

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

LUCYO WAGNER TORRES DE CARVALHO

**ESTUDO DE TRÊS LEPIDÓPTEROS PRAGAS E SUAS INTERAÇÕES EM CANA-
DE-AÇÚCAR.**

Maceió

2011

LUCYO WAGNER TORRES DE CARVALHO

**ESTUDO DE TRÊS LEPIDÓPTEROS PRAGAS E SUAS INTERAÇÕES EM CANA-
DE-AÇÚCAR.**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências, pelo Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas.

Orientador: Dr. Antônio Euzébio Goulart de
Sant`Ana.

MACEIÓ
2011

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

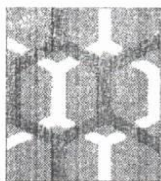
C331e Carvalho, Lucyo Wagner Torres de.
Estudo de três lepidópteros pragas e suas interações em cana-de-açúcar /
Lucyo Wagner Torres de Carvalho. – 2011.
101 f. : il. tabs., grafs.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana.
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal
de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2011.

Inclui bibliografia e apêndices.

1. Controle de pragas. 2. Saccharum officinarum. 3. Lepidobrocas.
4. Controle biológico – Feromonios. I. Título.

CDU: 543.92:632.7




UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384, Fax: (82) 3214-1384
email: cpgqb@qui.ufal.br


Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de **Lucyo Wagner Torres de Carvalho**, intitulada: "**Estudo de três Lepidópteros Pragas e suas Interações em Cana-de-açúcar**", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 20 de dezembro, às 8h, no Auditório Núcleo de Pesquisa multidisciplinar-severinão/UFAL.

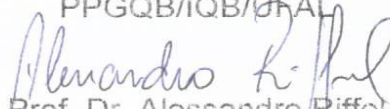
COMISSÃO JULGADORA

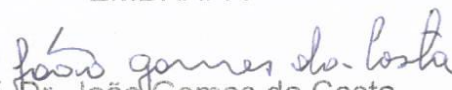

Prof. Dr. Antonio Euzébio Goulart Sant'Ana
Orientador - PPGQB/IQB/UFAL


Prof. Dr. Fernando Hercos Valicente
EMBRAPA


Prof.ª Dr.ª Mônica Joseane Barbosa Pereira
UNEMAT


Prof.ª Dr.ª Ruth Rufino do Nascimento
PPGQB/IQB/UFAL


Prof. Dr. Alessandro Riffel
EMBRAPA


Prof. Dr. João Gomes da Costa
EMBRAPA

A Deus,

pela vida e pela saúde, sem as quais seria impossível a realização desta tese.

OFEREÇO

A minha esposa Keylla Patrícia Pinto de Carvalho, pelos seus gestos de carinho, compreensão e por ter me dado forças nos momentos difíceis.

Aos meus pais, José Rocha de Carvalho e Maria da Conceição Torres de Carvalho, por sempre terem me incentivado e por acreditar em mim.

Aos meus irmãos, Luíz Henrique Torres de Carvalho e Luciana Torres de Carvalho, por sempre me incentivar.

Como forma de homenagem, **DEDICO**

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Alagoas e ao programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia pela oportunidade da realização do doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana pela amizade, motivação, pela confiança em mim depositada.

Aos Pesquisadores Doutores da Embrapa Alessandro Riffel, Fernando Hercos Valicente e João Gomes da Costa por participar de várias etapas desse trabalho com sugestões essenciais.

A Usina Triunfo e a Usina Caeté (Filial Cachoeira), do grupo Carlos Lira, por permitir a coleta dos insetos durante os quatro anos da pesquisa.

Aos meus amigos Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Junior e Amaro Cavalcante por me ajudar muito com sugestões para melhoria desse trabalho.

Aos meus amigos de usinas Luiz Avelar Brandão de Goes, Givaldo Verçosa e Raimundo Nonato pela parceria durante esse período.

Aos meus companheiros do Laboratório de Semioquímicos, Edjane, Cenira, Jonathan, Rose, Mariana, Benísio, Luciana, Edilson, Ana Lucila, Milena, Henrique e Paulo Pedro pelo apoio e alegre convívio.

Aos bolsistas e estagiários do curso de Química e Biologia pela amizade e companheirismo.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

RESUMO GERAL

A *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) e *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904) (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae) são pragas da cana de açúcar cuja importância vem aumentando devido ao rápido crescimento de suas populações e a dificuldades no controle de ambas. Devido ao pequeno número de informações disponíveis na literatura sobre estes insetos, e para estudar a interação entre elas, e outros lepidópteros e inimigos naturais, realizamos o estudo de uma dieta para a criação de insetos adultos de *T. licus licus*. Alguns aspectos biológicos também foram observados e a influência de plantas atacadas por *T. licus licus*, *H. taltula* e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) sobre a preferência de oviposição de *D. saccharalis* e na atração de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). A investigação da patogenicidade de isolados do *Baculovirus spodoptera* foi estudada em *D. flavipennella*. Avaliou-se o efeito de cinco dietas (D1, D2, D3, D4 e D5) sobre o desenvolvimento de *T. licus licus*, e a caracterização das substâncias químicas liberadas por fêmeas virgens com idade entre 24 e 48 horas após a emergência. As dietas D1 e D5 foram desconsideradas, pois promoveram alta mortalidade na fase larval. Observou-se que as dietas D3 e dieta D4 foram bem aceitas, as lagartas alimentadas com essas dietas apresentaram maior ganho de peso e menor duração em dias ($p < 0,05$). Para a dieta D2, quando comparada às dietas D4 e D3, proporcionou maior mortalidade na fase de lagartas. As dietas D4 e D3 favoreceram a produção de um maior número de pupas e adultos ($p < 0,05$). Os adultos provenientes das dietas D2, D3 e D4 alimentados com solução de sacarose a 5% apresentaram um aumento médio de três dias na longevidade. As dietas D4 e D3 foram consideradas apropriadas para produção de adultos de *T. licus licus*. Os compostos voláteis presentes nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens provenientes da dieta D3 e D4 foram semelhantes aos provindos de fêmeas virgens do campo ($p < 0,05$). Ao avaliar a preferência de oviposição por *D. saccharalis* e a atração de *C. flavipes* por canas em relação a plantas de cana-de-açúcar infestadas por diferentes lepidópteros-praga, observou-se que fêmeas de *D. saccharalis* têm preferência de oviposição pela cana isenta de infestação ($p < 0,05$), enquanto que fêmeas de *C. flavipes* são atraídas por compostos voláteis emitidos por plantas de cana-de-açúcar infestadas por *D. saccharalis* e em menor escala por *H. taltula* ($p < 0,05$). Além disso, foi constatado que a utilização dos compostos voláteis emitidos diretamente pelas plantas é mais eficiente que os extratos hexânicos obtidos das mesmas ($p < 0,05$). Por não existir informações sobre a utilização de isolados de baculovírus no controle biológico de *D. flavipennella* verificou-se a eficiência de três isolados (I-6, I-18 e I-19) do *Baculovirus spodoptera* em lagartas neonatas de *D. flavipennella*. Foram utilizadas 56 lagartas neonatas de *D. flavipennella* por tratamento, sendo essas agrupadas em 4 repetições de 14 lagartas; as porcentagens de eficiência dos isolados I-18 e I-6 foram às melhores diferindo do I-19 ($p < 0,05$); o isolado I-18 e o isolado I-6 podem ser utilizados como bioinseticida para *D. flavipennella* ($p < 0,05$). Com os resultados obtidos nesta tese, pode-se concluir que a broca gigante pode ser criada em laboratório a fim de obtenção de adultos para extração de glândulas feromonais; existe interação entre plantas saudáveis e preferência de oviposição por *D. saccharalis* em relação a plantas infestadas por lepidópteros; há atração do inimigo natural *C. flavipes* por plantas atacadas por *D. saccharalis* e em menor escala por *H. taltula*; há isolados de *Baculovirus spodoptera* com potencial de serem utilizados no controle biológico de *D. flavipennella*.

Palavras chave: Controle de Pragas, *Saccharum officinarum*, Lepidobrocas.

GENERAL ABSTRACT

The *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepdoptera: Castniidae) and the *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904) (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae) have become important sugarcane pests due to the rapid growth of their populations and the difficulties in controlling both of them. Due to the small amount of information available in literature and to study the interaction between them and other Lepidoptera and natural enemies, a research of a diet for rearing the *T.licus licus* insect adults was conducted to be able to understand better these two species. Some biological aspects were also observed and the influence of plants attacked by the *T. licus licus*, the *H. taltula* and the *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) with the preference of *D. saccharalis* oviposition and attraction of *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). The investigation of the pathogenicity of *Baculovirus Spodoptera* isolates was studied in *D. flavipennella*. The effect of five diets (D1, D2, D3, D4 and D5) on the development of *T. licus licus* was evaluated, and the characterization of the chemicals substances released by virgin females with 24 and 48 hours old after the emergence. The D1 and D5 diets were disregarded because they promoted high mortality in the larval stage. After the statistical analysis at 5% probability, it was observed that the D3 and D4 diets were well accepted. The larvae fed with these diets showed greater weight gain and shorter duration in days ($p < 0.05$). When the D2 diet was compared to the D4 and D3 diets, it showed higher mortality in the larvae stage. The D3 and D4 diets favored the production of a greater number of pupae and adults ($p < 0.05$). The adults from the D2, D3 and D4 diets fed with 5% sucrose solution showed an average increase of three days in their life. The D3 and D4 diets were considered appropriate for production of adult *T. licus licus*. The volatile compounds present in the last three segments of the abdomen of virgin females from D3 and D4 diets were similar to those coming from the field virgin females ($p < 0.05$). While evaluating the oviposition preference for *D. saccharalis* and the attraction of *C. flavipes* for canes in relation to sugarcane plants infested by different lepidopteran pests, it was possible to observe that *D. saccharalis* females have oviposition preference for the non-infested sugarcane ($p < 0.05$), while *C. flavipes* females are attracted by volatile compounds emitted by sugarcane plants infested by *D. saccharalis* and in a smaller scale by *H. taltula* ($p < 0.05$). Moreover, it was found that the use of volatile compounds emitted directly by the plants is more efficient than the extracts obtained from the plants ($p < 0.05$). The effectiveness of three isolates (I-6, I-18 and I-19) of the *Baculovirus spodoptera* in *D. flavipennella* neonate larvae was verified because there is no information about the use of baculovirus isolated from the biological control of *D. flavipennella*. Fifty-six *D. flavipennella* neonate larvae were used per treatment, which were grouped in four repetitions with 14 larvae. The percentage of efficiency of the I-18 and I-6 isolates were the best differing from the I-19 ($p < 0.05$). The I-18 and I-6 isolates can be used as bio-insecticide for *D. flavipennella* ($p < 0.05$). With the results obtained in this thesis, it can be concluded that the giant borer can be raised in a laboratory to extract the pheromone glands from the adults. There is interaction between healthy plants and oviposition preference by *D. saccharalis* in relation to plants infested by lepidopterans. There is attraction of the natural enemy *C. flavipes* by plants attacked by *D. saccharalis* and in a smaller scale by *H. taltula*. There is *B. spodoptera* isolates with potential for being used in the biological control of *D. flavipennella*.

Keywords: Pest Control, *Saccharum officinarum*, Lepidoborer.

LISTA DE FIGURAS

1 REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 -	Adultos de <i>Telchin licus</i> . A- <i>Telchin licus licus</i> . B- <i>Telchin licus laura</i> .	11
Figura 2 -	Fases do ciclo biológico da broca gigante, <i>T. licus licus</i> , em campo.	12
Figura 3 -	Galeria ou “Orifício” no colmo da cana-de-açúcar ocasionada pelo ataque da lagarta da broca gigante, <i>T. licus licus</i> .	13
Figura 4 -	Adulto de <i>Telchin licus licus</i> (broca gigante). A- Fêmea de <i>Telchin licus licus</i> na cana-de-açúcar; B- Fêmea de <i>Telchin licus licus</i> ovipositando no solo entre as canas.	13
Figura 5 -	Fases do ciclo biológico da broca peluda da cana-de-açúcar, <i>Hyponeuma taltula</i> .	14
Figura 6 -	Ciclo biológico de <i>Diatraea saccharalis</i> .	16
Figura 7 -	Lagarta de <i>Diatraea saccharalis</i> sendo parasitada por uma fêmea de <i>Cotesia flavipes</i> .	16
Figura 8 -	Ciclo biológico de <i>Diatraea flavipennella</i> .	17
Figura 9 -	Esquema demonstrando como muitos dos feromônios de lepidópteros são produzidos.	20
Figura 10-	Danos às plantas e Compostos Voláteis de Plantas Induzidos por Herbivoria (CVIH ou “HIPVs”). Uma planta que é danificada por um herbívoro é induzida a emitir voláteis sistemicamente, tanto acima quanto abaixo do solo.	21

3 INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR INFESTADAS POR DIFERENTES LEPIDOBROCAS NO COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E NO COMPORTAMENTO DE BUSCA DO HOSPEIRO POR *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).

Figura 1 -	Distribuição dos tratamentos no bioensaio de preferência de ovoposição. S-Cana-de-açúcar; SD- Cana-de-açúcar + <i>Diatraea saccharalis</i> ; SH- Cana-de-açúcar + <i>Hyponeuma taltula</i> ; SB- Cana-de-açúcar + <i>Telchin licus licus</i> ; F–Fêmeas de <i>D. saccharalis</i> comprovadamente acasalada.	64
------------	---	----

Figura 2- Olfatômetro em “Y” com fluxo de ar e sem opção de escolha. 65
Dimensões de cada braço do olfatômetro: $\Phi = 3,5\text{cm}$ e $c = 65\text{cm}$, o orifício que demarcou a área de aceitação ou rejeição se encontrava distante do local dos insetos em 40 cm.

4 EFICIÊNCIA DE BACULOVÍRUS SOBRE A MORTALIDADE DE LAGARTAS NEONATAS DE *Diatraea flavipennella*.

- Figura 1- Análise de Sobrevivência, pelo teste de Log-Rank (D. Collett), 91
de lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada e alimento mais isolado I-6 do *Baculovirus spodoptera*. A análise foi feita pelo teste de Log-Rank (D. Collett) e a comparação dos tratamentos foi realizada pelo teste Qui-quadrado (WL) ($p < 0,01$).
- Figura 2 - Análise de Sobrevivência, pelo teste de Log-Rank (D. Collett), 92
de lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada e alimento mais isolado I-18 do *Baculovirus spodoptera*. A análise foi feita pelo teste de Log-Rank (D. Collett) e a comparação dos tratamentos foi realizada pelo teste Qui-quadrado (WL) ($p < 0,01$).
- Figura 3 - Análise de Sobrevivência, pelo teste de Log-Rank (D. Collett), 93
de lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada e alimento mais isolado I-19 do *Baculovirus spodoptera*. A análise foi feita pelo teste de Log-Rank (D. Collett) e a comparação dos tratamentos foi realizada pelo teste Qui-quadrado (WL) ($p < 0,01$).
- Figura 4 - Comparações das porcentagens de eficiência corrigida de 94
Abbott obtidas pelos Isolados I-6, I-18 e I-19 do *Baculovirus spodoptera* comparadas com o tratamento testemunha (lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada). A Comparação dos tratamentos foi feita pelo teste de Kruskal Wallis ($p < 0,05$).
-

LISTA DE TABELAS

2 EFEITO DE DIETAS PARA LAGARTAS VISANDO A OBTENÇÃO DE ADULTOS DE *Telchin licus licus* EM LABORATÓRIO E EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NOS ÚLTIMOS SEGMENTOS DO ABDOME DE FÊMEAS VIRGENS.

Tabela 1-	Constituição das dietas de alimentação para lagartas testadas na criação de <i>T. licus licus</i> , em laboratório:	37
Tabela 2-	Médias (\pm EP) de características biológicas de <i>Telchin licus licus</i> criadas em três tipos de dietas diferentes. Temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, com fotofase de 12 horas para adultos e sem fotofase para lagartas/pré-pupa/pupa.	43
Tabela 3-	Peso médio (\pm EP) das fases imaturas e porcentagem de deformação de adultos de <i>Telchin licus licus</i> criadas em três tipos de dietas diferentes. Temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, com fotofase de 12 horas para adultos e sem fotofase para lagartas/pré-pupa/pupa.	44
Tabela 4-	Longevidade (\pm EP) dos adultos de <i>Telchin licus licus</i> com (solução aquosa de sacarose a 10%) e sem alimento, em dias, criados em três tipos de dietas diferentes. Temperatura de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, com fotofase de 12 horas.	45
Tabela 5-	Identificação por CG-MS de Hidrocarbonetos e Compostos Oxigenados* encontrados no abdome de fêmeas virgens de <i>T. licus licus</i> , provenientes da dieta D3, D4 e do campo.	46

3 INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR INFESTADAS POR DIFERENTES LEPIDOBROCAS NO COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E NO COMPORTAMENTO DE BUSCA DO HOSPEDEIRO POR *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).

Tabela 1-	Oviposição de <i>Diatraea saccharalis</i> submetida à bioensaios com plantas e plantas x lepidópteros.	66
Tabela 2-	Número médio de fêmeas de <i>Cotesia flavipes</i> atraídas por extratos hexânicos comparados com os voláteis provenientes da própria planta.	68

Tabela 3- Identificação dos Compostos Orgânicos Voláteis* (COVs) 70
liberados por cana-de-açúcar (S), pela de cana-de-açúcar
atacada por *D. saccharalis* (SD), pela de cana-de-açúcar
atacada por *H. taltula* (SH) e pela de cana-de-açúcar atacada
por *T. licus licus* (SB).

4 EFICIÊNCIA DE BACULOVÍRUS SOBRE A MORTALIDADE DE LAGARTAS NEONATAS DE *Diatraea flavipennella*.

Tabela 1- Tratamentos utilizados para avaliar mortalidade de lagartas 88
neonatas de *D. flavipennella*. Em todos foram acrescentado
0,01% de Tween® 80.

Tabela 2- Constituição da dieta de alimentação de *Diatraea saccharalis*. 89

APÊNDICES

APÊNDICE A

Figura 1 -	Ovos de <i>Telchin licus licus</i> . A- Ovos recém-ovipositados provindos da Usina Triunfo. B- Acondicionamento de 100 ovos de <i>T. licus licus</i> , recém-ovipositados, em placas de Petri forradas com papel filtro.	52
Figura 2 -	Placa de Petri contendo dieta de alimentação inicial. A- Fornecida pela FITOSSAN. B- Dieta consumida em 16 dias por lagarta de <i>Telchin licus licus</i> . C- Dieta 20 dias após consumo por <i>T. licus licus</i> .	52
Figura 3 -	Criação de <i>Telchin licus licus</i> : A- Fase inicial; B- Lagarta alimentada pela dieta (D3); C- Lagarta alimentada pela dieta (D2); D- Lagarta alimentada pela dieta (D4).	52
Figura 4 -	Fase de pré-pupa de <i>Telchin licus licus</i> .	53
Figura 5 -	Fase de pupa de <i>Telchin licus licus</i> .	53
Figura 6 -	Fase adulta de <i>Telchin licus licus</i> .	53
Figura 7 -	Local de acondicionamento da fase adulta por sexo de <i>Telchin licus licus</i> .	53
Figura 8 -	Fêmeas de <i>Telchin licus licus</i> com idade entre 24 e 48 horas, utilizadas para coleta de voláteis.	54
Figura 9 -	Material utilizado na extração dos compostos voláteis encontrados nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens adultas de <i>Telchin licus licus</i> . A- Tesoura de inox. B- Hexano (HPLC) bi-destilado. C- frasco (Amber Vial, Screw Top, 4mL) vedado e contendo cinco partes abdominais + 500 µL de Hexano (HPLC) bi-destilado. D- Sílica. E- frasco (Amber Vial, Screw Top, 2mL) vedado e etiquetado contendo extrato após filtrado.	54

APÊNDICE B

Figura 1 -	Pedaços (4-5 cm) de cana-de-açúcar, variedade RB867515, contendo uma gema.	79
Figura 2 -	Canas plantadas em mini vasos de (h=10cm x Φ=12cm) contendo substrato marca (plantmax), etiquetadas, irrigadas	79

diariamente com 25mL de água, até atingir a idade de um mês de idade fenológica ou altura entre 30cm e 40cm. Temperatura de $27\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, 12 horas de fotofase.

- Figura 3 - Comparação de lagartas de *D. saccharalis*. A- última fase larval. B – lagarta com 12 a 13 dias de idade. 79
- Figura 4 - Comparação de lagartas de *T. licus licus*. A- última fase larval. B– lagarta com 38 a 40 dias de idade. 79
- Figura 5 - Comparação de lagartas de *H. taltula*. A- última fase larval. B– lagarta com 15 a 17 dias de idade. 80
- Figura 6 - Processo de aeração das plantas. Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 5\%$, fotofase 12h. 80
- Figura 7 - Planta de cana-de-açúcar, variedade RB867515, com um mês de idade fenológica ou altura entre 30cm e 40cm, sendo aerada. Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 5\%$, fotofase 12h. 80
- Figura 8 - Bioensaio de preferência de oviposição de *D. saccharalis* por plantas atacadas ou não por lepidópteros. Temperatura de $27\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, 12 horas de fotofase, condições de campo. 81
- Figura 9 - *Cotesia flavipes*, criadas em *D. saccharalis*. A- Recipientes contendo adultos machos e fêmeas de *C. flavipes*. B- Sexagem de fêmeas de *C. flavipes* (fornecidas gentilmente pela usina Triunfo). 81
- Figura 10 - Bioensaio de olfatométrie utilizando extratos hexânicos de plantas atacadas ou não por lepidópteros no comportamento de busca de fêmeas de *Cotesia flavipes*. Temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. 82
- Figura 11 - Bioensaio de olfatométrie utilizando plantas atacadas ou não por lepidópteros no comportamento de busca de fêmeas de *Cotesia flavipes*. Temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. 82
- Figura 12 - Material utilizado na extração dos compostos voláteis das plantas de cana-de-açúcar infestadas ou não infestadas pelos lepidópteros *T. licus licus*, *H. taltula* e *D. saccharalis*. A- Adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,10g; Supelco). 82
-

B- Hexano (HPLC) bi-destilado. C- frasco vedado e etiquetado contendo extrato (Amber Vial, Screw Top, 2mL).

APÊNDICE C

- Figura 1 - Isolados I-6, I-18 e I-19 de *Baculovirus spodoptera* testados quanto à mortalidade de *Diatraea flavipennella*. 98
- Figura 2 - Folhas de cana-de-açúcar lavadas com hipoclorito de sódio (0,1%) e depois com água destilada. 98
- Figura 3 - Experimento utilizando *Baculovirus spodoptera*: Isolado I-6, I-18 e I-19 no controle de *Diatraea flavipennella*. 2011. Laboratório de Controle Biológico, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG. 98
-

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	4
OBJETIVOS	6
1 REVISÃO DE LITERATURA	
1.1 CANA-DE-AÇÚCAR.	9
1.2 PRINCIPAIS PRAGAS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR.	10
1.3 PRINCIPAIS LEPIDOPTEROS PRAGAS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL.	10
1.3.1 <i>Telchin licus licus</i>	11
1.3.2 <i>Hyponomeuta taltula</i>	14
1.3.3 <i>Diatraea saccharalis</i>	15
1.3.4 <i>Diatraea flavipennela</i>	16
1.4 DIETA ARTIFICIAL	17
1.5 SEMIOQUÍMICOS	18
1.5.1 Feromônios	19
1.5.2 Aleloquímicos	20
1.5.2.1 Interações	21
1.6 BACULOVIRUS.	24
1.6.1 <i>Baculovirus spodoptera</i>	25
REFERÊNCIAS	25
2 EFEITO DE DIETAS PARA LAGARTAS VISANDO A OBTENÇÃO DE ADULTOS DE <i>Telchin licus licus</i> EM LABORATÓRIO E EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NOS ÚLTIMOS SEGMENTOS DO ABDOME DE FÊMEAS VIRGENS.	
Resumo	33
Abstract	34
2.1 Introdução	35
2.2 Material e Métodos	36
2.3 Resultados e discussão	42
2.4 Conclusões	48
REFERÊNCIAS	48
APÊNDICE A	52

3 INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR INFESTADAS POR DIFERENTES LEPIDOBROCCAS NO COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E NO COMPORTAMENTO DE BUSCA DO HOSPDEIRO POR *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).

Resumo	56
Abstract	57
3.1 Introdução	58
3.2 Material e Métodos	61
3.3 Resultados e discussão	66
3.4 Conclusões	73
REFERÊNCIAS	74
APÊNDICE B	79

4 EFICIENCIA DE BACULOVÍRUS SOBRE A MORTALIDADE DE LAGARTAS NEONATAS DE *Diatraea flavipennella*.

Resumo	84
Abstract	85
4.1 Introdução	86
4.2 Material e Métodos	87
4.3 Resultados e discussão	91
4.4 Conclusões	95
REFERÊNCIAS	95
APÊNDICE C	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS	99

INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum*, Linnaeus, 1753 é uma gramínea originária do Sudeste Asiático cultivada em regiões tropicais e subtropicais em vários países do mundo, sendo desta forma, importante no contexto sócio-econômico mundial (UNICA, 2010).

Dos 80 países produtores de cana-de-açúcar o Brasil lidera com cerca de 26%, sendo que a produção nacional está mais concentrada na região Sudeste com o Estado de São Paulo liderando a produção com 4.300 mil hectares de área plantada. O Estado de Alagoas ocupa a sexta posição no rank nacional e é o maior produtor da região Nordeste com 430 mil hectares de área colhida, na safra 2010/2011 (CONAB, 2011).

As áreas destinadas à cultura de cana-de-açúcar, no Brasil, são ocupadas com um grande número de variedades. Após levantamento da área colhida na safra 2007/2008, observou-se que 45% correspondiam às variedades de sigla RB (RIDESA), 44% de sigla SP (São Paulo) e 11% a outras. No Estado de Alagoas constatou-se que as variedades SP79-1011, RB92579, SP81-3250 e RB867515 ocupam as maiores áreas cultivadas (BARBOSA, 2009).

A cana-de-açúcar no Brasil, apesar da facilidade de adaptação climática, enfrenta uma série de limitações fitossanitárias que diminuem a produção, com perdas econômicas importantes, devido às infestações causadas por insetos-praga, tais como *Diatraea* spp (Lepidoptera: Crambidae) (BOIÇA JUNIOR et al., 1997), *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) e *Mahanarva* spp (Hemiptera: Cercopidae), as quais atacam os canaviais em diferentes estágios fenológicos (MACEDO & ARAÚJO, 2000; MENDONÇA, 2005). Atualmente, observa-se que também as lagartas de *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904) (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae) vem ocasionando danos à cultura de cana-de-açúcar, e pode ser considerada de importância econômica para algumas regiões do Estado de Alagoas (ZENKER et al., 2007).

Para obtenção de estratégias de MIP (Manejo Integrado de Pragas) se faz necessário conhecer alguns aspectos biológicos e morfológicos do inseto estudado (PARRA, 2000). A etapa inicial a ser superada é a definição de uma dieta artificial, que além de permitir a criação em laboratório, preencha os requisitos mínimos de

qualidade biológica, quantidade e economicidade (SALVADORI & PARRA, 1990). Para definir um método de criação para uma determinada espécie, deve-se inicialmente tentar adaptar dieta(s) utilizada(s) para outros insetos, ajustando-a para a espécie em questão. A utilização de uma dieta artificial adequada tanto para fase larval como para adultos do inseto é de fundamental importância para manutenção populacional constante de espécies de interesse em laboratório (PARRA, 1996). Assumindo desta forma, a nutrição, grande importância na produção massal de insetos visando estudos de desenvolvimento, biologia e controle (FONSECA et al., 2005).

Diversos estudos têm sido realizados nas últimas décadas em relação aos efeitos de compostos voláteis de plantas (aleloquímicos) sobre insetos herbívoros, predadores e parasitóides. A percepção de sinais químicos a longa distância pelos insetos é de fundamental importância para o processo de localização do hospedeiro, devido a esses sinais poderem proporcionar informações precisas sobre a localização, o estágio de desenvolvimento e a condição fisiológica do hospedeiro (BEDE et al., 2007). Esses estudos vem aumentando, tanto no âmbito ecológico quanto em relação às novas perspectivas geradas para o manejo de insetos na agricultura (TURLINGS & TON, 2006).

Por compreenderem o maior grupo de vírus de insetos, os baculovírus têm sido estudados, desde a década de 60, como agentes de controle biológico (PAYNE, 1986). Esses estudos contribuíram para produção de inseticidas virais geneticamente modificados (MAEDA, 1995), o que veio a possibilitar o melhoramento das características patogênicas de baculovírus (MILLER, 1986) além da ampliação do seu espectro de hospedeiros (MAEDA et al., 1993).

Esse trabalho de pesquisa foi dividido em quatro capítulos. O primeiro consta de uma revisão de literatura. O segundo estudou o efeito de cinco dietas artificiais para lagartas visando a criação em laboratório destes insetos, o estudo de alguns aspectos biológicos além da caracterização dos compostos químicos presentes no abdome de fêmeas virgens de *Telchin licus licus*, em laboratório. O terceiro estudou a influência de plantas de cana-de-açúcar não infestadas e infestadas por *T. licus licus*, *D. saccharalis* e *H. taltula* no comportamento de oviposição de *D. saccharalis*, e comportamento de busca do parasitóide larval *Cotesia flavipes*, e caracterização

dos compostos voláteis provenientes dessas interações. E o quarto capítulo mostra o efeito da ingestão de três isolados de *Baculovirus spodoptera* (Bs) em *D. flavipennella*.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, G. V. S. Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da RIDESA para o Brasil e Atuação no Nordeste. In: Seminário Latino-Americano sobre cana-de-açúcar. **Mostra FENASUCRO Nordeste**. 2009. Olinda-PE.

BEDE, J. C.; MCNEIL, J. N.; TOBE, S. S. The role of neuropeptides in caterpillar nutritional ecology. **Peptides**, New York, v. 28, p. 185-196, 2007.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; LARA, F. M.; BELLODI, M. P. Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 537-542, 1997.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar/Safra 2010/2011, Brasília, 2011, 17p.

FONSECA, F. L. et al. Efeito de dietas artificiais para a alimentação de adultos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1229-1233, 2005.

MACEDO, N.; ARAUJO, J. R. Efeitos da queima do canavial sobre insetos predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n.1, p. 79-84, 2000.

MAEDA, S. Further development of recombinant baculovirus insecticides. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 6, p. 313-319, 1995.

MAEDA, S.; KAMITA, S. G.; KANODO, A. Host range expansion of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (NPV) following recombination of a 0.6-kilobase-pair DNA fragment originating from *Bombyx mori* NPV. **Journal of Virology**, v. 67, p. 6234-6238, 1993.

MENDONÇA, A. F. Cigarrinhas da cana-de-açúcar: controle biológico. Maceió: Insecta, 2005.

MILLER, D. W.; SAFER, P.; MILLER, L. K. An insect baculovirus host-vector for high-level expression of foreign genes. In: SETLOW, J.K.; HOLLAENDER, A. (Eds.). **Genetic engineering**, New York: Plenum, p. 277-298, 1986.

PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. 3. ed., Piracicaba: FEALQ, 1996. 137p.

_____. A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório a aplicação em campo. In: Guedes, J.C. et al. **Bases técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti. 2000. 248p. p.1-29.

PAYNE, C. C. Insect pathogenic viruses as pest control agents. **Fortschritte der Zoologie**, v. 32, p. 183-200, 1986.

SALVADORI, J. R.; PARRA, J. R. P. Seleção de dietas artificiais para *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília**, v. 25, n.12, p. 1701-1713, 1990.

TURLINGS, T. C. J.; TON, J. Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore-induced plant odours to enhance the control of agricultural pests. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 9, p. 421-427, 2006.

PRODUÇÃO e produtividade de cana-de-açúcar. **União da Indústria de Cana-de-Açúcar**. 2010. Disponível em:
<<http://www.unica.com.br/quemSomos/texto/show.asp?txtCode={A888C6A1-9315-4050-B6B9-FC40D6320DF1}>>. Acesso em: 4 jul 2010.

ZENKER, M. M. et al. Caracterização morfológica dos imaturos de *Hyponeuma taltula* (Schaus) (Lepidoptera, Noctuidae, Herminiinae). **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 24, n. 4, 2007.

OBJETIVOS

- Avaliar o efeito de dietas sobre lagartas do lepidóptero praga da cana-de-açúcar *T. licus licus*, em laboratório, visando a produção de adultos para extração de glândula feromonal.

- Observar a ação das respostas de defesa de plantas de cana-de-açúcar sadias e infestadas por *T. licus licus*, *H. taltula* e *D. saccharalis* em relação à preferência de oviposição por *D. saccharalis*.

- Observar a ação das respostas de defesa de plantas de cana-de-açúcar sadias e infestadas por *T. licus licus*, *H. taltula* e *D. saccharalis* em relação à atração de fêmeas do parasitóide *C. flavipes*.

- Investigar a patogenicidade de isolados de *Baculovirus spodoptera* sobre à *D. flavipennella*.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma espécie alógama, pertencente à família Gramíneae (Poaceae), da tribo Andropogoneae e do gênero *Saccharum*. Dentro do gênero *Saccharum*, ocorrem principalmente seis espécies: *S. officinarum* L., *S. robustum* Brandes e Jeswiet ex Grass, *S. barberi* Jeswiet, *S. sinense* Roxb., *S. spontaneum* L., e *S. edule* Hassk. (DANIELS & ROACH, 1987).

A espécie *Saccharum officinarum*, é bastante cultivada em diversos países do mundo, desde épocas remotas, devido sua variada utilização. Dessa gramínea aproveita-se tudo, o caldo é utilizado para produção de açúcar, de álcool e de vários tipos de bebidas como: a cachaça, o rum, a vodka e de méis; a torta e os resíduos de colheita são utilizados como adubos naturais; e o bagaço é utilizado tanto na produção de eletricidade como de plásticos biodegradáveis (UNICA, 2010).

Desde a descoberta do Brasil que a cana-de-açúcar foi introduzida no Nordeste brasileiro. Foi cultivada na Capitania de São Vicente, em 1533, onde se estabeleceu o primeiro engenho de açúcar. Dois anos após, foi construído o segundo engenho, perto da cidade de Olinda, localizada no estado de Pernambuco. A partir destes acontecimentos, as indústrias que processavam cana-de-açúcar se expandiram e modernizaram-se e a multiplicação levou o Brasil à primazia mundial na produção de açúcar e álcool (SILVA et al., 2003).

Atualmente os exemplares de cana-de-açúcar cultivadas são híbridos. No Brasil, algumas empresas desenvolvem pesquisas utilizando o melhoramento genético com intuito de buscar variedades mais produtivas, resistentes ao estresse hídrico e ao ataque de pragas e doenças. Nos canaviais do Estado de Alagoas as variedades RB92579, RB867515, SP79-1011 e SP81-3250 são as mais cultivadas, ocupando a maioria dos canaviais (BARBOSA, 2009).

O Brasil é considerado o maior produtor de açúcar do mundo, sendo responsável pela produção de aproximadamente 20% da produção mundial. Na safra 2009/2010 a produção de açúcar nacional foi de aproximadamente 30 milhões de toneladas (UNICA, 2010). Na safra 2010/2011 a área plantada com cana-de-açúcar, no Brasil, foi de aproximadamente 8,3 milhões de hectares, com uma produtividade média de cana-de-açúcar de 77.500 kg/ha e com um total de cana

moída de 623.905,1 mil toneladas. Deste total de cana-de-açúcar moída, 46% foram destinados a produção de açúcar e os 54% restante para a produção de etanol. O Estado de São Paulo ocupa o primeiro lugar na produção nacional, com aproximadamente 4.300 mil hectares de área plantada. O estado de Alagoas ocupa o sexto lugar nacional e é o maior produtor do Nordeste com aproximadamente 430 mil hectares de área plantada (CONAB, 2011).

Vários fatores têm contribuído para redução da produção de cana-de-açúcar como a influência do clima, a idade do canavial, o nível de tecnologia aplicada, o sistema de colheita (CONAB, 2011), e problemas com doenças e as pragas (MENDONÇA, 1996).

1.2 Principais pragas da cultura de cana-de-açúcar

Dentre uma serie de fatores que contribuem para redução da produção de cana-de-açúcar, as limitações fitossanitárias ocasionadas por insetos-praga ocupam posição de destaque. As pragas que atacam com mais destaque os canaviais do Brasil são: *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) (BOIÇA JUNIOR et al., 1997); *Telchin licus licus* (Lepidoptera: Castniidae) (MENDONÇA, 1996); *Mahanarva* spp. (Hemiptera: Cercopidae) (MENDONÇA, 2005); *Migdolus fryanus* (Coleoptera: Cerambycidae) (KASTEN JUNIOR et al. 1985); *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae) (ALMEIDA, 2005); Cupins (ARRIGONI et al. 1989); Formigas cortadeiras (MENDONÇA, 1996) e *Hyponeuma taltula* (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae) (ZENKER et al., 2007).

1.3 Principais lepidópteros pragas da cultura de cana-de-açúcar no brasil

A produção de cana-de-açúcar no Brasil, vem sofrendo perdas importantes devido a ocorrência de pragas e doenças, dentre as pragas destacam aquelas da ordem lepidopteras. Atualmente as principais lepidobrocas que vem ocasionando danos a cultura da cana-de-açúcar são *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) conhecida como broca gigante (MENDONÇA, 1996); *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904) (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae) conhecida como broca

peluda (ZENKER et al., 2007); *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea flavipennella* (Box 1931) (Lepidoptera: Crambidae) conhecidas como brocas pequenas (BOIÇA JUNIOR et al., 1997).

1.3.1 *Telchin licus licus*

Telchin licus licus, a broca gigante da cana-de-açúcar anteriormente classificada dentro do gênero *Castnia*, pertence à classe Insecta, ordem Lepidoptera, superfamília Castnioidea e família Castniidae (MENDONÇA, 1982). Cerca de 200 espécies pertencem a essa superfamília, das quais cerca de 160 constituem a família Castniidae que são encontradas nas regiões neotropical e australiana (HOLLOWAY et al., 1987). Atualmente a espécie *Telchin licus* foi revista e classificada dentro do gênero *Telchin*. As subespécies mais comuns são *T. licus licus* (broca gigante), a qual é mais problemática por ocasionar maiores danos em áreas infestadas e *Telchin licus laura*, menos agressiva (Figura 1) (BENEDINE & CONDE, 2008).

Figura 1- Adultos de *Telchin licus*. A- *Telchin licus licus*. B- *Telchin licus laura*.



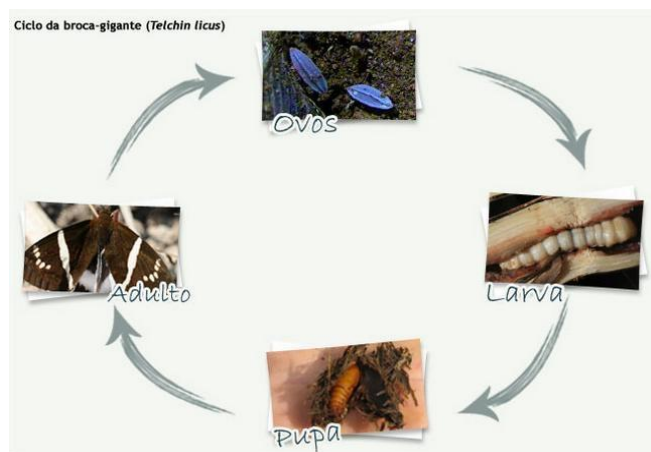
Fonte: BENEDINE & CONDE, 2008; CTC, 2009.

A broca gigante da cana-de-açúcar é um inseto de ampla distribuição geográfica ocorrendo em áreas da América do Sul e México (MENDONÇA, 1982). No Brasil o primeiro registro de ocorrência da broca gigante em cana-de-açúcar foi

na Usina Tiama em Pernambuco no ano de 1927 (LIMA, 1928). Desde então essa praga vem se espalhando por vários estados das regiões Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil tais como: Alagoas, Paraíba, Rio Grande do Norte, Pará, Amapá, Minas Gerais, Sergipe, Maranhão (GUAGLIUMI, 1972-73; MENDONÇA, 1982; PLANALSUCAR, 1974 e 1983; RISCO, 1988; MENDONÇA, 1996), sendo detectada no estado de São Paulo, na safra de 2007/2008 (BENEDINE & CONDE, 2008).

Segundo o CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (2009) o ciclo biológico completo da broca gigante da cana-de-açúcar (Figura 2), em condições de campo na região Sudeste do Brasil, varia de 158 a 190 dias, podendo haver até duas gerações por ano.

Figura 2- Fases do ciclo biológico da broca gigante, *T. licus licus*, em campo.



Fonte: http://www.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.cuiket.com/imagenes/company_photo/5226_big.jpg&imgrefurl=http://galeria.cuiket.com.br/foto/ciclo-da-broca-gigante-telchin-licus_5226.html&usq

As lagartas de *T. licus licus* (Figura 3) danificam a cana-de-açúcar abrindo galerias desde a parte radicular até um terço da altura do colmo sobre o solo, deixando-o com grande orifício visível após o corte da cana, causando perdas na produção agrícola e industrial (BENEDINE & CONDE, 2008). Quando não há mais alimento, a larva migra para outra cana onde constrói nova galeria, podendo desta forma danificar touceiras resultando em falhas na brotação e podendo no caso de infestações altas, levar a danos que fazem com que o produtor tenha que reformar o canavial. O ataque desta praga na fase de brotação das soqueiras resulta no

sintoma conhecido como “coração morto” (BENEDINE & CONDE, 2008; SILVA, 2008).

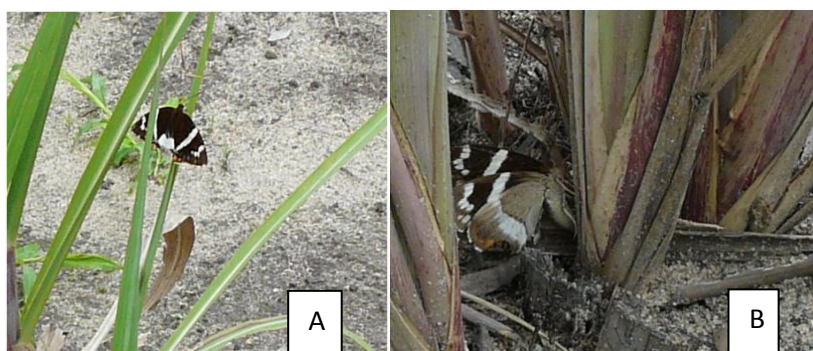
Figura 3- Galeria ou “Orifício” no colmo da cana-de-açúcar ocasionada pelo ataque da lagarta da broca gigante, *T. licus licus*.



Fonte: Autor, 2009.

Segundo PICKEL (1928), os adultos da broca gigante (Figura 4) são grandes mariposas de cores iridescentes e brilhantes, a cor marrom é dominante e os mesmos medem 3,5 cm de comprimento e 9 cm de envergadura. Suas asas anteriores possuem manchas e faixa transversal brancas. Nas asas posteriores encontram-se manchas vermelhas e uma faixa branca.

Figura 4- Adulto de *Telchin licus licus* (broca gigante). A- Fêmea de *Telchin licus licus* na cana-de-açúcar; B- Fêmea de *Telchin licus licus* ovipositando no solo entre as canas.



Fonte: Autor, 2009.

O conhecimento dos hábitos e da biologia da broca gigante deverá permitir ao homem um melhor manejo e controle da população deste inseto. A fase larval da broca gigante, a que mais causa danos à cana-de-açúcar, é a mais influenciada

pelas variações climáticas. Existem diferenças no que se refere às exigências climáticas de um local para outro e isto mostra a necessidade de se pesquisar a biologia deste inseto em cada região (ARAÚJO *et al.*, 1982).

Atualmente, para esta praga a metodologia de controle é pelo uso de “espetos” (SILVA, 2008), ou seja, controle mecânico.

1.3.2 *Hyponeuma taltula*

A broca *Hyponeuma taltula* (Schaus) (Figura 5), pertence à família Noctuidae. Muito pouco se conhece sobre o ciclo dessa praga na cultura da cana-de-açúcar, entretanto, sua presença tem sido assinalada em diversos municípios do Brasil (NOVARETTI, 2009).

Figura 5- Fases do ciclo biológico da broca peluda da cana-de-açúcar, *Hyponeuma taltula*.



Fonte: Autor, 2010.

Conhecida como broca peluda a *H. taltula* (Schaus) (Lepidoptera, Noctuidae, Herminiinae) em campo pode ser confundida com a broca-pequena da cana-de-açúcar, *Diatraea* spp., pois são muito parecidas. A broca peluda, como o próprio nome diz, na fase de lagarta é mais pilosa (grande quantidade de cerdas) do que a broca-pequena da cana, e se restringe aos internódios basais, subindo poucos centímetros pelo interior do colmo (PINTO, 2009).

Foram coletadas mais de 270.000 lagartas de *Hyponeuma taltula*, entre os anos de 2003 a 2006, nos canaviais de Alagoas, ocasionando grandes prejuízos. Ao atacar plantas novas causam morte da gema apical, sintoma este conhecido como “coração morto”, já nas plantas mais velhas ocasionam perda de peso, brotação

lateral, enraizamento aéreo, colmos quebrados e entrenós atrofiados. Além das podridões ocasionadas por fungos que penetram nos orifícios decorrentes do ataque desta praga (ZENKER et al. 2007).

Não há relatos publicados em periódicos indexados sobre o ciclo biológico desta praga, mas os profissionais da área canavieira relatam que dura em média 70 dias. O controle biológico para esta praga é inexistente, sendo que, para esse fim são empregados duas estratégias de controle: o químico, mediante o emprego dos pesticidas como Furadan, Temik, Actara; e o mecânico através da coleta manual de lagartas.

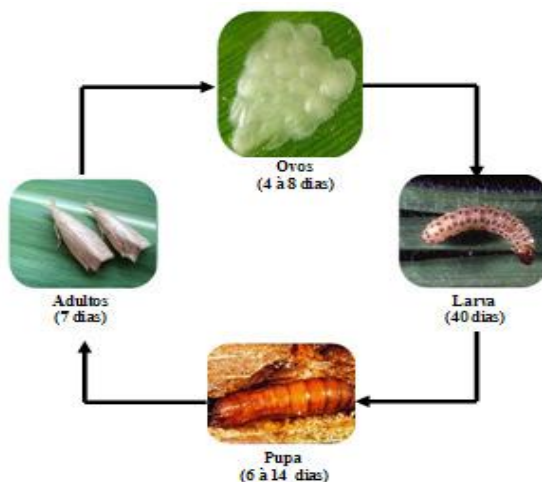
1.3.3 *Diatraea saccharalis*

Na literatura, encontra-se muita informação sobre a ecologia e biologia de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) também conhecida como broca-pequena da cana-de-açúcar (PARRA et al., 1988; MÉLO & PARRA, 1988; PARRA & MIHSFELDT, 1992; PARRA, 1993; PARRA et al., 1999).

De acordo com GUAGLIUMI (1972-73), o ciclo biológico da *D. saccharalis* (Figura 6) ocorre entre 50 e 62 dias. A fase de ovo dura em média de 4 a 8 dias, a fase larval de 40 dias, a pupal entre 6 e 14 dias e a de adultos tem longevidade média de 7 dias, podendo ocorrer de 3 a 4 gerações por ano.

Em decorrência do ataque deste inseto-praga, os prejuízos são maiores em cana planta por serem mais vigorosas, independentemente da variedade cultivada (BOTELHO & MACEDO, 2002). Os prejuízos decorrentes do ataque de *D. saccharalis*, incluem os danos diretos como: coração morto, enraizamento da parte aérea, brotações laterais, perda de peso, quebra de colmos; e indiretos: causados pelos fungos *Fusarium moniliforme* e *Colletotrichum falcatum*. Ao atacar, esses microorganismos ocasionam podridão vermelha que acarreta grandes perdas, devido à inversão da sacarose e conseqüentemente diminuição da pureza do caldo, provocando queda da produção de açúcar e do álcool (MACEDO & BOTELHO, 1988; GALLO et al., 2002).

Figura 6- Ciclo biológico de *Diatraea saccharalis*.



Fonte: Adaptado de GUAGLIUMI 1972-73 e EMBRAPA 2010 por LIMA (2010).

A broca pequena da cana-de-açúcar é controlada desde a década de 1970 com o parasitoide exótico *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) (Figura 7). Este parasitoide tem sido estudado nos seus diversos aspectos bioecológicos em paralelo aos estudos com esta praga (PÁDUA et al., 1994; BOTELHO & MACEDO, 2002). *C. flavipes* é um endoparasitoide gregário de larvas de lepidópteros, originário da região Indu-Australiana; suas fêmeas depositam múltiplos ovos no interior do corpo do hospedeiro para garantir a sobrevivência da sua prole. Os adultos de *C. flavipes* são vespas de cor preta, com comprimento entre 3-4mm e longevidade média de cinco dias (GALLO et al., 2002).

Figura 7- Lagarta de *Diatraea saccharalis* sendo parasitada por uma fêmea de *Cotesia flavipes*.

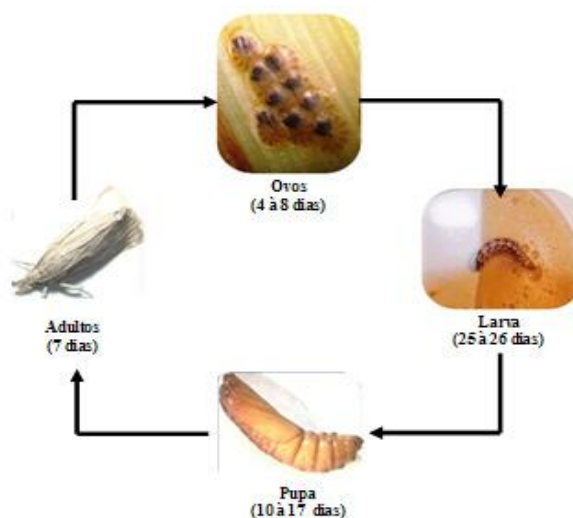


Fonte: <http://www.rehagro.com.br/siterehagro/publicacao.do?cdnoticia=1247>

1.3.4 *Diatraea flavipennella*

Segundo MENDONÇA (1996) a *Diatraea flavipennella* (Box, 1931) (Lepidoptera: Crambidae) apresenta características biológicas semelhantes em algumas fases da *D. saccharalis*, podendo ser distinguida na fase de lagarta, pois apresenta pontuações escuras cobrindo seu corpo e cápsula cefálica amarelada. A fase larval pode variar de 37 a 54 dias (Figura 8). Já os adultos sobrevivem em média sete dias (FREITAS et al., 2007).

Figura 8- Ciclo biológico de *Diatraea flavipennella*.



Fonte: Adaptado de GUAGLIUMI 1972-73 por LIMA (2010).

Este inseto pode não só contribuir para a senescência da gema apical da planta, mas também pode causar danos indiretos através da penetração das lagartas no colmo, levando ao ingresso de organismos fitopatogênicos, sintomas esses semelhantes aos do ataque de *D. saccharalis* (MENDONÇA, 1996). A duração completa da metamorfose da *D. flavipennella* é muito variável dependendo de inúmeros fatores, tais como: clima e planta hospedeira (GUAGLIUMI, 1972-1973). Atualmente, o controle se faz através dos inimigos naturais, como: a vespa *C. flavipes* e as moscas *Paratheresia claripalpis* (Wulp, 1896) (Diptera: Tachinidae) e *Lydella minense* (Townsend, 1926) (Diptera: Tachinidae).

1.4 Dieta artificial

Uma dieta artificial considerada ideal para criação massal de insetos em laboratório deve ter algumas características como: a) fornecer todos os nutrientes para a produção de insetos; b) propiciar uma alta viabilidade na fase larval; c) originar adultos com alta capacidade reprodutiva; d) ser de baixo custo; e) ser facilmente preparada, a partir de ingredientes de fácil aquisição no mercado; f) servir, de preferência, para criação de outros insetos (SINGH, 1983).

Uma dieta artificial adequada deve conter todos os ingredientes necessários para o bom desenvolvimento do inseto estudado tais como: proteínas, vitaminas, sais minerais, carboidratos, lipídeos, esteróis e em alguns grupos de insetos ácidos nucléicos. Entretanto, mesmo com a presença de todos os ingredientes listados, mas a ausência de certas propriedades físicas (dureza, textura, homogeneização, conteúdo de água) e de fagoestimulantes (físicos e químicos), assim como o balanceamento de nutrientes (essenciais e não essenciais) podem determinar um desenvolvimento inadequado do inseto (PARRA, 1996).

O desenvolvimento de técnicas de criação de insetos em dieta artificial, nos últimos 50 anos, permitiu grande avanço no manejo de pragas, com a implementação de programas de criação massal para estudos de controle. Os insetos da ordem Lepidoptera destacam-se com 40% do total dos grupos taxonômicos criados com sucesso em dieta artificial, (SINGH, 1977; PARRA, 2000).

1.5 Semioquímicos

Quando comparados com os animais vertebrados, observa-se que os invertebrados mais especificamente os insetos utilizam mais freqüentemente as substâncias químicas para comunicação com organismos de mesma espécie ou de espécies diferentes. Estes produzem compostos químicos para várias finalidades. Sua percepção no ambiente se dá através de quimiorreceptores externos específicos, porém a distinção dessas substâncias pode ser por meio de quimiorrecepção de contato, também conhecida como gustativa, e ou quimiorrecepção olfatória (GULLAN & CRANSTON, 2007).

Muitos comportamentos provenientes dos insetos dependem do sentido do olfato. Os odores químicos são denominados semioquímicos (sinais químicos) (NORDLUND & LEWIS, 1976), mas este termo é amplo, referindo-se não somente às substâncias químicas responsáveis pelo fornecimento da informação, como também as toxinas. Qualquer substância química liberada por um organismo que provoque mudanças fisiológicas e ou comportamental no organismo receptor é denominada de infoquímicos (DICKE & SABELIS, 1988). Esses infoquímicos estão envolvidos nos comportamentos: reprodutivo, de defesa, de localização e seleção do hospedeiro e do habitat (CORRÊA & VIEIRA, 2007). Os infoquímicos podem ter ação intra-específica (feromônio) ou interespecífica (aleloquímico) (DICKE & SABELIS, 1988).

1.5.1 Feromônios

Em 1950, quando identificados pela primeira vez, os feromônios foram definidos como substâncias secretadas para o exterior por um indivíduo e recebida por outro indivíduo da mesma espécie, que provocam uma reação específica (GULLAN & CRANSTON, 2007), ou uma alteração específica no desenvolvimento fisiológico (KARLSON & LUSCHER, 1959).

Os feromônios são na maioria das vezes voláteis, mas, também em alguns casos podem ser substâncias químicas líquidas de contato. Todos os tipos de feromônios são produzidos por glândulas exócrinas derivadas de células epidérmicas (GULLAN & CRANSTON, 2007).

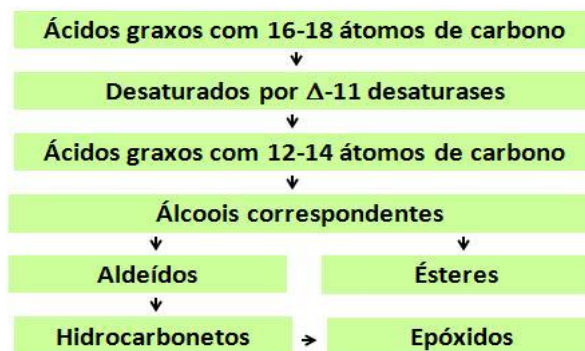
Os feromônios (*pherein = transferir, hormon = excitar*) são classificados de acordo com o tipo de comportamento, podendo agir como atraentes sexuais, marcadores de trilhas, propiciarem comportamentos de agregação, de alarme, de dispersão, dentre outros (DICKE & SABELIS, 1988).

Os feromônios de lepidópteros (Figura 9) têm sido intensivamente estudados nas últimas décadas, devido a sua importância econômica. Os feromônios de lepidópteros são geralmente compostos alifáticos de cadeias longas contendo 12, 14, 16 e 18 átomos de carbono; usualmente são alcoóis primários, éster ou aldeído, podem apresentar insaturações tanto com a configuração *E* ou *Z*. Estes feromônios

são produzidos a partir de ácidos graxos com 16-18 átomos de carbono circulantes na hemolinfa como triglicerídeos. Os ácidos graxos são convertidos em feromônios em glândulas abdominais quando requeridos, liberados e conduzidos pelo vento para os indivíduos do sexo oposto, os quais voam quando excitados pela pluma de feromônio (BJOSTAD et al., 1981).

Muitos componentes feromonais de lepidópteros podem ser avaliados utilizando diferentes combinações, seqüências temporais, e especificidade de substratos nesses sistemas chave enzimáticos. A Acetil-coA Carboxilase e Ácido Graxo Sintase (AGS) envolvida na produção de feromônio está presente no citoplasma, enquanto as reações de desaturação e encurtamento de cadeia são catalisadas por enzimas associadas com o retículo endoplasmático. O tipo de grupo funcional oxigenado (éster, aldeído, álcool, ou epóxido) ou a ausência de qualquer grupo funcional (hidrocarboneto) característico da molécula de feromônio é determinado pelo tipo e especificidade das enzimas utilizadas na fase final da rota biossintética (BJOSTAD et al.,1987).

Figura 9- Esquema demonstrando como muitos dos feromônios de lepidópteros são produzidos.



Fonte: Autor, 2010.

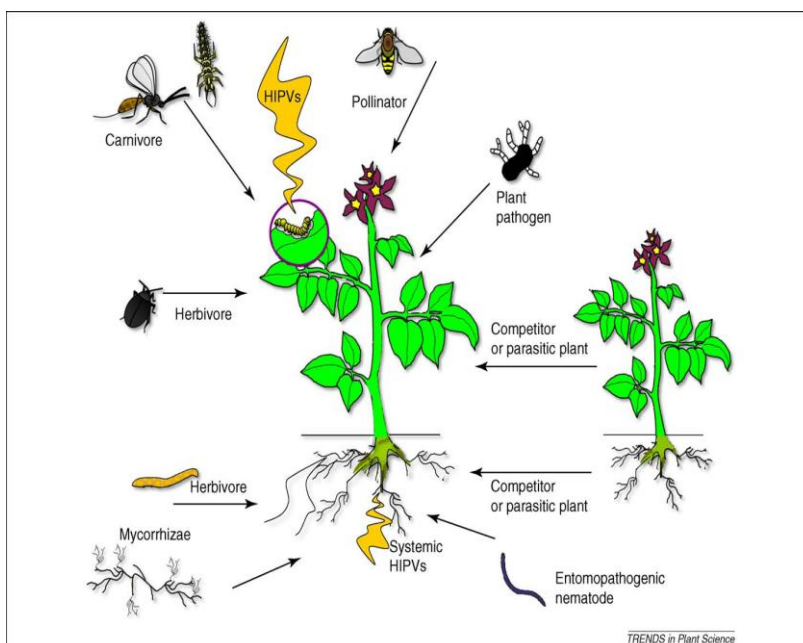
1.5.2 Aleloquímicos

Os aleloquímicos são infoquímicos mediadores de interações entre dois indivíduos de espécies diferentes, conhecida por ação interespecífica. Estes exercem um papel fundamental em todas as comunidades, estendendo-se, muitas vezes, além de duas categorias tróficas, podendo mediar três ou mais níveis

(PRINCE et. al., 1980). Estas substâncias químicas que possuem ação interespecífica podem ser agrupadas de acordo com os benefícios que eles proporcionam ao produtor e ao receptor. Os que beneficiam o receptor e prejudicam o produtor são chamados de cairomônios. Já os alomônios beneficiam o produtor modificando o comportamento do receptor, embora possua efeito neutro sobre ele. E os sinomônios beneficiam tanto o produtor quanto o receptor (WOOD, 1982; DICKE & SABELIS, 1992; GALLO et al., 2002).

Em decorrência do ataque de herbívoro, a planta é induzida a produzir alguns compostos voláteis (Figura 10), conhecidos como “Compostos Voláteis de Plantas Induzidos por Herbivoria ou Herbivore-Induced Plant Volatiles” –CVIH ou HIPVs. Esses são compreendidos principalmente por terpenóides, derivados de ácidos graxos, fenil propanóides e benzenóides (DUDAREVA et al., 2004). Os CVIH podem ser emitidos tanto no local de dano ou sistemicamente a partir do dano em partes específicas de plantas afetadas (HEIL & TON, 2008).

Figura 10- Danos às plantas e Compostos Voláteis de Plantas Induzidos por Herbivoria (CVIH ou “HIPVs”). Uma planta que é danificada por um herbívoro é induzida a emitir voláteis sistemicamente, tanto acima quanto abaixo do solo.



Fonte: DICKE & BALDWIN, 2010.

1.5.2.1 Interações

1.5.2.1.1 A interação inseto x planta

As plantas, na maioria das vezes, suportam faunas complexas de herbívoros, de forma que cada um deles pode ser definido de acordo com o número de táxons de plantas utilizados (GULLAN & CRANSTON, 2007).

As interações bitróficas (planta-herbívoro) são fundamentais para a sobrevivência de um ou de todos os organismos envolvidos. Nestas interações, compostos químicos liberados podem ser detectados por herbívoros que os utilizam como mensageiros de longo alcance, durante a localização da planta para oviposição ou para alimentação (CORRÊA & VIEIRA, 2007).

Existe uma série de interações evolutivas entre plantas hospedeiras e insetos, essas podem ser agrupadas em três categorias: a primeira é a fitofagia, conhecida também por herbivoria, na qual se inclui a mastigação das folhas, sucção da seiva, predação de sementes, indução de galhas e escavação de galerias nos tecidos da planta; a segunda categoria é importante para a reprodução das plantas através dos grãos de pólen e sementes, representadas pela polinização e mirmecocoria, respectivamente; e a terceira envolve insetos que vivem em estruturas especializadas de plantas e fornecem a seus hospedeiros nutrição ou defesa contra herbívoros, ou ambos (THOMPSON, 1989; HERRERA & PELLMYR, 2002).

As plantas podem apresentar diversos mecanismos de defesa contra um vasto conjunto de inimigos, tais como herbívoros (invertebrados e vertebrados) e patógenos. Essas defesas podem ser físicas ou químicas. Os compostos químicos podem ser considerados essenciais para as funções das plantas além de serem utilizados como defensivos. Tais compostos são chamados de compostos do metabolismo secundário das plantas (ROSENTHAL & BERENBAUM, 1992). Neste grupo estão incluídos os compostos: fenólicos, terpenóides, alcalóides, glicosídeos cianogênicos e compostos glicosilatos contendo átomos de enxofre (WILLMER & STONE, 1997). Tais compostos são conhecidos como fitoquímicos nocivos ou aleloquímicos, os quais dependendo da espécie da planta podem ser liberados durante todo tempo, ou durante alguns estágios da ontogenia. (GULLAN & CRANSTON, 2007).

Além dos compostos citados acima, independentemente do agente causador do dano, as plantas produzem e emitem compostos voláteis provenientes do tecido danificado, esses compostos voláteis são tipicamente misturas de alcoóis de seis carbonos, aldeídos e ésteres, conhecidos também por substâncias que conferem a planta o odor de folha verde “Voláteis de Folha Verde” (MATTIACCI et al., 2001).

1.5.2.1.2 A interação inseto x planta x hospedeiro

A interação tritrófica é complexa, formada a partir da interação entre planta, praga e inimigos naturais (AZEREDO et. al, 2004). Segundo SILVEIRA NETO (1976) esses predadores (inimigos naturais) são os reguladores gerais do ambiente. A interação inseto-planta-hospedeiro, pode ainda ser formada a partir da interação entre mais de três níveis tróficos, conhecida como interação multitrófica (GULLAN & CRANSTON, 2007).

Os compostos provenientes do metabolismo secundário das plantas podem estar envolvidos na interação entre as plantas, herbívoros e inimigos naturais, agindo como cairomônios, sinomônios ou alomônios (SEIGLER & PRICE, 1976). Esses podem ser encontrados de acordo com os diferentes estágios do ciclo das plantas, em quantidades variáveis (EDWARDS & WRITTEN, 1981). Variam ainda em relação ao grau, tempo, tipo e localização da injúria (VINSON, 1993; ELZEN et. al., 1983).

Esses compostos voláteis liberados pelas plantas atacadas (herbivoria) podem proporcionar defesa em relação ao ataque de pragas e doenças (PALLINI et al., 2000). São utilizados no processo de busca de pragas por inimigos naturais (AZEREDO et al., 2004), facilitando, desta forma, o controle dos herbívoros realizados por predadores, parasitóides e patógenos (PRINCE, 1986). A principal função dos compostos voláteis liberados por plantas é a de funcionar como atraentes de longa distância, auxiliando os parasitóides na busca e localização de insetos herbívoros (NGI-SONG et al., 1996).

Quando os parasitóides são submetidos aos compostos voláteis de plantas das mesmas espécies danificadas, os mesmos respondem mais intensamente, podendo discriminá-las de forma que detectam mudanças na mistura volátil de acordo com as espécies que estão atacando as plantas (KALULE & WRIGHT,

2004), fazendo com que os parasitóides distingam entre plantas infestadas por herbívoros hospedeiros ou não, (DE MORAES et al, 1998).

1.6 Baculovirus

Dos grupos de entomopatógenos úteis, os Nucleopoliedrovirus ou Vírus de Poliedrose Nuclear (VPN) e Granulovirus ou Vírus de Granulose (VG) pertencem à família Baculoviridae (BONNING & HAMMOCK, 1996). Os baculovírus são considerados como o maior grupo de vírus de insetos entomopatogênicos, tendo grande potencial como agentes de controle biológico de insetos-praga em agricultura e áreas florestais (PAYNE, 1986; MOSCARDI, 1998). Esses infectam as células epiteliais do intestino e geralmente se espalham para outros tecidos, em particular corpos gordurosos (BONNING & HAMMOCK, 1996). Sua proteção em cristais protéicos permite a formulação de biopesticidas com fácil tecnologia de aplicação.

A infecção, de forma geral, inicia-se depois da ingestão dos poliedros pela lagarta, decorrendo em mudanças na morfologia e no comportamento, levando-a depois de alguns dias, a morte. Ao chegar no intestino médio da lagarta, o vírus se depara com pH alcalino, o qual é ideal para seu desenvolvimento pois dissolve a poliedrina, liberando os vírions no lúmen digestivo. As partículas infectivas penetram nas células epiteliais do intestino médio via fusão de membrana, mediada por receptores específicos (HORTON & BURAND, 1993). No período entre 48 e 78 horas após a infecção iniciam-se as alterações nas lagartas, fazendo com que as mesmas reduzam a alimentação e conseqüentemente ocorra o retardamento do seu crescimento, podendo não haver mudança de ínstar (VOLKMAN & KEDDIE, 1990).

Uma das limitações do uso do baculovirus no controle biológico é sua alta especificidade, restrito geralmente uma espécie de praga em uma cultura (MOSCARDI & SOUZA, 2002). Segundo CUNNINGHAM (1995) existem poucos baculovírus que possuem espectro mais amplo de hospedeiros, dentro da ordem de Lepidoptera, como por exemplo: os isolados provenientes de *Autographa californica* (Speyer) (Lepidoptera: Noctuidae), *Anagrapha falcifera* (Kirby) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Mamestra brassicae* (Linnaeus) (Lepidoptera: Noctuidae), os quais por

serem patogênicos a alguns lepidópteros têm atraído o interesse das indústrias de controle biológico.

1.6.1 *Baculovirus spodoptera*

Entre 1984 e 1989 foram realizados levantamentos em campo dos principais inimigos naturais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diversas regiões representativas e produtoras de milho do Estado de Minas Gerais, onde foram encontrados diversos paratíóides da ordem Diptera e Hymenoptera, incluindo mais de 14.000 lagartas mortas por vírus (VALICENTE, 1989). Os vírus encontrados foram estudados, caracterizados, e sua eficiência avaliada em relação à lagarta-do-cartucho. Atualmente, o banco de *B. spodoptera* da Embrapa Milho e Sorgo conta com 22 isolados amostrados em diversas regiões do Brasil (BARRETO et al., 2005). Dentre os isolados de *B. spodoptera* mais estudados e eficientes no controle da referida praga, destacam-se os isolados 6, 18 e 19 (VALICENTE et al., 2010). O isolado 6 de *B. spodoptera* possui uma característica única pelo fato de não causar o rompimento do tegumento da lagarta morta imediatamente após a sua morte. Sendo este um dos fatores que mais facilitam o sistema de produção em larga escala em laboratórios e biofábricas (VALICENTE et al., 2010).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. C. Bicudo da cana-de-açúcar. **Boletim Técnico CTC**, Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, p. 1-3, 2005.

ARAÚJO, J. R. et al. Biologia da *Diatraea saccharalis* em condições de campo. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 2, p. 31- 34, 1982.

ARRIGONI, E. B. et al. Distribuição de espécies de cupins, em cana-de-açúcar, em unidades cooperadas das regiões de Jaú e Sertãozinho. **Boletim Técnico Copersucar**, v. 48, p. 38-47, 1989.

AZEREDO, E. H. DE et al. Utilização de *Brassica oleracea* (L.) como planta atrativa simultânea de *Myzus persicae* (Sulzei, 1776) e *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) em área de cultivo de batata (*Solanum tuberosum* L.). **Revista da Universidade Rural**, Seropédica, RJ, EDUR, v. 24, n. 2, p. 89-95, 2004.

BARBOSA, G. V. S. Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da RIDESA para o Brasil e Atuação no Nordeste. In: Seminário Latino-Americano sobre cana-de-açúcar. **Mostra FENASUCRO Nordeste**. Olinda-PE, 2009. p. 1-2.

BARRETO, M. R. et al. Effect of *Baculovirus spodoptera* isolates in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and their characterization by RAPD. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 67-75, 2005.

BENEDINE, M. S.; CONDE, A. J. Broca Gigante: Nova praga da cana-de-açúcar na região Centro-sul. **Revista Coplana**. p. 24-25, 2008.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; LARA, F. M.; BELLODI, M. P. Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 537-542, 1997.

BONNING, B. C.; HAMMOCK, B. D. Development of recombinant baculoviruses for insect control. **Annual Review of Entomology**, v. 41, p. 191-210, 1996.

BJOSTAD, L. B.; WOLF, W. A.; ROELOFS, W. L. Total lipid analysis of the sex pheromone gland of the redbanded leafroller moth, *Argyrotaenia velutinana*, with reference to pheromone biosynthesis. **Insect Biochemistry**. v. 11, p. 73-79, 1981.

BJOSTAD, L. B.; WOLF, W. A.; ROELOFS, W. L. Pheromone biosynthesis in lepidopterans: desaturation and chain shortening. In: Prestwich, G.D., Blomquist, G.J. (Eds.), **Pheromone Biochemistry**. Academic Press, Orlando, FL, p. 77-120, 1987.

BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Barueri: Manole. 2002. p. 409-425.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar/Safra 2010/2011, Brasília, 2011, 17p.

CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. 2 edição. São Carlos: EdUFSCar, 2007. v. 3. p. 150.

CTC - Centro de Tecnologia Canavieira Broca gigante da cana-de-açúcar. 2009. Disponível em: <www.paginarural.com.br/.../broca-gigante-da-cana-podera-causar-perdas-de-r-400-milhoes>. Acesso em: 4 jul 2010.

CUNNINGHAM, J. C. Baculoviruses as microbial insecticides, pp. 261-292. In: R. Reuveni (ed.), **Novel Approaches to Integrated Pest Management**. 1995. Boca Raton, Flórida: Lewis.

DANIELS, J.; ROACH, B. T. Taxonomy and evolution. p. 7-84. *In* Heinz, D.J. (ed.) **Sugarcane improvement through breeding**. 1987. Elsevier, Amsterdam.

DE MORAES, C. M; et al. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**. v. 393, p. 570–573, 1998.

DICKE, M.; BALDWIN, IAN T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. **Trends in Plant Science**. v. 15; n. 3, p. 167-175, 2010.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. Infochemical terminology: should it be based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. **Functional Ecology**. v. 2. p. 131, 1988.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. Costs and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors. p.122-155. *In*: Roitberg, B. D. & Isman, M. B. (eds.), **Insect chemical ecology: an evolutionary approach**. 1992. Chapman & Hall, New York.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology**. v. 135, p. 1893–1902, 2004.

EDWARDS, P. J.; WRITTEN, S. D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo, Universidade de São Paulo, 1981.

ELZEN, G. W.; WILLIAMS, H. J.; VINSON, S. B. Response by the parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to chemicals (Synomones) in plants: Implications for host habitat location. **Environmental Entomology**. v. 12, p. 1873-1877, 1983.

FREITAS, M. R. T. et al. The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. **Florida Entomologist**. v. 90, p. 309-313, 2007.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. São Paulo: Ceres, 2002. 920p.

GUAGLIUMI, P. Pragas da cana-de-açúcar no nordeste do Brasil. Rio de Janeiro: Instituto do Açúcar e do Alcool. **Coleção Canavieira**, 622p, 1972/73.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os Insetos: um resumo de entomologia**. Editora Roca, 2007.

HEIL, M.; TON, J. Long-distance signalling in plant defence. **Trends Plant Science**. v. 13, p. 264–272, 2008.

HERRERA, C. M.; PELLMYR, O. Plant-Animal Interactions. **Blackwell Publishing**, Oxford, Inglaterra, 2002.

HOLLOWAY, J. D.; BRADLEY, J. D.; CASTER, D. J. **Guides to Insects of Importance to man, 1-Lepidoptera, British Museu Natural History**, 1987. p. 180-181.

HORTON, M. H.; BURAND, J. P. Saturable attachment sites for polyhedron-derived baculovirus on insect cells and evidence for entry via direct membrane fusion. **Journal of Virology**, v. 67, p. 1860-1868, 1993.

KALULE, T.; WRIGHT, D. J. The influence of cultivar and cultivar-aphid odours on the olfactory response of the parasitoid *Aphidius colemani*. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, p.120-125, 2004.

KARLSON, P.; LUSCHER, M. Pheromones, a new term for a class of biologically active substances. **Nature**, v. 183, p. 55-56, 1959.

KASTEN JR, P. et al. Ocorrência de *Migdolus* spp. e insetos associados em solo de textura arenosa (Areias quartzosas). **Boletim Técnico**. Copersucar, v. 32, p. 29-32, 1985.

LIMA, A. F.; F. RACCA FILHO. **Manual de pragas e praguicidas: Receituário agrônômico**. Rio de Janeiro, Ed. da UFRRJ, 1996.

LIMA, C. A. Um novo inimigo da cana: a lepidobroca *Castnia licus* (Drury) descoberta em Pernambuco. **Chácaras e Quintais**, São Paulo, v. 4, p. 377-378, 1928.

LIMA, H. M. **Avaliação de variedades RB (República do Brasil) de cana-de-açúcar em relação ao ataque de pragas**. 2010. 73 f. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal de Alagoas, Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias, Alagoas, 2010.

MACEDO, N.; BOTELHO, P. S. M. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera, Pyralidae). **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.162, n. 2, p. 2-11, 1988.

MATTIACCI, L. et al. Sistemically- induced response of cabbage plants against a specialist herbivore, *Pieris Brassicae*. **Chemoecology**, v. 11, p. 167-73, 2001.

MÉLO, A. B. P.; PARRA, J. R. P. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações anuais da broca da cana-de-açúcar em quatro localidades canavieiras de São Paulo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 23, p. 691-696, 1988.

MENDONÇA, A. F. A broca gigante *Castnia licus* (Drury) (1770) (Lepidoptera: Castniidae) no Brasil. **Saccharum APC**, São Paulo, v. 5, n. 20, p. 53-60. 1982.

_____. **Pragas da cana-de-açúcar. Insetos & Cia**. Maceió, 1996.

_____. **Cigarrinhas da cana-de-açúcar: controle biológico**. 2005. Maceió: Insecta.

MOSCARDI, F. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 509-539.

_____.; SOUZA, M. L. DE. Baculovírus para o Controle de Pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. n. 24. p. 22-29, 2002.

NGI-SONG, A. J. et al. Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* (Cameron) and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stemborers on Graminae. **Journal Chemical Ecology**. v. 22, p. 307-323, 1996.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J. Terminology of chemical-releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. **Journal Chemical Ecology**. v. 2, p. 211-220, 1976.

NOVARETTI, W. Novas pragas viram obstáculos para o aumento médio de produtividade. **Jornal Paraná**. 2009. Disponível em: <http://www.jornalparana.com.br/materia/ver_edicao.php?id=875&tipo=52>. Acesso em: 4 jul 2010.

PÁDUA, L. E. M.; PARRA, J. R. P.; HADDAD, M. L. Efeito da temperatura e umidade relativa do ar na biologia de *Cotesia flavipes* (Cameron). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, n. 1, p.105-114, 1994.

PALLINI, A. C.; CYSNEIRO MATOS, C. H.; MARINHO, J. A. Plantas produzem odores e abrigos para se defenderem, p. 29-31. In: **A lavoura**, 2000. n. 635, 50p.

PARRA, J. R. P. Controle das principais pragas da cana-de-açúcar. In: CÂMARA, G.M. de; OLIVEIRA, E.A.M. de. (Ed.). **Produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: Fealq, 1993. p.184-197.

_____. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ, 1996. 137p.

_____. O controle biológico e o manejo de pragas: passado, presente e futuro, p. 59-69. In J.V.C. Guedes, I.D. Costa & E. Castiglioni. Ed. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, 234p, 2000.

_____.; AGUILAR, J. A. D.; BOTELHO, P. S. M. Efeito de altas temperaturas sobre *Diatraea saccharalis* e seus inimigos naturais. **Revista de Agricultura**, v.64, n.2, p.147-162, 1988.

_____.; MIHSFELDT, L. H. Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane borer. In: ANDERSON, T. E.; LEPPLA, N. C. (Ed.). **Advances in insect rearing for research and pest management**. Boulder: Westview Press, 1992. p.195-209.

PARRA, J. R. P. et al. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, n. 1, p. 49-57, 1999.

PAYNE, C. C. Insect pathogenic viruses as pest control agents. **Fortschritte der Zoologie**, v.32, p.183-200, 1986.

PICKEL, B. Contribuição par uma Biologia de *Centris sponsa e excellens Acanthopus* (Hymenoptera). **Boletim de Biologia**. v. 14, p. 135-143, 1928.

PINTO, A. S. Várias pragas atacam as raízes. **Jornal Cana**. 2009. p. 66. Disponível em: <<http://www.canaweb.com.br/pdf/188/%5Ctecagric.pdf>>. Acesso em: 4 jul. 2010.

PLANALSUCAR – Programa Nacional de Melhoramento de cana-de-açúcar. 1974. Notícias Entomológicas. Comunicado. Brasil açucareiro. 84p.

PLANALSUCAR – Programa Nacional de Melhoramento de cana-de-açúcar. 1983. Reatório anual. Piracicaba-SP. 164p.

PRINCE, P. W. et al. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology and Systematics**. v. 11, p. 41-65, 1980.

_____. Ecological aspects of host plant resistance and biological control: Interactions among tritrophic levels, p. 11-30. In D. J. Boethel & R. D. Eikenbary (eds.) **Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects**. Ellis Horwood, 1986. Chichester. 224p.

RISCO, B. S. H. Informação técnica, Maceió, CRPAA-NATT, 1988. 1p.

ROSENTHAL, G. A. BERENBAUM, M. **Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites**. San Diego : Academic, 1992.

SEIGLER, D.; PRICE, P. W. Secondary compounds in plants: primary functions. **American Nature**. v. 110, p. 101-105, 1976.

SILVA, F. C.; CESAR, M. A. A. C.; SILVA, C. A. B. Pequenas indústrias rurais de cana-de-açúcar: melado, rapadura e açúcar mascavo. Brasília-DF: **Embrapa Informações Tecnológica**, 2003. 155p.

SILVA, J. Associação dos Fornecedoros de Cana de Piracicaba – AFOCAPI, Cooperativa dos Plantadores de Cana do Estado de São Paulo – COPLACANA Departamento Técnico Agrônômico – DTA, Laboratório de Nematologia, Pragas e Doenças. 2008. Disponível em: <http://www.cana.com.br/biblioteca/cartilha_praga/broca_gigante.pdf>. Acesso em: 4 maio 2010.

SILVEIRA NETO, S. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1976. 419p.

SINGH, P. A. general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. **Insect Science and Its Application**, v. 4, p. 357-362, 1983.

SINGH, P. **Artificial diets for insects, mites, and spiders**. New York, 1977. Plenum. 594p.

THOMPSON, J. N. Concepts of coevolution. **Trends in Ecology and Evolution**. v. 4, p. 179-83, 1989.

UNICA-União da Indústria de Cana-de-Açúcar. Produção e produtividade de cana-de-açúcar. 2010. Disponível em:
<<http://www.unica.com.br/quemSomos/texto/show.asp?txtCode={A888C6A1-9315-4050-B6B9-FC40D6320DF1}>>. Acesso 4 jul 2010.

VALICENTE, F. H. Levantamento dos inimigos naturais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes regiões do estado de Minas Gerais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 119-127, 1989.

_____; TUELHER, E. S.; BARROS, E. C. Processo de Formulação do *Baculovirus spodoptera* em Pó Molhável. **Circular Técnica 156**, Embrapa Milho e Sorgo. p. 1-5, 2010.

VOLKMAN, L. E.; KEDDIE, B. A. Nuclear polyhedrosis virus pathogenesis. **Seminars in Virology**, v. 1, p. 249-256, 1990.

VINSON, S. B. **Parasitoid attraction by plants**. p. 29-39. In XIV Congresso Brasileiro de Entomologia. Piracicaba, 1993. SEB, 92p.

WILLMER, P. G.; STONE, G. N. How aggressive antguards assist seed-set in *Acacia flowers*. **Nature**, v. 388, p.165-7, 1997.

WOOD, D. L. The role of pheromones, kairomones and allomones in host selection and colonization by bark beetles. **Annual Review of Entomology**, v. 27, p. 411-46. 1982.

ZENKER, M. M. et al. Caracterização morfológica dos imaturos de *Hyponeuma taltula* (Schaus) (Lepidoptera, Noctuidae, Herminiinae). **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 24, n. 4, 2007.

2 EFEITO DE DIETAS PARA LAGARTAS VISANDO A OBTENÇÃO DE ADULTOS DE *Telchin licus licus* EM LABORATÓRIO E EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS PRESENTES NOS ÚLTIMOS SEGMENTOS DO ABDOME DE FÊMEAS VIRGENS.

RESUMO

A criação em laboratório de *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) tem sido um dos principais entraves para o estudo do feromônio deste lepidóptero tido como um dos mais importantes, do ponto de vista econômico, para a cana-de-açúcar. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de cinco dietas sobre o desenvolvimento das fases imaturas, obtenção de adultos da broca gigante da cana-de-açúcar *T. licus licus* além de comparar as substâncias químicas obtidas do abdome de fêmeas virgens. Foram testadas cinco dietas: D1, D2, D3, D4 e D5. As lagartas da broca foram individualizadas por recipiente, num total de 100 por dieta e mantidas em câmara incubadora (B.O.D) a temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$, no escuro. Nos vinte primeiros dias utilizou-se dieta de alimentação inicial D1, D2, D3, D5 e após esses, dieta de alimentação para D1, D2, D3, D4 e D5. A dieta D4 foi constituída durante os primeiros vinte dias pela dieta de alimentação inicial (D3) e posteriormente por seções de colmo de cana-de-açúcar de 3-5cm. As fases de lagarta, pré-pupa e pupa foram avaliadas quanto à duração em dias, mortalidade e peso. Os adultos foram avaliados em relação à longevidade com e sem a presença de alimento, temperatura de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$, fotofase de 12 horas. As dietas D1 e D5, por proporcionarem alta mortalidade na fase de lagartas, foram desconsideradas das análises. Observou-se que as dietas D3 e D4 foram adequadas, as lagartas obtiveram maior ganho de peso, menor duração em dias ($p < 0,05$). A dieta D2 propiciou mortalidade maior do que a dieta D3 e D4 e assim estas duas dietas são melhores para adoção na criação para produção de pupas e adultos de *T. licus licus* ($p < 0,05$). Os adultos alimentados possuem uma vida média de três dias a mais que os não alimentados. A dieta D4 proporcionou menor mortalidade nas fases imaturas de *T. licus licus* do que a dieta D3. Os compostos voláteis presentes nos últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens, com idade entre 24 e 48 horas, provenientes das dietas D3 e D4 são semelhantes aos provindos de fêmeas virgens do campo quando avaliados em CG-EM.

Palavras-chave: Broca-gigante – Criação. *Saccharum officinarum*. Semioquímicos.

ABSTRACT

The artificial rearing of *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) has been a major obstacle to the study of this lepidopteran pheromone regarded as one of the most important, sugarcane pests, from an economic standpoint. The present study evaluated the effect of different diets on the development of immature stages, and adults of giant borer sugarcane in addition to comparing the chemicals obtained from the abdomen of virgin females. Five diets were tested: D1, D2, D3, D4 and D5. A total of 100 borers were individualized per container and kept in the marbator at a temperature of 27 ± 1 °C, RH $60 \pm 10\%$, in the dark. In the first twenty days was used for initial feeding diets D1, D2, D3, D5 and after, diet food D1, D2, D3, D4 and D5. The diet D4 was formed during the first twenty days of the initial feeding diet (D3) and then only by sections of stems of sugarcane. The larval stage, pre-pupa and pupa were evaluated for the duration in days, mortality and weight. The adults were evaluated for longevity with and without the presence of food, temperature of 26 ± 1 °C, RH $60 \pm 10\%$, photoperiod of 12 hours. Diets D1 and D5 caused high larval mortality and were not considered for the analysis. It was observed that diets D3 and D4 were adequate, the larvae had greater weight gain, shorter duration in days ($p < 0.05$). The D2 diet caused higher mortality than diet D3 and D4 and thus these two diets are best considered for adoption at creation to production of pupae and adults of *T. licus licus* ($p < 0.05$). Adults fed on sucrose showed an average three days longer than the non-fed adults. The D4 diet caused lower mortality in *T. licus licus* larval than diet D3. The volatile compounds present in the last segments of the abdomen of virgin females, between 24 and 48 hours, of age, from the diets D3 and D4 are similar to those coming from virgin females of the field when evaluated in GC-MS.

Keywords: Giant borer – Creation. *Saccharum officinarum*. Semiochemicals.

2.1 Introdução

A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum*, ocupa lugar de destaque na economia brasileira com cerca de 8 milhões de hectares de área plantada e uma produtividade média de 81.585 kg/ha na safra 2010/2011 (FAEG, 2010; CONAB, 2011). Nesta mesma safra, a região Nordeste obteve uma produtividade de açúcar de 4,3 milhões de toneladas e 2 milhões de litros de etanol (UNICA, 2011; CONAB, 2011).

A produtividade da cana-de-açúcar pode ser afetada por vários fatores como clima, idade do canavial, nível de tecnologia aplicada, sistema de colheita (CONAB, 2011) e problemas fitossanitários. O ataque de pragas é considerado como um dos mais importantes (MENDONÇA, 1996).

Telchin licus licus (Drury 1773) (Lepidoptera: Castniidae) é considerada como praga de grande importância agrícola e ataca a cana-de-açúcar em algumas regiões do Brasil. Atualmente, esta praga está presente em uma área cultivada de aproximadamente 320 mil hectares na região Nordeste. Nesta região o nível de infestação alcança 7%, quando avaliado em tocos danificados, o que representa uma perda de aproximadamente R\$ 34,5 milhões, por safra (ALMEIDA et al., 2009). A broca gigante é, por isso, considerada como um herbívoro de importância econômica para a cultura da cana-de-açúcar (GONZÁLES, 2003).

Algumas espécies de Castniinae são consideradas pragas de grande importância econômica por atacar cana-de-açúcar, bananeiras, bromélias, palmeiras e orquídeas, suas larvas destroem troncos e raízes. No Brasil são encontradas 65 espécies de Castniidae que corresponde a 61% da fauna neotropical, tornando este país um local importante para estudos sobre essas espécies (MILLER, 2000).

Para se decidir sobre as estratégias de MIP (Manejo Integrado de Pragas) a serem adotadas é importante conhecer a biologia do inseto (PARRA, 2000). Segundo SALVADORI & PARRA (1990), um dos passos iniciais a ser superado para obtenção de estratégias de MIP é a definição de uma dieta artificial, que além de permitir a criação, preencha os requisitos mínimos de qualidade biológica, quantidade e economicidade. Para definir um método de criação para uma

determinada espécie deve-se inicialmente tentar adaptar dieta(s) utilizada(s) para outros insetos, ajustando-a para a espécie em questão (PARRA, 1996).

Em virtude da crescente necessidade da produção massal de insetos em laboratório, com intuito de estudos de desenvolvimento, biologia e controle, a nutrição assume uma grande importância nesse cenário. O conhecimento de uma dieta adequada para a fase larval e para os adultos da espécie estudada é fundamental para a manutenção de seu nível populacional constante no laboratório (FONSECA et al., 2005). Para a criação de insetos em laboratório observa-se que a elaboração de dieta(s) artificial(ais) assume grande importância, por permitir a manutenção da colônia de maneira contínua, reduzir a mão-de-obra e o risco de contaminação das colônias com entomopatógenos, que são encontrados na dieta natural (KOGAN, 1980).

Devido à escassez de informações sobre a biologia e desenvolvimento da broca gigante da cana-de-açúcar, *T. licus licus*, em laboratório, este trabalho teve como objetivo comparar o efeito de cinco dietas sobre o desenvolvimento de lagartas visando à obtenção de adultos da broca gigante da cana-de-açúcar além da caracterização e comparação dos compostos químicos obtidos no abdome de fêmeas virgens.

2.2 Material e métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas- IQB-UFAL, Maceió-AL; em sala climatizada com temperatura a $26\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$ e 12 horas de fotofase; e em Câmara Incubadora (BOD) com temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, no escuro.

2.2.1 Preparação e adequação das dietas

As dietas utilizadas (D1, D2, D3 e D5), foram preparadas e fornecidas pela empresa FITOSSAN - Assistência Fitossanitária e Controle Biológico LTDA conveniada com a Universidade Federal de Alagoas (Tabela 1). A dieta D2 e D5 foram semelhantes às produzidas por PARRA (2001) para criação de *Diatraea saccharalis* e *Spodoptera frugiperda*, respectivamente.

Tabela 1- Constituição das dietas de alimentação para lagartas testadas na criação de *T. licus licus*, em laboratório:

Composição	Dietas				Continua
	D1 ^a	D2 ^b	D3 ^c	D4 ^d	D5 ^e
Produtos Sólidos		Quantidade			
Cloreto de Colina	X	0,2 g	0,2 g	X	X
Sacarose (açúcar)	120,0 g	22,0 g	26,0g	X	X
Levedura de Cerveja	100,0 g	X	X	X	37,5g
Feijão Carioca	X	X	X	X	124,0g
Farelo de Soja	30,0 g	25,0 g	25,0 g	X	X
Germen de Trigo	X	8,0 g	8,0 g	X	59,5g
Farinha de Trigo	30,0 g	X	X	X	X
Ácido Ascórbico	2,0 g	1,0 g	1,0 g	X	4,0g
Ácido Sorbico	3,0 g	0,6 g	0,6 g	X	1,5g
Nipagin	X	1,1 g	1,1 g	X	2,5g
Sais de Wesson	X	X	2,0 g	X	X
Fibra de Cana Esterilizada	X	X	8,0 g	X	X
Agar	40,0 g	9,4 g	9,4 g	X	15,5g
Rebolos de Cana [3-5cm de comprimento]	X	X	X	100/dieta	X
Ovo de Codorna	2,0 uni	X	X	X	X
Caseína	20,0 g	X	X	X	X
Produtos líquidos		Quantidade			
Solução Vitamínica	X	6,0 ml	6,0 ml	X	X

Produtos Líquidos	Quantidade			(continuação)	
Vita Gold	0,2 ml	0,2 ml	0,2 ml	X	X
Antibiótico (Ampicilina)	X	1,0 ml	0,8 ml	X	X
Formol	X	0,6 ml	0,4 ml	X	2,0ml
Ácido Acético	15,0 ml	2,5 ml	X	X	X
Água (panela)	340,0ml	300,0ml	300,0ml	X	350 ml
Água (liquidificador)	340,0ml	250,0ml	250,0ml	X	550 ml

^a – Dieta artificial adaptada pela FITOSSAN - Assistência Fitossanitária e Controle Biológico LTDA, para ser testada no experimento.

^b – Dieta artificial recomendada para *Diatraea saccharalis* pela FITOSSAN-Assistência Fitossanitária e Controle Biológico LTDA.

^c – Dieta artificial adaptada baseando-se na recomendada pela FITOSSAN (Assistência Fitossanitária e Controle Biológico LTDA) para *Diatraea saccharalis*, para ser testada no experimento.

^d – Mistura de dieta artificial (D3) + dieta natural (seções de cana-de-açúcar). A dieta D4 foi constituída durante os primeiros 20 dias pela dieta de alimentação inicial (D3) e posteriormente por seções de colmo de cana-de-açúcar de 3-5cm.

^e – Dieta artificial recomendada por PARRA (2001) para *Spodoptera frugiperda*.

2.2.2 Criação de *T. licus licus*

Os ovos da broca utilizados no experimento foram cedidos gentilmente pela Usina Triunfo Agroindustrial localizada no município da Boca da Mata, Estado de Alagoas, a 132 m de altitude e coordenadas geográficas de 09° 38' 27,6" de latitude sul e 36° 13' 12,0" de longitude oeste. Ao chegar ao laboratório foram pesados 100 ovos, recém ovipositados, em 20 repetições e acondicionados em placas de Petri forradas com papel filtro e umidificados com solução aquosa a 5% de sulfato de cobre.

Nos primeiros 20 dias, após a eclosão, foram utilizadas dietas de alimentação inicial (semelhante à dieta de alimentação, exceto pela remoção do ácido acético e do formol), para as lagartas neonatas, devido às mesmas serem muito sensíveis a esses compostos. Após os dias iniciais foram utilizadas as dietas citadas na Tabela 1 com todos componentes presentes.

Foram utilizadas 100 lagartas por tratamento, acondicionadas individualmente em placas de Petri ($\Phi=6,5\text{cm}$, $h=2,5\text{cm}$) contendo em média 19 gramas de cada dieta. Após os 20 dias iniciais as dietas eram trocadas e as lagartas avaliadas quanto à duração (dias), mortalidade (%) e peso. A partir do período inicial (20 dias após a eclosão), a cada 8 dias as lagartas eram retiradas, avaliadas quanto à duração em dias, mortalidade, pesadas e acondicionadas em placas de Petri ($\Phi=9,5\text{cm}$, $h=2,5\text{cm}$) contendo em média 19 gramas de novas dietas e em recipientes de plástico ($\Phi=11,5\text{cm}$, $h=8\text{cm}$) contendo seções de colmos de cana-de-açúcar para dieta D4, até a fase de pré-pupa. Para evitar contaminações, antes de serem fornecidas às lagartas de *T. licus licus*, as dietas foram expostas por uma hora a raios ultravioleta; todo manuseio com as dietas e lagartas foram realizados dentro de câmara de fluxo laminar.

Na fase de pré-pupa e pupa, as mesmas foram pesadas a cada dois dias e mantidas em placas de Petri ($\Phi=6,5\text{cm}$, $h=2,5\text{cm}$) contendo papel de filtro umedecido com solução aquosa a 5% de sulfato de cobre, a cada análise. A sexagem foi realizada considerando-se os caracteres morfológicos das pupas, baseando-se na metodologia utilizada por BUTT & CANTU (1962).

Os adultos foram observados quanto à deformidade e a longevidade. Para a avaliação da longevidade com alimentação (solução aquosa de sacarose a 10%) e sem alimentação, utilizaram-se 8 adultos por sexo e por tratamento, semelhante a metodologia utilizada por PARRA et al. (1999) que utilizaram 10 adultos de *D. saccharalis* (Fabr.) por tratamento para avaliação de longevidade com e sem a presença de alimento.

2.2.3 Extração das substâncias químicas encontradas nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens adultas de *T. licus licus*

Foram utilizadas por tratamento quinze adultos sexadas como fêmea de *T. licus licus* provenientes da dieta D3, dieta D4 e do campo (pupas provindas dos canaviais da Usina Triunfo). Baseando-se nas descrições de LIMA et al. (1998) de que entre 24 a 48 horas após a emergência as fêmeas de lepidópteros começam o período de chamamento, nas afirmações de GULLAN & CRANSTON (2007) de que

as glândulas odoríferas sexuais de fêmeas de lepidópteros ficam localizadas no interior de sacos ou bolsas eversíveis localizadas entre o oitavo e o nono segmentos abdominais e na descrição de CARACIOLO (1998) de que as fêmeas de *T. licus licus* entram em atividade sexual das 7 as 10 horas do dia, para decidir em que momento do dia e que parte seria realizada e secção do abdome de fêmeas virgens de *T. licus licus*. Desta forma, foi dissecada com tesoura de inox a região contendo os três últimos segmentos do abdome de cada adulto fêmea, com idade entre 24 e 48 horas, no período das 8 às 10 horas da manhã. As partes, após cortadas foram inseridas em um recipiente contendo Hexano (HPLC), por cinco minutos para obtenção do extrato, procedimento esse conhecido como extração por solvente descrita por VILELA & DELLA LUCIA (2001). Foi utilizado 500µL de Hexano (HPLC), bi-distilado em cinco partes abdominais. Após os cinco minutos o extrato foi retirado, filtrado em sílica, e armazenado a -20°C em tubos de vidro (Amber Vial, Screw Top, 2mL).

2.2.4 Caracterização das substâncias químicas voláteis encontradas nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens adultas de *T. licus licus*.

O extrato obtido foi concentrado para 250µL utilizando um fluxo leve de nitrogênio. Após a concentração o extrato foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG/EM) (aparelho QP5050 A, Shimadzer), usando uma coluna DB-5 (30m x 0 25 mm id x 0.25 µm); marca J&W Scientific e Hélio como gás de arraste. A programação da temperatura variou de 30°C a 250 °C com velocidade de aquecimento de 8 °C/min. As temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 280 °C, respectivamente. Os compostos foram identificados por comparação automática usando o banco de dados Wiley MS (Wiley Class 5000, sexta edição) usando o GCMSolution software. Somente os compostos com espectros de massa superior a 85% de similaridade com os espectros de referência foram considerados.

Foram observados e considerados apenas os hidrocarbonetos, alcoóis, ésteres, aldeídos, epóxidos e ácidos carboxílicos, baseando-se na citação de BJOSTAD et al. (1981, 1987) que o feromônio sexual de lepidópteros, geralmente, são substâncias oxigenadas e ou hidrocarbonetos.

2.2.5 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para verificar o pressuposto de normalidade e em seguida ao Teste de Levene para verificar outro pressuposto o de homogeneidade das variâncias dos resíduos, sendo esses pressupostos de parametria.

Quando atendidos os pressupostos os dados obtidos pelos três tratamentos: D2, D3, D4 foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey para comparações múltiplas ($p < 0,05$). Não sendo atendidos os pressupostos utilizou-se o teste de Kruskal Wallis e teste Dunn's para comparações múltiplas ($p < 0,05$).

Para verificar a existência ou não de semelhança entre a quantidade de compostos voláteis observados no abdome de fêmeas virgens de *T. licus licus* provenientes da dieta D3, D4 e do campo, utilizou-se o Teste do qui-quadrado ($p < 0,05$).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Criação de *T. licus licus*

Os ovos possuem comprimento médio de $4,01 \pm 0,02$ mm e peso médio de $4 \cdot 10^{-4} \pm 0,0000$ g. As lagartas começam a eclodir em média de $9,529 \pm 0,96$ dias após a oviposição. A viabilidade dos ovos foi de $70,22\% \pm 0,92$. Segundo MENDONÇA (1996) os ovos de *T. licus licus* são alongados, providos de 5 arestas longitudinais com período de incubação de 7 a 10 dias e possui aproximadamente 4mm de comprimento. Relatam também BENEDINE & CONDE (2008) que a fase de ovos dura de 8 a 10 dias e que estes podem apresentar cor esverdeada ou marrom.

As dietas D1 e D5 foram desconsideradas, devido a elevada mortalidade de lagartas de *T. licus licus*, ($74,0 \pm 4,41\%$ e $89,0 \pm 3,14\%$, respectivamente). Sendo, desta forma, inviáveis para continuação das análises.

Em relação às lagartas (Tabela 2), verificou-se que a dieta D2 propiciou maior duração em dias, diferindo das dietas D3 e D4, com aproximadamente 113, 82, 81 dias respectivamente. Ainda nesta fase, a dieta D2 proporcionou maior mortalidade, 40% das lagartas, diferindo da dieta D4 (22%) e não diferindo da dieta D3 (31%).

Na fase de pré-pupa (Tabela 2), não houve diferença na duração em dias entre as dietas. Já em relação à mortalidade, a dieta D2 causou aproximadamente 23%, diferindo da dieta D4 (5%) e não diferindo da dieta D3 (11%).

A duração, em dias, da fase de pupa (Tabela 2) não diferiu entre as dietas D2, D3 e D4. Mas verificou-se que a dieta D2 ocasionou maior mortalidade das pupas, aproximadamente 26%, diferindo da D3 (10%) e D4 (4%). Os dados obtidos pela dieta D3 e D4 estão próximos aos relatados pelo CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (2009) que em condições de laboratório observaram que as lagartas viveram em média 85 dias e a fase de pupa durou em média 27 dias.

Verificou-se em relação ao período ovo-adulto (Tabela 2), em dias, que utilizando a dieta D2 este período foi o mais longo, com 165,10 dias, diferindo da D3 (133,20 dias) e da D4 (131,10 dias). Em condições de campo o ciclo de *T. licus licus* pode durar em média 174 dias segundo BENEDINE & CONDE (2008), e 139 dias

em laboratório (CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA, 2009) sendo este resultado próximo do obtido utilizando a dieta D3 e D4. MENDONÇA (1982) também relata que o ciclo biológico da broca gigante é muito variável devido a fatores extrínsecos, tais como: temperatura, umidade e alimentação.

Tabela 2- Médias (\pm EP) de características biológicas de *Telchin licus licus* criadas em três dietas diferentes. Temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, com fotofase de 12 horas para adultos e sem fotofase para lagartas/pré-pupa/pupa.

Características	Dietas		
	D2	D3	D4
# Fase larval (dias)	112,85 \pm 2,29a	82,05 \pm 2,17b	80,91 \pm 1,78b
# Mortalidade larval(%)	40 \pm 4,92a	31 \pm 4,65ab	22 \pm 4,16b
+ Fase pré-pupa (dias)	5,13 \pm 0,11a	5,10 \pm 0,08a	5,03 \pm 0,07a
# Mortalidade de pré-pupa(%)	23,33 \pm 5,50a	11,59 \pm 3,88ab	5,13 \pm 2,51b
+ Fase de pupa (dias)	30,52 \pm 0,46a	30,61 \pm 0,30a	30,30 \pm 0,28a
# Mortalidade de pupa(%)	26,08 \pm 5,94a	9,83 \pm 3,84b	4,05 \pm 2,31b
+ Ovo-adulto	165,10 \pm 6,67a	133,20 \pm 5,56b	131,10 \pm 5,46b

+ Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ($p < 0,05$). # Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Dunn's, ($p < 0,05$).

O peso médio da fase larval (Tabela 3) de *T. licus licus* alimentadas com a dieta D2 foi de 2,12 gramas diferindo do obtido na dieta D4 (3,17 gramas) e igual estatisticamente ao mensurado em lagartas que consumiram a dieta D3 (2,69 gramas). Segundo PARRA (1991) a quantidade e a qualidade do alimento consumido na fase larval podem interferir na taxa de crescimento, tempo de desenvolvimento, peso, sobrevivência e em outros parâmetros biológicos.

Na fase de pré-pupa (Tabela 3) não houve diferença entre os pesos de lagartas alimentadas com as dietas D3, D4, com 3,99 e 4,14 gramas, respectivamente. O peso médio das pupas (Tabela 3) após o consumo da dieta D2 pelas lagartas (3,18 gramas) diferiu do verificado no obtido após consumo da dieta D3 (3,81 gramas) e dieta D4 (3,87 gramas). Segundo LARA (1991) o peso das pupas é um parâmetro importante para se discriminar possíveis efeitos antibióticos de diferentes hospedeiros.

Ao se observar a razão sexual, verificou-se que a proporção encontrada em lagartas alimentadas com a dieta D2, D3 e D4, foi de 1 fêmea para 1,27 macho; 1 fêmea para 1,32 macho e 1 fêmea para 1,22 macho, respectivamente.

A porcentagem de adultos (Tabela 3) machos deformados provenientes da dieta D2 (21%) foi maior, mas não diferiu significativamente da dieta D3 (10%) e dieta D4 (5%). Também sendo maior esta porcentagem na dieta D2 em relação às fêmeas com 20%, não diferindo estatisticamente da dieta D3 (9%) e da dieta D4 (3%). As deformações observadas nos adultos foram asas mal-distendidas ou presas na exúvia. Segundo BERTI FILHO & WILCKEN (1993) e WILCKEN (1996) as deformações morfológicas em adultos de lepidópteros pode ser um indício de inadequação nutricional.

Tabela 3- Peso médio (\pm EP) das fases imaturas e porcentagem de deformação de adultos de *Telchin licus licus* criadas em três tipos de dietas diferentes. Temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, com fotofase de 12 horas para adultos e sem fotofase para lagartas/pré-pupa/pupa.

Características	Dietas		
	D2	D3	D4
⁺ Fase larval (g)	2,12 \pm 0,26a	2,69 \pm 0,36ab	3,17 \pm 0,44b
⁺ Fase pré-pupa (g)	3,39 \pm 0,08a	3,91 \pm 0,09b	4,11 \pm 0,11b
⁺ Fase de pupa (g)	3,18 \pm 0,17a	3,81 \pm 0,05b	3,87 \pm 0,11b
[#] Adultos deformados (σ) (%)	21,05 \pm 6,61a	10,34 \pm 3,97a	5,12 \pm 3,51a
[#] Adultos deformados (ρ) (%)	20,00 \pm 7,85a	9,09 \pm 5,44a	3,12 \pm 2,11a

⁺ Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ($p < 0,05$).
[#] Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Dunn's, ($p < 0,05$).

Quando alimentados com solução aquosa de sacarose a 10%, observou-se que não houve diferença entre os adultos de *T. licus licus* provenientes das dietas D2, D3 e D4 (Tabela 4). Mas ao se utilizar a solução relatada verificou-se que ocorreu um aumento médio na longevidade dos machos de 3,27 dias e de 3,14 dias para fêmeas. De acordo com PARRA (2000) para lepidópteros em geral, considera-

se que a adição de carboidratos (principalmente sacarose) em concentrações em torno de 10% seja suficiente para aumentar a longevidade.

Tabela 4- Longevidade (\pm EP) dos adultos de *Telchin licus licus* com (solução aquosa de sacarose a 10%) e sem alimento, em dias, criados em três dietas diferentes. Temperatura de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10\%$, com fotofase de 12 horas.

Longevidade	Dietas		
	D2	D3	D4
Adulto (♂) sem alimento (dias)	8,49 \pm 0,27a	8,52 \pm 0,23a	8,35 \pm 0,28a
Adulto (♀) sem alimento (dias)	6,21 \pm 0,32a	6,62 \pm 0,37a	6,41 \pm 0,29a
Adulto (♂) com alimento (dias)	11,49 \pm 0,26a	11,62 \pm 0,23a	12,01 \pm 0,48a
Adulto (♀) com alimento (dias)	9,23 \pm 0,28a	9,51 \pm 0,17a	9,67 \pm 0,19a

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ($p < 0,05$).

2.3.2 Comparativo das substâncias caracterizadas, encontradas nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens adultas de *T. licus licus* provenientes da dieta D3, D4 e do campo.

Verificou-se, por tentativas, a presença dos ácidos tetradecanóico, hexadecanóico e octadecadienóico em todas as análises (Tabela 5). De acordo com REBOUÇAS (1999) e FABRIÁS et al. (1989) estes ácidos são encontrados nos tecidos dos insetos e também são considerados como precursores do feromônio de *Telchin licus licus* e em geral de lepidópteros.

Foram encontrados, por tentativas, como compostos voláteis comuns a fêmeas virgens de *T. licus licus* provenientes da dieta D3, D4 e do campo o dodecano, tetradecano, hexadecano, octadecano, eicosano, 1-dodecanol, 1-hexadecanol, 1-octadecanol, dodecanal, octadecanal, acetato de 5-tetradecen-1-ol, acetato de 1-hexadecanol, (Z)-9-octadecenoato de hexila, tetradecanoato de metila, hexadecanoato de metila, (Z)-9-octadecenoato de metila, (Z)-9-hexadecenoato de metila e o 8-acetoxilinalool (Tabela 5); possivelmente um ou a mistura de dois ou mais desses compostos comuns aos tratamentos representem o feromônio da broca gigante da cana-de-açúcar. De acordo com MARQUES et al. (2000) os feromônios

de lepidópteros, provenientes de extratos de glândulas, são constituídos por misturas de álcoois, aldeídos e acetatos monoinsaturados sendo freqüentemente obtidos em quantidades pequenas “10⁻⁹g (nanograma)”. De acordo também com BJOSTAD et al. (1981, 1987) o feromônio sexual produzido por fêmeas de lepidópteros são geralmente acíclicos, compostos derivados de ácidos graxos, contendo 12-18 carbonos na cadeia principal com grupo funcional oxigenado e de zero a três ligações duplas (presença de insaturações nas configurações E e Z). Em alguns casos, hidrocarbonetos com cadeias lineares ou metil-ramificadas têm sido demonstrados como feromônios de lepidópteros. A variação no comprimento da cadeia, tipo de grupo funcional oxigenado, número, localização e natureza isomérica da ligação dupla proporção precisa dos componentes na mistura feromonal permite a distinção de mistura de feromônios espécie-específica. Entretanto, estudos envolvendo eletroantenografia e bioensaios fazem-se necessários para confirmar o(s) composto(s) que represente(m) o feromônio de *T. licus licus*.

Ao comparar a quantidade de hidrocarbonetos e compostos oxigenados observados nos tratamentos verificou-se que são significativamente semelhantes (Tabela 5).

Tabela 5- Identificação por CG-MS de hidrocarbonetos e compostos oxigenados* encontrados no abdome de fêmeas virgens de *T. licus licus*, provenientes da dieta D3, D4 e do campo.

Compostos	Dieta D3	Dieta D4	Campo (Continua)
<i>Hidrocarbonetos</i>			
2,3,5,8-Tetrametil-decano		X	X
Decano	X	X	
Dodecano	X	X	X
Tetradecano	X	X	X
Hexadecano	X	X	X
Octadecano	X	X	X
Eicosano	X	X	X
<i>Sub-total</i>	6	7	6
<i>Hidrocarbonetos Oxigenados</i>			

<i>Hidrocarbonetos Oxigenados</i>	<i>(continuação)</i>		
n- Nonanol	X		X
1-Dodecanol	X	X	X
1-Octanol		X	X
1-Decanol	X	X	
2-Butil-1-octanol	X	X	
1-Hexadecanol	X	X	X
1-Octadecanol	X	X	X
Nonanal	X	X	
Dodecanal	X	X	X
Octadecanal	X	X	X
Acetato de hexila	X		
Acetato de decila		X	X
Acetato de 5-tetradecen-1-ol	X	X	X
Acetato de 1-hexadecanol	X	X	X
Ácido tetradecanóico	X	X	X
Ácido hexadecanóico	X	X	X
Ácido (Z,Z)-9,12-octadienóico	X	X	X
(Z)-9-Octadecenoato de hexila	X	X	X
Tetradecanoato de metila	X	X	X
Hexadecanoato de metila	X	X	X
Octanoato de metila	X		X
(Z)-9-Octadecenoato de metila	X	X	X
(Z)-9-Hexadecenoato de metila	X	X	X
8- Acetoxilinalool	X	X	X
<i>Sub-total</i>	24	22	21
Total	30	29	27

*Indicativos. Qui-quadrado=0,147^{ns}. (p=0,9291)

2.4 Conclusões

As dietas D1 e D5 não são adequadas para criação de *T. licus licus*, pois proporcionam uma alta mortalidade na fase de lagarta.

As dietas D3 e D4 são mais adequadas que a dieta D2 para produção de adultos da broca gigante, *Teuchoclis licus licus*, em laboratório, pois proporciona, em dias, menor ciclo de vida; menor porcentagem de mortalidade, maior peso nas fases imaturas.

A dieta D4 proporciona menor porcentagem de mortalidade nas fases imaturas de *T. licus licus* que a dieta D3.

A utilização de solução aquosa de sacarose a 10% como alimento da fase adulta propicia uma maior longevidade dos machos e das fêmeas de *T. licus licus*.

Os compostos voláteis encontrados nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens de *T. licus licus*, observados em fêmeas provenientes da dieta D3, D4 e do campo são semelhantes.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. C.; STINGEL, E.; ARRIGONI, E. B. Broca gigante: atenção ao canavial. **Revista Coplana**. p. 24-25, 2009.

BENEDINI, M. S.; CONDE, A. J. Broca gigante: Nova praga da cana-de-açúcar na região Centro-sul. **Revista Coplana**. p. 24-25, 2008.

BERTI FILHO; WILCKEN C. F. Novo hábito alimentar de *Thyrintea arnobia* (Lep.: Geometridae). **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, n. 46, p. 119-20, 1993.

BJOSTAD, L. B.; WOLF, W. A.; ROELOFS, W. L. Total lipid analysis of the sex pheromone gland of the redbanded leafroller moth, *Argyrotaenia velutinana*, with reference to pheromone biosynthesis. **Insect Biochemistry**. v. 11, p. 73–79, 1981.

_____; _____. Pheromone biosynthesis in lepidopterans: Desaturation and chain shortening. In: Blomquist, G. J., Prestwich, G. D. (Eds.), **Pheromone Biochemistry**. Academic Press, Orlando, Florida, pp. 77–120, 1987.

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. **ARS, United States Department of Agriculture**, Washington, 1962. n. 33-75, 7p.

CARACIOLO, M. DO S. B. 1998. **Composição química e atividade dos extratos de glândula abdominal da fêmea de *Castnia licus* DRUY, 1770 (Lepidoptera: Castniidae)**. 1998. 88 f. Dissertação de Mestrado-Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Alagoas, 1998.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar/Safra 2010/2011, Brasília, 2011, 17p.

CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA. Broca gigante de cana-de-açúcar. 2008. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/broca_gigante_da_cana_000fhc5dnd702wyiv80efhb2a2604u30.pdf>. Acesso em: 4 maio 2010.

_____. Broca gigante de cana-de-açúcar. 2009. Disponível em:
<<http://www.gape.esalq.usp.br/cana2009/painel5/2.pdf>>. Acesso em: 4 maio 2010.

FABRIÁS, G.; ARSEQUELL, G.; CAMPS, F. Sex pheromone precursors in the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeae), **Insect Biochemistry**. v. 2. p. 177-181, 1989.

FAEG - Federação das Associações Rurais do Estado de Goiás. 2010. Disponível em:
<http://www.faeg.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=5558:brasil-processara-654-milhoes-de-toneladas-de-cana-de-acucar-em-20102011-alta-de-104-sobre-2009-2010>. Acesso em: 4 maio 2010.

FONSECA, F. L. et al. Efeito de dietas artificiais para a alimentação de adultos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, p.1229-1233, 2005.

GONZÁLEZ, J. M. Castniinae (Lepidoptera: Castniidae) from Venezuela. V: *Castnia* Fabricius and *Telchin* Hübner. **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas**. v. 37, p. 191–201, 2003.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os Insetos: Um resumo de entomologia**. Editora Roca, 2007.

JACOBSON, M. Insect sex pheromone, Ed. por Sondeimer e Simeone JB. **Academic Press**, p. 26-147, 1970.

KOGAN, M. Criação de insetos: bases nutricionais e aplicação em programas de manejo de pragas. p. 45-75. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 6., 1980, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 322p.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991.

LIMA, E. R.; VILELA, E. F.; SANCHEZ, G. R. Avaliação do comportamento reprodutivo e do feromônio sexual sintético de *Mocis latipes* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. Londrina. v. 27, n. 1, p. 9-20, 1998.

MARQUES, F. A.; MCELFRISH, J. S.; MILLAR, J. G. Kováts Retention Indexes of Monounsaturated C12, C14, and C16 Alcohols, Acetates and Aldehydes Commonly Found in Lepidopteran Pheromone Blends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 6, p. 592-599, 2000.

MENDONÇA, A. F. A broca gigante *Castnia licus* (Drury) (1770) (Lepidoptera: Castniidae) no Brasil. **Saccharum APC**, São Paulo, v. 5, n. 20, p. 53-60, 1982.

_____. **Pragas da Cana-de-Açúcar. Insetos & Cia**, Maceió, 1996. 200p.

MILLER, J. Y. Castniidae (Lepidoptera), p. 527–533. In: J. E. Llorente, E. González & N. Papaverio (eds.). **Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento**. Volume 2. México, Universidad Nacional Autónoma de México, 2000. 676 p.

PARRA, J. R. P. **Consumo e utilização de alimentos por insetos**, p.9-65. In A.R. Panizzi & J.R.P. Parra (eds.), 1991. Manole, São Paulo, 1991. 237p.

_____. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 3. ed., Piracicaba: FEALQ, 1996.137p.

_____. A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório a aplicação em campo. In: Guedes, J.C. et al. **Bases técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti. 2000. 248p. p.1-29.

_____. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba, ESALQ/FEALQ, 2001. 134p.

_____; MILANO, P.; CONSOLI, F. L.; ZERIO, N. G.; HADDAD, M. L. Efeito da Nutrição de Adultos e da Umidade na Fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 49-57, 1999.

REBOUÇAS, L. M. C.; CARACIOLO, M. S. B.; SANT'ANA, A. E. G. Composição química da glândula abdominal da fêmea da mariposa *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae) possíveis feromônios e precursores. **Química Nova**, v. 22, n. 5, 1999.

SALVADORI, J. R.; PARRA, J. R. P. Seleção de dietas artificiais para *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n.12, p. 1701-1713, 1990.

STEWART-JONES, A.; POPPY, G. M. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, p. 845-864, 2006.

TAMAKI, Y. Sex pheromones. In G. A. Kermut & L. I. Gilbert [eds.], **Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology**, v. 9 Pergamon, Oxford, 1985. p. 154-191.

TEAL, P. E. A.; MACLAUGHHLIN JR; TUMLINSON, J. H. Analysis of the reproductive behavior of *Heliothis virescens* (F.) Under Laboratory Conditions **Annals of the Entomological Society of America**, v. 74, p. 324-330, 1981.

UNICA. União da Indústria de Cana-de-Açúcar. 2011. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/quemSomos/texto/show.asp?txtCode={A888C6A1-9315-050-B6B9-FC40D6320DF1}>>. Acesso em: 4 maio 2010.

VILELA E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos (Biologia, Química e Aplicação)**. Editora Holos, 2001. 2 ed. 206p.

WILCKEN, C. F. **Biologia de *Thyrintaina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) em espécies de *Eucalyptus* e em dieta artificial**. 1996, 129 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

APÊNDICE A

Figura 1- Ovos *Telchin licus licus*. A- Ovos recém-ovipositados providos da Usina Triunfo. B- Acondicionamento de 100 ovos *T. licus licus*, recém-ovipositados, em placas de Petri forradas com papel filtro.

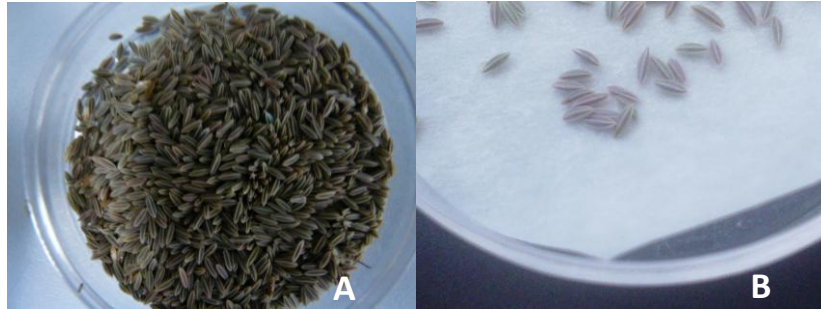


Figura 2- Placa de Petri contendo dieta de alimentação inicial. A- Fornecida pela FITOSSAN. B- Dieta consumida em 16 dias por lagarta de *Telchin licus licus*. C- Dieta 20 dias após consumo por *T. licus licus*.

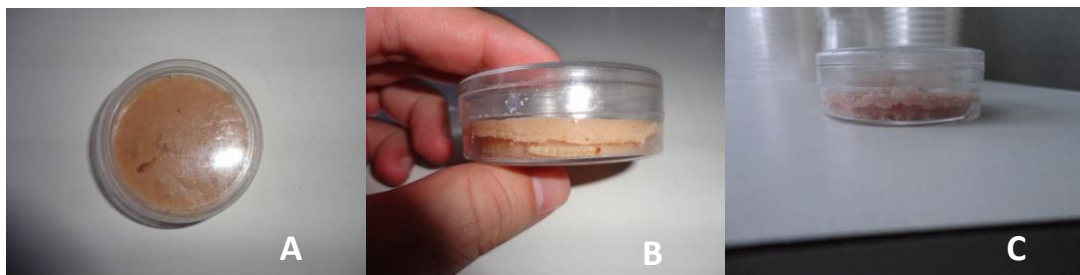


Figura 3- Criação de *Telchin licus licus*: A- Fase inicial; B- Lagarta alimentada pela dieta (D3); C- Lagarta alimentada pela dieta (D2); D- Lagarta alimentada pela dieta (D4).

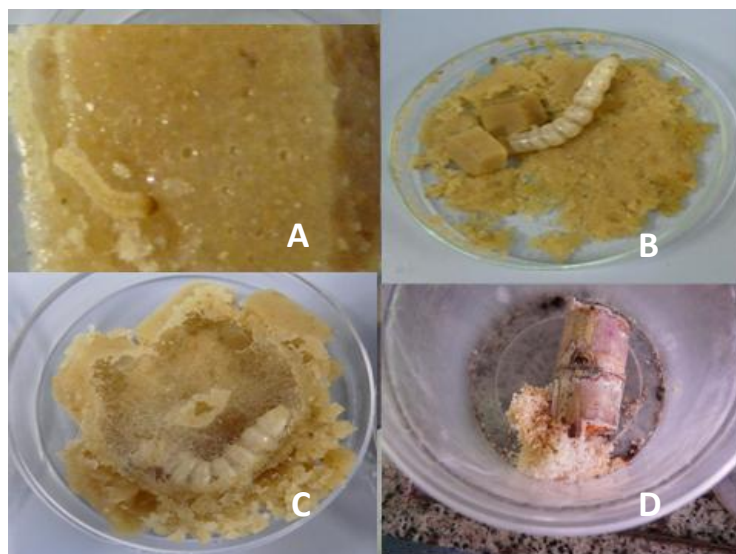


Figura 4- Fase de pré-pupa de *Telchin licus licus*.



Figura 5- Fase de pupa de *Telchin licus licus*.



Figura 6- Fase adulta de *Telchin licus licus*.



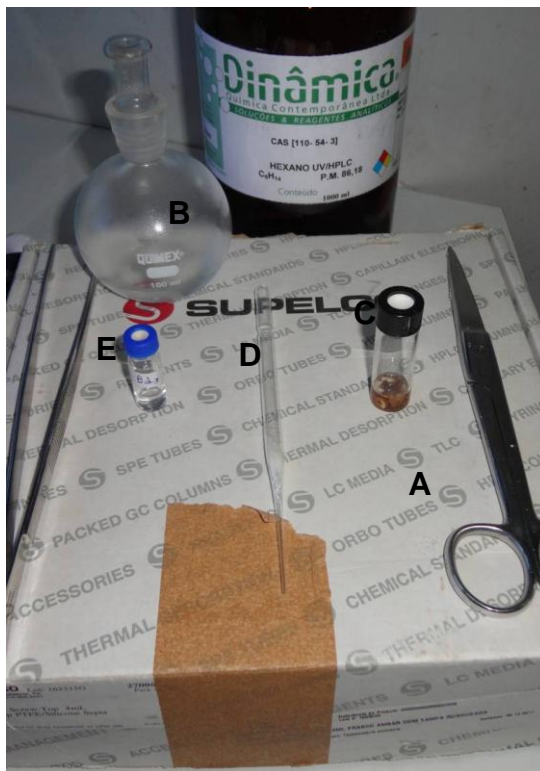
Figura 7- Local de acondicionamento da fase adulta por sexo de *Telchin licus licus*.



Figura 8- Fêmeas de *Telchin licus licus* com idade entre 24 e 48 horas, utilizadas para coleta de voláteis.



Figura 9- Material utilizado na extração dos compostos voláteis encontrados nos três últimos segmentos do abdome de fêmeas virgens adultas de *Telchin licus licus*. A- Tesoura de inox. B- Hexano (HPLC) bi-distilado. C- frasco (Amber Vial, Screw Top, 4mL) vedado e contendo cinco partes abdominais + 500 μ L de Hexano (HPLC) bi-distilado. D- Sílica. E- frasco (Amber Vial, Screw Top, 2mL) vedado e etiquetado contendo extrato após filtrado.



3 INFLUÊNCIA DE PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR INFESTADAS POR DIFERENTES LEPIDOBROCAS NO COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E NO COMPORTAMENTO DE BUSCA DO HOSPEIRO POR *Cotesia flavipes* (HYMENOPTERA: BRACONIDAE).

RESUMO

A oviposição de insetos pragas e a atração de inimigos naturais são fortemente influenciados pelos voláteis das plantas hospedeiras os quais dependem do estado de infestação da planta. Os lepidópteros pragas são considerados de grande importância econômica em cana-de-açúcar. O presente trabalho teve por objetivo avaliar preferência de oviposição por *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), e a atração de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae), em relação a plantas de cana-de-açúcar infestadas por diferentes lepidópteros-praga. As plantas foram submetidas a técnica de extração por aeração, para coleta de compostos voláteis e em seguida utilizadas para obtenção de extratos hexânicos e bioensaios sob condições de laboratório. O comportamento de *D. saccharalis* foi avaliado através da quantificação do número de posturas e ovos depositados nas plantas sadias e infestadas pelos seguintes tratamentos: 1- cana-de-açúcar, 2- cana-de-açúcar atacada pela *D. saccharalis*, 3- cana-de-açúcar atacada pela *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904) (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae), 4- cana-de-açúcar atacada por *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae). Por sua vez, o comportamento de busca de fêmeas de *C. flavipes* foi avaliado para estes mesmos tratamentos em olfatômetro. A análise dos compostos orgânicos voláteis liberados pelas plantas antes e após a infestação dos lepidópteros por CG e CG/EM, revelou a presença de dois compostos adicionais após a infestação por *D. saccharalis*, três compostos adicionais foram observados após a infestação por *H. taltula* e a presença de dois compostos adicionais foi observada após a infestação por *T. licus licus*. Os resultados demonstraram que fêmeas de *D. saccharalis* têm preferência de oviposição pela cana-de-açúcar isenta de infestação ($p < 0.05$) enquanto que fêmeas de *C. flavipes* são atraídas por voláteis emitidos por plantas de cana-de-açúcar infestadas por *D. saccharalis* e em menor escala por *H. taltula* ($p < 0.05$). Além disso, foi constatado que a utilização dos voláteis emitidos diretamente pelas plantas atacadas pela *D. saccharalis* é mais eficiente que os extratos hexânicos obtidos das mesmas ($p < 0.05$).

Palavras-chave: Interações multitróficas, Semiquímicos, Pragas de cana-de-açúcar, Parasitóides.

ABSTRACT

Oviposition attraction of insect pests and natural enemies are strongly influenced by volatiles from host plants which depend on the state of the plant infestation. The lepidopteran pests are considered of great economic importance in sugarcane. This study aimed to evaluate the oviposition preference by *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) and the attraction of *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) in relation to plant sugarcane infested different lepidopteran pests. The plants were subjected to extraction technique by aeration, to collect the volatile compounds and then used to obtain the leaf extracts and bioassays under laboratory conditions. The behavior of *D. saccharalis* was evaluated by quantifying the number of egg masses and eggs laid on plants healthy and infested by the following treatments: 1 - sugarcane, 2 - sugarcane attacked by *D. saccharalis*, 3 - sugarcane attacked by *Hyponeuma taltula* (Schaus, 1904) (Lepidoptera: Noctuidae, Herminiinae), 4 - sugarcane attacked by *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae). The search behavior of *C. flavipes* females was evaluated for these same treatments in olfactometer. The analysis of volatile organic compounds released by plants before and after infestation of moths by GC and GC / MS revealed the presence of two additional compounds after infestation by *D. saccharalis*, three additional compounds were observed after infestation by *H. taltula* and the presence of two additional compounds was observed after infestation by *T. licus licus*. The results showed that females have *D. saccharalis* oviposition preference for sugarcane with no infestation ($p < 0.05$) while females of *C. flavipes* are attracted to volatiles emitted by plants of sugarcane infested by *D. saccharalis* and to a lesser extent by *H. taltula* ($p < 0.05$). Moreover, it was found that the use of volatiles emitted directly by plants attacked by *D. saccharalis* is more efficient than the hexanic leaf extracts obtained from the same plants ($p < 0.05$).

Keywords: Multitrophic interactions, Semiochemicals, Pests of sugarcane, Parasitoid.

3.1 Introdução

No Brasil, a área de cana-de-açúcar colhida destinada à atividade sucroalcooleira está estimada em 8.500 mil hectares, distribuídas em todos estados produtores, para safra 2010/2011. Do total de cana esmagada 46,2% são destinadas à produção de açúcar gerando 38.675,5 mil toneladas do produto, e 53,8% destinadas à produção de etanol, gerando um volume total de 27.669,55 milhões de litros (CONAB, 2011).

Dentre as limitações fitossanitárias que podem diminuir a produção e, inerentemente, implicam em perdas econômicas, incluem-se os danos causados pelas pragas: *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) (BOIÇA JR. et al, 1997), *Telchin licus licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae), *Mahanarva* spp. (Hemiptera: Cercopidae) (MENDONÇA, 1996; DINARDO-MIRANDA et al., 1999; MACEDO & ARAÚJO, 2000; CARVALHO et al., 2011) e *Hyponeuma taltula* (ZENKER et al. 2007), as quais atacam esta cultura em diferentes estágios fenológicos.

Atualmente, a utilização de agentes de controle biológico na cultura da cana-de-açúcar compõem uma das estratégias para o controle destas pragas. No caso de *D. saccharalis*, são utilizados parasitoides de larvas tais como: moscas, *Lydella minense* (Townsend, 1927) e *Paratheresia claripalpis* (Wulp, 1896) (Diptera: Tachinidae) e a microvespa *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Este último foi introduzido do Paquistão e se adaptou muito bem no Brasil. É um parasitóide gregário, as fêmeas ovipositam diretamente no corpo das larvas do lepidóptero, sendo que em cada larva, desenvolvem-se cerca de 50 adultos da vespinha (MENDONÇA, 1996).

Em 1977 ocorreram às primeiras liberações de *C. flavipes* no Estado de São Paulo. Repetiu-se para o ano de 1979 um parasitismo médio dessa espécie de 0,14% e já no ano 2002 essa taxa situou-se entre 30 a 40% (BOTELHO & MACEDO, 2002). Em Alagoas, após um levantamento realizado em oito áreas canavieiras do Estado, no período de setembro/2003 a fevereiro/2004, foram constatados 26,76% de parasitismo para o gênero *Diatraea*. Na espécie *D. flavipennella*, o parasitóide *C. flavipes* foi responsável por 93,82% de parasitismo e

para a espécie *D. saccharalis* constatou-se um percentual de 100% de parasitismo, em condições de campo. (FREITAS et al., 2006).

As interações entre plantas e herbívoros são importantes para a sobrevivência dos organismos envolvidos. Nessas interações são liberados compostos químicos que podem ser detectados pelos herbívoros durante a localização da planta para oviposição ou para alimentação (CORRÊA & VIEIRA, 2007). Esses compostos voláteis também podem servir como atraentes de longa distância, auxiliando os parasitóides e predadores na busca e localização de insetos herbívoros (NGI-SONG et. al., 1996).

Baseado no conhecimento de que os insetos fitófagos muitas vezes demonstram preferências por determinadas espécies vegetais, cultivares e fases da cultura em resposta aos estímulos diferentes, o comportamento de oviposição tem sido o alvo de muitos debates sobre a ecologia das interações entre insetos e plantas, dentre eles: a escolha e especificidade do hospedeiro, o potencial para especiação simpátrica, a co-evolução, o padrão de ataque e a competição interespecífica. A seletividade de oviposição pelas fêmeas pode frequentemente oferecer a base inicial para estudos envolvendo divergências de populações de insetos em diferentes espécies de plantas, podendo inclusive levar a evolução do mecanismo de defesa de algumas espécies (THOMPSON & PELLMYR, 1991).

A oviposição em Lepidoptera ocorre através de uma série de estágios distintos que correspondem à busca da planta hospedeira, avaliação do hospedeiro e oviposição (RENWICK & CHEW, 1994). A resposta olfatória para os odores da planta são conhecidos por serem importantes na localização do hospedeiro (VISSER 1986, RAMASWAMY 1988, FEENY et al., 1989). Vários estudos sobre sinais químicos utilizados por lepidópteros na escolha da planta têm sido realizados. Em algumas espécies, a concentração de algum composto químico particular determina a preferência relativa de fêmeas para plantas hospedeiras, enquanto em outras espécies a proporção relativa dos compostos determina a resposta da fêmea.

Por sua vez, os inimigos naturais de insetos fitófagos também têm desenvolvido estratégias de busca por hospedeiros adequados envolvendo sinais químicos que proporcionam o sucesso do parasitismo/predação. Tal comportamento de busca é caracterizado por variabilidade considerável entre e dentre as espécies.

Parasitóides larvais que buscam por hospedeiros são guiados por sinais visuais e infoquímicos emitidos por várias fontes associadas ao hospedeiro alvo. Além disso, esses processos comportamentais são afetados por fatores “indivíduos relacionados” tais como idade, estado fisiológico e experiência, além de fatores ambientais. Estes fatores contribuem para a variabilidade no comportamento de busca do hospedeiro (MATTIACI, et al., 1994).

Muitos parasitóides são conhecidos por discriminarem e responderem a compostos voláteis produzidos por plantas saudias e infestadas por uma espécie de herbívoro em particular (STEINBERG et al., 1993; TUMLINSON et al., 1993). A injúria provocada pelo herbívoro pode induzir a produção de compostos químicos específicos em várias plantas. Estes compostos atraem os parasitóides destes herbívoros. Além disso, a composição destes aleloquímicos frequentemente difere entre plantas ou seu estado (STEINBERG et al., 1993). No entanto, parasitóides aprendem a responder a diferentes misturas destes compostos que indicam a localização de seus hospedeiros principais ou alternativos (TURLINGS et al., 1991 a,b; TUMLINSON et al., 1993).

Na Ásia e África, *C. flavipes* tem sido relatada por parasitar diversas espécies de brocas noctuídeos e crambídeos (MOHYUDDIN & GREATHEAD, 1970; POLASZEK AND WALKER, 1991; NGI-SONG et al., 1995; OVERHOLT et al., 1997). Por sua vez, nas Américas, incluindo o Brasil, *C. flavipes* parasita diversas espécies do gênero *Diatraea* (Crambidae) (OVERHOLT et al., 2003).

O controle biológico clássico tem sido bastante investigado nos últimos anos devido á possibilidade de insetos-alvo e não-alvo serem atingidos pelos parasitóides (JEMBERE et al., 2003). Desta forma, é importante esclarecer esta prática buscando elucidar e utilizar de forma correta o potencial deste mecanismo de controle do ponto de vista de liberação e após seu estabelecimento e, isto depende basicamente do estudo do comportamento de busca destes inimigos naturais.

A maioria dos estudos envolvendo lepidópteros analisa a preferência/desempenho sem considerar suas interações com os seus hospedeiros, competidores e inimigos naturais (interações multitróficas). O presente trabalho teve por objetivo avaliar preferência de oviposição por *D. saccharalis* e a atração de *C. flavipes* por canas-de-açúcar em relação a respostas de defesas após o ataque ou

não de lepidopteros-praga e caracterização dos compostos voláteis provenientes dessas interações.

3.2 Material e métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas- IQB-UFAL, Maceió-AL; em sala climatizada com temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 5\%$, fotofase 12h e em telados de 2,5m x 2,5 m x 2,5m cobertos por telas transparente com temperatura de $27\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$.

3.2.1 Obtenção das plantas

Os exemplares das plantas de cana-de-açúcar, variedade RB867515, conhecida como mineirinha, foram gentilmente cedidos pela Usina Triunfo Agroindustrial localizada no município da Boca da Mata, Estado de Alagoas, a 132 m de altitude e coordenadas geográficas de $09^{\circ} 38' 27,6''$ de latitude sul e $36^{\circ} 13' 12,0''$ de longitude oeste, Brasil.

Os colmos de cana-de-açúcar foram cortadas em pequenos pedaços (4-5 cm) contendo uma gema que foram acondicionados em bandejas contendo areia lavada e esterilizada até a germinação e conseqüentemente, emissão das raízes, período este de 15 dias de idade. A partir desta etapa as canas foram plantadas em mini vasos de (h=10cm x Φ =12cm) contendo substrato (Plantmax®) e foram irrigadas diariamente com 25mL de água, até atingir a idade fenológica de um mês ou altura entre 30cm e 40cm.

3.2.2 Obtenção de insetos

As lagartas de *Diatraea saccharalis* e de *Hyponeuma taltula* foram gentilmente cedidas pela Usina Triunfo Agroindustrial. As largartas de *Telchin licus licus* foram obtidas do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais do IQB-UFAL.

As idades das lagartas foram padronizadas de acordo com o ciclo total da praga. *Diatraea saccharalis* com 12 a 13 dias de idade, *Hyponeuma taltula* com 15 a 17 dias de idade e *Telchin licus licus* com 38 a 40 dias de idade.

Os parasitóides *Cotésia flavipes* criados em *D. saccharalis* foram fornecidos gentilmente pela Usina Triunfo Agroindustrial. Foram utilizadas fêmeas acasaladas, com idade entre 24 e 48 horas, sem prévia experiência de parasitismo. A sexagem foi realizada observando o tamanho das antenas seguindo a metodologia descrita por RICKLEFS (2003).

3.2.3 Coleta de voláteis, obtenção de extratos e caracterização dos compostos.

3.2.3.1 Coleta de voláteis e obtenção dos extratos.

Para a coleta dos voláteis foram utilizadas 3 plantas com um mês de idade fenológica ou altura entre 30cm e 40cm, por tratamento: 1- cana-de-açúcar (cana isenta de infestação), 2- cana-de-açúcar atacada pela *D. saccharalis* (inseridas 2 lagartas nas folhas), 3- cana-de-açúcar atacada pela *H. taltula* (inseridas 2 lagartas, uma na folha e a outra no substrato contido no vaso próximo a semente (raiz)), 4- cana-de-açúcar atacada pela *T. licus licus* (inserida 1 lagarta no substrato contido no vaso próximo a semente (raiz)). Após 24 horas de ataque (herbívoria) para os devidos tratamentos, foram coletados os compostos voláteis das plantas de cana-de-açúcar listadas acima.

Os compostos voláteis foram coletados das plantas sadias e infestadas pelos lepidópteros pela técnica de aeração (VILELA & DELLA LUCIA, 2001), sendo utilizado o adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,10g; Supelco). As plantas foram colocadas dentro de sacos de poliéster como descrito por STEWART_JONES & POPPY (2006). O ar foi injetado no saco plástico passando antes por um filtro de carvão ativado a um fluxo de 300 mL/min. por planta. Tubos com o Porapak Q foram utilizados no topo do saco e o ar coletado a uma vazão de 300 mL/min., um para cada planta. As plantas ficaram sendo aeradas por 24 horas. Ao término das aerações, os extratos contendo as substâncias voláteis liberadas por cada planta, foram obtidas através do processo de dessorção, passando 500 µL de hexano

(HPLC), bi-destilado, nos tubos contendo o Porapak Q e armazenado a -20°C em um frasco vedado e etiquetado (Amber Vial, Screw Top, 2mL).

3.2.3.2 Caracterização dos compostos.

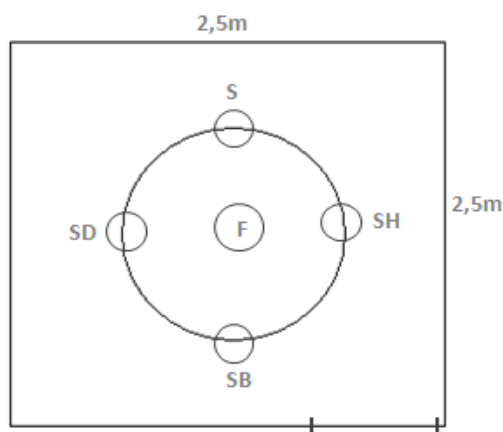
Os extratos foram posteriormente injetados em um sistema de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetria de Massa (CG/EM) QP5050A, usando-se uma coluna DB-5 (30m x 0.25 mm id x 0.25 µm); marca J&W Scientific e tendo Hélio como gás de arraste. A programação da temperatura variou de 30°C a 250 °C com variação de 8 °C/min. As temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 280 °C, respectivamente. Os compostos foram identificados por comparação automática usando-se o banco de dados Wiley MS (Wiley Class 5000, sexta edição) usando o GCMSolution software. Somente os compostos com espectros de massa superior a 85% de similaridade com os espectros de referência foram considerados, semelhante à metodologia descrita por COSTA et al. (2010).

3.2.4 Bioensaios para determinação da preferência de oviposição por *D. saccharalis*

No bioensaio para preferência de oviposição por *D. saccharalis*, foram utilizados os seguintes tratamentos: 1- cana-de-açúcar sadia, 2- cana-de-açúcar atacada pela *Diatraea saccharalis*, 3- cana-de-açúcar atacada pela *Hyponeuma taltula*, 4- cana-de-açúcar atacada pela *Telchin licus licus*. Para cada tratamento foram realizadas 15 repetições.

Quatro plantas de cana-de-açúcar, variedade RB867515, com um mês de idade fenológica foram dispostas em forma de círculo (uma de cada tratamento) por telado (2,5mx2,5mx2,5m). No centro do círculo foram liberadas 4 fêmeas de *D. saccharalis* comprovadamente acasaladas, a uma temperatura de 27±3°C, UR de 70±10%, 12 horas de fotofase, condições de campo (Figura 1). Após 48 horas da liberação, foi realizada a quantificação das posturas e dos ovos presentes nas canas, semelhante à metodologia descrita por MESQUITA et al. (2011).

Figura 1- Distribuição dos tratamentos no bioensaio de preferência de ovoposição. S-Cana-de-açúcar; SD- Cana-de-açúcar + *Diatraea saccharalis*; SH- Cana-de-açúcar + *Hyponeuma taltula*; SB- Cana-de-açúcar + *Telchin licus licus*; F-Fêmeas de *D. saccharalis* comprovadamente acasaladas.



3.2.5 Teste de olfatométria envolvendo o parasitóide *C. flavipes*

Os bioensaios foram realizados em olfatômetro de dois braços com fluxo de ar de 250mL/min, sem opção de escolha, como descrito por MESQUITA et al. (2011) (Figura 2), em condições de laboratório, a temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

Em cada braço do olfatômetro em “Y”, foram introduzidos discos de papel filtro ($\Phi = 1,5\text{cm}$) impregnados com 10 μL dos extratos, um por vez. Para o bioensaio utilizando-se a planta, foi seguida a mesma metodologia da aeração citada em no tópico 2.3, mas no lugar de inserir o tubo com adsorvente foi inserida uma pipeta de Pasteur oriunda por planta e conectada ao sistema citado.

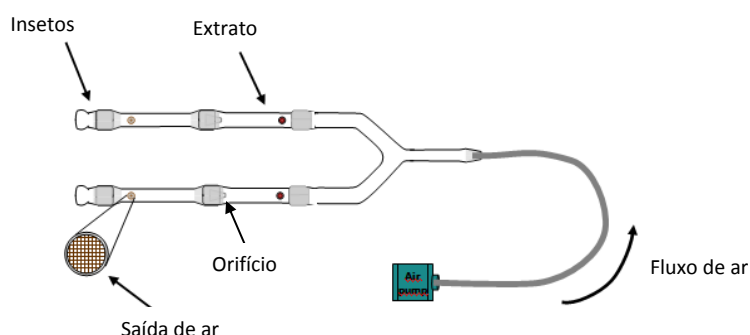
Foram quantificados os insetos que ultrapassavam o orifício localizado no centro de cada braço, localizado a 40cm do local onde foram inseridos os insetos, em cada bioensaio foram utilizadas 10 fêmeas de *C. flavipes* sendo 15 repetições por tratamento (extrato obtido por aeração ou planta).

A cada troca de tratamento o sistema era lavado com álcool etílico e as fêmeas de *C. flavipes* eram descartadas. Os bioensaios foram conduzidos durante 20 minutos e no intervalo de 8 horas e 11 horas da fotofase. A posição dos

tratamentos nas câmaras foi invertida, sempre que se usava o tratamento e o controle com intuito de evitar algum efeito de habituação.

Os tratamentos utilizados foram os Extratos: 1- cana-de-açúcar, 2- cana-de-açúcar atacada pela *Diatraea saccharalis*, 3- cana-de-açúcar atacada pela *Hyponeuma taltula*, 4- cana-de-açúcar atacada pela *Telchin licus licus*, 5 – Hexano; Plantas de cana-de-açúcar: 6- sadia, 7- atacada pela *Diatraea saccharalis*, 8- atacada pela *Hyponeuma taltula*, 9- atacada pela *Telchin licus licus* e 10- Hexano.

Figura 2- Olfatômetro em “Y” com fluxo de ar e sem opção de escolha. Dimensões de cada braço do olfatômetro: $\Phi = 3,5\text{cm}$ e $c = 65\text{cm}$, o orifício que demarcou a área de aceitação ou rejeição se encontrava distante do local dos insetos em 40 cm.



3.2.6 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para verificar o pressuposto de normalidade e em seguida ao Teste de Levene para verificar outro pressuposto o de homogeneidade das variâncias dos resíduos, sendo esses pressupostos de parametria.

Quando atendidos os pressupostos os dados obtidos foram submetidos ao teste t student ($p < 0,05$) ou à análise de variância (ANOVA) e teste Scott-Knott para comparações múltiplas ($p < 0,05$). Não sendo atendidos os pressupostos utilizou-se o teste de Kruskal Wallis e teste Dunn's para comparações múltiplas ($p < 0,05$).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Preferência de oviposição por *D. saccharalis*

As fêmeas acasaladas de *Diatraea saccharalis*, com idade entre 24-48h, ovipositaram mais em canas não atacadas por lepidópteros, com média de 1,73 massas e 29,53 ovos (Tabela 1). Tal preferência pode estar relacionada aos compostos voláteis liberados por estas plantas quando atacadas por outros herbívoros. Sabe-se que semioquímicos emitidos por um diverso grupo de plantas mediam processos-chave no comportamento de insetos específicos, promovendo diferentes interações. Por exemplo, odores de mudas de plantas de trigo sem herbivoria atraem grande número de pulgões quando comparados a odores liberados por plantas com alta densidade de pulgões (QUIROZ et al., 1997).

A discriminação feita pelo inseto entre a planta hospedeira é fundamental para o encontro não somente da fonte nutricional adequada, mas também para localização de sítios de oviposição, favorecendo, desta forma, a perpetuação da espécie (CORRÊA & VIEIRA, 2007). De acordo com TASIN et al. (2005) para o comportamento de oviposição existe uma seletividade maior da fêmea na escolha do substrato de postura, e essa acontece porque existe um código químico mais específico que direciona a fêmea ao substrato adequado.

Tabela 1- Oviposição de *Diatraea saccharalis* submetida à bioensaios com plantas e plantas x lepidópteros.

Tratamentos	Média de massas de ovos ± EP #	Média do total de ovos ± EP +
Cana-de-açúcar sadia	1,733±0,21 a	29,533± 2,33 a
Cana-de-açúcar+ <i>Diatraea saccharalis</i>	1,133±0,19 b	12,600± 1,57 b
Cana-de-açúcar+ <i>Hyponomeuta taltula</i>	0,933±0,17 b	7,400± 1,68 c
Cana-de-açúcar+ <i>Telchin licus licus</i>	0,733±0,21 b	5,800± 1,05 c

#Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. + Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Dunn's, a 5% de probabilidade.

A quantidade de ovos de *D. saccharalis*, em menor escala, também foi significativa no tratamento planta atacada pela própria praga, diferindo dos demais tratamentos: plantas atacadas por *Hyponeuma taltula* e por *Telchin licus licus* (Tabela 1). De acordo com os relatos de PROKOPY e ROITBERG (2001) a liberação de voláteis de plantas em resposta a herbívoros pode evitar competições intra-específicas e até mesmo evitar que os herbívoros dirijam-se para sítios nos quais inimigos naturais podem estar presentes. Diferente do obtido por HORIUCHI et al. (2003) em que os compostos voláteis induzidos na planta pela herbívoros de um inseto podem ser atraentes para outras espécies, fazendo com que os mesmos se dirijam a planta atacada e ocasionem mais danos à mesma.

3.3.2 Teste de olfatometria

Verificou-se que a quantidade de fêmeas acasaladas de *C. flavipes* são atraídas pelos voláteis emitidos por plantas e extratos de plantas atacadas por *D. saccharalis* e *H. taltula* de maneira mais significativa do que para plantas sadias e atacadas por *T. licus licus*. Da mesma forma, voláteis emitidos diretamente da planta atacada por *D. saccharalis* foram mais atrativos do que os extratos hexânicos (Tabela 2). Tais resultados condizem com estudos conduzidos por MESQUITA et al. (2011), os quais demonstraram que quando infestadas por *D. flavipennella*, plantas de cana-de-açúcar são mais atrativas do que às sadias para fêmeas de *C. flavipes*.

Odores de plantas exibem uma importante função na comunicação em sistemas tritróficos. Voláteis emitidos por plantas não infestadas possuem uma importante função na comunicação de atração a longa distância para parasitoides em sistemas tritróficos (AGELOPOULOS & KELLER, 1994 a,b; MATTIACCI et al., 1994; NORDLUND et al., 1988; VINSON, 1981; TURLINGS et al., 1991a,b). No sistema tritrófico envolvendo *C. flavipes*, gramíneas não infestadas são atrativas em laboratório (NGI-SONG et al., 1996), porém quando estas plantas são infestadas com brocas elas se tornam muito mais atrativas (NGI-SONG et al., 1996; POTTING et al., 1995), corroborando com o presente estudo.

Tabela 2- Número médio de fêmeas de *Cotesia flavipes* atraídas por extratos hexânicos comparados com os voláteis provenientes da própria planta.

Tratamentos	Médias ± EP	
	Extratos	Plantas
Hexano	0,933± 0,16 aA	1,067±0,13 aA
Cana-de-acúcar	1,067±0,13 aA	1,167±0,12 aA
Cana+ <i>Telchin licus licus</i>	1,000±0,15 aA	1,067±0,15 aA
Cana+ <i>Hyponeuma taltula</i>	1,333±0,12 bA	1,533±0,16 bA
Cana+ <i>Diatraea saccharalis</i>	1,667±0,15 cA	2,067±0,19 cB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si, nas colunas, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si, nas linhas, pelo teste de t student, a 5% de probabilidade.

As respostas encontradas acima reafirmam o fato de que plantas danificadas por herbivoria produzem um perfil de compostos voláteis liberados a partir do local do dano que atuam no comportamento de busca de parasitóides tais como *C. flavipes* e, este perfil, difere daqueles emitidos por plantas sadias ou danificadas mecanicamente (PARÉ & TUMLINSON, 1999). Neste caso, sendo as plantas vivas atacadas pela *D. saccharalis*, mais atrativas do que os extratos obtidos das mesmas, reforçando o fato de que o complexo de compostos voláteis é mais rico na primeira situação, onde as plantas provavelmente produzem tais compostos em maiores quantidades.

Comparando a resposta de *C. flavipes* entre plantas infestadas por *D. saccharalis* e *H. taltula*, também é possível verificar que ocorre preferência pelo primeiro hospedeiro. Embora os compostos voláteis liberados por danos de insetos herbívoros sejam semelhantes entre as várias espécies de plantas estudadas até agora, as misturas de compostos voláteis são bastante distintas, com variação tanto na quantidade de compostos liberados quanto na presença de determinados grupos funcionais (TURLINGS et al., 1998). Assim, a tarefa de encontrar um hospedeiro é mais complicada para o parasitóide quando o hospedeiro se alimenta de várias espécies diferentes de plantas ou de partes diferentes de uma mesma planta, como é o caso de *D. saccharalis* e *H. taltula*, onde a primeira se alimenta do colmo acima da raiz e a segunda nas proximidades da mesma.

As vespas têm ultrapassado esse obstáculo, desenvolvendo a capacidade de localizar os sinais químicos associados com a presença de um hospedeiro (LEWIS & TUMLINSON, 1988). Os compostos a que uma vespa fêmea é exposta durante as interações com o seu hospedeiro natal a familiariza com o local onde ele se encontra. Uma experiência bem-sucedida aumenta a resposta da vespa a compostos químicos emitidos pelo complexo planta-hospedeiro. Por exemplo, uma experiência de oviposição aumenta significativamente o vôo orientado e resposta de pouso das fêmeas do pulgão-parasitóide *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) em relação àqueles que nunca ovipositaram, mas que foram expostos a plantas hospedeiras não danificadas ou danificadas (DU et al., 1997). Isso ressalta a importância da experiência de oviposição, em combinação com sinais da planta hospedeira danificada. Curiosamente, vespas fêmeas também podem reconhecer odores voláteis associados às fontes de alimentos e usá-las para encontrar o alimento necessário (LEWIS & TAKASU, 1990).

Após a localização de plantas infestadas, *C. flavipes* utiliza o frass do hospedeiro para direcionar sua busca. Estudos vêm demonstrando que plantas nas quais as brocas se alimentaram, e foram, portanto contaminadas com frass larval após a remoção da larva do herbívoro, foram muito mais atrativas em relação a plantas sem estes sinais, os quais, possivelmente, atuam como atraentes a curta distância para o parasitóide (NGI-SONG & OVERHOLT, 1997).

Ainda assim, a atração de fêmeas de *C. flavipes* por *H. taltula*, mesmo sendo menos intensa do que para *D. saccharalis*, reforça uma hipótese que alguns parasitóides podem atacar espécies não-alvo (BOETTNER et al., 2000), porém este ataque depende do hábito alimentar do herbívoro, ou seja, se os hospedeiros alimentam-se da mesma espécie de planta, a resposta do parasitóide para o complexo planta-hospedeiro é ampliada para o ataque de outros insetos-alvo, independente do sucesso do parasitismo (NGI-SONG et al., 1995; OVERHOLT et al., 1997).

3.3.3 Caracterização dos compostos voláteis

Das análises utilizando CG-EM (Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa) observaram-se os compostos orgânicos voláteis coletados em plantas sem infestação, infestada com *T. licus licus*, com *H. taltula* e com *D. saccharalis* (Tabela 3).

Tabela 3- Identificação dos Compostos Orgânicos Voláteis* (COVs) liberados por cana-de-açúcar (S), pela de cana-de-açúcar atacada por *D. saccharalis* (SD), pela de cana-de-açúcar atacada por *H. taltula* (SH) e pela de cana-de-açúcar atacada por *T. licus licus* (SB).

Compostos	S	SD	SH	SB
	Continua			
1-Hepteno	X	X	X	
β-ocimeno		X	X	X
1,2-Dietil Benzeno			X	
n-Decano	X	X	X	X
n-Undecano	X	X	X	X
n-Dodecano	X	X	X	X
n-Tridecano	X	X	X	X
n-Tetradecano	X	X	X	X
Metanol	X	X	X	X
2-Hexanol	X	X	X	X
1-Heptanol	X	X	X	
5-Metil-1-Hexanol	X		X	
(Z ou E)-3-Hexen-1-ol	X	X	X	X
3-Hexeno-2,5-diol	X	X		X
2,3-Butanodiol		X	X	
3,7-Octadien-2-ol		X	X	
Fenol		X	X	X
1-Nonanol	X	X	X	
3-Metil-3-Buten-2-ol	X	X		
1-Octanol				X
Hexanal	X	X	X	X
(Z ou E)-2-Hexenal		X		

n-Octanal		X	X		
Nonanal	X				
4-Etilbenzaldeído	X	X	X	X	
n-Decanal	X				
2-Dodecenal	X				
3-Etilacetofenona	X	X	X	X	
2-Butanona		X			X
2-Hexanona	X	X	X	X	
5-Hexen-2-ona	X	X	X	X	
3-Metil-2-Heptanona	X	X			
3,4-Dimetil-2-Hexenona	X				
3-Etil-3-Buten-2-ona	X				
4-Metil-2,3-Pentanodiona	X	X			
4-Octen-3-ona		X	X		
3-Metil-3-Buten-2-ona				X	
5-Metil-2-Hexanona				X	
Acetato de Isobutila	X	X	X	X	
Acetato de (Z ou E)-3-Hexenila	X	X	X	X	
(Z e E) Acetato de 3-Hexen-1-ol		X	X		
(E) Acetato de 2-Hexen-1-ol					X
1,4-Diacetato de 1,2,4-Butanotriol		X			
Diacetato de 2-Buten-1,4-diol		X	X	X	

*Indicativos.

Os resultados mostraram que houve diferenças qualitativas entre as plantas com e sem infestação. Os compostos, comuns apenas para plantas de cana-de-açúcar sem infestação, identificados por tentativas foram o Nonanal; n-Decanal; 2-Dodecenal; 3,4-Dimetil-2-Hexenona; 3-Etil-3-Buten-2-ona (Tabela 3). Ao analisar os voláteis provisoriamente identificados liberados por planta de cana-de-açúcar infestada por *D. saccharalis*, verificou-se que os compostos comuns a essa interação foram o (Z ou E)-2-Hexenal e 1,4-Diacetato de 1,2,4-Butanotriol (Tabela 3). Já os compostos 1,2-Dietil Benzeno; 3-Metil-3-Buten-2-ona; 5-Metil-2-Hexanona

foram comuns a interação da planta de cana-de-açúcar com a praga *H. taltula* (Tabela 3). Os compostos voláteis 1-Octanol; Acetato de (E)-2-Hexen-1-ol foram os compostos comuns, provenientes de planta de cana-de-açúcar infestada por *T. licus licus* (Tabela 3). Os compostos voláteis n-Decano; n-Undecano; n-Dodecano; n-Tridecano; n-Tetradecano; Metanol; 2-Hexanol; (Z ou E)-3-Hexen-1-ol; Hexanal; 4-Etilbenzaldeído; 3-Etilacetofenona; 2-Hexanona; 5-Hexen-2-ona; Acetato de Isobutila, Acetato de (Z ou E)-3-Hexenila foram detectados por tentativas em todos os tratamentos citados (Tabela 3). Os compostos β -ocimeno; Fenol; Diacetato de 2-Buten-1,4-diol foram encontrados nas interações entre cana-de-açúcar e os herbívoros *T. licus licus*, *D. saccharalis* e *H. taltula* (Tabela 3). Os compostos comuns às interações entre cana-de-açúcar e *D. saccharalis* e *H. taltula* foram 2,3-Butanodiol; 3,7-Octadien-2-ol; n-Octanal; 4-Octen-3-ona; (Z e E) Acetato de 3-Hexen-1-ol (Tabela 3). De acordo com CHEN (2008) e KESSLER & BALDWIN (2002) quando relatam que as plantas possuem defesa do tipo indireta que incluem características nas plantas que por si só não afetam a suscetibilidade de planta hospedeira, mas podem servir como atrativos para inimigos naturais do inseto herbívoro. Está de acordo também com relatos de SIENFELD & PANDIS (1998), que afirmam que os compostos orgânicos voláteis (COVs) encontrados na emissão de plantas incluem: os hidrocarbonetos saturados e insaturados e os hidrocarbonetos oxigenados, tais como ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas, éteres, ésteres e álcoois. TINGEY et al. (1991) citam que tais compostos são emitidos pelas plantas para a atmosfera como mecanismo de defesa contra o ataque de herbívoros e contra a invasão de outras espécies de plantas. DEGEN et al. (2004) relatam que a emissão de voláteis de plantas atacadas por herbívoros acontece em quantidades consideráveis, podendo variar de forma quantitativa e/ou qualitativa entre plantas saudáveis ou danificadas mecanicamente. PARÉ & TUMLINSON (1997) citam que logo após o ataque do herbívoro, as plantas liberam alguns voláteis provenientes da via metabólica lipoxigenase, como o (Z)-3-Hexenal, (E)-2-Hexenal e os isômeros do Butirato de Hexenila. E em algumas horas após a herbivoria as plantas sintetizam alguns terpenos, tais como (E,E)- β -farneseno, (E)- β -ocimeno, (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno e (E,E)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno, os quais foram determinados nas plantas de milho danificada por *Spodoptera frugiperda*.

ENGELBERTH et al. (2004) relataram que os voláteis emitidos por folhas verdes de milho (Z)-3-Hexenaldimetilacetil, (Z)-3-hexen-1-ol e Acetato de (Z)-3-hexenila por serem atraentes ao herbívoro *Spodoptera exigua* podem ser utilizados na forma de mistura junto ao regurgito da praga referida para aumentar indução de respostas de defesa em relação a elicitación das plantas. PENÑAFLORES (2010) cita que os compostos (Z)-3-Hexenal; (E)-2-Hexenal; (E)-3-Hexen-1-ol e Acetato de (Z)-3-Hexenila são emitidos pelas plantas de milho.

Em relação aos resultados obtidos com os voláteis de plantas infestadas por *D. saccharalis* e por *H. taltula*, que atraíram o parasitóide larval *C. flavipes*, poderia ser devido à presença de um ou da mistura de um dos compostos voláteis comuns a essas interações (Tabela 3).

Deste modo, os resultados do presente estudo demonstraram que voláteis emitidos por plantas de cana-de-açúcar atacadas por diferentes hospedeiros, influenciam diretamente no comportamento de oviposição do herbívoro *D. saccharalis*, o qual prefere plantas não atacadas. Por sua vez, fêmeas de *C. flavipes* são mais atraídas por plantas infestadas pelo próprio hospedeiro, apesar de também exibir comportamento de busca pela praga *H. taltula*, fato este que deve ser investigado quanto à adequação deste hospedeiro ao parasitóide e sua possível utilização no controle desta praga.

3.4 Conclusões

Fêmeas comprovadamente acasaladas de *D. saccharalis* têm preferência de oviposição por plantas de cana-de-açúcar isentas de infestação, e em menor escala por planta infestada pela própria praga.

Fêmeas acasaladas de *C. flavipes* são atraídas por voláteis emitidos por plantas de cana-de-açúcar infestadas por *D. saccharalis* e em menor escala por *H. taltula*.

A utilização dos voláteis emitidos pelas plantas atacadas por *D. saccharalis* é mais eficiente no comportamento de busca do parasitóide do que àqueles emitidos por extratos hexânicos provenientes das mesmas.

REFERÊNCIAS

- AGELOPOULOS, N. G.; KELLER, M. A. Plant-natural enemy association in the tritrophic system, *Cotesia rubecula*-*Pieris rapae*-Brassicaceae (Crucifera): I. Sources of Infochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, p. 1725-1734, 1994a.
- _____; _____. Plant-natural enemy association in the tritrophic system, *Cotesia rubecula*-*Pieris rapae*-Brassicaceae (Crucifera): I I I. Collection and identification of plant and frass volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, p. 1955-1967, 1994b.
- BALDANI, J. I.; et al. Brief story of nitrogen fixation in sugarcane - reasons for success in Brazil. **Functional Plant Biology**, v. 29, p. 147-423, 2002.
- BARBOSA, G. V. S. Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da RIDESA para o Brasil e Atuação no Nordeste. In: Seminário Latino-Americano sobre cana-de-açúcar. **Mostra FENASUCRO Nordeste**. Olinda-PE, 2009. p. 1-2.
- BOETTNER, G. H.; ELKINTON, J. S.; BOETTNER, C. A. Effects of a biological control introduction on three non-target native species of saturniid moths. **Conservation Biology**, v. 14, p. 1798–1808, 2000.
- BOIÇA JÚNIOR, A. L.; LARA, F. M.; BELLODI, M. P. Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 537-542, 1997.
- BOTELHO, P. S. M.; MACEDO, N. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, PSM, CORRÊA-FERREIRA, BS, BENTO, JMS. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole. cap. 25, 2002. p. 409-426.
- CARVALHO, L. W. T. DE et al. Incidência de *Mahanarva fimbriolata* después de aplicaciones de *Metarhizium anisopliae* e imidacloprid en caña de azúcar. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 1, p. 20-26, 2011.
- CHEN, M. S. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. **Insect Science**. v. 15, p. 101-114, 2008.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar/Safra 2010/2011, Brasília, 2011, 17p.
- CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. 2 edição. São Carlos: EdUFSCar, v. 3, 2007. p. 150.
- COSTA, J. G. et al. Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 299-307, 2010.

DEGEN, T. et al. High genetic variability of herbivore-induced volatile emission within a broad range of maize inbred lines. **Plant Physiology**, v. 135, p. 1928–1938, 2004.

DE MORAES, C. M. et al. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, v. 393, p. 570-573, 1998.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Danos causados pelas cigarrinhas-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*) a diversos genótipos de cana-de-açúcar. **STAB Açúcar, Álcool e Subprodutos**, v.17, n.5, p.48-52, 1999.

DU, Y. et al. Chemically mediated associative learning in the host foraging behavior of the apid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 10, p. 509–522, 1997.

ENGELBERTH, J. et al. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**. Washington, v. 101, p. 1781-1787, 2004.

FREITAS, M. R. T. et al. The predominance of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane fields in the State of Alagoas. **Florida Entomologist**, v. 89, p. 539-540, 2006.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os Insetos: um resumo de entomologia**. Editora Roca, 2007.

HORIUCHI, J. I. et al. Lima bean leaves exposed to herbivore-induced conspecific plant volatiles attract herbivores in addition to carnivores. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 38, p. 365-368, 2003.

JEMBERE, B.; NGI-SONG, A. J.; OVERKOLT, W. Olfactory responses of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) to target and non-target Lepidoptera and their host plants. **Biological Control**. v. 28, p. 360-367, 2003.

KALULE, T.; WRIGHT, D. J. The influence of cultivar and cultivar-aphid odours on the olfactory response of the parasitoid *Aphidius colemani*. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, p.120-125. 2004.

KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Plant responses to insect herbivory. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 299-328, 2002.

LEWIS, W. J.; TAKASU, K. Use of learned odors by a parasitic wasp in accordance with host and food-needs. **Nature**, v. 348, p. 635-636, 1990.

_____; TUMLINSON, J. H. Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. **Nature**, v. 331, p. 257-259, 1988.

MACEDO, N.; ARAUJO, J. R. Efeitos da queima do canavial sobre insetos predadores. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n.1, p. 79-84, 2000.

MATTIACI, L.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M. A. Induction of parasitoid attracting synomones in Brussels sprouts plants by feeding of *Pieris brassicae* larvae: Role of mechanical damage and herbivore elicitor. **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, p. 2229-2247, 1994.

MENDONÇA, A. F. **Pragas da Cana-de-Açúcar. Insetos & Cia**, Maceió, 1996.

MESQUITA, F. L. T. et al. Influence of *Saccharum officinarum* (Poales: Poaceae) variety on the reproductive behavior of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) and on the attraction of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). **Florida Entomologist**, v. 94, p. 420-427, 2011.

MOHYUDDIN, A. I.; GREATHEAD, D. J. An annotated list of parasites of graminaceous stem borers in East Africa, with a discussion on their potential in biological control. **Entomophaga**, v. 15, pp. 241–274. 1970.

NGI-SONG, A. J.; OVERHOLT, W. A.; AYERTEY, J. A. Suitability of African gramineous stem borers for development of *Cotesia flavipes* and *C. sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, v. 24, pp. 978–984, 1995.

NGI-SONG, A. J. et al. Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* (Cameron) and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stem borers on Graminae. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 307-323, 1996.

_____; OVERHOLT, W. A. Host location and acceptance by *Cotesia flavipes* (Cameron) and *C. sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of African gramineous stem borers: role of frass and other host cues. **Biological Control**, v. 9, p. 136–142, 1997.

NORDLUND, D. A.; LEWIS, W. J.; ALTIERI, M. A. Influence of plant produced allelochemicals on host–prey selection behavior of entomophagous insects. In: P. Barbosa and D.K. Letourneau, Editors, **Novel Aspects of Insect–Plant Interaction**, Wiley, New York, 1988. p. 65–90.

OVERHOLT, W. A. et al. **Origin of air potato identified**. *Wildland Weeds*. v. 7, 2003. p. 9.

_____ et al. A review of the introduction and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) in East Africa for biological control of cereal stem borers. **Insect Science and Its Application**, v. 17, pp. 79–88, 1997.

PARE, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatile signals in response to herbivore feeding. **Florida Entomologist**, v. 79, p. 93-103, 1996.

PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J.H. Induced synthesis of plant volatiles. **Nature**, v. 385, p. 30-31, 1997.

PENÃFLOR, M. F. G. V. **Interações planta-herbívoro-parasitóides de ovos mediadas por voláteis de milho (*Zea mays* L.) e odores de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**. 2010, 116 f. Tese (Doutorado)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". São Paulo, 2010.

POLASZEK, A.; WALKER, A. K. The *Cotesia* species complex: parasitoids of cereal stem borers in the tropics. **Redia**, v. 74, p. 335-41, 1991.

POTTING, R. P. J.; VET, L. E. M.; DICKE, M. Host microhabitat location by stem-borer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 525-539, 1995.

PROKOPY, R. J.; ROITBERG, B. D. Joining and avoidance behavior in non-social insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 631-665, 2001.

QUIROZ, A. et al. Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, feeding on cereals. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, p. 2599-2607, 1997.

RAMASWAMY, S. B. Host finding by moths: sensory modalities and behaviors. **Journal of Insect Physiology**, v. 34, p. 235-49, 1988.

RENWICK, J. A. A.; CHEW, F. S. Oviposition in Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 39, p. 377-400, 1994.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 211-213, 305-306.

ROSENBLUETH, M.; MARTINEZ-ROMERO, E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. **Molecular Plant and Microorganisms Interactions**, v. 8, p. 827-837, 2006.

SHIOJIRI, K. et al. Changing green leaf volatile biosynthesis in plants: An approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, U. S. A. v. 103, p. 16672-16676, 2006.

SIENFELD, J. H.; PANDIS, S. N. Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change. **John Wiley & Sons**, New York, p. 234-336, 1998.

STEINBERG, S.; DICKE, M.; VET, L. E. M. Relative importance of infochemicals from first and second trophic level in long-range host location by the larval parasitoid *Cotesia glomerata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, p. 47-59, 1993.

STEWART-JONES, A.; POPPY, G. M. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, p. 845-864, 2006.

STORECK, A. **Learning and memory in the aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae)**. 2002, 108 f. (Ph.D). Reading, UK: The University of Reading, 2002.

STROBEL, G.; DAISY, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 67, n. 4, p. 491-502, 2003.

TASIN, M. et al. Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 77, 2005.

THOMPSON, J. N.; PELLMYR, O. Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 36, p. 65-89, 1991.

TINGEY, D. T.; TURNER, D. P.; WEBER, J. A. Factors controlling the emissions of monoterpenes organic compounds. *In* **Trace gas emissions by plants** (T.D. Sharkey, E. Holland & H. Mooney, ed.). Academic Press, San Diego, 1991. p. 93-115.

TUMLINSON, J. H.; TURLINGS, T. C. J.; LEWIS, W. J. Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insects. **Archives of insect biochemistry and physiology**, v. 22, p. 385-391, 1993.

TURLINGS, T. C. J.; et al. Timing of Induced Volatile Emissions in Maize Seedlings. **Planta**, v. 207, p. 146-152, 1998.

_____ et al. Isolation and identification of allelochemicals that attract the larval parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Cresson), to the microhabitat of one of its hosts. **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, p. 2235-2251, 1991a.

_____ et al. Larval-damaged plants: source of volatile synomone that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the micro-habitat of its hosts. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 58, p. 75-82, 1991b.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos (Biologia, Química e Aplicação)**. Editora Holos. 2 ed, 2001. 206p.

VINSON, S. B. 1981. Habitat location. In: D.A. NORDLUND, R.L. JONES AND W.J. LEWIS, Editors, **Semiochemicals: Their Role in Pest Control**, Wiley, New York, 1981. 306p.

VISSER, J. H. Host odor perception in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 13, p. 121-144, 1986.

APÊNDICE B

Figura 1- Pedacos (4-5 cm) de cana-de-açúcar, variedade RB867515, contendo uma gema.



Figura 2- Canas plantadas em mini vasos (h=10cm x Φ =12cm) contendo substrato marca plantmax, etiquetadas, irrigadas diariamente com 25mL de água, até atingir a idade de um mês de idade fenológica ou altura entre 30cm e 40cm. Temperatura de $27\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, 12 horas de fotofase.



Figura 3- Comparação de lagartas de *D. saccharalis*. A- ultima fase larval. B – lagarta com 12 a 13 dias de idade.

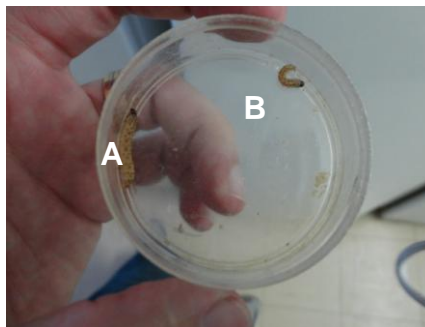


Figura 4- Comparação de lagartas de *T. licus licus*. A- última fase larval. B– lagarta com 38 a 40 dias de idade.

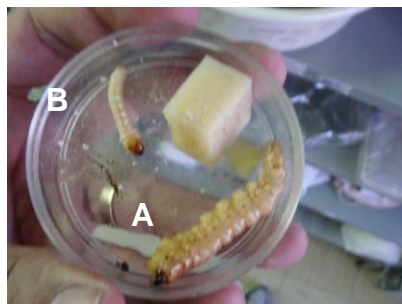


Figura 5- Comparação de lagartas de *H. taltula*. A- última fase larval. B- lagarta com 15 a 17 dias de idade.

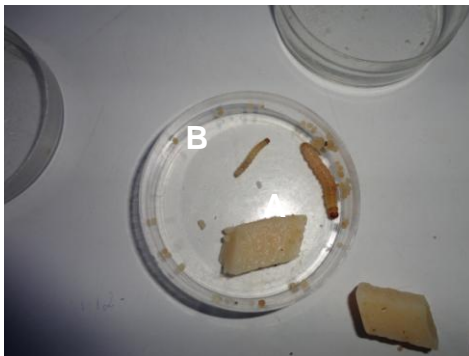


Figura 6- Processo de aeração das plantas. Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 5\%$, fotofase 12h.



Figura 7- Planta de cana-de-açúcar, variedade RB867515, com um mês de idade fenológica ou altura entre 30cm e 40cm, sendo aerada. Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 5\%$, fotofase 12h.



Figura 8- Bioensaio de preferência de oviposição de *D. saccharalis* por plantas atacadas ou não por lepidópteros. Temperatura de $27\pm 3^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$, 12 horas de fotofase, condições de campo.



Figura 9- *Cotesia flavipes*, criadas em *D. saccharalis*. A- Recipientes contendo adultos machos e fêmeas de *C. flavipes*. B- Sexagem de fêmeas de *C. flavipes*. (fornecidas gentilmente pela usina Triunfo).

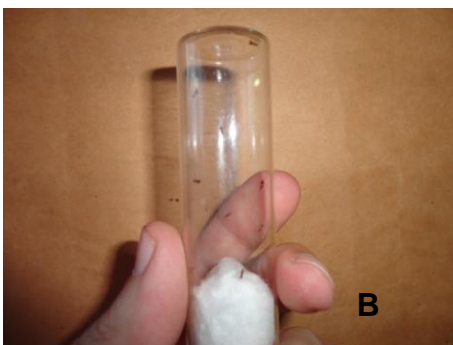
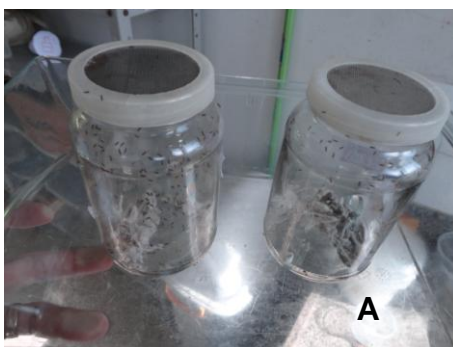


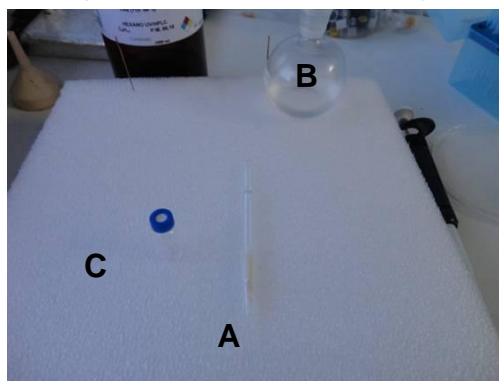
Figura 10- Bioensaio de olfatometria utilizando extratos hexânicos de plantas atacadas ou não por lepidópteros no comportamento de busca de fêmeas de *Cotesia flavipes*. Temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.



Figura 11- Bioensaio de olfatometria utilizando plantas atacadas ou não por lepidópteros no comportamento de busca de fêmeas de *Cotesia flavipes*. Temperatura de $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.



Figura 12- Material utilizado na extração dos compostos voláteis das plantas de cana-de-açúcar infestadas ou não infestadas pelos lepidópteros *T. licus licus*, *H. taltula* e *D. saccharalis*. A- Adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,10g; Supelco). B- Hexano (HPLC) bi-distilado. C- frasco vedado e etiquetado contendo extrato (Amber Vial, Screw Top, 2mL).



4 EFICIÊNCIA DE BACULOVÍRUS SOBRE A MORTALIDADE DE LAGARTAS NEONATAS DE *Diatraea flavipennella*.

RESUMO

Por compreender o maior grupo de vírus de insetos, o baculovirus vem sendo bastante utilizado como bioinseticida, sendo uma alternativa aos agroquímicos. Tendo em vista a escassez de informações sobre o efeito na ingestão de *Baculovirus spodoptera* (Bs) pela *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae), este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de três isolados do Bs sobre a mortalidade da *D. flavipennella*. Foram utilizadas 56 lagartas neonatas por tratamento, agrupadas em 4 repetições de 14 lagartas, totalizando 224 lagartas por experimento. Os isolados foram escolhidos em decorrência da sua agressividade e mortalidade em lepidópteros, dentre os quais foram testados o Isolado 6, Isolado 18 e Isolado 19, nas concentrações de 10^9 poliedros mL^{-1} por tratamento. Até o 13º dia, a mortalidade foi avaliada diariamente, e as lagartas infectadas foram congeladas logo após sua morte para confirmação da presença dos poliedros utilizando microscópio ótico, com aumento de 400 vezes. Os resultados mostraram que os isolados de *B. spodoptera* I-6, I-18, I-19 diferiram em relação a número de lagartas vivas, quando comparados isoladamente com a testemunha pela análise de sobrevivência. As porcentagens de eficiência do I-18 e I-6 foram superiores, diferindo do I-19. Os isolados I-18 e I-6 podem ser considerados como bioinseticida para o controle de *D. flavipennella*.

Palavras-chave: Vírus, Broca-pequena, Cana-de-açúcar, Controle biológico.

ABSTRACT

Baculovirus is the largest group of insect viruses, and has been widely used as a bio-insecticide, being an alternative to chemical pesticides. Due to the lack information of the effect of *Baculovirus spodoptera* (Bs) on *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae) mortality, this study aimed to evaluate the efficiency of three isolates of the Bs on the mortality of *D. flavipennella*. 56 neonate larvae were used per treatment, divided into 4 replicates of 14 larvae, totaling 224 larvae per experiment. The isolates were chosen because of its aggressiveness and mortality in Lepidoptera, among which 6 were tested the Isolated, Isolated Isolated 19 and 18 at concentrations of 10^9 polyhedra.mL⁻¹ per treatment. By the 13th day, mortality was assessed daily, and the infected larvae were frost after death to confirm the presence of polyhedra using an optical microscope with 400 times magnification. The result set obtained showed that the I-6, I-18, I-19 isolates of *B. spodoptera* differed in relation to the number of larvae living alone when compared with the control by survival analysis. The percentage of efficiency of I-18 and I-6 were higher, differing from I-19. The isolated I-18 and I-6 can be considered as bio-insecticide for the control of *D. flavipennella*.

Keywords: Viruses, Small borer, Sugarcane, Biological control.

4.1 Introdução

A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum*, é uma das culturas mais abundantes em regiões tropicais sendo desta forma, importante no contexto sócio-econômico mundial (UNICA, 2010). Na lista de ordem mundial, dos 80 países produtores de cana-de-açúcar o Brasil lidera com cerca de 26%. A produção nacional esta mais concentrada na região sudeste, com Estado de São Paulo liderando com 4.300 mil hectares de área plantada; o Estado de Alagoas ocupa a sexta posição no rank nacional e é o primeiro na região Nordeste com 430 mil hectares de área colhida, na safra 2010/2011 (CONAB, 2011).

De acordo com a indústria canavieira, um dos fatores de grande importância para redução e expressão do potencial produtivo da cana-de-açúcar é o ataque de pragas. O complexo de espécies pertencentes ao gênero *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae) representa, devido aos danos causados, um dos principais problemas para esta cultura (MENDONÇA, 1996). Levantamentos apontam a dominância específica da espécie de *Diatraea flavipennella* nas áreas canavieiras do Nordeste do Brasil (FREITAS et al., 2007).

Os baculovírus compreendem o maior grupo de vírus entomopatogênicos (MOSCARDI, 1998) e são usados, desde a década de 70, como uma alternativa ao controle químico de lepidópteros no Brasil. Esse grupo de vírus, pertence à Família Baculoviridae, foi detectado em 1972 no Sudeste do Brasil e posteriormente em outras regiões (MOSCARDI, 1984). Os baculovírus ocorrem naturalmente no agroecossistema e infectam lagartas de lepidópteros, quando estas se alimentam de folhas contaminadas (SOSA-GOMEZ, 1995).

Naturalmente, mais de 700 espécies de artrópodes são infectados por esse grupo de vírus, os baculovírus (O'REILLY et al., 1992). Existem baculovírus isolados da ordem Hymenoptera, Diptera, Coleoptera, Orthoptera, Neuroptera, Trichoptera, mas a maioria foram isolados da ordem Lepidoptera (ADAMS & MCCLINTOCK, 1991).

Em geral, a infecção se inicia logo após a ingestão de poliedros pela lagarta levando a uma série de mudanças comportamentais e morfológicas, que culminam na morte da larva após alguns dias. Ao chegar ao intestino médio do inseto, o vírus

é submetido a pH alcalino que dissolve a poliedrina, liberando os vírions no lúmen digestivo. As partículas infectivas penetram nas células epiteliais do intestino médio via fusão de membrana, mediada por receptores específicos (HORTON & BURAND, 1993). Os nucleocapsídeos são transportados ao núcleo, onde são desnudados, liberando o DNA, durante o período de uma hora após a infecção. As alterações nas lagartas começam entre 48 e 78 horas após a infecção, quando se inicia uma redução na alimentação e retardamento do crescimento do inseto, muitas vezes não havendo mudança de ínstar (VOLKMAN & KEDDIE, 1990).

Dentre os isolados de *Baculovirus spodoptera* mais estudados e eficientes no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), destacam-se os isolados 6, 18 e 19. O isolado 6 de *B. spodoptera* possui uma característica única pelo fato de não causar o rompimento do tegumento da lagarta morta imediatamente após a sua morte. Sendo este um dos fatores que mais facilitam o sistema de produção em larga escala em laboratórios e biofábricas (VALICENTE et al., 2010).

Por serem mais seletivos, mais seguros ao aplicador e por não poluírem o meio ambiente como os agrotóxicos, os bioinseticidas podem ser utilizados como uma alternativa verdadeiramente ecológica e sustentável. Os baculovirus são específicos a uma ou poucas espécies relacionadas (GRÖNER, 1986), sendo esses considerados bons candidatos a serem usados em estratégias de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (TANADA & KAYA, 1993).

Tendo em vista a escassez de informações sobre a eficiência de isolados de *Baculovirus spodoptera* (Bs) no controle de *D. flavipennella*, este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade de três isolados do Bs sobre lagartas neonatas da referida praga.

4.2 Material e métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG; em sala climatizada com temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70\pm 10\%$ e 12 horas de fotofase.

4.2.1 Obtenção do material biológico

4.2.1.1 Obtenção dos ovos de *Diatraea flavipennella*

Os ovos da broca *Diatraea flavipennella* foram cedidos gentilmente pela Usina Triunfo Agroindustrial localizada no município da Boca da Mata, Estado de Alagoas, a 132 m de altitude e coordenadas geográficas de 09° 38' 27,6" de latitude sul e 36° 13' 12,0" de longitude oeste, Brasil.

4.2.1.2 Obtenção e escolha dos isolados de *Baculovirus spodoptera*

Os isolados foram escolhidos em decorrência da sua agressividade e mortalidade em lepidópteros, dentre os quais foram testados o Isolado 6 (I-6), Isolado 18 (I-18) e Isolado 19 (I-19). Esses se encontravam armazenados na formulação em pó molhável, foram diluídos em água destilada e posteriormente quantificados em microscópio ótico, com aumento de 400 vezes, até a obtenção das concentrações, em poliedros mL⁻¹ (que foram utilizadas como tratamentos) (Tabela 1). Segundo BARRETO et al. (2005) o Banco de Baculovírus da Embrapa possui 22 isolados do *Baculovirus spodoptera* que podem ser usados no controle de *S. frugiperda*.

Tabela 1- Tratamentos utilizados para avaliar mortalidade de lagartas neonatas de *D. flavipennella*. Em todos foram acrescentado 0,01% de Tween® 80.

Tratamentos	Local de Isolamento	Concentrações (poliedros.mL ⁻¹)
Isolado 6 (I-6)	Cascavel-PR	2,1 .10 ⁹
Isolado 18 (I-18)	Sete Lagoas-MG	2,6 .10 ⁹
Isolado 19 (I-19)	Sertaneja-PR	3,0 .10 ⁹
Água destilada (Testemunha)	-	-

4.2.2 Bioensaios

Antes da aplicação por imersão da suspensão em pedaços retangulares de folhas de cana-de-açúcar de 1cm x 1,5 cm, acrescentou-se o espalhante adesivo Tween® 80 (0,01%) com intuito de melhor distribuição da solução na área a ser consumida pela praga. Após a aplicação dos tratamentos, esperou-se até que a área a ser consumida ficasse menos úmida a fim de evitar mortalidade por imersão de lagartas no líquido (suspensão).

As lagartas ficaram expostas ao baculovírus por 24 horas. A suspensão do bioinseticida foi aplicada sobre pedaços retangulares de folhas de cana-de-açúcar de 1cm x 1,5 cm, previamente lavadas com Hipoclorito de Sódio (0,1%) e depois com água destilada. Após a exposição os pedaços de folhas foram retirados e trocados por dieta utilizada para criação de *Diatraea saccharalis* (Tabela 2) a qual as lagartas foram mantidas até o final do bioensaio, sendo trocadas a cada 48 horas.

Tabela 2- Constituição da dieta de alimentação de *Diatraea saccharalis*.

Composição	Dieta
Produtos Sólidos	Quantidade
Cloreto de colina	0,2g
Sacarose (açúcar)	22,0g
Farelo de soja	25,0
Germen de trigo	8,0g
Ácido Ascórbico	1,0 g
Ácido sorbico	0,6 g
Nipagin	1,1 g
Agar	9,4 g
Produtos Líquidos	Quantidade
Solução vitamínica	6,0 ml
Vita Gold	0,2 ml
Antibiótico (Ampicilina)	1,0 ml
Formol	0,6 ml
Ácido acético	2,5 ml
Água (panela)	300 ml
Água (liquidificador)	250 ml

O experimento foi conduzido até o 13^o dia com avaliações diárias para quantificar as lagartas mortas. Para verificar a infecção das lagartas foram observados os sintomas citados por WHITLOCK (1974) e ALVES (1998):

descoloração, clareamento da epiderme (palidez), diminuição na alimentação (falta de apetite) e rompimento do tegumento, característicos do ataque de baculovírus.

Para constatar se as lagartas morreram em função da atuação do baculovírus ou não, cada lagarta morta foi separada por tratamento e mantida em freezer até o final do experimento, quando as mesmas foram maceradas e em seguida examinadas em Câmara de Neubauer em microscópio óptico, com aumento (zoom) de 400 vezes, para a verificação da presença ou não dos poliedros e quantificação, metodologia semelhante à utilizada por ALVES et al. (2001).

4.2.3 Delineamento experimental e análise estatística

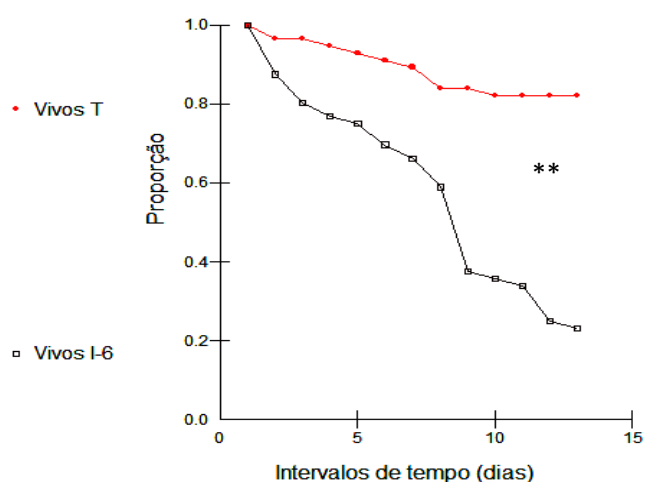
O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos: Testemunha- água destilada e Tween 80(0,01%), Isolado 6 (I-6) do *B. spodoptera* e Tween 80(0,01%), Isolado 18 (I-18) do *B. spodoptera* e Tween 80(0,01%); e Isolado 19 (I-19) do *B. spodoptera* e Tween 80(0,01%). Cada isolado foi composto por quatro repetições de 14 lagartas. Foram utilizadas 56 lagartas neonatas de *D. flavipennella* por tratamento, totalizando 224 lagartas por experimento.

Para a análise de sobrevivência comparou-se: Testemunha e Isolado 6, Testemunha e Isolado 18 e Testemunha e Isolado 19, utilizando para essas comparações o teste de qui-quadrado ($p < 0,01$). Utilizou-se o cálculo para porcentagem de eficiência corrigida pela fórmula de ABBOTT (1925). Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para verificar o pressuposto de normalidade e em seguida ao Teste de Levene para verificar outro pressuposto o de homogeneidade das variâncias dos resíduos, sendo esses pressupostos de parametria. Sendo atendidos os pressupostos utilizaram-se os testes de Kruskal Wallis e o teste Dunn's para comparações múltiplas ($p < 0,05$).

4.3 Resultados e discussão

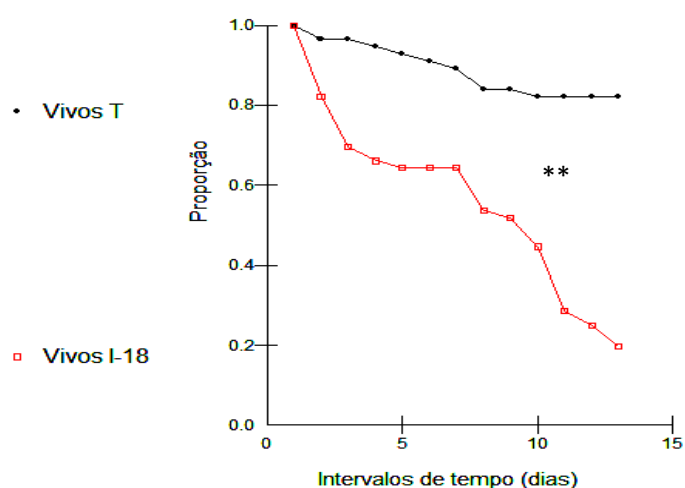
Ao avaliar as lagartas submetidas à ingestão do Isolado I-6 (Figura 1) verificou-se que as mesmas apresentaram as características de infecção por baculovírus tais como descoloração e falta de alimentação, não havendo rompimento do tegumento, sintoma característico desse isolado de acordo com VALICENTE et al., (2008). O pico de mortalidade ocorreu entre o sétimo e o nono dia. Utilizando-se a suspensão com I-6 observou-se que após 13 dias 24,3% das lagartas testadas sobreviveram. Ao comparar este tratamento isoladamente com a testemunha (Figura 1) observou-se que houve diferença significativa.

Figura 1- Análise de sobrevivência, pelo teste de Log-Rank (D. Collett), de lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada e alimento mais isolado I-6 do *Baculovirus spodoptera*. A análise foi feita pelo teste de Log-Rank (D. Collett) e a comparação dos tratamentos foi realizada pelo teste Qui-quadrado (WL) ($p < 0,01$).



Observou-se descoloração, falta de alimentação e rompimento do tegumento das lagartas submetidas à ingestão do isolado I-18 (Figura 2), sintomas esses observados quando o mesmo é submetido à *B. spodoptera* de acordo com VALICENTE & CRUZ, (1991).

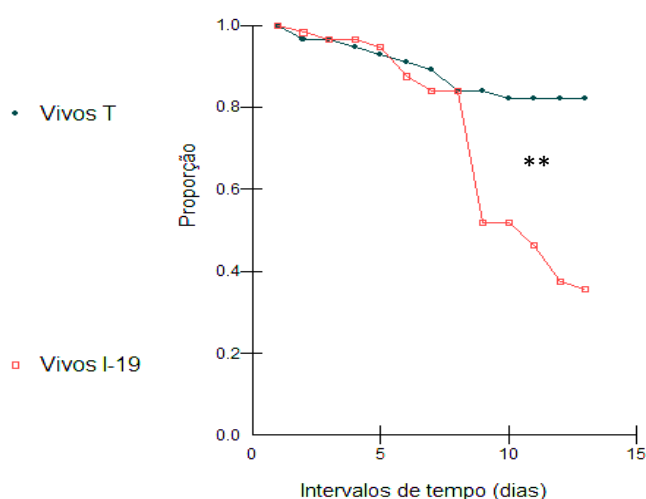
Figura 2- Análise de Sobrevivência, pelo teste de Log-Rank (D. Collett), de lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada e alimento mais isolado I-18 do *Baculovirus spodoptera*. A análise foi feita pelo teste de Log-Rank (D. Collett) e a comparação dos tratamentos foi realizada pelo teste Qui-quadrado (WL) ($p < 0,01$).



Ao final do experimento verificou-se que ocorreram dois picos de mortalidade, o primeiro entre as 24 e 48 horas após a ingestão e o segundo pico entre o sétimo e o décimo primeiro dia após a ingestão. Após o décimo terceiro dia do experimento constatou-se que 20,1% das lagartas testadas sobreviveram. Quando comparado isoladamente com a testemunha verificou-se que houve diferença estatística entre os mesmos (Figura 2). De acordo com relatos de CARVALHO (2010), as lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) quando ingeriram o *Baculovirus anticarsia* reduziram significativamente o consumo foliar levando-as a morte num período de 2 a 5 dias. VALICENTE & COSTA (1995) mostraram que baculovírus isolado 18 foi muito eficiente no controle de *S. frugiperda* na área pulverizada com água de irrigação. CRUZ et al. (1997) e CRUZ et al. (2002) testaram o efeito das doses de baculovírus isolado 18 sobre as larvas de *S. frugiperda*, seus danos e produtividade da cultura do milho, em campo onde obtiveram excelente eficiência.

Ao submeter às lagartas neonatas de *D. flavipennella* à ingestão do Isolado I-19 (Figura 3) do baculovirus, verificou-se que as mesmas depois de infectadas apresentaram os sintomas característicos como descoloração, falta de alimentação e rompimento do tegumento. Para esse tratamento verificou-se um pico de mortalidade no oitavo dia após a ingestão do bioinseticida, com sobrevivência de cerca de 44,7% das lagartas avaliadas. Mas quando a testemunha foi analisada com o Isolado 19 (Figura 3), observou-se que houve diferença significativa entre os mesmos.

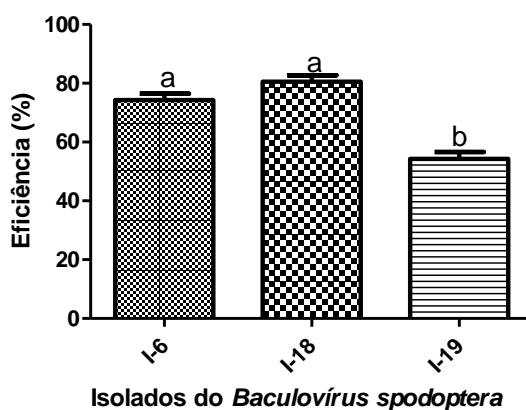
Figura 3- Análise de Sobrevivência, pelo teste de Log-Rank (D. Collett), de lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada e alimento mais isolado I-19 do *Baculovirus spodoptera*. A análise foi feita pelo teste de Log-Rank (D. Collett) e a comparação dos tratamentos foi realizada pelo teste Qui-quadrado (WL) ($p < 0,01$).



Quando se compararam as porcentagens de eficiência dos isolados do *B. spodoptera* (Figura 4) sobre lagartas neonatas de *D. flavipennella*, verificaram-se melhores eficiências dos Isolados I-18 e I-6, com aproximadamente 80% e 75%, respectivamente. De acordo com VALICENTE & TUELHER (2009), o isolado I-6 além de não romper o tegumento das lagartas proporciona na concentração de 10^6 e 10^7 poliedros/ mL mortalidade em *S. frugiperda* de 64% e 90%, respectivamente, após 48 horas da ingestão da suspensão, em condições de campo. Estes resultados corroboram com ALVES *et al.* (2001) quando relataram que houve a comprovação

da patogenicidade e agressividade do baculovírus em *Perigonia lusca* (Fabricius) (Lepidoptera, Sphingidae), levando o inseto à morte após três a cinco dias da inoculação, dependendo do ínstar em que os insetos se encontravam. BOLONHEIZ et al. (2010) citam que a eficiência do controle da lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*, de segundo instar e 168 horas após a aplicação de *B. spodoptera* foi de 89%. Resultado semelhante, ao obtido por VALICENTE et al. (2008) no estudo da mortalidade causada pelo isolado 6 do *B. spodoptera* em larvas sadias de seis dias de idade com mortalidade superior a 93%.

Figura 4- Comparações das porcentagens de eficiência corrigida de Abbott obtidas pelos Isolados I-6, I-18 e I-19 do *Baculovirus spodoptera* comparadas com o tratamento testemunha-(lagartas neonatas de *Diatraea flavipennella* submetidas à ingestão de alimento mais água destilada). A Comparação dos tratamentos foi feita pelo teste de Kruskal Wallis ($p < 0,05$).



O Isolado 19 apresentou uma porcentagem de eficiência de aproximadamente 55% (Figura 4) diferindo significativamente dos demais isolados estudados. Segundo VALICENTE & TUELHER (2009) o isolado 19 do *B. spodoptera*, em condições de campo promove mortalidade de 90% em *S. frugiperda*. Segundo WOLFF et al. (2008) o isolado 19 do *B. spodoptera* é um dos mais estudados e eficientes no controle da lagarta do cartucho do milho.

Das suspensões provenientes da maceração das lagartas mortas por cada tratamento foram analisadas e observou-se a presença dos poliedros nos tratamentos Isolado 6, 18 e 19. A testemunha não apresentou poliedros.

4.4 Conclusões

Os Isolados I-18 e I-6 de *B. spodoptera*, na concentração de 10^9 poliedros/mL, proporcionam uma eficiência de 80% e 75%, respectivamente.

Os isolados I-18 e I-6 de *B. spodoptera* são promissores para o uso no controle biológico de lagartas de *D. flavipennella*.

O Isolado 19 de *B. spodoptera*, na concentração de 10^9 poliedros/mL, não proporcionou um controle eficiente (55%) de *D. flavipennella*.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p.265–266, 1925.

ADAMS, J. R.; McCLINTOCK, T. J. Baculoviridae: nuclear polyhedrosis virus. In: ADAMS, J. R.; BONANI, J. R. (Ed.). **Atlas of invertebrate viruses**. Boca Raton: CRC, p.87-204, 1991.

ALVES, L. F. A.; BRANCALHÃO, R. M. C.; SANTANA, D. L. Q. Ocorrência de Baculovirus em lagartas de *Perigonia lusca* (Fabr.) (Lepidoptera: Sphingidae) no Brasil. **Neotropical Entomology**. v. 30. n-3. P. 493-494, 2001.

ALVES, S. B. Microrganismos associados a insetos, 75-96. In: S.B. Alves (ed.), **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, Fealq, 1998. 1163p.

BARRETO, M. R. et al. Effect of Baculovirus *Spodoptera* isolates in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and their characterization by RAPD. **Neotropical Entomology**. v. 34, n. 1. P. 67-75, 2005.

BOLONHEIZ, H.; OLIVEIRA, N. C. DE; BALAN, M. G. Eficiência de *Baculovirus spodoptera* e lufenuron no controle de diferentes ínstares e densidades populacionais da lagarta-docartucho em milho. **Campo Digit@I**, v.5, n.1, p.8-13, 2010.

CARVALHO, R. C. Z.; MOSCARDI, F. Efeito de doses de Baculovirus anticarsia no consumo e na utilização de alimento por larvas de *Anticarsia gemmatilis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Memória Técnica** (Embrapa Soja). 21p, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento de safra brasileira: cana-de-açúcar/Safra 2010/2011, Brasília, 2011, 17p.

CRUZ, I. et al. Application rate trials with a nuclear polyhedrosis virus to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) on maize. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 145-152, 1997.

_____; GONÇALVES, E. P.; FIGUEIREDO, M. L. C. Effect of a nuclear polyhedrosis virus on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae, its damage and yield of maize crop. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1, n. 2, p. 20-27, 2002.

FREITAS, M. R. T. et al. The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. **Florida Entomologist**, v. 90, p. 309-313, 2007.

GRÖNER, A. Specificity and safety of baculoviruses. In: GRANADOS, R.R.; FEDERICI, B.A. (Eds.). **The biology of baculoviruses**. Boca Raton: CRC, v. 1, 1986. p. 177-202.

HORTON, M. H.; BURAND, J. P. Saturable attachment sites for polyhedron-derived baculovirus on insect cells and evidence for entry via direct membrane fusion. **Journal of Virology**, v. 67, p. 1860-1868, 1993.

MENDONÇA, A. F. **Pragas da Cana-de-Açúcar. Insetos & Cia, Maceió**, 1996. 200p.

MOSCARDI, F. Controle biológico da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*, por baculovírus. In: ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTAS, 3., Florianópolis, SC. **Anais...** Brasília: Ministério da Agricultura, 1984. p. 93-101.

_____. Utilização de vírus entomopatogênicos em campo. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ. 1998. p. 509-539.

O'REILLY, D. R.; MILLER, L. K.; LUCKOW, V. A. **Baculovirus expression vectors: a laboratory manual**. Salt Lake City, UT: W.H. Freeman, 1992. 347p.

SOSA-GOMEZ, D. R. Controle biológico da lagarta-da-soja com *Baculovirus anticarsia*. In: PRÓ-GUAÍBA. **Suprograma Sistemas de Manejo e Controle da Contaminação por Agrotóxicos**. Porto Alegre: EMATER-RS, (PRÓ-GUAÍBA. Manual Técnico, 2). 1995. p. 27-35.

TANADA, Y.; KAYA, H. K. **Insect pathology**. New York: Academic. 1993.

UNICA. A União da Indústria de Cana-de-Açúcar. Produção e produtividade de cana-de-açúcar. 2010. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/quemSomos/texto/show.asp?txtCode={A888C6A1-9315-4050-B6B9-FC40D6320DF1}>>. Acesso 4 jul 2010.

VALICENTE, F. H.; COSTA, E. F. Controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovirus através da água de irrigação. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, p. 61-68, 1995.

_____; CRUZ, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS. **Circular Técnica**, v. 15, 1991. 23 p.

_____; TUELHER, E. DE S. Controle Biológico da Lagarta do Cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com Baculovírus. **Circular Técnica**. Embrapa, Sete Lagoas, MG. Dezembro, n. 114. p. 1-14, 2009.

_____ et al. A new baculovirus isolate that does not cause the liquefaction of the integument in *Spodoptera frugiperda* dead larvae. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.7, n.1, p. 77-82, 2008.

_____; TUELHER, E. S.; BARROS, E. C. 2010. Processo de Formulação do *Baculovirus spodoptera* em Pó Molhável. **Circular Técnica**, v. 156, Embrapa Milho e Sorgo. 2010. p. 1-5.

VOLKMAN, L. E.; KEDDIE, B. A. Nuclear polyhedrosis virus pathogenesis. **Seminars in Virology**, v. 1, p. 249-256, 1990.

WHITLOCK, V. H. Symptomatology of two viruses infecting *Heliothis armigera*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 23, p. 70-75, 1974.

WOLFF, J. L. C.; et al. Analysis of the genome of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV-19) and of the high genomic heterogeneity in group II nucleopolyhedroviruses. **Journal of General Virology**, Cambridge, v. 89, n. 5, p. 1202-1211, 2008.

APÊNDICE C

Figura 1- Isolados I-6, I-18 e I-19 de *Baculovirus spodoptera* testados quanto à mortalidade de *Diatraea flavipennella*.

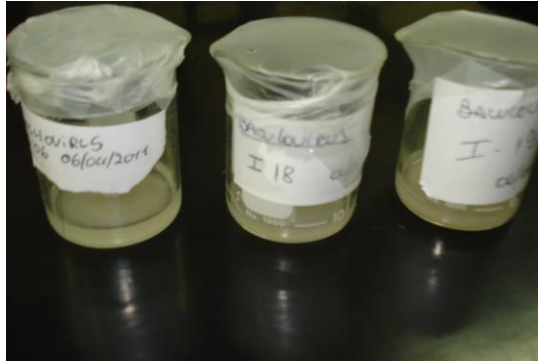
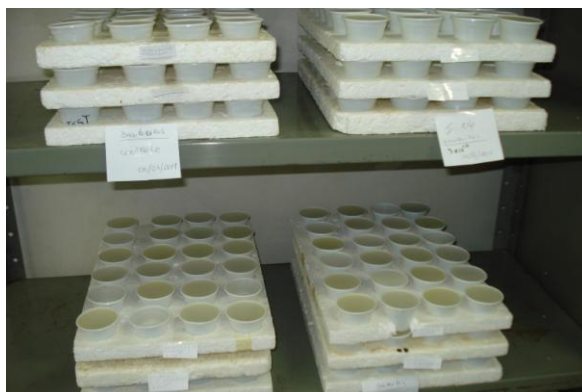


Figura 2- Folhas de cana-de-açúcar lavadas com hipoclorito de sódio (0,1%) e depois com água destilada.



Figura 3- Experimento utilizando *Baculovirus spodoptera*: Isolado I-6, I-18 e I-19 no controle de *Diatraea flavipennella*. 2011. Laboratório de Controle Biológico, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assuntos relacionados à ecologia química, biologia e morfologia da broca gigante da cana-de-açúcar *T. licus licus* ainda são escassos na literatura, sendo esses de grande valia para que se possa encontrar uma alternativa de controle para auxiliar como estratégia para o Manejo Integrado desta praga.

Por representar uma alternativa de controle, os semioquímicos, apresentam potencial para uso futuro, promovendo um controle mais eficaz e ecológico de pragas na agricultura. Atualmente vem se intensificado estudos e descobertas sobre aleloquímicos, tais como: identificação das substâncias e do efeito causado por elas sobre o comportamento dos insetos. Pois através do processo de herbivoria, verifica-se um aumento do fluxo metabólico dos compostos voláteis envolvidos na repelência de herbívoros e/ou a na atração de parasitóides e predadores que proporcionam uma alternativa de controle.

Os baculovirus vêm sendo bastante utilizados como alternativa ao controle químico de lepidópteros no Brasil. A Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas MG, possui 22 isolados que são estudados para o controle de *S. frugiperda*. Na literatura, ainda não existem relatos sobre especificidade e mortalidade em lagartas de *D. flavipennella* por nenhum isolado do *Baculovirus spodoptera*.

Contribuições

O trabalho desenvolvido contribuiu com conhecimentos sobre as principais lepidobrocas da cana-de-açúcar em:

- Mostrar que a broca gigante, *T. licus licus*, pode ser criada em laboratório visando a obtenção de adultos para extração de glândulas feromonais;
- Estudar alguns aspectos biológicos e morfológicos de *T. licus licus*, em laboratório.
- Mostrar que existe preferência de oviposição por *D. saccharalis* em relação a plantas saudias e infestadas por lepidópteros.
- Mostrar que existe atração do parasitóide larval *C. flavipes* por plantas atacadas por *D. saccharalis* e em menor escala por *H. taltula*; além de sugerir

algumas substâncias que venham a ser o possível atraente para o inimigo natural estudado.

- Mostrar que existem isolados de *Baculovirus spodoptera* com potencial de serem utilizados no controle biológico de *D. flavipennella*.

Perspectivas futuras

Os resultados adquiridos nesta tese abrem um leque de inúmeras opções para novos experimentos que possibilitem continuidade, objetivando a:

- Identificação dos componentes do feromônio de *T. licus licus* pelo emprego das técnicas de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa e Eletroantenografia (CG-EM-EAG).

- Identificação do(s) composto(s) liberado(s) por plantas atacadas por *D. saccharalis* e *H. taltula* pelo emprego das técnicas citadas acima, pois um desses ou a mistura de dois ou mais pode(m) funcionar como atraente para fêmeas acasaladas de *C. flavipes*.

- Estudo de estratégias para aumentar a virulência, redução do tempo entre a infecção e morte de *D. flavipennella* pelos isolados I-6 e I-18 do *Baculovirus spodoptera*.