

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 15

Susceptibilidade de diferentes linhagens celulares de insetos ao Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatilis*

Maria Elita Batista de Castro
Zilda Maria de Araújo Ribeiro
Marlinda Lobo de Souza

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte (Final) - Brasília, DF

CEP 70770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600

Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e-mail: sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária-Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Marcos Rodrigues de Faria

Marta Aguiar Sabo Mendes

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

Suplentes: Edson Junqueira Leite

José Roberto de Alencar Moreira

Supervisor editorial: Miraci de Arruda Camara Pontual

Revisor de texto: Miraci de Arruda Camara Pontual

Normalização bibliográfica: Sérgio Souza Santos

Tratamento de ilustrações: Alysson Messias da Silva

Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva

1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 150 exemplares.

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CASTRO, M. E. B. de; RIBEIRO, Z. M. de A.; SOUZA, M. L. de. *Susceptibilidade de diferentes linhagens celulares de insetos ao Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatilis**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 18p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 15).

ISSN 1676-1340

1.Linhagens celulares de lepidópteros. 2.Susceptibilidade. 3.Baculovirus. 4.Replicação viral. 5.AgMNPV. I.Ribeiro, Z. M. de A. II.Souza, M. L. de. III.Título. IV.Série.

CDD 595.78

Sumário

| | |
|--|----|
| Resumo | 5 |
| Abstract | 7 |
| Introdução | 9 |
| Material e Métodos | 9 |
| Linhagens celulares | 9 |
| Produção de vírus estoque | 10 |
| Infecção viral | 10 |
| Determinação de título viral (TCID ₅₀) | 10 |
| Resultados e Discussão | 11 |
| Efeitos citopáticos e produção de PIBs em células infectadas por AgMNPV | 11 |
| Produção de partículas virais BV em células incubadas com AgMNPV | 15 |
| Referências Bibliográficas | 17 |

Susceptibilidade de diferentes linhagens celulares de insetos ao Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis*

Maria Elita Batista de Castro¹

Zilda Maria de Araújo Ribeiro²

Marlinda Lobo de Souza¹

Resumo

O baculovirus AgMNPV, Nucleopoliedrovirus de *Anticarsia gemmatalis*, tem sido aplicado no Brasil como bioinseticida para controlar a lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis*. Embora esse vírus seja muito específico para seu hospedeiro natural, cultura de células tem sido requerida para selecionar sistemas produtivos e desenvolver estudos sobre regulação gênica. Neste trabalho a susceptibilidade de diferentes células ao AgMNPV foi investigada. Os efeitos citopáticos induzidos pelo vírus e a produção de partículas virais foram examinados e comparados nas seguintes linhagens celulares: *Anticarsia gemmatalis* (UFL-AG-286), *Trichoplusia ni* (Tn-5B1-4 e Tn-368), *Spodoptera frugiperda* (IPLB-SF-21AE e SF9), *Lymantria dispar* (Ld652Y) e *Bombyx mori* (BM-5). Células foram cultivadas em meio TNMFH suplementado com soro bovino fetal, a 27°C. Foram semeadas $2,5 \times 10^6$ células em placas de cultura 60mm² e inoculadas com vírus em uma multiplicidade de infecção (MOI) de 10 pfu por célula. Em diferentes tempos após infecção (0, 12, 24, 48, 72 e 96 h p.i.) as células foram examinadas por microscópio de contraste de fase. Em geral, a 12 h p.i. já se observava arredondamento celular e hipertrofia nuclear. Algumas protusões celulares foram detectadas 24 h p.i. porém desapareceram após 72 horas de infecção. Corpos poliédricos de inclusão (PIBs) foram então observados em torno de 48 h p.i. e aumentaram em número durante os períodos subsequentes da infecção. Contudo poliedros não foram visualizados em células

¹ Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Bióloga, M.Sc. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Ld652Y e BM-5. Além disso, células BM-5 sofreram intensa lise após incubação com AgMNPV. Em 96 horas de infecção, 70% dessas células estavam lisadas. Análise por microscopia de luz, 96 h p.i., mostrou que o número de células produzindo poliedros alcançou 95% a 100% em ambas células Tn-5B1-4 e UFL-AG-286. Células SF-21, Tn-368 e SF9 também alcançaram 70%, 40% e 25%, respectivamente. Medidas de títulos virais (BV) pelo método da diluição final mostraram que células Tn-5B1-4, UFL-AG-286 e SF21 foram altamente produtivas, com valores de TCID₅₀ em torno de 10⁷ IU/ml, 48 h p.i. Por outro lado, células SF9 e Tn368 apresentaram títulos virais de 10⁶ IU/ml, consistentes com a baixa formação de poliedros observada. Como esperado, a medida dos títulos virais em células Ld652Y e BM-5 foi similar a dos níveis basais (10⁴ a 10⁵ IU/ml).