNPV*, VirControl®) é compatível com azadiractina (Azamax®), no controle de *Chrysodeixis includens* em soja. A associação desses produtos proporciona interação aditiva, em que ocorre soma dos efeitos individuais. A indicação de uso de ambos produtos, isolados ou combinados, para o manejo da lagarta-falsa-medideira em soja, depende da realização de estudos em campo.

Referências

BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F.; FREITAS BUENO, R.C.O. de. Inimigos naturais das pragas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 493-629.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**: v.4, safra 2016/2017, n.8, oitavo levantamento, maio 2017. Brasília: CONAB, 2017. 144p.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; ALEXANDRE, T.M.; PELLIZZARO, E.C.; MOSCARDI, F.; BUENO, A.F. **Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura**. Londrina: Embrapa Soja. 2010. 16p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 78).

HAASE, S.; SCIOCCO-CAP, A.; ROMANOWSKI, V. Baculovirus insecticides in Latin America: historical overview, current status and future perspectives. **Viruses**, v. 7, p. 2230-2267, 2015.

HERZOG, D.C. Sampling soybean looper on soybean. In: KOGAN, M.; HERZOG, D.C. (eds.). **Sampling methods in soybean entomology**. New York: Springer-Verlag, 1980. p. 140-168.

KOGAN, M.; COPE, D. Feeding and nutrition of insects associated with soybeans. 3. Food intake, utilization and growth in the soybean looper, *Pseudoplusia includes*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 67, n. 1, p.66-72, 1974.

MACVAY; J.R.; GUDAUSKAS, R.T.; HARPER, J.D. Effects of *Bacillus thuringiensis* Nuclear-polyhedrosis vírus mixtures on *Trichoplusia ni* larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.29, p.367-372, 1977.

MASCARIN, G.M.; DELALIBERA JUNIOR, I. Insecticidal activity of the granulosis virus in combination with neem products and talc powder against the potato tuberworm *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 23-231, 2012.

MOSCARDI, F. BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; POMARI, A.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. Artrópodes que atacam as folhas. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 493-629.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 673-723.

ZAMORA-AVILÉS, N.; ALONSO-VARGAS, J.; PINEDA, S.; ISAAC-FIGUEROA, J.; LOBIT, P.; MARTÍNEZ-CASTILLO, A.M. Effects of a nucleopolyhedrovirus in mixtures with azadirachtin on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and viral occlusion body production. **Biocontrol Science Technology**, v. 23, p. 521-534, 2013.

Tabela 1. Número de lagartas de *Chrysodeixis includens* vivas após sua exposição a folhas de soja pulverizadas com baculovírus e azadiractina. Temperatura de 25°C, fotoperíodo de 14h10 (claro:escuro).

Tratamentos	Número médio de lagartas vivas ¹							
	1 DAP ²	2 DAP	3 DAP	6 DAP	7 DAP	8 DAP	9 DAP	10 DAP
Testemunha	5,00	5,00	5,00 a	4,70 a				
<i>Chin</i> SNPV (VirControl®)	5,00	4,90	4,90 a	2,90 b	2,50 b	2,20 b	2,00 b	1,10 b
Azadiractina (Azamax®)	4,90	4,80	4,40 a	2,80 b	2,70 b	2,40 b	2,00 b	0,80 b
<i>Chin</i> SNPV + Azadiractina	5,00	4,70	3,50 b	1,60 b	0,80 c	0,60 c	0,60 c	0,30 b
Coeficiente de variação (%)	3,18	7,37	13,91	26,68	31,86	33,84	33,33	37,38
Significância do teste t ³	ns	Ns	**	**	**	**	**	**

¹Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância; os dados de 6, 7, 8, 9 e 10 dias após a aplicação foram transformados por raiz quadrada de $(x + 0,1)$. ²DAP: dias após a pulverização. ³Significância do teste t: ns indica diferença não significativa; ** indica diferença significativa ao nível de 1%. Menor número médio de lagartas no tratamento *Chin*SNPV + azadiractina em relação aos produtos isolados também foi observado aos 7, 8 e 9 DAP. Aos 10 DAP foi observado menor número de lagartas em todos os tratamentos em relação a testemunha, porém sem diferença entre si, isso indica estabilização no potencial de controle do tratamento *Chin*SNPV + Azadiractina, que, em datas anteriores, apresentou maior controle em relação aos produtos isoladamente.

Tabela 2. Taxa (%) de mortalidade acumulada de lagartas de *Chrysodeixis includens* após sua exposição a folhas de soja pulverizadas com baculovírus e azadiractina. Temperatura de 25°C, fotoperíodo de 14h10 (claro:escuro).

Tratamentos	Taxa (%) de mortalidade de lagartas							
	1 DAP ¹	2 DAP	3 DAP	6 DAP	7 DAP	8 DAP	9 DAP	10 DAP
Testemunha	0	0	0	0	0	0	0	6
<i>Chin</i> SNPV (VirControl®)	0	2	2	42	50	56	60	78
Azadiractina (Azamax®)	2	4	12	44	46	52	60	84
Mortalidade esperada ²	1,5	4,5	10,5	64,5	72,0	81,0	90,0	> 100
<i>Chin</i> SNPV + Azadiractina	0	6,0	30,0	68,0	84,0	88,0	88,0	94,0
Limite inferior ³	-	-0,9	14,5	55,9	69,2	78,0	78,0	87,1
Limite superior ³	-	12,9	45,5	80,1	98,8	98,0	98,0	> 100
Interação ⁴	-	aditiva	sinérgica	aditiva	aditiva	aditiva	aditiva	-

¹ DAP: dias após a pulverização. ² Mortalidade esperada corresponde a soma do efeito de cada produto isoladamente. ³ Limites inferiores e superiores do tratamento *Chin*SNPV + Azadiractina, considerando intervalo de confiança do tratamento. ⁴ interação aditiva ocorre quando a mortalidade esperada está contida entre o limite superior e inferior dos dados observados no tratamento *Chin*SNPV + Azadiractina, acima disso a interação é considerada sinérgica e abaixo antagonica.