



## EFEITO DA ADIÇÃO DO BRANQUEADOR ÓPTICO FB 28 (0,1%) A ChinNPV NA MORTALIDADE DE LAGARTAS DE *Chrysodeixis includens* E NA PRODUÇÃO DE CORPOS POLIÉDRICOS DE OCLUSÃO EM DIFERENTES TEMPERATURAS

BENATTO, A.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, M.C.N.<sup>2</sup>; SOSA-GÓMEZ, D.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Entomologia, UFPR, Curitiba, PR; <sup>2</sup>Embrapa Soja, email: daniel.sosa-gomez@embrapa.br

Os baculovírus são importantes agentes de controle biológico (Moscardi, 1999). Uma de suas características é a produção de estruturas denominadas corpos de oclusão (CO's), que liberados no ambiente podem provocar epizootias na população dos insetos suscetíveis (Granados, 1980). Branqueadores ópticos aumentam a atividade viral, sendo ferramentas potencialmente úteis para o controle de um grande número de lepidópteros praga (Shapiro, 2000). A interação entre branqueadores ópticos e vírus depende do inseto hospedeiro, da linhagem do vírus, da natureza química do produto, de sua concentração e de sua virulência (Rossi-Zalaf et al., 2008).

A eficiência do vírus é medida em termos de concentração-mortalidade, velocidade de morte e produção de CO's (Liao et al., 2016). O número de CO's produzido por lagarta é de grande importância para a produção massal de baculovírus para a formulação de bioinseticidas e para sua dispersão no campo. Diversas técnicas têm sido propostas para aumentar a produção de vírus (CO's), no entanto, o efeito da adição de branqueadores ópticos que atuam como sinergistas na produção de CO's carece de investigação.

Este trabalho teve como objetivo determinar o efeito da adição de branqueadores ópticos na mortalidade de lagartas de *Chrysodeixis includens* e na produção de corpos poliédricos de oclusão de ChinNPV em diferentes temperaturas de incubação.

Lagartas de *C. includens* de 3º e 4º instares foram alimentadas com dieta artificial inoculada com ChinNPV combinada com o branqueador óptico FB 28 (Sigma, Life Science) a 0,1% (0,1g/100ml). As lagartas foram individualizadas em bandejas plásticas com tampa e mantidas em BOD em três temperaturas de incubação: 22° C, 26° C e 30° C. A coleta de lagartas mortas por vírus foi feita conforme metodologia descrita por Lasa et al. (2007). O número de CO em cada lagarta foi determinado através de contagem em câmara de Neubauer, sob microscópio de contraste de fase com aumento de 400X. Os dados de mortalidade foram submetidos ao método de Análise Sobrevivência de Riscos Competitivos (ASRC). Dados de peso de lagartas (mg) e número de poliedros (CO/mg e CO/ lagarta) foram analisados por Análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Quando necessário, os dados foram transformados aplicando  $\log(x+1)$ .

A temperatura de incubação afetou o tempo de mortalidade de lagartas de terceiro e quarto instares de *C. includens*, porém sem representar incremento na porcentagem de mortalidade, sendo que o aumento da temperatura resultou em redução do tempo médio de mortalidade (TMM) (Tabela 1). A taxa de desenvolvimento viral é afetada pela temperatura de incubação, uma vez que a replicação viral é mais lenta em baixas temperaturas (Boucias et al., 1980), sendo reduzida em uma faixa de temperatura entre 15°C e 20°C e inibida em temperaturas extremas, abaixo de 10°C e acima de 40°C (Johnson et al., 1982).

A adição de FB 28 (0,1%) ao vírus no momento da inoculação reduziu o TMM e aumentou a mortalidade de lagartas de 3º e 4º instares em todas as temperaturas, principalmente em 30°C (Tabela 1). A redução do tempo médio de mortalidade em função da adição de FB 28 representa uma aceleração na velocidade da infecção em função da destruição da membrana peritrófica (Zhu et al., 2007) e pela inibição da apoptose celular do mesêntero das lagartas. Acredita-se que a apoptose seja uma importante defesa celular



do hospedeiro, sugerindo que sua inibição possa acelerar a velocidade da infecção (Washburn et al., 1998).

A produção de poliedros por lagarta (CO/lag) e poliedros por peso de lagarta (CO/mg) foi afetada pela adição de FB 28 (0,1%) em lagartas de 3º e 4º instares, em todas as temperaturas. A adição de FB 28 (0,1%) ao ChinNPV causou redução no peso médio das lagartas e na produção total de CO/lag, em ambos os instares, quando comparado ao ChinNPV sozinho (Tabelas 2). Os fatores que afetam a produção de corpos de oclusão podem ser inerentes ao hospedeiro (instar e peso), ou ainda relacionados ao patógeno (isolado viral) e condições de incubação (período e temperatura) (Sherman, 1985). Uma vez que a adição de FB 28 reduz drasticamente o tempo de mortalidade de lagartas, e assim o tempo de incubação, o número de ciclos de replicação será limitado, consequentemente resultando em redução da produção de corpos de oclusão (Bernal et al., 2014).

Conclui-se que o tempo médio de mortalidade de lagartas de terceiro e quarto instares de *C. includens* é reduzido pelo aumento da temperatura de incubação e pela adição de FB 28 (0,1%). O branqueador óptico FB 28 (0,1%) reduz a produção de CO's de ChinNPV em lagartas de terceiro e quarto instar, independente da temperatura de incubação. Portanto, o uso do branqueador óptico nestas condições não é apropriado para a produção de vírus em grande escala.

#### Referências

- BERNAL, A.; SIMÓN, O.; WILLIAMS, T.; CABALLERO, P. Stage-specific insecticidal characteristics of a nucleopolyhedrovirus isolate from *Chrysodeixis chalcites* enhanced by optical brighteners. **Pest Management Science**, v.70, n. 5, p.798-804, 2014.
- BOUCIAS, D.G.; JOHNSON, D.W.; ALLEN, G.E. Effects of host age, virus dosage, and temperature on the infectivity of a nucleopolyhedrosis virus against velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* larvae. **Environmental Entomology**, v. 9, n.1, p.59-61, 1980.
- GRANADOS, R.R. Infectivity and mode of action of baculoviruses. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, p.1377-1405, 1980.
- JOHNSON, D.W.; BOUCIAS, D.B.; BARFIELD, C.S.; ALLEN G.E. A temperature-dependent developmental model for a nucleopolyhedrosis virus of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 40, n.2, p.292-298, 1982.
- LASA, R.; RUIZ-PORTERO, C.; ALCÁZAR, M.D.; BELDA, J.E.; CABALLERO, P.; WILLIAMS T. Efficacy of optical brightener formulations of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) as a biological insecticide in greenhouses in southern Spain. **Biological Control**, v. 40, p. 89-96, 2007.
- LIAO, Z.H.; KUO, T.C.; SHIH, C.W.; TUAN, S.J.; KAO, Y.H.; HUANG, R.N. Effect of juvenile hormone and pyriproxyfen treatments on the production of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.161, n.2, p. 112-120, 2016.
- MOSCARDI, F. Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**. v.44, p.257-258, 1999.
- ROSSI-ZALAF, L.S.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M.R. Interação de microorganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: Alves S.B., Lopes R.B. (Eds) **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Fealq, Piracicaba, p. 279- 302, 2008.
- SHAPIRO M. Enhancement in activity of homologous and heterologous baculoviruses infectious to beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) by an optical brightener. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n.3, p.572-576, 2000.
- SHERMAN, K.E. Multiple virus interaction. In: Maramosch, K., Sherman, K.E. (Eds.) **Viral insecticides for biological control**. Academic Press, New York. 1985. p.735-756.



WASHBURN, J. O.; KIRKPATRICK, B.A.; HAAS-STAPELTON, E.; VOLKMAN, L. E. Evidence that the stilbene-derived optical brightener M2R enhances *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus infection of *Trichoplusia ni* and *Heliothis virescens* by preventing sloughing of infected midgut epithelial cells. **Biological Control**, v. 11, p. 58–69, 1998.

ZHU, R.; LIU, K.; PENG, J.; YANG, H.; HONG, H. Optical brightener M2R destroys the peritrophic membrane of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Pest Management Science**, v.63, p. 296–300, 2007.

**Tabela 1.** Efeito de Fluorescent Brightener 28 (0,1%) adicionado a ChinNPV na mortalidade de lagartas de 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> instares de *Chrysodeixis includens*.

Ínstar	Tratamento	Temperatura (° C)	Mortalidade (%)	TMM <sup>1</sup>
3 <sup>o</sup>	ChinNPV 5.000 OB.m <sup>-1</sup>	22	29,46	10,03 Aa
		26	34,82	7,69 Ba
		30	50,89	6,67 Ca
	ChinNPV 5.000 OB.m <sup>-1</sup> + FB 28 0,1%	22	84,82	6,85 Ab
		26	83,04	5,71 Bb
		30	84,82	4,08 Cb
4 <sup>o</sup>	ChinNPV 40.000 OB.m <sup>-1</sup>	22	72,50	8,38 Aa
		26	80,00	6,72 Aa
		30	62,50	4,96 Ba
	ChinNPV 40.000 OB.m <sup>-1</sup> + FB 28 0,1%	22	82,50	5,70 Ab
		26	70,00	4,75 Bb
		30	72,50	3,17 Bb

<sup>1</sup>TMM=Tempo médio de mortalidade

**Tabela 2.** Efeito de FB 28 no peso larval E de oclusão (CO) em isolados de ChinNPV em lagartas de 3<sup>o</sup> e 4<sup>o</sup> instares de *Chrysodeixis includens* em laboratório. Número de CO x 10<sup>6</sup>.ml<sup>-1</sup>.

Ínstar	Tratamento	Temperatura (°C)	peso (mg)	CO/mg	CO/lagarta
3 <sup>o</sup>	ChinNPV 5.000 CO.ml <sup>-1</sup>	22	33,8 Aa	1,69 E+07 Aa	572,0Aa
		26	43,8 Aa	2,47 E+07 Aa	1080,0Aa
		30	45,3 Aa	2,06 E+06 Ba	935,0Aa
	ChinNPV 5.000 CO.ml <sup>-1</sup> + FB 28 0,1%	22	11,3 Bb	6,51 E+06 Bb	73,6Bb
		26	7,6 Bb	5,75 E+06 Bb	43,7Bb
		30	5,4 Bb	4,02 E+06 Bb	21,7Bb
4 <sup>o</sup>	ChinNPV 40.000 CO.ml <sup>-1</sup>	22	71,6 Aa	1,70E+07Aa	1190,0Aa
		26	125,3 Aa	5,80E+06Ba	738,0Aa
		30	89,7 Aa	4,85E+06Ba	355,0Aa
	ChinNPV 40.000 CO.ml <sup>-1</sup> + FB 28 0,1%	22	24,9 Bb	3,28E+06Bb	77,2Bb
		26	18,3 Bb	9,97E+06Bb	157,0Bb
		30	13,6 Bb	2,85E+06Bb	33,5Bb