

ARTIGO DE REVISÃO

ASPECTOS DOS MECANISMOS DE DEFESA DA LAGARTA DA SOJA *ANTICARSIA GEMMATALIS* (HÜBNER, 1818) RELACIONADOS AO CONTROLE BIOLÓGICO POR *BACULOVIRUS ANTICARSIA* (AGMNPV)

F.G. Andrade, M.C.C. Negreiro, Â.M.F. Falleiros

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Histologia, CP 6001, CEP 86051-990, Londrina, PR, Brasil. E-mail: angefal@uel.br

RESUMO

A lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818), uma das principais pragas que ataca a cultura de soja, tem como controle biológico o vírus da poliedrose nuclear multicapsídeo *Baculovirus anticarsia* (AgMNPV), amplamente utilizado pelos agricultores brasileiros nas últimas 3 décadas. Diante da atual importância econômica da sojicultura para o Brasil e considerando os prejuízos acarretados pelo ataque da lagarta da soja, esta revisão tem por objetivo abordar os principais aspectos da biologia e dos mecanismos de defesa deste inseto, bem como seu biocontrole pelo AgMNPV.

PALAVRAS-CHAVE: Hemócitos, *Anticarsia gemmatalis*, *Baculovirus anticarsia*, controle biológico.

ABSTRACT

ASPECTS OF THE DEFENSE MECHANISMS OF VELVETBEAN CATERPILLAR *ANTICARSIA GEMMATALIS* (HÜBNER, 1818) RELATED TO THE BIOLOGICAL CONTROL FOR *BACULOVIRUS ANTICARSIA* (AGMNPV). The velvetbean *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818), one of the main pests that attack the soy crop has a biological control in the form of the nucleopolyhedrovirus *Baculovirus anticarsia* (AgMNPV), widely used by the Brazilian agriculturists in the last 3 decades. In light of the current economic importance of the soybean crop for Brazil and considering the damages caused by the velvetbean caterpillar, this review was aimed at outlining the main aspects of the biology and the defense mechanisms of this insect, as well as its biocontrol by AgMNPV.

KEY WORDS: Hemocytes, *Anticarsia gemmatalis*, *Baculovirus anticarsia*, biological control.

INTRODUÇÃO

As larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), conhecidas como lagarta da soja, são consideradas pragas-chave da sojicultura, sendo economicamente importantes em função das grandes perdas que ocasionam a esta lavoura (GALLO *et al.*, 2002).

Os países produtores desta leguminosa têm empregado investimentos tecnológicos de alto nível no combate das pragas que atacam a soja, sendo que o Brasil vem desenvolvendo e aprimorando programas visando a excelência da qualidade e produtividade desta cultura desde a década de 1970. Entre estes programas, destaca-se o controle da lagarta da soja pelo vírus da poliedrose nuclear multicapsídeo *Baculovirus anticarsia* (AgMNPV). Este vírus é altamente específico e consegue driblar com eficiência os mecanismos de defesa da lagarta, constituindo-se em um excelente agente de controle biológico (MOSCARDI, 1998).

Nos insetos, os principais mecanismos de defesa são desempenhados pelos hemócitos, células livres circulantes na hemolinfa, que fornecem uma resposta ágil e eficiente contra os patógenos que atingem sua hemocele. Participam ativamente dos mecanismos de defesa tais como: reconhecimento, fagocitose, encapsulação, coagulação, formação dos nódulos e citotoxicidade (GUPTA, 1979; RATCLIFFE *et al.*, 1985). O sucesso das respostas de defesa depende do número e dos tipos de hemócitos envolvidos nestes mecanismos (RUSSO *et al.*, 2001).

Na hemolinfa da lagarta da soja, ANDRADE *et al.* (2003) identificaram sete tipos de hemócitos: plasmatócitos (PL), granulócitos (GR), prohemócitos (PR), esferulócitos (ES), oenocitóides (OE), células vermiformes (VE) e células esfoliativas (EF).

Este trabalho tem por objetivo apresentar uma revisão geral sobre o controle biológico da lagarta da soja correlacionando-o com os mecanismos de defesa desempenhados pelos hemócitos desta praga.

A SOJA

A soja é uma planta pertencente à classe Dicotyledoneae, subclasse Archichlamydae, ordem Rosales, subordem Leguminosinae, família Leguminosae, subfamília Papilionaceae, tribo Phaseoleae, gênero *Glycine* L., subgênero *Glycine* (Moench) e à espécie *Glycine max* (L.) Merrill (GAZZONI, 1994).

A soja é originária da China, onde é conhecida desde aproximadamente 2000 a.C. Sua chegada ao continente americano ocorreu no final do século XVIII e o primeiro registro no Brasil data de 1882, no Estado da Bahia. Entretanto, a notável expansão do cultivo de soja no Brasil ocorreu somente a partir de 1970, passando então a figurar entre os principais produtos rentáveis ao país (FERRAZ, 2001).

Atualmente, os principais estados brasileiros, por ordem de produção são: Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul, representando juntos aproximadamente 70% da produção nacional (BISOTTO & FARIAS, 2001).

A principal forma de utilização da soja ocorre por meio do consumo de óleo e derivados. O farelo residual da indústria do óleo é utilizado para alimentação animal. Grande parte da produção é exportada e somada à exportação do farelo, resulta em importante geração de divisas para o país (ALMEIDA, 1997).

Atualmente, a soja pode ser encontrada em muitos alimentos além daqueles mais tradicionais como shoyu, tofu e cereais. O grão tem sido utilizado como ingrediente de biscoitos, chocolates, margarina e temperos e o interesse por produtos como leite de soja e suco de frutas enriquecido com soja têm aumentado cada vez mais. A melhoria mercadológica não se refletiu apenas nas embalagens, mas no próprio sabor do produto, tornado-o mais palatável e fazendo com que os valores nutricionais do grão fossem cada vez mais conhecidos. A soja é uma excelente fonte de minerais como ferro, potássio, fósforo, cálcio e vitaminas do complexo B (FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO, 2003). Também é rica em proteínas, possui isoflavonas e ácidos graxos insaturados que têm ação na prevenção de doenças crônico-degenerativas como a osteoporose (RICKARD et al., 2003).

Além dos produtos comestíveis, a soja também é muito utilizada pela indústria, estando presente em desinfetantes, inseticidas, tecidos e tintas para impressão, óleo refugado, produtos farmacêuticos e medicinais, revestimentos, plastificadores, massa para vidraceiro, sabão e cimento à prova d'água. A lecitina, um dos derivados da soja, é usada na fabricação de álcool, tintas, cosméticos, pigmentos, produtos químicos e até como agente antiderrapante (FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO ESTADO DE MATO GROSSO, 2003).

Embora seja planta originária de regiões temperadas, a soja se adapta bem em uma ampla faixa de temperatura, o que possibilita seu cultivo nos climas subtropical e tropical. As temperaturas médias, ótimas para o melhor desenvolvimento da soja estão entre 20 e 35° C. Precipitações pluviométricas anuais de 700 a 1.200 mm bem distribuídas, preenchem perfeitamente suas necessidades hídricas (DIEHL & JUNQUETTI, 2002).

A época de semeadura é um dos fatores que mais influenciam o rendimento da soja, pois determina sua exposição à variação dos fatores climáticos limitantes. No Estado do Paraná a época de semeadura indicada estende-se de outubro a dezembro (HUBNER, 2003).

A soja possui grande diversidade quanto ao ciclo (número de dias da emergência à maturação), que pode durar de 100 a 160 dias nas variedades brasileiras. O ciclo total da planta pode ser dividido em duas fases: vegetativa e reprodutiva. A fase vegetativa abrange o período da emergência da plântula até a abertura das primeiras flores e a fase reprodutiva compreende o período do início da floração até a maturação. A estatura da planta é altamente dependente das condições ambientais, apresentando altura média de 60 a 120 cm. O período total de florescimento pode durar de 3 a mais de 5 semanas, dependendo do genótipo e do ambiente (VERNETTI, 1983).

A LAGARTA DA SOJA

Durante todo o seu ciclo, a cultura da soja está sujeita ao ataque de pragas. Insetos, principalmente, em seu estágio larval, podem atacar as plântulas e posteriormente atacar a planta durante a fase vegetativa e em alguns casos, até a floração. Com o início da fase reprodutiva da soja, outros insetos surgem e podem causar danos desde a formação das vagens até o final do desenvolvimento das sementes. Assim, os insetos representam um importante fator que afeta a planta e a semente, podendo reduzir substancialmente a qualidade de ambas, caso não seja efetuado nenhum tratamento para o controle dessa população, que poderá tornar-se excessiva e causar perdas significativas no rendimento da cultura (TURNIPSEED & KOGAN, 1987).

Dentre as pragas da soja, a lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) destaca-se como o principal inseto desfolhador, podendo causar diminuição significativa na produção (GALLO et al., 2002).

A lagarta da soja apresenta desenvolvimento do tipo holometábolo e sua ocorrência varia de novembro a março, atingindo picos populacionais a partir de janeiro (DIEHL & JUNQUETTI, 2002; Savoldi, 2002).

Na fase adulta de *A. gemmatalis*, que dura em média 15 dias, a mariposa apresenta envergadura de 30 a 38 mm e coloração variando de cinza, marrom avermelhado ou amarelado sem dimorfismo sexual. A ovoposição ocorre na face inferior das folhas, podendo durar até 3 dias. Os ovos são arredondados e achatados na superfície inferior, medem de 1 a 2 mm no diâmetro e apresentam cor branca até a eclosão, após a qual adquirem coloração rosa. O período larval pode durar até 25 dias, podendo ocorrer 6 instares. A lagarta pode atingir 48 mm de comprimento e sua coloração é variável, apresentando listras longitudinais verde escuras proeminentes e listras estreitas nas cores branca, amarela ou rosa. No estágio de pré-pupa que dura em média 2 dias, as larvas encolhem atingindo um comprimento médio de 25 mm e adquirem cor marrom escura com poucas listras longitudinais. O estágio pupal dura em média 7 dias. As pupas podem apresentar cor verde ou marrom, são lisas e medem de 18 a 20 mm no comprimento e 4 a 6 mm na largura, são encontradas abaixo da superfície do solo a uma profundidade de aproximadamente 2 cm (BARBARA, 2003).

Os principais danos causados à cultura da soja ocorrem na fase larval de *A. gemmatalis*, quando as lagartas inicialmente raspam as folhas da soja e causam prejuízos consideráveis à medida que crescem. Comem tanto o limbo como as nervuras, podendo ocasionar 100% de desfolhamento até atingir o seu desenvolvimento máximo, para tornar-se pupa. Até completar o seu desenvolvimento larval, cada lagarta pode consumir em média 90 cm² de folhas, ou seja, o equivalente a 2,1 vezes a sua própria massa a cada 24h (GALLO *et al.*, 2002).

O USO DE BACULOVÍRUS PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DA LAGARTA DA SOJA

O controle de pragas, principalmente, em sistemas freqüentes de inseticidas químicos, como método predominante para reduzir o risco de danos econômicos em lavouras. Embora, o controle químico seja importante para este fim, o uso de produtos de alta toxicidade e de amplo espectro pode resultar em efeitos adversos ao homem e ao ambiente (MOSCARDI & SOUZA, 2002).

O controle de pragas resulta no aumento do custo de produção, trazendo problemas tanto para o produtor quanto para o consumidor e o ambiente. O mercado mundial de defensivos agrícolas chega a valores próximos de US\$ 1,8 bilhões, sendo os inseticidas e os acaricidas responsáveis por 30% do total. O custo para o desenvolvimento de inseticidas químicos é alto e tem aumentado ao longo dos anos, devido à necessidade de novas formulações mais adequadas às pragas, que tornam-se mais resistentes ao seu uso, o

que tem feito crescer o interesse pela pesquisa de inseticidas alternativos, como os bioinseticidas (ALMEIDA & BATISTA FILHO, 2001).

Os bioinseticidas apresentam custo menor que os inseticidas químicos e maior tempo de vida útil dado à dificuldade da praga se tornar resistente ao seu uso, além de serem mais específicos e menos poluentes. Porém, em contrapartida exigem estudos mais aprofundados, tanto no isolamento de novos patógenos como nos testes de seleção, produção e formulação. Vários países utilizam bioinseticidas para o controle de pragas da lavoura, sendo que esses agentes, atualmente representam mais de 2% do mercado de inseticida do mundo (RIBEIRO & PINEDO, 2001).

As estratégias utilizadas para o controle biológico consistem na regulação do número de vegetais e animais por seus inimigos naturais, sendo realizado através da utilização racional de patógenos, visando à manutenção da população de pragas a níveis abaixo dos níveis de dano econômico (ALVES, 1998).

Dentre os métodos de controle biológico, destaca-se o uso de produtos à base de vírus, principalmente os baculovírus (SOUZA *et al.*, 2002). O Brasil possui o maior programa mundial de uso de baculovírus para o controle de insetos, implantado no início da década de 1980 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), através do emprego do *Baculovirus anticarsia* para o controle da lagarta da soja (MOSCARDI, 1998; RIBEIRO & PINEDO, 2001).

Os baculovírus são vírus com DNA dupla fita que infectam principalmente artrópodes (FREDERICI, 1986) e como são específicos aos seus hospedeiros, constituem agentes ideais para o controle de pragas, sem riscos aos vertebrados, a outros organismos não visados e ao meio ambiente (MOSCARDI & SOUZA, 2002).

A família Baculoviridae é composta por 2 gêneros: os nucleopoliedrovírus (NPV) que produzem estruturas poliédricas (poliedros variando de 0,5 - 15 µm) formadas pela proteína poliedrina e os granulovírus (GV) que apresentam corpos de oclusão menores (0,5 µm) formados por granulina. Uma peculiaridade dos baculovírus é a produção de dois tipos de vírus fenotipicamente distintos, os vírus extracelulares e os vírus derivados do corpo de inclusão (SOUZA *et al.*, 2002).

Os vírus extracelulares ou "budded vírus" (BV) são produzidos na fase inicial da infecção, sendo responsáveis pela disseminação do vírus de célula a célula, dentro de um mesmo inseto. A outra forma do vírus é produzida na fase tardia da infecção e resulta da oclusão de virions em corpos protéticos de inclusão (CPI). Essa forma do vírus é denominada de corpo de inclusão ou poliedro e é responsável pela disseminação do vírus entre insetos, no meio ambiente (RIBEIRO & PINEDO, 2001; SOUZA *et al.*, 2002).

A lagarta da soja ao se alimentar de partes da planta hospedeira contaminadas com CPI, propicia a penetração dos corpúsculos virais no seu sistema digestório. No intestino médio, com pH alcalino, os CPI são solubilizados, liberando os virions, que são formados por um nucleocapsídeo envolto por um envelope cujas membranas se fundem às membranas das microvilosidades das células epiteliais do intestino. Em seguida, os nucleocapsídeos migram no citoplasma da célula e penetram através dos poros nucleares, atingindo o núcleo, onde liberam o DNA viral, aí ocorrendo a transcrição dos genes do vírus e a replicação do seu genoma. Nessa fase primária de infecção são sintetizados no núcleo apenas nucleocapsídeos (FUNK *et al.*, 1997; CASTRO *et al.*, 1999).

Esses nucleocapsídeos saem do núcleo, migram para a base da célula e atravessam a membrana basal, adquirindo um novo envelope, sendo então chamados de BV. Estes, atingindo a hemolinfa e o sistema traqueal do inseto, espalham-se e provocam infecções secundárias em outros tecidos. Nas células destes tecidos ocorre a formação de mais BV que se disseminam de célula a célula. Em estágios avançados da infecção, há a formação de CPI, nos quais ocorre a oclusão dos virions. Gradativamente, os núcleos das células infectadas tornam-se repletos de CPI, havendo a ruptura das membranas celulares e a liberação de grande quantidade de CPI na hemolinfa do hospedeiro (FUNK *et al.*, 1997; CASTRO *et al.*, 1999).

Durante o processo infeccioso, o inseto torna-se debilitado, perdendo sua capacidade motora e de alimentação, apresentando o comportamento característico de se deslocar para as partes superiores da planta hospedeira onde morre em 5 a 8 dias após a infecção, apresentando o corpo descolorido (amarelo-esbranquiçado) em relação à lagarta sadia. Em aproximadamente dois dias após a morte, o corpo da lagarta se rompe, liberando grande quantidade de vírus sobre partes da planta. Dessa forma, lagartas infectadas ou mortas servem de inóculo do vírus, disseminando-o por meio da chuva e do movimento de artrópodes nas plantas, bem como pela predação e parasitismo em insetos infectados (MOSCARDI & SOUZA, 2002).

MECANISMOS DE DEFESA DOS INSETOS

Nos insetos, a cutícula e exoesqueleto apresentam componentes antimicrobianos que impedem a penetração de bactérias, vírus e protozoários na hemocele, constituindo assim, a primeira linha de defesa contra patógenos e parasitas (BULET *et al.*, 1999). Internamente, a presença da membrana peritrófica, que recobre as células epiteliais do tubo digestivo, também representa um mecanismo de defesa aos patógenos que porventura atinjam o intestino dos insetos por via oral (SILVA, 2002).

Todavia, uma vez que o patógeno vence estas barreiras e atinge a hemocele do inseto, desencadeia a defesa hemocitária, que segundo BULET *et al.* (1999) seria a resposta imunológica propriamente dita.

A defesa imunológica nos insetos, como nos vertebrados, pode ser subdividida em dois componentes: um componente humoral e outro celular, representado pelos hemócitos (NIERE *et al.*, 1999). Estes componentes estão inter-relacionados pois os hemócitos secretam fatores humorais que, por sua vez, estão envolvidos nas atividades destas células (TANADA & KAYA, 1993).

A defesa humoral é representada principalmente pela ação de peptídeos antimicrobianos e uma complexa cascata enzimática que regula a coagulação ou melanização da hemolinfa (LAVINE & STRAND, 2002). Ao contrário dos vertebrados, os insetos não apresentam imunoglobulinas específicas nem "memória imunológica" (NIERE *et al.*, 1999). Segundo SILVA (2002) não existem evidências de especificidade molecular dos anticorpos monoclonais no sistema imunológico dos insetos. Uma resposta imunológica adquirida geralmente leva dias ou semanas para se desenvolver o que seria desvantajoso para um inseto cujo ciclo de vida é relativamente curto quando comparado com a maioria dos vertebrados.

A resposta celular nos insetos é mediada por variações no estado e no comportamento dos hemócitos (SORRENTINO *et al.*, 2002). Os primeiros distúrbios detectados na hemolinfa devem-se à reação de defesa dos hemócitos, na tentativa de eliminar o agente invasor ou limitar seu desenvolvimento (ALVES & PEREIRA, 1998).

Os hemócitos são comparáveis em função aos leucócitos dos vertebrados, suas principais funções estão relacionadas direta ou indiretamente com sua capacidade de reagir contra a presença de patógenos (BOMBONATO & GREGÓRIO, 1995). Os hemócitos movem-se passivamente na hemocele, onde o contato com partículas estranhas e a resposta a sinais extracelulares facilitam o reconhecimento e a adesão (ROWLEY & RATCLIFFE, 1981). Esta capacidade de reconhecer, responder e eventualmente destruir estes patógenos, é em grande parte devida ao esforço cooperativo dos hemócitos (ANGGRAENI & RATCLIFFE, 1991; MEYER-FERNANDES *et al.*, 2000).

Os processos celulares de defesa compreendem a fagocitose, formação de nódulos, encapsulação, coagulação da hemolinfa e cicatrização (MEYER-FERNANDES *et al.*, 2000).

A fagocitose é considerada a resposta celular primária de defesa em muitos insetos, sendo similar ao que ocorre com as células fagocitárias de mamíferos. Consiste no processo pelo qual os hemócitos agindo individualmente formam pseudópodes e englobam partículas estranhas existentes na hemolinfa (LAVINE & STRAND, 2002). Um microrganismo quando

fagocitado pode ser destruído ou se multiplicar no hemócito e provocar sua lise, retornando à hemocele e gerando uma septicemia. Se a concentração de patógenos na hemolinfa é muito grande, os hemócitos se agregam e formam nódulos a fim de imobilizar os invasores e removê-los da circulação (SILVA, 2002). Quando o corpo estranho é muito grande para ser fagocitado por elementos isolados da hemolinfa, ocorre o fenômeno da encapsulação, isto é, a aglomeração de um conjunto de células culminando com a formação de cápsulas ao redor do invasor (PECH & STRAND, 1995; MEYER-FERNANDES *et al.*, 2000).

A coagulação da hemolinfa é um fenômeno freqüentemente observado após um ferimento no exoesqueleto do inseto, relacionada à prevenção da perda de hemolinfa e à reparação de seu revestimento externo. Funciona também como barreira mecânica, bloqueando a penetração de patógenos oportunistas. A coagulação da hemolinfa desempenha um papel complexo nas reações de defesa dos insetos, tendo sido observada sua participação no processo de encapsulação (ROWLEY & RATCLIFFE, 1981).

Um dos parâmetros de grande relevância a ser considerado em um quadro infeccioso é a variação no número e na proporção dos diversos tipos de hemócitos presentes na hemolinfa. Em resposta à presença dos patógenos, tais variações decorrem da produção elevada de alguns tipos celulares e da imobilização de hemócitos em nódulos e cápsulas, ao redor dos organismos invasores (CHAPMAN, 1998). As reações de defesa celular são influenciadas por parâmetros genéticos e fisiológicos do hospedeiro e do patógeno, assim o sucesso das respostas imunes depende do número e dos tipos de hemócitos envolvidos nesse mecanismo (RUSSO *et al.*, 2001).

As técnicas utilizadas para quantificação de hemócitos são a contagem do número total de hemócitos por microlitro de hemolinfa e a contagem diferencial do hemócitos representantes de cada tipo celular (SHAPIRO, 1979a).

Os tipos de hemócitos podem ser caracterizados morfológicamente através de diferenças no tamanho e forma da célula; no tipo, número, tamanho e afinidade tintorial de suas inclusões; na aparência geral e coloração do citoplasma. Também podem ser classificados por diferenças comportamentais, na sua habilidade de divisão, rapidez de degranulação ou vacuolização de suas inclusões, na sua fragilidade, no desenvolvimento de projeções citoplasmáticas e sua adesão, além de sua abundância relativa em períodos específicos da vida do inseto e pela participação nos processos de defesa (JONES, 1979).

Os hemócitos têm sido estudados através da microscopia eletrônica e da microscopia de luz. Esta última por sua vez pode ser realizada empregando-se esfregaços fixados e corados ou observações a fresco

de material não fixado em contraste de fase. Para o estudo à microscopia de luz a maioria dos autores prefere o contraste de fase devido a sua rapidez e eficiência, além da vantagem de permitir a observação de células vivas (JONES, 1979; SHAPIRO, 1979b).

Observações da hemolinfa através da microscopia de luz resultaram em numerosas e conflitantes publicações quanto à classificação dos hemócitos, bem como na dificuldade em relacioná-los aos diferentes mecanismos de defesa, que envolvem a ação de diferentes tipos celulares (WILLOT *et al.*, 1994). As razões para esta controvérsia decorrem da grande variabilidade morfológica dos hemócitos em função dos estágios de desenvolvimento e das condições ambientais, além da grande diversidade de insetos. Outra dificuldade encontrada é a fragilidade destas células, dependendo dos métodos utilizados para seu estudo, além dos parâmetros utilizados em sua classificação (GUPTA, 1985).

GUPTA (1979) em ampla revisão de literatura descreve detalhadamente a morfologia de 5 tipos de hemócitos, que ocorrem na maioria dos insetos: prohemócitos, plasmatócitos, granulócitos, esferulócitos e oenocitóides. Desde então, esta classificação tem sido adotada pela maioria dos autores na identificação dos hemócitos de diferentes espécies (CLARK *et al.*, 1997).

Os plasmatócitos são células polimórficas, geralmente apresentam pseudópodes. O citoplasma é abundante, podendo ser granular ou agranular e o núcleo é arredondado ou oval e central. Os plasmatócitos participam dos processos de fagocitose e encapsulação, e são considerados um tipo básico de hemócito, aparecendo na maioria das ordens de insetos (GUPTA, 1979).

Os granulócitos apresentam formas e tamanhos variáveis, sendo geralmente células arredondadas ou ovais, cujo citoplasma caracteristicamente contém muitos grânulos. O núcleo é central e relativamente pequeno, arredondado ou oval (GUPTA, 1979; TANADA & KAYA, 1993). Estas células têm função de reconhecimento de partículas estranhas na hemolinfa (SILVA, 2002).

Segundo LAVINE & STRAND (2002), granulócitos e plasmatócitos geralmente compreendem mais de 50% da população de hemócitos.

Os prohemócitos são células pequenas, geralmente, arredondadas ou elípticas, que apresentam pequena quantidade de citoplasma periférico e núcleo arredondado e central (GUPTA, 1979). Os prohemócitos são considerados "stem cells", ou seja, células formadoras dos demais hemócitos (LAVINE & STRAND, 2002). Não participam diretamente dos processos de defesa, exibem alto índice mitótico e são responsáveis pela multiplicação pós-embrionária dos hemócitos (YAMASHITA & IWABUCHI, 2001). Os PR podem ser

numerosos, raros ou ausentes dependendo do estágio de desenvolvimento e fisiológico do inseto no momento da observação (GUPTA, 1979).

Os esferulócitos são caracterizados pela presença de esférulas grandes e refringentes no seu citoplasma. Estas células têm formato oval ou arredondado, cujo núcleo é pequeno, central ou excêntrico e geralmente mascarado pelas esférulas citoplasmáticas (GUPTA, 1979; TANADA & KAYA, 1993). Segundo RATCLIFFE *et al.* (1985) estas células participam do processo de remodelação tecidual (histólise) que ocorre por ocasião da muda, do transporte de determinadas substâncias como hormônios, da síntese de algumas proteínas da hemolinfa e da imunidade a bactérias. Estas células representam aproximadamente 20% dos hemócitos nos insetos em que são encontradas (CHAPMAN, 1998).

Os oenocitóides são os maiores hemócitos encontrados, apresentam citoplasma abundante, denso e homogêneo, núcleo pequeno, arredondado e excêntrico. São células instáveis "in vitro" e se rompem facilmente liberando material intracelular para a hemolinfa (GUPTA, 1979; TANADA & KAYA, 1993). Os oenocitóides participam do sistema de produção da fenoloxidase (LAVINE & STRAND, 2002), uma enzima multifuncional, importante em vários mecanismos, como os de defesa imunológica, da cicatrização de lesões e da esclerotização da cutícula (SILVA, 2002). Este tipo celular ocorre geralmente com frequência inferior a 10% na maioria dos insetos (DRIF & BREHÉLIN, 1993).

Na lagarta da soja, além destes cinco tipos de hemócitos, outros dois foram identificados por (ANDRADE *et al.*, 2003), as células vermiformes e as células esfoliativas.

As células vermiformes apresentam típico aspecto fusiforme e comportamento característico de não aderência à lâmina de vidro. Mantém sua forma durante longos períodos de observação e não emitem pseudópodos (ANDRADE *et al.*, 2003).

As células esfoliativas foram observadas apenas nos esfregaços corados, como células grandes, tipo pavimentosas, semelhante às células esfoliativas presentes em esfregaços corados em epitélio de vertebrados. FARALDO (2000) observou este tipo celular em larvas de Diptera relatou a escassa literatura sobre estas células. LELLO *et al.* (1987) citam a dificuldade em relacionar as EF como um tipo de hemócito distinto, por serem células muito diferentes das demais e que não apresentam tipos intermediários.

CONCLUSÃO

Do exposto depreende-se que o estudo dos hemócitos é importante para a compreensão das interações entre hospedeiro e patógeno, pois o conhecimento das respostas imunológicas que estão

presentes na hemolinfa dos insetos pode fornecer informações valiosas para o delineamento de novas formas de controle biológico (SILVA, 2002), uma vez que este ocorre quando o patógeno consegue vencer com sucesso, o sistema de defesa do hospedeiro (FALLEIROS *et al.*, 2003).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, F.G.; NEGREIRO, M.C.C.; GREGÓRIO, E.A.; MOSCARDI, F.; FALLEIROS, A.M.F. Hemocytes of *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae: morphological and quantitative studies. *Acta Microsc.*, v.12, n.1, p.59-64, 2003.
- ANGGRAENI, T. & RATCLIFFE, N. A. Studies on cell-cell cooperation during phagocytosis by purified haemocytes populations of the wax moth, *Galleria melonella*. *J. Insect Physiol.*, v.37, p.453-460, 1991.
- ALMEIDA, F.R.F. Soja – cresce o plantio da soja. *Agroanalysis*. v.17, n.9, p.30-32, 1997.
- ALMEIDA, J.E.M. & BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. *Biotechnol. Ciênc. Desenvolvimento*, v.20, p.30-33, 2001.
- ALVES, S.B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.21-37.
- ALVES, S.B. & PEREIRA, R.M. Distúrbios fisiológicos provocados por entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.39-55.
- BARBARA, K.A. *Velvetbean caterpillar - Anticarsia gemmatilis*. Disponível em: <<http://creatures.ifas.ufl.edu/field/velvetbean.htm>>. Acesso em: 14 out. 2003.
- BARRACCO, M.A. & MENEZES, H. Mecanismos celulares de defesa em insetos. *Ciênc. Cult.*, v.37, n.2, p.238-249, 1985.
- BARTH, R. *Entomologia geral*. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Osvaldo Cruz, 1972. 374p.
- BISOTTO, V. & FARIAS, A.D. Algumas considerações sobre a cultura da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DA SOJA DA REGIÃO SUL, 29., 2001, Porto Alegre. *Resumo*. Porto Alegre: FEPAGRO, 2001. p.7-17.
- BOMBONATO, M.T. & GREGÓRIO, E.A. Estudo morfológico e quantitativo dos hemócitos em larvas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera, Pyralidae). *Rev. Bras. Zool.*, v.12, n.4, p.867-879, 1995.
- BULET, P.; HETRU, C.; DIMARCO, J.; HOFFMANN, D. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Dev. Comp. Immunol.*, v.23, p.329-344, 1999.
- CASTRO, M.E.B.; SOUZA, M.L.; SIHLER, W.; RODRIGUES, J.C.M.; RIBEIRO, B.M. Biologia molecular de baculovírus e seu uso no controle biológico de pragas no Brasil. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v.34, p.1733-1761, 1999.
- CHAPMAN, R.F. *The insects*. 4.ed. Cambridge: Cambridge University Press: 1998. 770p.
- CLARK, K.D.; RECH, L.L.; STRAND, M.R. Isolation and identification of a Plasmacyte-spreading Peptide from the Hemolymph of the Lepidopteran Insect *Pseudoplusia includens*. *J. Biol. Chem.*, v.272, n.37, p.23440-23447, 1997.

- DIEHL, S.R.L. & JUNQUETTI, M.T.G. *Soja (Glycine max)*. Disponível em: <http://www.agrocas.com.br/Arquivos_culturas/Culturas/SOJA.htm>. Acesso em: 15 out. 2002.
- DRIF, L. & BREHÉLIN, M. Structure, classification and functions of insect haemocytes. In: PATHAK, J.P.N. (Ed.). *Insect immunity*. New Deli: Kluwer Academic Publishers, 1993. p.1-14
- FALLEIROS, A.M.F.; BOMBONATO, M.T.S.; GREGÓRIO, E.A. Ultrastructural and quantitative studies of hemocytes in the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.*, v.46, n.2. p.287-294, 2003.
- FARALDO, A.C. *Hemócitos de Diptera economicamente importantes: análise qualitativa, quantitativa e funcional*. Botucatu: 2000. 90p. [Dissertação. (Mestrado)-Instituto de Biociências, Univ. Estadual Paulista].
- FEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIADO ESTADO DE MATO GROSSO. *Soja é muito mais que óleo de cozinha*. Disponível em: <<http://www.famato.org.br/soja>>. Acesso em: 14 out. 2003.
- FERRAZ, L.C.C.B. As meloidinoidoses da soja: passado, presente e futuro. In: SILVA, J.F.V. (Org.). *Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja*. Londrina: Embrapa Soja e Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001. p.15-38.
- FREDERICI, B.A. Ultrastructure of baculoviruses. In: GRANADOS, R.R. & FREDERICI, B.A. (Eds.). *The biology of baculoviruses*. Boca Raton: CRC Press, 1986. v.1, p.61-88.
- FUNK, C.J.; BRUNAGEL, S.C.; ROHRMANN, G.F. Baculovirus structure. In: MILLER, L.K. (Ed.). *The baculoviruses*. New York: Plenum Press, 1997. p.7-32
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Manual de entomologia agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- GAZZONI, D.L. Botany. In: FAO. (Ed.). *Tropical soybean. Improvement and production*. Rome: FAO, 1994. p.1-12. (Plant Production and Protection Series n.27).
- GUPTA, A.P. Cellular elements in the hemolymph. In: KERKUT, G.A. & GILBERT, L.I. (Eds.) *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Oxford: Pergamon Press, 1985. v.3, p.401-451.
- GUPTA, A.P. Hemocyte types: their structures, synonymies, interrelationships, and taxonomic significance. In: GUPTA, A.P. (Ed.). *Insect Hemocytes*. Cambridge: Cambridge University Press, 1979. p.85-127.
- HUBNER, O. *Soja*. Disponível em: <<http://www.pr.gov.br/seab/deral/rev305.rtf>>. Acesso em: 14 out. 2003.
- JONES, J.C. Pathways and pitfalls in the classification and study of insect hemocytes. In: GUPTA, A. P. *Insect Hemocytes*. Cambridge: Cambridge University Press, 1979. p.279-300.
- LAVINE, M.D. & STRAND, M.R. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochem. Mol.* v.32, p.1295-1309, 2002.
- LELLO, E.; TOLEDO, L.A.; GREGÓRIO, E.A. Elementos figurados da hemolinfa de *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). Caracterização ao nível de microscopia óptica de 2º e 3º instares. *Memórias do. Instituto Oswaldo Cruz*. v.28, supl.3, p.351-358, 1987.
- MELONI, S.; MAZZINI, M.; SCAPIGLIATI, G. Ontogenesis of hemocytes in the stick insect *Bacillus rossius* (Rossi) (Phasmatodea, Bacillidae) studied with anti-hemocyte monoclonal antibody. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, v.28, p.245-250, 1999.
- MEYER-FERNANDES J.R.; LANZ-MENDOZA, H.; GONDIM, K.C. Ectonucleotide diphosphohydrolase activities in hemocytes of larval *Manduca sexta*. *Arch. Biochem. Biophys.*, v.328, n.1, p.152-159, 2000.
- MOSCARDI, F. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: ALVES, S.B. (Ed.). *Controle microbiano de insetos*. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 509-539.
- MOSCARDI, F. & SOUZA, M.L. Baculovírus para o controle de pragas. *Biotechnol. Ciênc. Desenv.*, v.24, p.22-29, 2002.
- NIERE, M.; MEIBLITZER DETTLOFF, M.; WEISE, C.; ZIEGLER, M.; WIESNER, A. Insect immune activation by recombinant *Galleria mellonella* apolipoprotein III. *Biochim. Biophys. Acta*, v.1433, p.16-26, 1999.
- PECH, L.L. & STRAND, M.R. Encapsulation of foreign targets by hemocytes of the moth *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) involves in RGD dependent cell adhesion mechanism. *J. Insect Physiol.*, v.41, n.6, p.481-488, 1995.
- RATCLIFFE, N.A.; ROWLEY, A.F.; FITZGEALD, S.W.; RHODES, C.P. Invertebrate immunity: basic concepts and recent advances. *Int. Rev. Cytol.*, v.97, p.183-279, 1985.
- RIBEIRO, B.M.R. & PINEDO, F.J.R. Baculovírus recombinante para controle de praga. *Biotechnol. Ciênc. Desenv.*, v. 22, p.50-58, 2001.
- RICKARD, D.J.; MONROE, D.G.; RUESINK, T.J.; KHOSLA, S.; RIGGSB, L.; SPELSBERG, J. Phytoestrogen genistein acts as an estrogen agonist on human osteoblastic cells through estrogen receptors alpha and beta. *J. Cell Biochem.*, v.89, n.3, p.633-646, 2003.
- ROWLEY, A.F. & RATCLIFFE, N.A. Insects. In: RATCLIFFE, N.A. & ROWLEY, A.F. (Eds.). *Invertebrate blood cells*. New York: Academic Press, 1981. v.2, p.421-490.
- RUSSO, J.; BREHÉLIN, M.; CARTON, Y. Haemocyte changes in resistant and susceptible strains of *D. melanogaster* caused by virulent and avirulent strains of the parasitic wasp *Leptopilina boulardi*. *J. Insect Physiol.*, v.47, p.167-172, 2001.
- SAVOLDI, M. *Ocorrência de lagartas representa uma ameaça à cultura da soja*. Disponível em: <<http://www.cnpt.EMBRAPA.br/not0008.htm>>. Acesso em: 15 out. 2002.
- SHAPIRO, M. Techniques for total and differential hemocyte counts and blood volume, and mitotic index determinations. In: GUPTA, A.P. (Ed.). *Insect hemocytes*. Cambridge: Cambridge University Press, 1979a. p.539-548.
- SHAPIRO, M. Hemocytes techniques: advantages and disadvantages. In: GUPTA, A.P. (Ed.). *Insect hemocytes*. Cambridge: Cambridge University Press, 1979b. p.549-562.
- SILVA, C.C. Aspectos do sistema imunológico dos insetos. *Biotechnol. Ciênc. Desenv.* v.24, p.68-72, 2002.
- SORRENTINO, R.P.; CARTON, Y.; GOVIND, S. Cellular immune response to parasite infection in the *Drosophila* lymph gland is developmentally regulated. *Dev. Biol.*, v.243, p.65-80, 2002.

- SOUZA, M.L.S.; CASTRO, CASTRO; M.E.B; SILHER, W. RIBEIRO, Z.M.A.; MOSCARDI, F. Caracterização de baculovírus utilizados no controle de pragas. *Biotechnol. Ciênc. Desenv.*, v.24, p.18-20, 2002.
- TANADA, Y. & KAYA, H.K. *Insect pathology*. San Diego: Academic Press, 1993. 666p.
- TURNIPSEED, S.G. & KOGAN, M. Integrated control of insect-pests. In: WILCOX, J.R. (Ed.). *Soybeans: improvement, production and uses*. Madison: Agronomy, 1987. p.779-817.
- VERNETTI, F. DE J. Origem da espécie, introdução e disseminação no Brasil. In: FUNDAÇÃO CARGILL. (Ed.). *Soja: planta, clima, pragas, moléstias e invasoras*. Campinas, 1983. p.3-123.
- WILLOT, E.; TRENCZEK, T.; THROWER, L.; KANOST, M.R. Immunochemical identification of insect populations monoclonal antibodies distinguish four major hemocyte types in *Manduca sexta*. *Eur. J. Cell Biol.*, v.65, p.417-423, 1994.
- YAMASHITA, M. & IWABUCHI, K. *Bombyx mori* prohemocyte division and differentiation in individual microcultures. *J. Insect Physiol.*, v.47, p.325-331, 2001.
- Recebido em 24/8/04
Aceito em 27/9/04