

Identificação do baculovirus da lagarta-do-álamo *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Pyralidae)

*Maria Elita Batista Castro*¹

*Zilda Maria Araújo Ribeiro*²

*Marlinda Lobo Souza*³

*Nilton J. Sousa*⁴

*Flávio Moscardi*⁵

A mariposa-do-álamo, *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera:Crambidae), é considerada a principal praga de uma planta da família Salicaceae, gênero *Populus*, conhecida popularmente por Álamo ou Choupo. Esta planta é cultivada no Brasil para suprir a indústria do fósforo na fabricação de palitos e caixas. O desfolhamento, causado por *C. vestigialis*, reduz consideravelmente o crescimento, o que torna seu controle uma necessidade. Até o momento, esta atividade tem sido feita com sucesso, principalmente com a aplicação de produtos químicos, mais especificamente com o ingrediente ativo deltametrina do grupo dos piretróides (Trefflich, et al. 2000).

Entretanto, as sensíveis condições do ambiente de várzea onde o álamo é cultivado têm feito com que pesquisadores e silvicultores envolvidos com esta cultura procurem novas alternativas de controle, que causem o menor impacto ambiental possível.

Há cerca de dois anos, foram detectadas, em coletas de campo, lagartas de *C. vestigialis* com sintomatologia característica de infecção por vírus. Inicialmente, foi preparado um macerado do material coletado e utilizado em

um bioensaio de laboratório. Como os resultados foram positivos, foi feita a multiplicação do vírus em laboratório através da infecção de lagartas sadias criadas em dieta artificial. Com este material foi feito um novo macerado, que após centrifugação, o sobrenadante foi diluído em três diferentes concentrações, sendo então utilizadas em um teste de campo.

Diante dos resultados obtidos nos experimentos preliminares, em laboratório e campo, teve início o presente trabalho com o objetivo de identificar e caracterizar morfologicamente o agente patogênico à lagarta-do-álamo utilizando-se de análises por microscopia ótica e microscopia eletrônica.

Para tanto, parte das lagartas contaminadas foi submetida inicialmente a uma análise visual, onde constatou-se que as lagartas provenientes de plantações de álamo (Fig. 1) apresentam sintomatologia visivelmente muito semelhante à de infecção por baculovirus: corpo flácido, mudança na coloração do tegumento e, na fase final da doença, fixadas às folhas pelas patas posteriores (Fig. 2). E quanto às lagartas contaminadas em laboratório, constatou-se

¹ Bióloga, PhD., Virologia Molecular, Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail:elita@cenargen.embrapa.br

² Bióloga, MSc., Fitopatologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Bióloga, PhD., Virologia Molecular, Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Florestal, Dr., Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal do Paraná

⁵ Eng. Agr., PhD, Entomologia, Pesquisador da Embrapa Soja.

sintomas de uma infecção sistêmica, com perda de apetite e posterior morte (Fig.3).

Em seguida, este material foi então submetido aos tratamentos usados rotineiramente para purificação de partículas virais (poliedros ou grânulos) (Souza et al., 2001), que consistem na maceração de lagartas infectadas em tampão salina-fosfato (PBS 1X), pH 7,5, e o macerado resultante foi filtrado em gaze, e então centrifugado a 2500rpm por 5min para retirada de debris celulares. Para purificação parcial das partículas virais, o sobrenadante foi coletado e centrifugado a 12000rpm por 5min e o sedimento ressuspenso em PBS, sendo este procedimento repetido por duas vezes. Este material foi então observado ao microscópio óptico de contraste de fase, onde foi detectada a presença de estruturas bi-refringentes típicas de poliedros (Fig. 4).



Fig.1 Plantações de Álamo na região de São Mateus do Sul, Paraná.



Fig.2 Lagarta de *Condylorrhiza vestigialis* com sintomatologia característica de infecção por baculovirus observada em plantações de álamo.



Fig. 3 *Condylorrhiza vestigialis* - Lagarta sadia (coloração mais escura), lagarta contaminada pela ingestão de dieta artificial contendo vírus (coloração mais clara).

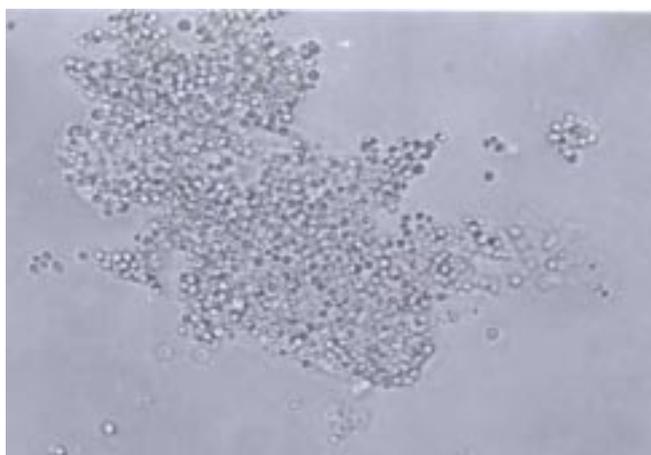


Fig. 4 Poliedros de *Condylorrhiza vestigialis* MNPV. Visualização, com aumento de 1000X, por microscopia de contraste de fase.

Posteriormente, para melhor identificação e análise morfológica do agente causal da doença, o material foi processado e analisado ao microscópio eletrônico de transmissão (MET). Amostra de tecidos da lagarta infectada foi fixada com glutaraldeído 2,0% em tampão cacodilato 0.02M, pH 7,2. As amostras foram pós-fixadas com tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0.05M, pH 7,2, desidratadas em acetato de uranila 0.5% e em diluições seriadas de acetona. Durante infusão, as amostras foram inicialmente mantidas em resina Spurr : acetona (1:1) à temperatura ambiente, seguido por imersão em Spurr a 70°C por 3 dias. As amostras foram então visualizadas em microscopia eletrônica de transmissão e confeccionadas micrografias eletrônicas.

Nas micrografias, foram constatadas partículas virais (poliedros), com cortes transversais e longitudinais de

virions contendo um a vários nucleocapsídeos envoltos por uma membrana, caracterizando este vírus como um baculovirus múltiplo (M), incluso numa matriz protéica de forma poliédrica (Fig. 5), similar à morfologia descrita no Sétimo Relatório do Comitê Internacional em Taxonomia de Vírus (Blissard et al., 2000).

Assim, concluiu-se que o vírus associado a *C. vestigialis*, trata-se de um vírus do gênero *Nucleopolyhedrovirus* (NPV), família *Baculoviridae*, podendo ser denominado de *Condylorrhiza vestigialis* multiple nucleopolyhedrovirus (CvMNPV).

Como este é o primeiro relato de ocorrência natural de baculovirus, causando morte em *C. vestigialis*, este fato abre perspectivas promissoras de sua utilização no controle biológico de *C. vestigialis*, e em um futuro próximo o manejo integrado desta praga. Para tanto, estudos mais detalhados de caracterização do vírus são requeridos, pois estes servirão como suporte para seu uso como bioinseticida, o que poderá trazer grandes benefícios ecológicos e econômicos ao País.

Agradecimentos

Esta pesquisa recebeu apoio financeiro da FUPEF do Paraná - Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná, Indústrias Andrade Latorre S/A e Swedish Match do Brasil S/A.

Referências Bibliográficas

BLISSARD, G. W.; BLACK, B.; CROOK, N.; KEDDIE, B. A.; POSSEE, R. D.; RHORMANN, G. F.; THEILMANN, D.; VOLKMAN, L. Baculoviridade. In: VAN REGENMORTEL, M. H. V.; FAUQUET, C. M.; BISHOP, D. H. L.; CARSTENS, E. B.; ESTES, M. K.; LEMON, S. M.; MANILOFF, J.; MAYO, M. A.; MCGEOCH, D. J.; PRINGLE, C. R.; WICKNER, R. B *Virus taxonomy seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic Press, 2000. p. 195-202.

SOUZA, M. L.; CASTRO, M. E. B.; SHILER, W.; RIBEIRO, Z. M. A.; MOSCARDI, F. Metodologias para caracterização de vírus de insetos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 13 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 13).

TREFFLICH, K.; SOUSA, N. J. Eficiência de três produtos químicos para o controle de *Condylorrhiza vestigialis* Guenée, 1854 (*Lepidoptera-Pyralidae*). In: SANQUETA, C. R. (Ed.). Floresta. Curitiba: FUPEF, 2000. p. 182 .

Comunicado Técnico, 87

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Serviço de Atendimento ao Cidadão
Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) -
Brasília, DF. CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372
PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624
<http://www.cenargen.embrapa.br>
e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2003): 150 unidades

Comitê de publicações

Presidente: Luzamar Alves Duprat
Secretário-Executivo: Maria José de Oliveira Duarte
Membros: Maurício Machaim Franco
Regina Maria Dechechi G. Carneiro
Luciano Lourenço Nass
Sueli Correa Marques de Mello
Vera Tavares Campos Carneiro

Expediente

Supervisor editorial: Maria José de Oliveira Duarte
Normalização Bibliográfica: Maria Alice Bianchi
Editoração eletrônica: Giscard Matos de Queiroz