

ASPECTOS ELETROFISIOLÓGICOS EM LARVAS  
DE *Alabama argillacea* (HUBNER, 1818) INFECTADAS PELO VÍRUS  
DA POLIEDROSE NUCLEAR

C.F.S. Andrade<sup>1</sup>  
L.R.G. Britto<sup>1</sup>  
M.E.M. Habib<sup>1</sup>

INTRODUÇÃO

Alterações no sistema nervoso e em algumas funções como locomoção, respiração e circulação são bem conhecidas em larvas de Lepidoptera infectadas pelo vírus da poliedrose nuclear (VPN) (BENZ, 1963). Atividades eletrofisiológicas normais em ocelos, analisadas por meio de eletroretinogramas (ERG), são típicas e tem sido bem caracterizadas para diferentes insetos (GOODMAN, 1970). Uma vez determinada em condições normais, a análise de tais registros e outros em olhos compostos tem servido como indicadora da qualidade de insetos adultos quando criados em condições artificiais (AGEE, 1973; AGEE & PARK, 1975; GOODENOUGH *et al.*, 1977, 1978; WETZEL & LUGER, 1978).

De uma forma geral, estudos da atividade espontânea do trato digestivo tem sido feitos em insetos adultos sob condições normais ou sujeitos à ação de drogas (MILLER, 1979). Também, diferentes atividades eletrofisi-

---

<sup>1</sup> Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, SP.

siológicas do trato digestivo foram caracterizadas e associadas a diferentes regiões do intestino anterior de larvas de *Galleria mellonella* (BEARD, 1960).

O presente trabalho é parte de uma série de estudos relacionados com o VPN de *A. argillacea* (ANDRADE, 1981; ANDRADE & HABIB, 1981a, 1981b), com o objetivo final de se avaliar a possibilidade de utilização deste patógeno em programas de controle microbiano. Nesta contribuição, respostas de ocelos de larvas do curuquerê e a atividade elétrica básica da região esofágica foram analisadas tanto em indivíduos doentes como sadios. Tal contribuição complementaria os conhecimentos sobre o quadro patológico geral dessa virose e auxiliaria na interpretação de seus sinais e sintomas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Larvas de 6º estágio de *A. argillacea* foram coletadas no campo na região de Campinas, SP, e infectadas oralmente no laboratório com o auxílio de microseringa. Cada larva ingeriu 2 µl de suspensão contendo  $9,68 \times 10^9$  poliedros/ml. As larvas tratadas foram mantidas individualmente em placas de Petri até o surgimento dos sintomas correspondentes à fase pré-mortal II, segundo a sequência determinada por ANDRADE (1981).

Para os registros eletrográficos, as larvas foram imobilizadas individualmente sobre um suporte de isopor, presas por papel celofane e alfinetes, com a região ventral voltada para cima. Foram usados microelétrodos de tungstênio de 0,2 mm de diâmetro inicial, afilados eletroliticamente e isolados com verniz isolante (G.E. 9564) (LEVICK, 1972). Como eletrodo de referência, usou-se um fio de prata clorada envolvido por algodão umedecido em solução salina e fixado sobre a região ventral da larva. Os sinais foram amplificados e filtrados de maneira convencional por meio de uma sonda de alta impedância HI

P.511 e por prē-amplificador Grass P.511, sendo enviados a um osciloscópio Tektronix 5103N e a um monitor de áudio Grass AM-3.

Os registros de atividade ocelar nas larvas doentes e sadias foram feitos no segundo ocelo esquerdo. Para os registros esofagianos, os elētrodos foram introduzidos via cavidade bucal até o início do estomodeu. Os estímulos usados para os registros ocelares foram obtidos de uma lanterna oftalmológica, padronizados em 3000  $\text{lm/m}^2$ , em ambiente de penumbra (0,1  $\text{lm/m}^2$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Respostas ocelares

Os registros de potenciais efetuados entre a córnea ocelar e o elētrodo distante, nas larvas sadias de *A. argillacea*, mostraram alguns elementos envolvidos no processo de percepção da luz.

O 1º elemento representa a resposta do sistema visual ao início do estímulo luminoso, identificado como uma deflecção positiva do registro, na forma de um potencial lento, monofásico e despolarizante (Fig. 1.A). Este elemento corresponde aos dois primeiros componentes descritos por RUCK (1961a) e são atribuídos respectivamente às terminações dos rabdômeros das células visuais, e à membrana axônica das células receptoras.

O 2º elemento do ERG (Fig. 1.A), ainda em larvas sadias, apareceu como uma deflecção negativa e rápida, que junto ao 1º constituiu o efeito "ON" (Liga). Tal deflecção corresponde a um potencial hiperpolarizante. De acordo com RUCK (1961a), este potencial tem origem pós-sináptica e surge com a passagem do estímulo para as fibras do nervo ocelar.

Durante o estímulo luminoso (de 0,25 s de duração)

registrou-se no ERG uma deflexão positiva como 3º elemento durando até o ponto "OFF" (Desliga) e possivelmente associado à despolarização dos receptores. O 4º, 5º e 6º elementos, que aparecem com o fim do estímulo, foram registrados como uma variação elétrica negativa lenta, um componente positivo rápido e finalmente o retorno à linha de base, discriminados como efeito "OFF".

Estímulos curtos interativos nas larvas sadias, geraram respostas semelhantes quanto à amplitude do 2º elemento (Fig. 1.B), sendo que na frequência de aproximadamente 1 Hz, não se observa uma variação crescente da resposta. Sob essas condições, a amplitude variou entre 0,43 e 0,67 mV, com uma média de 0,61 mV. Nas libélulas, segundo RUCK (1961b), a amplitude desse componente pode aumentar quando do aumento da frequência, para uma mesma intensidade luminosa, fato associado a um tipo de facilitação temporal.

Larvas de *A. argillacea* na fase pré-mortal II da virose mostraram uma típica alteração comportamental, marcada principalmente pela perda dos reflexos, diminuição nos deslocamentos e movimentos em geral (ANDRADE, 1981). Nessa fase, notou-se no ERG ocelar, uma nítida alteração na velocidade das respostas aos estímulos, sendo que uma alteração menor pode ser notada quanto à amplitude (Fig. 1.C).

Os componentes do efeito "ON", ainda presentes, sugerem poucas alterações no sistema a nível de receptores. A lentidão da condução do estímulo evidenciada pelo 1º elemento, além da evidente alteração dos 2º e 3º elementos e do efeito "OFF" como um todo, indica uma desorganização do processo ao nível pós-sináptico, talvez nas próprias fibras do nervo ocelar.

Sob estímulos repetitivos a velocidade e a intensidade das primeiras respostas aparecem bastante alteradas. Nestas condições, uma somatória de estímulos é necessária para evocar, nas últimas, uma resposta próxima à do ERG normal (Fig. 1.D).

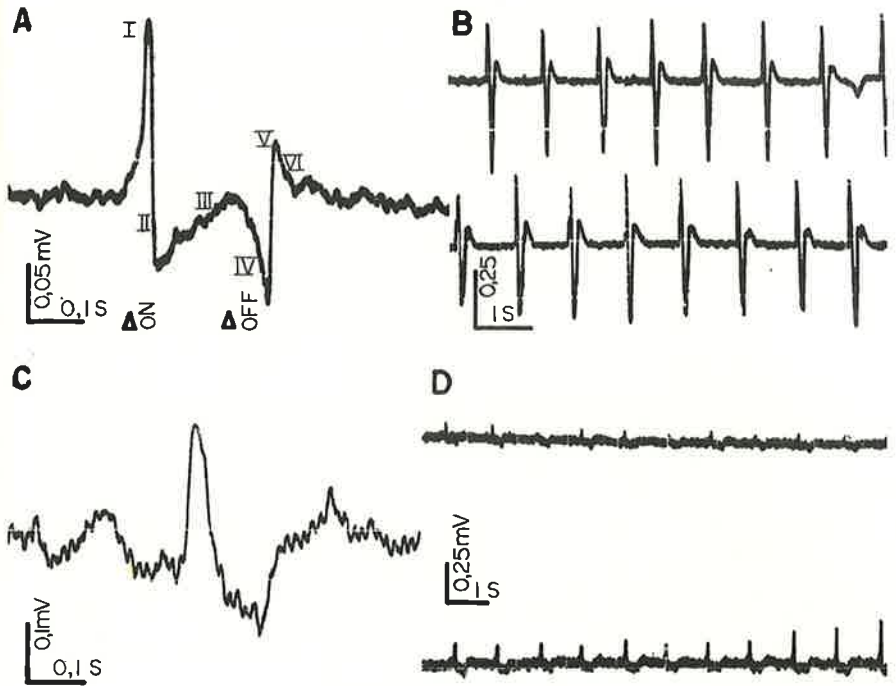


FIGURA 1 - ERG ocelar em larvas de *A. argillacea*.

- A. Elementos do ERG em larvas sadias sob estímulo único.
- B. Resposta a estímulos curtos repetitivos em larvas sadias.
- C. Resposta em larva doente sob estímulo único.
- D. Resposta em larva doente sob estímulos curtos repetitivos.

Muitos autores tem considerado que além da função sensorial específica, os ocelos funcionam na manutenção do estado excitatório do tonus geral, enviando estímulos continuados ao sistema nervoso central (GOODMAN, 1970). GOUSTRARD (1958) mostrou que em *Blattella* sp., a atividade geral é reduzida em 16% quando os ocelos são vedados. Ainda, SCHREMMER (1950) e GOODMAN (1968) demonstraram a perda do tonus e alterações no padrão de locomoção das abelhas com ocelos ou olhos compostos vendados. As mudanças nos padrões de deslocamento e movimentação voluntária das larvas de *A. argillacea* atacadas pelo VPN, tanto quanto nos movimentos de fuga, podem dessa forma estar associados a condições patológicas no sistema nervoso sensorio-motor, somadas a uma ação mais direta da infecção no sistema muscular voluntário (ANDRADE, 1981).

### Atividade esofagiana

Nas larvas sadias de *A. argillacea* os registros eletrofisiológicos esofagianos mostraram como atividade básica potenciais rítmicos de cerca de 0,3 mV de amplitude, com frequência variando próximo a 12 Hz (Fig. 2.A). Esses potenciais, que aparecem assimetricamente difásicos, assemelham-se às ondas "E" encontradas por BEARD (1960) para o esôfago de *G. mellonella*, com 0,5 mV de amplitude e cerca de 3 Hz de frequência.

A constância da atividade básica da região esofágica apareceu ainda, nas larvas sadias, interrompida por surtos de potenciais de cerca de 1,5 s de duração, com amplitudes e frequências maiores que o dobro da atividade basal, indicando um aumento geral reorganizado da atividade eletrofisiológica (Fig. 2.B).

Os surtos de potenciais, visivelmente associados ao peristaltismo, ocorreram em grupos de 4 a 6, intercalados por períodos grandes (aproximadamente 12 s), ou com certa constância (a cada 2 s aproximadamente). GELPERIN (1971) demonstrou variações nesses surtos em califo

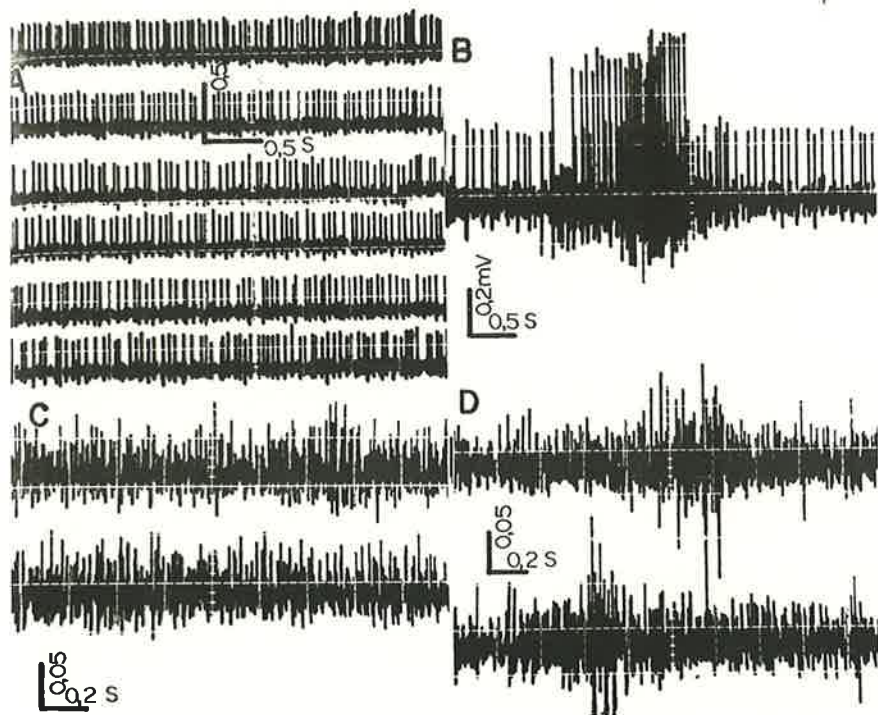


FIGURA 2 - Atividades eletrofisiológicas do esôfago de larvas de *A. argillacea*.

- A. Potenciais rítmicos na atividade basal em larvas sadias.
- B. Potenciais associados à peristalse em larvas sadias.
- C. Potenciais rítmicos na atividade basal em larvas doentes.
- D. Peristaltismo nas larvas doentes.

rídeos alimentados com diferentes concentrações molares de sacarose.

Durante a fase pré-mortal II da virose, as larvas de *A. argillacea* não mais se alimentam (ANDRADE, 1981). Registros eletrográficos feitos na região esofágica de larvas nessa fase mostram uma marcante perturbação na atividade eletrofisiológica, com muitos potenciais abortivos, alterados principalmente quanto à amplitude. Nessas condições, potenciais pequenos de até 0,1 mV confundem-se com o ruído fisiológico de fundo, em geral aumentado (Fig. 2.C). A desorganização da atividade básica na região esofagiana evidencia a perda da sua capacidade contrátil pulsatória nessa fase da doença.

Surtos de potenciais decorrentes da deglutição também foram observados em registros esofagianos nas larvas doentes. Ocorreram sem uma ritmicidade constatável, ora em grupos intercalados por períodos de inter-surtos, ora constantes. Os registros desses surtos, quando em grupos (Fig. 2.D) mostraram uma grande redução quanto à amplitude dos potenciais (cerca de 0,15 mV), o que deve ser indicativo da redução acentuada e desorganizada do peristaltismo esofagiano. Essa alteração nos padrões eletrofisiológicos normais, somada a outras provocadas pela invasão do vírus nos demais sistemas, devem ser as responsáveis pelo bloqueio alimentar nessa fase da doença.

## RESUMO

Resposta eletrofisiológica de ocelos de largatas de *Alabama argillacea* infectadas pelo vírus da Poliedrose Nuclear foram avaliadas a partir de comparações com respostas em indivíduos sadios. Da mesma forma, atividades básicas esofageanas foram estudadas.

## SUMMARY

Electrophysiological responses in ocelli of *Alabama*



*argillacea* larvae infected with Nuclear Polyhedrosis Virus were determined. Based on comparisons with healthy individuals, the esophagic activities were also analysed.

## LITERATURA CITADA

- AGEE, H.R., 1973. Spectral sensitivity of compound eyes of field collected adult bollworms and tobacco bud worms. **Ann. Ent. Soc. Amer.** 66: 613-615.
- AGEE, H.R. & M. PARK, 1975. Use of electroretinogram to measure quality of vision of the fruit fly. **Environ. Lett.** 10: 171-176.
- ANDRADE, C.F.S., 1981. **Estudos ecológicos e patológicos da poliedrose nuclear de *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepid., Noctuidae)**, tese de mestrado, UNICAMP, 153pp.
- ANDRADE, C.F.S. & M.E.M. HABIB, 1981a. Vírus da poliedrose nuclear de *Alabama argillacea*. Estudos de suscetibilidade. VII Cong. Bras. Ent., Resumos, p.150.
- ANDRADE, C.F.S. & M.E.M. HABIB, 1981b. Ocorrência e dispersão da poliedrose nuclear do curuquerê do algodão, *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepid., Noctuidae). **Rev. Agric.**, Piracicaba 57(4): 233-246.
- BEARD, R.L., 1960. Electrographic recording of fore-gut activity in larvae of *Galleria mellonella*. **Ann. Ent. Soc. Amer.** 53: 346-351.
- BENZ, G., 1963. Physiopathology and histochemistry. Em Steinhaus, E.A. (ed.) **Insect pathology, an advanced treatise**, vol. 1: 299-338, Academic Press, New York.
- GELPERIN, A., 1971. Regulation of feeding. **Ann. Rev. Ent.** 16: 365-378.
- GOODENOUGH, J.L., D.D. WILSON & H.R. AGEE, 1977. Electroretinogram used to measure and compare visual

- sensitivity of wild and mass reared screw - worm  
flies. *J. Med. Ent.* 14: 309-312.
- GOODENOUGH, J.L., D.D. WILSON & C.J. WHITTEN, 1978. Vi-  
sual sensitivity of four strains of screw - worm  
flies including the new 009 strain introduced into  
mass rearing. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 71: 9-12.
- GOODMAN, L.J., 1968. Interaction between ocellar and com-  
pound eye visual units in *Schistocerca gregaria*.  
*Proc. 13th Intern. Congr. Ent.*, Moscow.
- GOODMAN, L.J., 1970. The structure and function of the  
insect dorsal ocellus. Em Beament, J.W.L., J.E.  
Treherne & V.B. Wigglesworth (ed.): **Advances in In-  
sect Physiology**, 7: 97-190, Academic Press, New  
York.
- GOUSTARD, M., 1958. Reaction phototropique et régula-  
tion du comportement chez l'image mâle de *Blatella*  
*germanica*. *Bull. Biol. Suppl.* 45: 1-112.
- LEVICK, W.R., 1972. Another tungsten microelectrode. *Med.  
& Biol. Eng.* 10: 510-515.
- MILLER, T.A., 1979. **Insect neurophysiological techniques**,  
Springer-Verlag Inc., N.Y., Berlin, 308pp.
- RUCK, P., 1961a. Electrophysiology of the insect dorsal  
ocellus. I. Origin of the components of the elec-  
trotretinoogram. *J. Gen. Physiol.* 44: 605-628.
- RUCK, P., 1961b. Electrophysiology of the insect dorsal  
ocellus. II. Mechanisms of generation and inhibi-  
tion of impulses in the ocellar nerve of dragon-  
flies. *J. Gen. Physiol.* 44: 629.
- SCHREMMER, F., 1950. Bemerkungen zur ocellen funktion bei  
hummeln. *Ost. Zool. Z.* 2: 242-274.
- WETZEL, H. & D. LUGER, 1978. Electrotretinograms to deter-  
mine visual sensitivity for tse-tse flies (Diptera,  
Glossinidae). *Z. ang. Ent.* 87: 91-100.