

A DEUS,

AGRADEÇO PELA REALIZAÇÃO DE MAIS UM SONHO.

Aos meus Pais Marlene e Marxinimo pelo dom da vida.

A José Paulo e Vinicius, meu esposo e filho, que renunciaram a muitos momentos de convivência familiar, mas souberam, de maneira carinhosa, compreender e me apoiar na realização desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nilton José Sousa, do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal do Paraná pela orientação, apoio e constante incentivo na execução desse trabalho que levaram a elaboração desse manuscrito, mas principalmente pela amizade sincera que permitiu a realização de uma das etapas mais importantes de minha vida profissional.

Ao Dr. Flávio Moscardi, pesquisador da Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa da Soja (Embrapa Soja), pela co-orientação experiente e construtiva durante todas as fases do trabalho, e pelas palavras amigas e serenas nos momentos em que o caminho tornava-se exaustivo.

Ao Prof. Dr. Ivan Crespo Silva pelas valiosas sugestões na correção do presente trabalho.

A Empresa Swedish Match do Brasil, nas pessoas do Diretor Industrial José Vicente Bernal, do Gerente Geral Florestal, Eng. Florestal Hemerson Y. Nishimura, e do Gerente Administrativo e Financeiro Gelson Martorelli de Jesus; e a Companhia Florestal Guapiara, nas pessoas do Diretor Geral Regional Sr. Edison Laroca e do Eng Florestal e amigo Giancarlo Mira Otto, pelo apoio, amizade e pela oportunidade de realização desse trabalho.

Aos Funcionários do Laboratório de Entomologia da Embrapa Soja Ivanilda Luzia Soldorio e Fábio Eduardo Paro, pela amizade, carinho, e apoio e colaboração na realização de experimentos.

As Dras. Suely Ruiz Giolo da UFPR e Maria Cristina Neves de Oliveira da Embrapa Soja, pelas análises estatísticas.

Aos Professores Graciela Ines Bolzon de Muniz e Antonio Rioyei Higa, por terem me acolhido com carinho em suas disciplinas e por terem contribuído para ampliação da minha visão sobre ciência.

A Dra. Maria Elita B. Castro da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pelas correções no resumo e abstract.

Aos Engenheiros Florestais e amigos Renato de Moura Corrêa, Flávia de Albuquerque Corrêa, Julio César Sosnoski e Everson Vicente Desgeniski, pela amizade e gratificante convivência.

Aos Técnicos Florestais João Carlos Ribeiro e Eder Javarini pela amizade e colaboração nos trabalhos desenvolvidos.

Aos Funcionários das Fazendas das Empresas Swedish Match do Brasil e Companhia Florestal Guapiara pela colaboração na realização dos experimentos de campo.

EDILENE BUTURI MACHADO, filha de Marlene Canestraro Buturi e Marximino Buturi, nasceu em Curitiba, Paraná, aos 12 de abril de 1968 às 12h15min.

No ano de 1986, iniciou o Curso de Farmácia/Bioquímica, da Universidade Federal do Paraná, desenvolvendo atividades de Iniciação Científica, mais especificamente com bactérias fixadoras de nitrogênio no período de outubro de 1986 a dezembro de 1989. Graduando-se em 30 de março de 1990.

Desenvolveu atividades no setor da Saúde em Laboratórios Clínicos Hospitalares até junho de 1992. Em julho deste mesmo ano até a presente data, vem desenvolvendo atividades no Setor de Proteção Florestal na Empresa Swedish Match do Brasil S.A.

Em março de 2004, ingressou ao curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 GÊNERO <i>Populus</i>	4
3.1.1 Características Gerais.....	4
3.1.2 Pragas.....	6
3.2 OCORRÊNCIA DE <i>Condylorrhiza vestigialis</i> EM POVOAMENTOS DE <i>Populus</i> NO BRASIL.....	9
3.3 CONTROLE DE <i>C.vestigialis</i>	10
3.4 VÍRUS ENTOMOPATOGÊNICO.....	12
3.4.1 Família Baculoviridae.....	13
3.5 UTILIZAÇÃO DE VÍRUS ENTOMOPATOGÊNICO NO CONTROLE DE PRAGAS NO BRASIL.....	16
3.6 VIRUS ENTOMOPATOGÊNICO ASSOCIADO A <i>C.vestigialis</i>	17
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁREAS EXPERIMENTAIS.....	19
4.2 OBTENÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO.....	19
4.2.1 Folhas de Álamo.....	19

4.2.2 <i>Condylorrhiza vestigialis</i>	20
4.2.3 Dieta Artificial.....	22
4.2.4 Vírus.....	23
4.3 BIOENSAIOS.....	26
4.3.1 Determinação da Concentração Letal Média (CL ₅₀) das Suspensões Virais e Tempo Letal Médio de Ação (TL ₅₀) do Vírus para Lagartas de <i>C.vestigialis</i>	26
4.3.2 Quantificação da Concentração Viral (número de corpos poliédricos de inclusão) por Grama de Lagarta Infectada.....	27
4.3.3 Determinação da Susceptibilidade de Instares Larvais ao Vírus.....	29
4.4.4 Consumo de Alimento (folhas de Álamo) por Lagartas de <i>C.vestigialis</i> Infectadas por Diferentes Concentrações de Solução Viral.....	30
4.4.5 Determinação em Campo, da Eficiência de Diferentes Concentrações Virais sobre Lagartas de <i>C.vestigialis</i>	32
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	37
5.1 CONCENTRAÇÃO LETAL MÉDIA (CL ₅₀) DE SUSPENSÕES VIRAIS E TEMPO LETAL MÉDIO (TL ₅₀) DE AÇÃO DO VÍRUS PARA LAGARTAS DE TERCEIRO INSTAR DE <i>C.vestigialis</i>	37
5.2 CONCENTRAÇÃO DE POLIEDROS POR GRAMA DE LAGARTA INFECTADA.....	42
5.3 SUSCEPTIBILIDADE DE INSTARES LARVAIS DE <i>C.vestigialis</i> AO CvMNPV.....	44
5.4 EFEITO DE DIFERENTES DOSES DO VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR NO CONSUMO DE ALIMENTO (FOLHAS DE ÁLAMO) POR LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i>	46
5.5 EFICIÊNCIA EM CAMPO DE DIFERENTES DOSES DO CvMNPV SOBRE LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i>	51

6 CONCLUSÕES.....	55
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	56
8 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	57

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DA DIETA ARTIFICIAL UTILIZADA NA ALIMENTAÇÃO DE LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i>	23
TABELA 2 - MORTALIDADE ACUMULADA (%) DE LAGARTAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE <i>C.vestigialis</i> INFECTADAS POR DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE VIRUS.	37
TABELA 3 - MORTALIDADE DE LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i> INFECTADAS EM DIFERENTES ÍNSTARES COM VÍRUS DA POLIEDROSE NUCLEAR NA CONCENTRAÇÃO DE 10^8 CPI/ML DE SOLUÇÃO AQUOSA.....	45
TABELA 4 - CONSUMO MÉDIO DIÁRIO E TOTAL DE FOLHAS DE ÁLAMO POR LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i> , SADIAS E INFECTADAS, NO TERCEIRO INSTAR, COM QUATRO DIFERENTES DOSES DE VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR.....	49
TABELA 5 – MÉDIA DAS PROPORÇÕES EM CADA UMA DAS ÁREAS (NÚMERO TOTAL DE LAGARTAS / NÚMERO DE FOLHAS COM LAGARTAS), OBTIDAS NA PRÉ-AVALIAÇÃO.....	51
TABELA 6 – LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i> MORTAS POR DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE C_v MNPV, COMPARADAS COM UM PRODUTO QUÍMICO	52

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – MORTALIDADE vs. CONCENTRAÇÃO (PROBABILIDADE / LOG (CONCENTRAÇÃO) EM LAGARTAS DE TERCEIRO ÍNSTAR DE <i>C.vestigialis</i> , INFECTADAS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE VÍRUS.....	38
GRÁFICO 2 – CONSUMO MÉDIO DIÁRIO DE FOLHAS DE ÁLAMO, POR LAGARTAS DE <i>C. vestigialis</i> SADIAS E INFECTADAS, NO TERCEIRO INSTAR, COM DIFERENTES DOSES DE VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR (CvMNPV).....	47
GRÁFICO 3 – MORTALIDADE (%) DE LAGARTAS DE <i>C.vestigialis</i> SADIAS E INFECTADAS, NO TERCEIRO INSTAR, COM DIFERENTES DOSES DE VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR (CvMNPV).....	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ADULTOS DE <i>C.vestigialis</i>	20
FIGURA 1A - Adulto de <i>C.vestigialis</i> (macho).....	20
FIGURA 1B - Adulto de <i>C.vestigialis</i> (fêmea).....	20
FIGURA 2 – MUDAS DE ÁLAMO PLANTADAS EM VASO E GAIOLAS UTILIZADAS PARA A OBTENÇÃO DE OVOS DE <i>C.vestigialis</i> EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	21
FIGURA 3 – OVOS DE <i>C vestigialis</i>	21
FIGURA 4 – ASPECTOS DA CRIAÇÃO DE <i>C.vestigialis</i> EM LABORATÓRIO COM FOLHAS DE ÁLAMO.....	22
FIGURA 4A – Folhas de Álamo com Lagartas de <i>C.vestigialis</i> de Primeiro Instar.....	22
FIGURA 4B – Criação das Lagartas em Cubas Plásticas e Alimentadas com Folhas de Álamo.....	22
FIGURA 5 – ESTRUTURAS VIRAIS (POLIEDROS) OBSERVADAS NA HEMOLINFA DE <i>C. vestigialis</i> EM MICROSCÓPIO OTICO.....	25
FIGURA 6 – DETALHES DA CÂMARA DE NEUBAUER, UTILIZADA PARA CONTAGEM DE CORPOS POLIÉDRICOS DE INCLUSÃO (CPI) EM SOLUÇÃO AQUOSA	29
FIGURA 7 – FOLHA DE ÁLAMO ACONDICIONADA EM PLACA DE PETRI COM LAGARTA DE 3º INSTAR DE <i>C.vestigialis</i>	31
FIGURA 8 – PLANTIOS DE ÁLAMO (6 X 6 M, 2 ANOS) PARA CONTROLE DA <i>C.vestigialis</i>	32
FIGURA 9 – AVALIAÇÃO DO MATERIAL (FOLHAS DE ÁLAMO) COLETADO EM CAMPO PARA CONTROLE DA <i>C.vestigialis</i>	34
FIGURA 10 – PULVERIZAÇÃO COM CANHÃO ACOPLADO A TRATOR	

(VAZÃO 200L/HÁ) PARA CONTROLE DA <i>C.vestigialis</i> EM PLANTIOS DE ÁLAMO.....	35
FIGURA 11 – LAGARTAS MORTAS DE <i>C.vestigialis</i> COM SINTOMAS TÍPICOS DA AÇÃO DO CvMNPV.....	41
FIGURA 11A – Lagarta de <i>C.vestigialis</i> Morta com Sintoma Típico da Ação de Vírus Entomopatogênico.....	41
FIGURA 11B – Lagartas de <i>C.vestigialis</i> Mortas com Sintoma Típico da Ação de Vírus Entomopatogênico (amarelecimento no início da infecção e escurecimento posterior).....	41

RESUMO

Um dos maiores problemas que a espécie florestal conhecida como Álamo ou Choupo (*Populus* sp.), enfrenta no Brasil é o ataque da lagarta *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera:Crambidae). Uma alternativa promissora no controle dessa praga são os inimigos naturais. Os objetivos desse trabalho foram investigar o controle da *C.vestigialis* usando o vírus *C.vestigialis multiple nucleopolyedrovirus* (CvMNPV), através de testes de patogenicidade, redução na alimentação de folhas de Álamo pela praga e determinação da dose ideal para utilização em campo. Para essa finalidade o vírus foi multiplicado em laboratório a partir de um isolado de CvMNPV da coleção do laboratório de Proteção Florestal da UFPR, obtido em 2002. Suspensões aquosas de diferentes concentrações virais foram utilizadas em experimentos de laboratório e campo. Os resultados dos bioensaios em laboratório indicaram que a concentração letal média (CL₅₀) foi de $0,8 \times 10^7$ poliedros/ml de suspensão viral e o tempo letal médio (TL₅₀) de 7,48 dias. O efeito mais intenso do CvMNPV foi sobre lagartas de 2º e 3º instares larvais. Observou-se que uma dose de 10^8 poliedros/ml de suspensão viral é capaz de reduzir o consumo foliar em 66,85% num período de oito dias após a inoculação. Essa mesma concentração causou mortalidade de 100% num intervalo de 9 dias após a inoculação. O experimento realizado em campo indicou que as concentrações de vírus utilizadas (3×10^{11} ; 6×10^{11} e 9×10^{11} poliedros/ha) causaram mortalidade de 67,1%, 68,3% e 93,4% respectivamente e o inseticida químico (metoxifenoazida 16,8 g i.a/ha) 87,9%. Com estes dados foi possível concluir que o vírus entomopatogênico CvMNPV é capaz de infectar e matar lagartas de *C.vestigialis* e que pode ser utilizado como inseticida biológico em um programa de manejo integrado dessa praga em plantios de Álamo.

Palavras-chave: controle biológico, vírus entomopatogênico, *Condylorrhiza vestigialis*, *Nucleopolyhedrovirus*.

ABSTRACT

One of the biggest problems that the forest specie known as Poplar (*Populus* sp.) confronts in Brazil is the attack by the caterpillar *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) Lepidoptera:Crambidae). As a promising alternative - pest control are natural enemies. The objectives of this work were to investigate the *C. vestigialis* control using *Condylorrhiza vestigialis multiple nucleopolyhedrovirus* (CvMNPV), by pathogenicity testes, reduction in Poplar leaf feeding and ideal dose determination for use in filed conditions. For this purpose, the virus was multiplied under laboratory conditions. The CvMNPV sample was obtained from the Forest Protection Laboratory, UFPR, collected in 2002. Aqueous suspensions of different viral concentrations were used in laboratory and field trials. The results indicated that the average lethal concentration (LC₅₀) is $0,8 \times 10^7$ PIBs/mL of aqueous suspension and the average lethal time (LT₅₀) is 7,48 days. The strongest CvMNPV effect was against 2nd and 3rd instars caterpillars. It was observed that a concentration of 10^8 PIBs/mL of virus suspension is capable of reducing leaf consumption by 66,85%, by 8 days after inoculation. The same concentration caused mortality of 100% by 9 days after inoculation. The field trial indicated that the viral concentrations (3×10^{11} ; 6×10^{11} e 9×10^{11} PIBs/ha) had caused mortality of 67,1%, 68,3% e 93,4% respectively and the chemical insecticide (methoxifenoxide 16,8 g i.a/ha) 87,9%. With these data it was possible to conclude that the entomopathogenic virus CvMNPV is capable of infecting and killing *C.vestigialis* caterpillars and can be used as biological insecticide in a integrated pest management system for this insect in Poplar plantations.

Key-words: biological control, entomopathogenic virus, *Condylorrhiza vestigialis*, *Nucleopolyhedrovirus*.