

EFEITO DO pH NA EFICÁCIA DE *Baculovirus anticarsia*

Telma F. C. Batista¹, Luiz C. Belarmino²

RESUMO

Diversos fatores podem influenciar a eficácia do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis*, o *Baculovirus anticarsia* (AgNPV), dentre os quais o pH da calda da suspensão. Essa influência é importante para atender o programa brasileiro de uso desse vírus no controle da lagarta da soja, porque existe variação na concentração de íons de hidrogênio nas águas utilizadas nas pulverizações. O efeito do pH foi avaliado em bioensaios em laboratório e no campo, com determinação da concentração letal média (CL₅₀), tempo letal médio (TL₅₀), eficácia na redução populacional da lagarta da soja, proteção contra desfolhamento, queda no rendimento de grãos e redução no número de poliedros. Os níveis de pH avaliados foram 3, 5, 6,2, 7, 9 e 11. Em laboratório foi avaliado a resposta do AgNPV após algumas horas da preparação da suspensão. Os resultados demonstraram que o número de poliedros do vírus reduziu nos pHs 3 e 11 após 2, 4, 8 e 16 horas da mistura, enquanto que a CL₅₀ e o TL₅₀ aumentaram e a área foliar e o rendimento de grãos diminuíram. A eficácia de controle foi menor nos pHs 3, 9 e 11 após 11 dias de aplicação do vírus sobre população natural da lagarta. Esses resultados permitem concluir que os pHs 3 e 11 afetam a virulência e eficácia de *B. anticarsia* no controle da lagarta da soja *A. gemmatalis*.

Palavras-chave: *Anticarsia gemmatalis*, AgNPV, pH, CL₅₀, TL₅₀, soja

¹UFRA - CP: 19, CEP: 66.077.530, Belém - PA

²CPACT/Embrapa - CP: 403, CEP:96.001-970, Pelotas - RS.

EFFECT OF pH ON *Baculovirus anticarsia* EFFICIENCY

ABSTRACT

Among the factors that can influence the nucleopolyhedros virus of *Anticarsia gemmatalis* is the pH of the inoculum suspension, due to the variation on hydrogen ions concentration in waters used for spraying. In laboratory and field tests pH of 3, 5, 6,2, 7, 9 and 11 were evaluated for lethal average concentration (LC₅₀), lethal average time (LT₅₀), efficiency in caterpillar population reduction, protection against defoliation, losses in kernel yield and reduction on polyhedral number. The results showed that countings of polyhedral in Neubauer chamber were reduced at 2, 4, 8 an 12 h after the mixture. The LC₅₀ and LT₅₀ increased in pHs 3 and 11 as time after mixture increased. The control efficiency eleven days after spraying was lower in plots where virus suspended in pHs 3, 9 an 11 was applied. Foliar area and kernel yield were lower in treatments with pHs 3 and 11. One observed that pHs 3 and affect virulence and efficiency of *B. Anticarsia* to control *A. gemmatalis* in soybean.

Key words: *Anticarsia gemmatalis*, AgNPV, pH, LC₅₀, LT₅₀, soybean

INTRODUÇÃO

A técnica de utilização do *Baculovirus anticarsia* (AgNPV) para o controle da lagarta da soja, a mais importante desfolhadora dessa cultura, é bastante difundida em todo o Brasil. Atualmente cerca de 10% da área plantada de soja no país é tratada com esse vírus, proporcionando redução significativa no uso de agrotóxicos para o controle dessa praga, especialmente nos estados da região Sul do Brasil, onde concentram-se as maiores áreas de cultivo de soja.

Um dos fatores relevantes no uso de inseticidas para controlar a lagarta da soja, é a economicidade. Belarmino (1992) demonstrou que o

efeito de AgNPV é cerca de 10 vezes superior ao produto comercial à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* Var. *kurstaki* e 15 a 20 vezes superior aos inseticidas químicos mais utilizados na cultura da soja. Além disso, Silva (1986) relatou que a utilização desse vírus oferece segurança no controle, seletividade aos inimigos naturais e não representa riscos toxicológicos para o homem, os animais domésticos e o ambiente.

Apesar da eficácia comprovada de AgVPN no controle da lagarta da soja (Moscardi, 1983 e 1986), alguns relatos de baixa eficiência têm sido apresentados por extensionistas e sojicultores brasileiros.

Diversos fatores podem afetar a eficiência de AgVPN em campo, dentre eles destacam-se radiação ultravioleta, estabilidade genética do vírus e da lagarta, temperatura, dosagem utilizada e instar larval, entre outros. Além desses, outro fator importante é o pH da calda de pulverização que também pode influenciar no desempenho do vírus. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi de verificar o efeito de diferentes níveis de pH sobre a eficiência de *B. anticarsia* no controle da lagarta da soja *A. gemmatilis*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento constou de duas fases. Sendo que para a realização do bioensaio de campo foi necessária a preparação antecipada das soluções dos pHs 3, 5, 7, 9 e 11, (Tabela 1), exceto o pH 6,2 que foi o índice medido da água da torneira e utilizado como um dos tratamentos.

Tabela 1. Compostos químicos, diluição e mistura final de cada reagente utilizado na preparação das soluções tampões em diferentes níveis de pH.

pH	Reagentes/g	Peso (g)	Água (ml)	Qtde. Reagentes/ml Mistura
3e5	Ac. Cítrico - $C_6H_8O_7$ - A	115,26	6.000	pH 3 - 2.790 (A) + 210 (B)
	Citrato de Sódio - $C_6H_5O_7Na_3$ - B	77,40	3.000	pH 5 - 1.230 (A) + 1.707 (B)
7e9	Tris (Hydroxymethyl) amino Methan - $C_4H_{11}NO$ - A	72,60	6.000	pH 7 - 3.000 (A) + gotas HCl PH 9 - 3.000 (A) + gotas HCl
11	Carbonato de Sódio - Na_2CO_3 - A	31,80	3.000	pH 11 - 3.000 (A) + 400 (B)
	Bicarbonato de Sódio	5,30	500	
	- $NaHCO$ - B			

Nesse bioensaio, o produto comercial à base de *B. anticarsia* utilizado nas suspensões de pHs foi o Nítral-PM. A concentração utilizada foi de 20 g/ha, conforme a recomendação do fabricante.

A tecnologia de aplicação constou de pulverizador costal/ CO_2 , com capacidade para 12 l e pressão de 40 lb/pol², equipado com barra de 2 m, contendo 4 bicos tipo cone cheio e velocidade de deslocamento de 1 m/s, resultando em vazão igual a 104 l/ha.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados com quatro repetições e cada parcela foi constituída de 50 m².

A desfolha foi avaliada retirando-se 9 plantas/parcela e de cada planta 2 trifólios os quais foram submetidos a quantificação foliar usando aparelho portátil medidor de área foliar em cm². A colheita foi realizada manualmente retirando-se 4 m²/parcela.

As avaliações foram feitas na pré-amostragem e 11 dias após tratamento (DAT), contando-se o número de lagartas vivas em pano de batida. Após as avaliações as médias foram transformadas pela fórmula $\sqrt{(x+0,5\%)}$ e, depois, submetidas à análise de variância e ao teste de Duncan

5%. A eficiência de controle foi calculada pela fórmula de Henderson e Tilton (1955).

No biensaio de laboratório os poliedros de AgVPN utilizados foram derivados do produto comercial da Ocepar com formulação pó molhável. A quantificação dos mesmos foi de acordo com Moraes e Alves (1986). De posse da quantificação foram feitas as diluições para obtenção das doses utilizadas para cada pH: 625, 1.250, 25×10^2 , 5×10^3 , 1×10^4 e 2×10^4 pol/ml, conforme descrição feita por Fiúza (1991).

Os bioensaios com os pHs 3, 7 e 11 foram realizados após 0, 4, 8, 12 e 16 h da mistura do entomopatógeno com a solução do pH, enquanto que os pHs 5 e 9 foram montados somente a 0 h após a mistura.

A metodologia para a inoculação do vírus nas lagartas do terceiro ínstar de *A. gemmatalis* constou de imersão dos cubos de dieta artificial de Greene *et al.*, (1976) na suspensão de inóculos, conforme técnica descrita por Pinto (1995). Após a retirada do cubo de dieta (1 cm^3) da suspensão de vírus, este foi oferecido a duas lagartas em copo plástico de 50 ml. Os copos foram fechados e acondicionados em estufa do tipo B.O.D. com temperatura de $28 \pm 1^\circ \text{C}$ e UR de 80%. Cada dose de AgVPN foi avaliada sobre 24 lagartas, onde cada lagarta foi considerada uma repetição. O delineamento foi inteiramente ao acaso.

As avaliações foram realizadas diariamente a partir do quarto dia da montagem do bioensaio, descartando-se lagartas mortas por virose até a fase de pré-pupa.

A concentração letal (CL_{50}), em pol/ml, e o tempo letal (TL_{50}), em dias, foram calculados pela análise de Probit.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A menor concentração de poliedros e o tempo letal médio foi para o pH 5. Nota-se que nesse nível a mortalidade das lagartas de *A. gemmatalis*

ocorreu com média de 219 poliedros/ml num tempo de seis dias, sendo que no tempo letal o intervalo de confiança variou entre 4,7 e 6,6, o qual não se sobrepôs aos demais intervalos dos outros pHs (Tabela 2), enquanto que a maior concentração letal foi para o pH 7 com 963 poliedros/ml, ou seja, o pH neutro. Isso demonstrou que o pH 7 não afeta a integridade da partícula viral na suspensão, conforme pode ser observado na contagem de poliedros/ml (Tabela 3), nota-se que nesse nível não houve diferença estatística nos diferentes intervalos de tempo.

Tabela 2. Concentração Letal (CL50), Tempo Letal (TL50), Lagartas grandes/pano de batida de *Anticarsia gemmatalis* (N) na pré-amostragem, número de lagartas e percentagem de controle (%C) após 11 dias de tratamento, área foliar e rendimento de grãos de área tratada com o produto formulado Nutral/96 à base de *Baculovirus anticarsia* em diferentes níveis de pH.

pH	CL50/IC ¹	TL50/IC ¹	Pré-am. 11 DAT			Área Foliar	Rend.
	Pol/ml		N	N	%C	(cm ²)	(Kg/ha)
pH 3	721/206 - 1.332	9/8,7 - 9,9	20 a ²	11 b ²	32	39 c ²	1.233 b ²
pH 5	219/4 - 662	6/4,7 - 6,6	21 a	6 c	65	59 a	1.450 a
pH 6,2	-	-	22 a	6 c	66	64 a	1.478 a
pH 7	963/374 - 1.637	8/7,3 - 9,1	18 a	6 c	59	59 a	1.470 a
pH 9	319/6 - 840	8/7,7 - 8,7	15 a	9 b	26	54 b	1.120 b
pH 11	752/143 - 1.508	8/7,9 - 9,51	22 a	11 b	38	34 c	1.080 b
Test.	-	-	21 a	17 a		22 d	930 c
CV(%)	-	9,38	13,05	13,22		3,66	4,20

¹Intervalos de confiança

²Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Houve influência do pH sobre a eficácia agrônômica no controle de lagartas de *A. gemmatalis*. Observa-se (Tabela 2), que as maiores percentagens de controle ocorreram nos pHs 5, 6,2, 7 e 9, com índices de

65%, 66%, 59% e 54%, respectivamente, ou seja, os níveis que ficaram próximos ao neutro (pH 7). Esse resultado sugere que caldas com pH próximo ao pH neutro são mais eficientes, quando preparadas e aplicadas imediatamente, enquanto que caldas com águas com extrema acidez ou básicas são menos eficientes em condições de campo, como pôde ser observado nos pH 3 e 11. Esses resultados de menor eficiência em pH em níveis extremos são similares aos encontrados por Young *et al.*, (1977), Thomas *et al.*, (1973), Keating *et al.*, (1988) e Al-Migharabi *et al.*, (1992) com diferentes espécies de vírus de poliedrose nuclear. Além disso, foram observados maiores índices de área foliar e rendimento de grãos para os pHs 5, 6,2, 7 e 9; dentre estes, o pH 9 foi o que obteve menor rendimento cerca de 1.120 Kg/ha redução em média de 300 Kg/ha, enquanto que os pHs 3 e 11 atingiram cerca de 1.233 e 1.080 Kg/há, respectivamente.

Para reforçar a hipótese de que o pH pode afetar a integridade dos poliedros e diminuir sua eficiência, foi realizado o bioensaio em diferentes níveis de pHs no tempo. Assim, observou-se a redução do número de poliedros/ml para os pHs 3, 5 e 11, (Tabela 3). Nota-se, que a diminuição da concentração de poliedros foi afetada pelo tempo de sua imersão nas suspensões (0 a 12 h). Isso, provavelmente, pode explicar alguns resultados negativos da aplicação com *B. anticarsia* para o controle da lagarta *A. gemmatalis*, com efeito mais expressivo quando a calda é preparada no dia anterior. Esse período de contato entre a água e o poliedro é suficiente para que os meios com pHs extremos, ou seja, muito ácidos ou básicos, afetem a ação do vírus. Assim, a qualidade da água utilizada nas pulverizações e a medição do nível do pH, antes das aplicações no campo, devem ser atitudes preventivas de extrema importância antes das aplicações no campo, porque o pH da calda de pulverização de *B. anticarsia* pode ser um dos fatores ligados aos casos de relatos de ineficiência de AgVPN no Brasil, principalmente na

região Sul, onde se localiza a maior área plantada dessa cultura e os maiores gastos com o controle da lagarta da soja.

Tabela 3. Concentração de poliedros (pol/ml) de *Baculovirus anticarsia* em diferentes períodos e pHs.

Tempo	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9	pH 11
- 0 h	8,52 a ²	9,60 a ²	11,20 a ²	13,86 a ²	13,75 a ²
- 2 h	6,00 b	4,9 ab	11,64 a	13,02 a	9,06 b
- 4 h	4,30 c	3,00 bc	10,72 a	13,87 a	8,60 b
- 8 h	3,98 c	2,40 bc	10,36 a	12,64 a	6,95 bc
- 12 h	1,87 d	1,33 c	8,03 a	10,12 a	4,26 c
CV (%)	13,15	38,07	32,93	1395	19,47

²Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Duncan a 5% de probabilidade.

A contagem do número de poliedros em diferentes níveis de pHs demonstrou claramente a influência do efeito da concentração dos íons de H⁺ e de OH⁻ sobre a integridade física dos mesmos, especialmente a partir de 2 horas após a mistura de AgVPN com a água nos pHs 3, 5 e 11. Observa-se que para esses pHs em 0 h, logo após a preparação da suspensão, os mesmos obtiveram cerca de 8,52, 9,60 e 13,75 poliedros/ml e após 12 h as médias reduziram para 1,87, 1,33 e 4,26 poliedros/ml, ou seja, redução significativa de poliedros com percentual 22%, 14% e 31%, respectivamente. Esse resultado concorda com Ignoffo e Garcia (1966), citados por Granados e Federici (1986), onde os autores relatam que suspensões com pHs extremos podem degenerar os poliedros virais. Além disso, a avaliação de virulência de *B. anticarsia* suspensos nos pHs 3 e 11 demonstraram que a concentração letal e o tempo letal aumentaram com o tempo de exposição, o que pode determinar que os poliedros possam ser dissolvidos ou degenerados, devido aos efeitos do excesso da concentração dos íons de hidrogênio (H⁺) e da

oxidrila (OH⁻) contidas nas águas ácidas e alcalinas, respectivamente, o que provavelmente pode explicar menor eficiência de AgVPN nesses pHs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELARMINO, L. C. 1992. Avaliação econômica de inseticidas biológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, p.371-89.
- FAGUNDES, A. C. & BAUCKE, O. 1962. Ensaio de campo visando o controle à "lagarta da soja" *Anticarsia gemmatalis*, 1818, Lepidoptera – Noctuidae. **Rev. Fac. Agron. E Vet. Da UFRGS**, Porto Alegre, v.5, p.95-9.
- GRANADOS, R. R. & FEDERICI, B. A. 1986. The biology of baculoviruses. Biological properties and molecular biology. Florida: **CRC Press**. v.2. p.161.
- GREENE, G. L.; LEPLA, N. C. & DICKERSON, W. A. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure an artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.69. n.4. p.487-88.
- HENDERSON, C. F. & TILTON E. W. 1955. Test with caracides against the brown wheat nite. **Journal of Economic Entomology**, College Parck. V.48. n.2. p.57-61.
- KEATING, S. T.; YENDOL, W. G. & SHULTZ, J. C. 1988. Realtionship between suscetibility of gypsi moth larvae (Lepidoptera: Lymantriidae) to a Baculovirus and host plant foliage constituents. **Environmental Entomology**, College Parke, v.17. p.313-22.
- MOSCARDI, F. 1983. Utilização do *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. Londrina: EMBRAPA-CNPSo. 13p. (**Comunicado Técnico, 23**).
- MOSCARDI, F. 1986. Utilização de vírus para o controle da lagarta da soja. In: ALVES, S. B. (Coord.). **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: Ed. Manole. p.188-202.

- MORAES, S. A. & ALVES, S. B. 1986. Quantificação de inóculos de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. (Coord.). **Controle Microbiano de Insetos**. São Paulo: Ed. Manole. p.278-88.
- PINTO, J. R. 1995. Avaliação de inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner estromes e associados com piretróides para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hubner, 1818. pelotas: Universidade Federal de Pelotas. 113p. **Dissert. (mestrado)**.
- SILVA, M. T. B. 1986. Estudo comparativo sobre o uso do *Baculovirus anticarsia* por diversos equipamentos de aplicação. **Trigo e Soja**. Porto Alegre, n.87. p.22-29.
- THOMAS, E. D.; REICHELDERFER, C.F. & HEIMPEL, A. M. 1973. The effect of soil pH on the persistence of cabbage looper nuclear polyhedrosis virus in soil. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.21. p.215.
- YOUNG, S. Y.; YEARIAN, W. C. & KIM, K. S. 1977. Effect of dew from cotton and soybean foliage on activity of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus. **Journal Invertebrate Pathology**. v.30. p.237-41.