

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MARCAÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE) E DISPERSÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Elis Cristine Vilarinho
Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Dezembro de 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MARCAÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (LEPIDOPTERA:
CRAMBIDAE) E DISPERSÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Elis Cristine Vilarinho

Orientador: Prof^o. Dr^o. Odair Aparecido Fernandes

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Entomologia Agrícola).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Dezembro de 2007

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: MARCAÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E DISPERSÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

AUTORA: ELIS CRISTINE VILARINHO

ORIENTADOR: Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA) pela Comissão Examinadora:

Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

Dr. ENRICO DE BENI ARRIGONI

Dr. CELSO OMOTO

Dr. SÉRGIO DE FREITAS

Dr. ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR

Data da realização: 13 de dezembro de 2007.

Presidente da Comissão Examinadora
Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Elis Cristine Vilarinho - Filha de Ulisses José Vilarinho e Roza de Sousa Vilarinho, nascida em Ituiutaba/MG em 11 de outubro de 1975. Engenheira Agrônoma pela Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)/Fundação Educacional de Ituiutaba (FEIT), título obtido em dezembro de 2000. Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela Universidade Estadual Paulista (FCAV/UNESP), título obtido em fevereiro de 2004.

*“Os homens deveriam
saber do cérebro, e somente dele,
originam-se nossos prazeres,
alegrias, risadas
e gestos,
assim como nossas
tristezas, dores, aflições e
lágrimas. Através dele especificamente, nós
pensamos, vemos, ouvimos e distinguimos
o feio do bonito, o mal do bem,
o agradável do
desagradável*

*Da mesma forma, nos faz
loucos, delirantes, nos inspira medo
e pavor, de noite ou de dia,
causa insônia, erros
inoportunos,
ansiedade, desatenção e
outras atitudes contrárias aos hábitos.*

*Tudo isso que sofremos
tem sua origem no
cérebro*”

Atribuída a Hipócrates, século V, a C

A mim Dedico

*Ao meu Papai Ulisses José Vilarinho e à minha
Mamãe Rosa Sousa Vilarinho que com muito trabalho,
simplicidade, amor e dedicação contribuíram para minha
estrutura pessoal e para que eu trilhasse caminhos
de conquistas por estarem presentes
intensamente em todos os momentos
de minha vida Aos Meus
Grandes e Lindos
Amores*

OFEREÇO !

AGRADECIMENTOS

Sou grata ao mestre, amigo e Orientador Prof^o. Odaír A. Fernandes pelo marco em meu trabalho tendo-o como referência para contexto de vida profissional Ao mestre com carinho.

Ao grupo IRAC-BR (Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Inseticidas) pelo auxílio financeiro à pesquisa realizada com *Spodoptera*.

Ao Prf^o. Ferraudó e Prf^o. Barbosa por auxiliar nas análises estatísticas.

Ao corpo Docente da FCAV/UNESP pelos ensinamentos transmitidos.

Ao Dr^o. Ivan Cruz (Embrapa Milho e Sorgo/MG) por fornecer ovos de *Spodoptera* para os estudos de campo juntamente com o Técnico Geraldo Magella.

Ao Prof^o Thomas Hunt (University of Nebraska) por auxiliar com sugestões na realização dos trabalhos executados e por contribuir com material para criação massal dos insetos.

Ao Prf^o Sérgio de Freitas pelo empréstimo de parte do material para os experimentos em laboratório com *Diatraea*.

À Nelson Crastel, Tereza Gambarato e Vilmar Santos pela concessão das áreas experimentais de milho.

Ao funcionário Antônio Ferrari (FCAV/UNESP) e ao estagiário Jerônimo (UEMG, Campus Ituiutaba/MG) por auxiliar em partes das atividades de campo.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À Usina São Martinho (Pradópolis/SP) por auxiliar com parte do material e mão-de-obra para o trabalho com *Diatraea* e à ISCA Tecnologia por fornecer material (feromônio) para os experimentos em campo com *Spodoptera*.

Aos membros da equipe APECOLAB e amigos por colaborarem na execução dos trabalhos laboratoriais e pelo agradável convívio: Adriana, Ana Paula, Ana Rita, Andréa, Camila, Cherre, Daniel, Dionísio, Edílson, Fernanda, Flávia, Gustavo, Ítalo, Jerônimo, Juliana, Lucas, Marcelo, Matheus, Pedro, Taís, Taissara, Tatiana e Tida.

Ao Daniel, o pequeno aprendiz, por auxiliar nas atividades de laboratório.

As secretárias Márcia e Lígia por estarem sempre disponíveis a auxiliar.

Ao inesquecível Professor de Entomologia Agrícola do curso de Agronomia (UEMG, Campus de Ituiutaba/MG) José Maria Franco de Assis por ter sido influência positiva na escolha da pós-graduação em Entomologia.

Aos meus irmãos Ulisses Sousa Vilarinho e Eliete Sousa Vilarinho por sempre participarem de minha vida e à todos os parentes das grandes famílias Sousa e Vilarinho que emitiram energias positivas para minha conquista.

À grande amiga Adriana R. Generoso pela amizade e pelo compartilhamento dos inesquecíveis momentos profissionais e pessoais.

Ao admirável amigo Ivan Martins pelas ótimas discussões profissionais e pelo companheirismo.

À “menina de ouro” Thais Tanan por ser amiga, pela sua disponibilidade e por estar sempre presente durante os trabalhos realizados.

A todos os colegas de pós-graduação da FCAV/UNESP pelos bons momentos compartilhados, em especial à Edileusa, Flávio, Rafael, Sérgio e Sônia.

À Consuelo Torquato por fazer parte desta jornada.

SUMÁRIO

	Pag.
RESUMO	viii
ABSTRACT	lx
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
CAPÍTULO 2. EFEITO DE CORANTES COMO MARCADORES NO DESENVOLVIMENTO DE <i>Diatraea saccharalis</i> (FABR.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE).	
INTRODUÇÃO	4
MATERIAL E MÉTODOS	6
RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
CONCLUSÕES	20
CAPÍTULO 3. DISPERSÃO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)	21
INTRODUÇÃO	21
MATERIAL E MÉTODOS	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55

**MARCAÇÃO DE *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) E
DISPERSÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

RESUMO. Com a adoção de plantas geneticamente modificadas que expressam toxinas de *Bacillus thuringiensis* há a necessidade de estabelecimento de estratégias para retardar o desenvolvimento da resistência de insetos, tais como áreas de refúgio. Para tanto, informações sobre a dispersão dos insetos alvo desta tecnologia são essenciais para aprimoramento de técnicas de manejo de insetos-praga. Nos estudos de dispersão normalmente são usadas técnicas de marcação-liberação-recaptura. Assim, objetivou-se com este trabalho marcar *Diatraea saccharalis* e avaliar a capacidade de dispersão de *Spodoptera frugiperda*. Para a marcação, dois corantes lipossolúveis em diferentes concentrações (100 a 400 ppm), Sudan Red 7B e Solvente Blue, foram adicionados à dieta artificial de *D. saccharalis* e avaliados sobre parâmetros biológicos do desenvolvimento de lagartas, pupas e adultos (fecundidade e longevidade). A adição dos corantes em dieta artificial fornecida para alimentação de lagartas de *D. saccharalis* proporcionou a marcação de adultos e ovos em todas as concentrações testadas. No caso da avaliação da capacidade de dispersão de *S. frugiperda* foram realizados experimentos durante as safras 2005/2006 e 2006/2007. A dispersão se dá por difusão e foi possível registrar distâncias máximas de recaptura de 806 m para machos e 608 m para fêmeas de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: corante lipossolúvel, liberação-recaptura, dispersão de insetos, resistência de insetos.

MARKING OF *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) AND DISPERSAL OF *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT. With the adoption of genetically modified plants expressing *Bacillus thuringiensis* toxins there is a need of establishing strategies to delay the development of insect resistance (e.g. refugee areas). Thus, information on target insects dispersal are essential to improve pest management techniques. In dispersal studies, marking-release-recapture techniques are usually used. The objective of this work was to mark *Diatraea saccharalis* and evaluate the dispersal capacity of *Spodoptera frugiperda*. For marking *D. saccharalis*, different concentrations (100 to 400 ppm) of two oil soluble dyes (Sudan Red 7B and Solvent Blue) were added to larval artificial diet. Larval and pupal development as well as adult fecundity and longevity were evaluated. The addition of dyes into the diet marked both adults and eggs, regardless the concentration used. For evaluating the dispersal capacity of *S. frugiperda*, experiments were carried out during 2005/2006 and 2006/2007 growing seasons. Dispersal is diffused and the maximum recapture distances were 806 m for males and 608 m for females of *S. frugiperda*.

KEY WORDS: oil soluble dyes, release-recapture, insect dispersal, insect resistance.

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Em culturas de importância econômica, fatores adversos como o ataque por insetos-praga pode atuar como fator limitador da produção final. Desse modo, diversos estudos são realizados com intuito de buscar alternativas de aprimoramento ou inovações nas técnicas de controle de insetos-praga.

Recentemente, com o progresso da biotecnologia, foram incorporados no genoma de plantas cultivadas genes provenientes da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) responsáveis pela expressão de proteínas de ação inseticida. Porém, um dos riscos analisados em relação à utilização de plantas que expressem proteínas inseticidas é o potencial de evolução de resistência pelos insetos alvo a estas proteínas. Com o cultivo em extensas áreas das plantas transgênicas resistentes a insetos, as toxinas de *B. thuringiensis* representam um importante fator de mortalidade nas populações das pragas-alvo (HECKEL, 1997). Esta pressão de seleção pode conduzir à evolução da resistência em muitas das populações destes insetos. Existe registro de resistência de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em crucíferas (TALEKAR & SHELTON, 1993). Todavia, em situação de campo, não há registros de resistência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) as toxinas Bt. Atualmente há registros de que, em condições de laboratório, populações de vários lepidópteros, coleópteros e dípteros apresentam resistência à toxina Bt (NEPPL, 2000). Diante disso, estes resultados atentam para a possibilidade de seleção de insetos resistentes a culturas transgênicas em condições de campo.

A resistência é um fenômeno pré-adaptativo que se desenvolve através da seleção dos raros indivíduos que podem sobreviver a um determinado tratamento inseticida numa população (PEFEROEN, 1997). Portanto, os insetos evoluem em resposta à seleção ocasionada pelo método de controle imposto o que limita sua eficiência longo prazo (HAWTHORNE, 1998). Desta forma, não apenas plantas transgênicas, mas também o uso de inseticidas é um dos fatores de pressão de seleção sobre população de insetos-praga. Com o tempo, a eficácia dos produtos pode decrescer se a incidência de insetos resistentes crescer. Inúmeros são os casos de

resistência de insetos-praga a inseticidas (TAYLOR & FEYEREISEN, 1996). Dessa forma, muitos estudiosos vêm investigando sobre o desenvolvimento de estratégias de manejo de resistência de populações de insetos (GREEN et al., 1990).

No caso de países que adotaram a tecnologia Bt, a principal estratégia de prevenção recomendada que visa a retardar o desenvolvimento da resistência é a adoção de áreas de refúgio (TABASHNIK, 1994; BOURGUET et al., 2005) e materiais genéticos que possuam expressão da proteína Bt em alta dose (GOULD, 1998). As áreas de refúgio são áreas de plantas não resistentes a insetos dispostas interna ou externamente aos campos cultivados com plantas transgênicas (GOULD, 1998). Essa prática baseia-se na proposição de que populações não expostas a um determinado fator de seleção apresentam baixa frequência de alelos que se opõem a esta pressão seletiva (PERFEROEN, 1997). A estratégia de refúgio/alta dose é utilizada nos EUA, Austrália e Canadá para o manejo de resistência em lavouras transgênicas (ANDOW et al., 1998). A aplicação das áreas de refúgio como estratégia para o manejo de resistência está vinculada ao entendimento de variáveis pertinentes à ecologia do inseto como por exemplo a preferência por plantas hospedeiras, dispersão e padrões de acasalamento.

Assim, as áreas de refúgio estariam sendo responsáveis pela ocorrência de acasalamento ao acaso entre as populações da área transgênica e dessas áreas de refúgio. Essa condição seria satisfeita no caso de plantas desenvolvidas para atuarem sobre lepidópteros praga desde que a distância entre estas áreas seja compatível com a capacidade de dispersão da forma adulta do inseto (ROUSH, 1997). O acasalamento ao acaso será dependente da quantidade de indivíduos novos que adentram a área transgênica vindos da área de refúgio ou vice e versa (CAPRIO, 1998). Os principais objetivos da utilização das áreas de refúgio são reduzir a diferença do valor adaptativo de insetos resistentes e insetos suscetíveis e diminuir o grau com que um inseto resistente transmite sua característica fenotípica para sua prole (GOULD, 1998).

Para estabelecimento de áreas de refúgio, o conhecimento do comportamento de dispersão de insetos e sua capacidade de locomoção são imprescindíveis para viabilizar técnicas como alternativas de controle de insetos. Entretanto, informações sobre capacidade de dispersão de importantes insetos-praga em culturas agrícolas são

escassas. Vários estudos de dispersão foram realizados com *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Crambidae), inseto de grande importância econômica nos EUA (HUNT et al., 2001; SHOWERS et al., 2001; QURESHI et al., 2005; BAILEY et al., 2007).

Em estudos de dispersão, técnicas de marcação, liberação e recaptura de insetos são freqüentemente usadas. Os insetos marcados devem apresentar comportamento e longevidade semelhantes aos dos insetos não marcados e além disso, os insetos devem permanecer com a marcação durante o tempo de realização do estudo (SOUTHWOOD, 1978). SHOWERS et al (2001) desenvolveram estudo de marcação, liberação e recaptura de *O. nubilalis* em campos de milho em Nebraska, EUA. Os autores verificaram que os machos podem se dispersar distâncias superiores a 800 m à procura de fêmeas para se acasalar. Desta forma, diante dos resultados obtidos com *O. nubilalis* partiram para recomendação de que áreas de refúgio devem ser localizadas no máximo 800 m da área de cultura transgênica. Em condições brasileiras, *S.frugiperda* e *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) são destacadas pragas do milho e cana-de-açúcar e, desse modo, terão nas plantas geneticamente modificadas uma estratégia de controle. Para tanto, estudos sobre a dispersão desses insetos devem ser realizados para estabelecimento de áreas de refúgio.

CAPÍTULO 2. EFEITO DE CORANTES COMO MARCADORES NO DESENVOLVIMENTO DE *Diatraea saccharalis* (FABR.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE).

1. INTRODUÇÃO

A habilidade de locomoção de um ser vivo, em determinados estágios do ciclo de vida é fundamental para o seu sucesso (SUGDEN & PENNISI, 2006). Portanto, o conhecimento da capacidade de se locomover é importante para estudos ecológicos de populações de determinada espécie. Estudos da dinâmica de dispersão de insetos têm considerável valor para melhor compreensão sobre o comportamento e sobre suas interações ecológicas.

Para estudar o deslocamento de insetos em ambiente de campo utilizam-se técnicas com marcadores diversos. Estes marcadores permitem estudar a dispersão, a dinâmica populacional, o comportamento de alimentação dentre outros aspectos. Estudos de dispersão são comumente realizados utilizando-se técnicas de marcação (SOUTHWOOD, 1992). Métodos de marcação e recaptura de insetos de importância agrícola vem sendo usados com grande amplitude em áreas de programas de manejo de insetos (GAST & LANDIN, 1966; HENDRICKS et al., 1971). Nos últimos anos, esta técnica de marcação está sendo utilizada em estudos de dispersão com enfoque em manejo de resistência de insetos em culturas transgênicas (HUNT et al., 2001; QURESHI et al., 2006; BAILLEY et al., 2007).

Para a eficiência desta técnica de marcação é necessário que não ocorram efeitos negativos sobre o desenvolvimento e comportamento do organismo alvo de estudo (HUNT al., 2000). Os marcadores devem ser facilmente manipuláveis e serem seguros ao ambiente (HAGLER & JACKSON, 2001). Além de não afetar a biologia do inseto, é imprescindível que o corante permaneça até o momento da recaptura do inseto e que possa ser claramente reconhecido (GANGWERE et al., 1964; SOUTHWOOD, 1992), sendo desta forma distinguido dos indivíduos que se encontram naturalmente no campo. A técnica de marcação com utilização de marcadores lipossolúveis incorporados

à dieta artificial apresentam vantagens sobre outros métodos como o fato de serem facilmente manipuláveis. Além disso, os corantes lipossolúveis apresentam marcação suficientemente nítida nos insetos recapturados e não são eliminados pelos insetos facilmente (HAGLER & JACKSON, 2001).

Atualmente, apesar da existência destas técnicas, ainda há escassez de estudos sobre o comportamento de dispersão sobre determinados insetos-praga de significativa importância agrícola para determinadas culturas. É evidente o processo de expansão do cultivo de culturas agrícolas como a cana-de-açúcar *Saccharum officinarum* L., que apresenta alto interesse sócio econômico sobre os seus derivados. A produção de cana-de-açúcar no Brasil deve alcançar a marca de 427 milhões de toneladas em 2007, sendo a região do centro-oeste responsável por 86% da produção total (AGRIANUAL, 2007).

Contudo, uma das grandes adversidades enfrentadas pela cultura é o ataque da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) que ocorre praticamente durante todo o período de desenvolvimento. *D. saccharalis* é inseto-praga de grande importância econômica na cultura da cana-de-açúcar e também na cultura do milho. Quando na fase larval, as lagartas recém-eclodidas alimentam-se de tecidos foliares nos primeiros dias e posteriormente penetram no interior do colmo da planta e fazem galerias ao se alimentarem. As galerias produzidas nos colmos resultam em perda de peso, tornam o local propício ao desenvolvimento de fungos no interior da planta, os quais são responsáveis pela inversão de sacarose.

As características biológicas de *D. saccharalis* são conhecidas (FILHO & LIMA, 2001; SOUZA et al., 2001), porém estudos sobre as características de comportamento de dispersão deste inseto ainda são escassos. Portanto, para auxiliar na adoção ou aprimoramento de técnicas de manejo de insetos-praga é importante o acesso ao conhecimento sobre o comportamento de deslocamento do inseto. É importante que o inseto marcado apresente as características biológicas e desempenho semelhante aos insetos de ocorrência natural. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de corantes lipossolúveis sobre a marcação e o desenvolvimento de *D. saccharalis*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Insetos

Os insetos utilizados nos experimentos foram provenientes da criação mantida em sala climatizada (fase larval e pupal: 26 ± 2 °C, adultos 21 ± 2 °C; fotofase de 12 h) da Usina São Martinho (Pradópolis / SP). Utilizou-se dieta artificial para a alimentação das lagartas de *D. saccharalis* na condução dos experimentos (Tabela 1).

Tabela 1. Composição da dieta artificial fornecida para a alimentação das lagartas de *D. saccharalis*.

Ingredientes	Quantidade
Açúcar	30 g
Farelo de soja	400 g
Germe de trigo	200 g
Levedura	200 g
Nipagin	27 g
Ácido ascórbico	10 g
Cloreto de colina	2 g
Sais de Wesson	20 g
Complexo vitamínico	3 ml
Ampicilina Sódica (Binotal®)	1 cápsula
Formol	10 ml
Wintomylon	5 ml
Caragenato	92 g
Água quente	3000 ml
Água	2000 ml

Para obter as posturas de adultos de *D. saccharalis* para realização dos experimentos, as gaiolas de PVC (20 cm altura por 10 cm diâmetro) foram previamente forradas internamente com papel sulfite. Após preparada, a dieta artificial das lagartas foi despejada em uma bandeja plástica (40cm x 25cm). Após o resfriamento, a dieta foi recortada em cubos (3 cm^3) e distribuídos individualmente em células de bandejas plásticas (16 células). As folhas com posturas foram retiradas das gaiolas, as posturas recortadas e colocadas sobre os cubos de dieta artificial (sem adição de corante) das bandejas (16 células). Foram colocadas posturas de aproximadamente 200 ovos por

célula. As lagartas permaneceram nestas bandejas plásticas por apenas 4 dias após a eclosão e, em seguida, foram transferidas para os tubos de criação. Em seguida, as bandejas foram vedadas com tampas plásticas de encaixe e colocadas em sala climatizada sob as mesmas condições mencionadas anteriormente. Durante os quatro primeiros dias após a eclosão, as lagartas foram alimentadas com dieta normal, sem adição de corantes. Estas lagartas foram utilizadas para os experimentos de marcação interna de *D. saccharalis*.

Foram conduzidos e avaliados separadamente dois experimentos para testar os corantes sobre *D. saccharalis*, um com indivíduos provenientes de laboratório e outro com indivíduos oriundos de culturas de cana-de-açúcar (Usina São Martinho). A separação dos experimentos (laboratório e campo) ocorreu devido ao fato de se ter a necessidade de verificar se os insetos de laboratório também apresentam capacidade de vôo para estudos de dispersão. O experimento realizado com indivíduos de laboratório, foi realizado a partir de ovos da criação de *D. saccharalis* mantidos no laboratório em sala climatizada (fase larval e pupal: 26 ± 2 °C, adultos 21 ± 2 °C e fotofase de 12 h) e foi conduzido nas mesmas condições laboratoriais descritas acima. O segundo experimento, com indivíduos do campo, foi realizado com a geração F1 de indivíduos oriundos de coletas (lagartas e pupas) realizadas em lavoura de cana-de-açúcar. Os adultos oriundos das lagartas coletadas em campo foram colocados em gaiolas para oviposição. As posturas foram coletadas para obter lagartas para a condução do experimento. Os insetos provenientes do campo foram conduzidos também em sala climatizada (fase larval, fase pupal e adultos: 26 ± 2 °C e fotofase de 12 h).

2.2 Preparação e avaliação do efeito dos corantes lipossolúveis em marcação interna de *D. saccharalis*.

Para os testes de marcação, foram utilizados os corantes vermelho Sudan Red 7B (C.I.26050) e azul Solvent Blue 35 (C.I.61554) (Aldrich Company Inc.) (Tabela 2). Foi realizada a diluição prévia do corante marcador em óleo comestível na proporção de 4 g

de corante/40 ml de óleo de milho e em seguida incorporado à dieta na proporção de 0,4 ml da solução por litro de dieta (OSTLIE et al., 1984) cuja concentração final foi de 400 ppm (400 mg/litro de dieta). A adição do corante ocorreu no momento do preparo juntamente com os demais ingredientes. Os tratamentos foram constituídos de dieta contendo corantes e dietas sem adição de corantes (Tabela 2).

Tabela 2. Tratamentos adotados para avaliar o efeito de corantes lipossolúveis adicionados a dieta artificial fornecida às lagartas de *D. saccharalis*.

Tratamentos ^{1,2}	Solução Corante Concentração (ppm)
1. Testemunha (sem corantes)	-
2. Corante Azul	100
3. Corante Azul	200
4. Corante Azul ³	300
5. Corante Azul	400
6. Corante Vermelho	100
7. Corante Vermelho	200
8. Corante Vermelho ³	300
9. Corante Vermelho	400

¹ Constituídos de dieta artificial adicionada ou não de solução corante.

² Corante azul = Solvent Blue 35 e Corante vermelho = Sudan Red 7B.

³ Tratamentos utilizados apenas para o experimento com indivíduos do campo

2.3 Experimentos com indivíduos oriundos do campo e do laboratório.

O experimento com indivíduos oriundos de laboratório foi constituído de sete tratamentos com sete blocos, sendo 20 repetições/bloco e a repetição constituída de uma lagarta/tubo de criação. O experimento com indivíduos oriundos de campo foi constituído de 9 tratamentos com 9 blocos, sendo 20 repetições/bloco e a repetição constituída de 1 lagarta / tubo de criação (Tabela 2). Para ambos experimentos, foi

utilizado delineamento experimental de blocos casualizados.

Para a condução dos experimentos foram utilizados tubos de criação (8,5 cm x 2,5 cm) tampados com algodão hidrófobo e previamente esterilizados em estufa (100 °C). Em cada tubo de criação foi colocado um cubo de dieta (3 cm³) de acordo com o tratamento. Ao atingir 4 dias de idade, as lagartas que estavam nas bandejas se alimentando de dieta normal (sem adição de corante) foram individualizadas nos tubos de criação e permaneceram em sala climatizada até a formação de pupas. Os insetos foram observados uma vez ao dia e dados de mortalidade, formação de pupas e emergência dos adultos foram registrados. Os insetos adultos recém emergidos e de mesmo tratamento foram separados por sexo para: formação de casais para oviposição, avaliação da longevidade e para verificação da marcação interna.

Para avaliação da fecundidade (um casal/gaiola) e longevidade (um indivíduo/gaiola), os insetos foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm altura por 10 cm diâmetro) e alimentados com solução de mel a 5% fornecida por chumaço de algodão colocado em pequenos recipientes plásticos (2 cm altura por 3 cm diâmetro). Durante o período de avaliação da fecundidade os adultos permaneceram em gaiolas revestidas internamente com papel sulfite. Os papéis disponíveis para oviposição foram retirados diariamente e a fecundidade expressa pelo total de ovos ovipositados por fêmea em cada gaiola. Os ovos foram contados sob estereomicroscópio. Para a confirmação da marcação, inicialmente os adultos foram mortos por congelamento (- 5 °C) e foram observadas estruturas internas e externas do abdome e demais estruturas como tórax, antenas, nervuras das asas e pernas.

2.4 Análises estatísticas.

Foi utilizada para os estudos de marcação em laboratório a transformação dos valores de mortalidade de lagartas em $\arcsin \sqrt{\frac{x}{n}} + 0,5$ enquanto para os valores referentes à fecundidade, período de pré-oviposição e longevidade foram transformados em $\sqrt{\frac{x}{n} + 5}$. Foi realizada análise de variância dos dados e separação das médias pelo

teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o procedimento PROC GLM (SAS Institute, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Período larval

Ao avaliar o efeito de corantes sobre o desenvolvimento de indivíduos oriundos de laboratório, observa-se que de forma geral resultou em aumento no período larval de *D. saccharalis*. Todavia, as maiores concentrações do corante azul e vermelho (400 ppm) ocasionaram maior custo metabólico pois prolongaram significativamente o período larval ($P = 0,0016$) ($P = 0,0027$) (Tabela 3). O alongamento do período larval também foi observado em experimentos com lagartas de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae) que se alimentaram de dietas adicionadas de corantes Sudan Blue e Sudan Red (OSTLIE et al., 1984; HUNT, 2000). Em experimentos com corante Calco Oil Red WP N-1700 sobre lagartas de *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) (BURTON & SNOW, 1970). Portanto, o alongamento do período larval está associado à atividade metabólica do inseto. A qualidade do alimento consumido pelo inseto pode influenciar a razão de crescimento, tempo de desenvolvimento e no peso final (WALDDAUER, 1968). O retardo no período de desenvolvimento de lagartas pode ter ocorrido pelo consumo de energia do inseto na tentativa de metabolizar a substância estranha, energia esta que seria utilizada no período de desenvolvimento normal. Fato este constatado ao se observar que não houve diferença significativa ao reduzir a concentração de corante vermelho e azul (100 e 200 ppm) (Tabela 3). No entanto, não foram observadas diferenças significativas sobre o período larval entre insetos dos diferentes tratamentos corantes (Tabela 3).

Ao analisar o desenvolvimento de lagartas de indivíduos oriundos do campo (Tabela 4), observa-se que houve significativo alongamento do período larval ($P = 0,0067$) apenas para lagartas que se alimentaram de dieta com adição de corante azul na concentração de 300 ppm, em comparação com as lagartas que se alimentaram de

dieta sem corantes. Também foram observadas diferenças significativas quanto ao período larval de lagartas que se alimentaram de dieta com corante azul na concentração de 300 ppm, em relação a lagartas que se alimentaram de dieta com adição de corante vermelho na concentração de 100 ppm ($P = 0,0030$) e 200 ppm ($P = 0,0021$) (Tabela 4).

Tabela 3. Duração média (\pm E.P.) dos períodos larval e pupal, longevidade dos adultos e mortalidade larval de *D. saccharalis* oriundos do laboratório.

Tratamento	Período (dias)							
	Larval		Pupal		Longevidade de Adultos		Mortalidade Larval ¹	
Testemunha (sem corante)	24,32 \pm 0,06	b	8,00 \pm 0,18	c	7,25 \pm 0,54	a	0,00 \pm 0,00	a
Azul, 100 ppm	25,24 \pm 0,16	ab	8,84 \pm 0,26	a	6,62 \pm 0,50	a	0,00 \pm 0,00	a
Azul, 200 ppm	24,77 \pm 0,17	ab	8,63 \pm 0,18	ab	7,04 \pm 0,50	a	0,03 \pm 0,01	a
Azul, 400 ppm	25,99 \pm 0,27	a	8,75 \pm 0,08	ab	6,46 \pm 0,41	a	0,00 \pm 0,00	a
Vermelho, 100 ppm	24,77 \pm 0,12	ab	8,38 \pm 0,09	abc	7,76 \pm 0,89	a	0,03 \pm 0,01	a
Vermelho, 200 ppm	24,99 \pm 0,23	ab	8,28 \pm 0,12	bc	7,14 \pm 0,56	a	0,02 \pm 0,02	a
Vermelho, 400 ppm	25,86 \pm 0,77	a	8,40 \pm 0,11	abc	6,96 \pm 0,61	a	0,01 \pm 0,01	a
CV %	3,70		3,13		21,11		10,39	

¹ Dados originais, transformação para análise em $\arcsin \sqrt{x} + 0.5$ por ANOVA.

Tabela 4. Duração média (\pm E.P.) dos períodos larval e pupal, longevidade dos adultos e mortalidade larval de *D. saccharalis* oriundos do campo.

Tratamentos	Período (dias)							
	Larval		Pupal		Longevidade de Adultos		Mortalidade Larval ¹	
Testemunha (sem corante)	29,90 \pm 0,75	b	8,19 \pm 0,19	a	7,37 \pm 0,60	b	0,19 \pm 0,07	ab
Azul, 100 ppm	31,43 \pm 0,90	ab	7,93 \pm 0,12	a	6,53 \pm 0,39	ab	0,13 \pm 0,05	ab
Azul, 200 ppm	31,20 \pm 0,53	ab	8,20 \pm 0,18	a	5,32 \pm 0,54	a	0,16 \pm 0,06	ab
Azul, 300 ppm	34,18 \pm 1,75	a	8,55 \pm 0,20	a	5,16 \pm 0,52	a	0,46 \pm 0,10	a
Azul, 400 ppm	32,81 \pm 0,72	ab	8,40 \pm 0,17	a	5,94 \pm 0,45	ab	0,19 \pm 0,08	ab
Vermelho, 100 ppm	29,36 \pm 0,42	b	8,20 \pm 0,14	a	7,10 \pm 0,44	ab	0,02 \pm 0,01	b
Vermelho, 200 ppm	29,58 \pm 0,64	b	7,89 \pm 0,16	a	6,54 \pm 0,40	ab	0,06 \pm 0,03	b
Vermelho, 300 ppm	32,70 \pm 0,54	ab	7,78 \pm 0,12	a	6,52 \pm 0,57	ab	0,32 \pm 0,06	ab
Vermelho, 400 ppm	31,75 \pm 0,82	ab	8,09 \pm 0,39	a	6,98 \pm 0,43	ab	0,33 \pm 0,14	ab
CV %	8,82		8,36		21,37		31,47	

¹ Dados originais, transformação para análise em $\arcsin \sqrt{x} + 0.5$ por ANOVA.

O período larval de lagartas que se alimentaram de dieta com adição de corante vermelho em todas as concentrações (100, 200, 300 e 400 ppm) não apresentou diferenças em relação às lagartas que se alimentaram de dieta sem adição de corantes (Tabela 4). Fato semelhante foi observado, em estudos realizados com coleópteros, pois o corante vermelho (Calco Oil Red WP N-1700) incorporado à dieta semi-artificial de *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) não afetou de forma negativa sua biologia (FARONI et al., 2002) e quando incorporado em iscas formuladas também não apresentou efeitos negativos sobre *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae) (LLOYD et al., 1968).

3.2 Período pupal

Em relação à fase pupal dos insetos oriundos de laboratório, houve um significativo aumento para insetos que se alimentaram de dieta contendo corante azul em todas as concentrações, 100 ppm ($P = 0,0003$), 200 ppm ($P = 0,0092$) e 400 ppm ($P = 0,0040$), ao realizar a comparação com o período larval de indivíduos que se alimentaram de dieta sem corantes (Tabela 3). Em contrapartida, ao analisar o efeito do corante vermelho sobre os insetos, não foram observadas diferenças significativas no período pupal na análise de todas as concentrações em relação aos insetos oriundos de dieta sem corantes (Tabela 3).

Ao analisar o período pupal de indivíduos oriundos do campo que se alimentaram de dieta contendo corantes azul e vermelho em todas as concentrações (100, 200, 400 ppm) verifica-se que foi semelhante ao dos insetos que se alimentaram de dieta sem adição de corante (Tabela 4). Desta forma, neste caso não houve interferência do efeito dos corantes sobre a fase pupal dos insetos.

3.3 Mortalidade larval

A maior mortalidade de lagartas ocorreu nos indivíduos do campo em relação aos indivíduos de laboratório (Tabelas 3 e 4). Ao analisar os dados com os indivíduos de laboratório, verifica-se que não houve diferença na mortalidade larval de insetos que se desenvolveram em dietas com a adição de diferentes concentrações de corante azul ou vermelho, em relação aos insetos que se desenvolveram em dieta sem adição de corantes e nem entre si (Tabela 3).

No experimento com indivíduos oriundos do campo não foram encontradas diferenças significativas para mortalidade de lagartas dos tratamentos com os corantes, em relação ao tratamento sem corantes (Tabela 4). Todavia, a mortalidade larval de insetos que se alimentaram de dieta com corante azul na concentração de 300 ppm foi significativamente maior que a das lagartas que se alimentaram de dieta com corante vermelho, na concentração de 100 ppm ($P = 0,0068$) e 200 ppm ($P = 0,0317$) (Tabela 4).

3.4 Longevidade

No experimento com indivíduos de laboratório, a longevidade de adultos de *D. saccharalis* não foi alvo do efeito dos corantes fornecidos por meio de dieta artificial em nenhum dos tratamentos. Desta forma, observa-se que quando houve efeito deletério sobre o desenvolvimento larval ou pupal do inseto, este não foi transferido para a fase adulta (Tabela 3). Em estudos com outro lepidóptero, *O. nubilalis*, também foi constatado que não houve efeitos negativos sobre os adultos com a utilização dos corantes vermelho (Sudan Red 470 B) e corante azul (Sudan Blue 670 III) na concentração de 600 ppm (OSTLIE et al., 1984). Em testes realizados com *Spodoptera frugiperda* Fabr. (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando corantes Sudan Red 7B também foi observado que não houve efeitos negativos durante a fase adulta (VILARINHO et al., 2006). Desta forma, nota-se que qualquer efeito do corante vermelho em todas as concentrações testadas não foi transferido para os adultos de laboratório (Tabela 3). Também não foi verificada a interferência negativa sobre a longevidade de adultos de

Antonomus grandis (Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) ao utilizar o corante Calco Oil Red (GAST & LANDIN, 1966).

Para os insetos oriundos do campo, observou-se que os adultos significativamente menos longevos foram os insetos oriundos de tratamentos com corante azul nas concentrações de 200 ppm ($P = 0,0269$) e 300 ppm ($P = 0,0510$) (Tabela 4). A longevidade dos adultos oriundos de todos os tratamentos com corantes vermelhos em todas as concentrações (100, 200, 300 e 400 ppm) foi semelhante a dos oriundos de dieta sem corante (Tabela 4).

3.5 Efeito de marcação por corantes sobre lagartas, adultos e ovos de *D. saccharalis*

D. saccharalis ao se alimentar de dietas com o corante Solvent Blue ou Sudan Red 7 B apresentou a marcação em azul ou vermelho em todas as fases de desenvolvimento. Em estudo semelhante, QURESHI et al. (2004) também conseguiram marcar *Diatraea grandiosella* Dyar (Lepidoptera: Crambidae) ao se alimentarem de dieta com os corantes Solvent Blue 670 ou Sudan Red 7 B. A nítida coloração das lagartas de *D. saccharalis* marcadas pelos corantes Solvent Blue ou Sudan Red 7 B foi observada a partir de 3 dias após o início da alimentação. Este mesmo resultado de marcação manteve-se e foi observado em todos os testes realizados com os corantes Solvent Blue e Sudan Red 7B (concentrações de 100, 200, 300 e 400 ppm) sobre os adultos oriundos destes tratamentos que apresentaram todas as estruturas internas marcadas por azul ou vermelho de forma bastante nítida e inconfundível. A marcação permaneceu no corpo do inseto durante todo o seu período de vida tanto em machos quanto em fêmeas, fato também observado sobre adultos de *D. grandiosella* por QURESHI et al. (2004).

A coloração, efeito da marcação com os corantes, também foi observada em ovos de fêmeas de todos os tratamentos. A intensidade da tonalidade da coloração foi crescente com o aumento da concentração dos corantes tanto para adultos marcados quanto para seus ovos. Todavia, decréscimos na tonalidade da coloração do corante

Sudan Red 7 B foram registrados para o Isoptera que apresentou nítida redução da coloração depois de 6 dias e após 24 dias não se notava mais o corante. Desta forma, as fêmeas não ovipositaram ovos marcados (HAAGSMA & RUST, 1993).

Durante a condução dos experimentos com os insetos de laboratório e campo, os ovos marcados foram colocados para eclosão de lagartas e a geração F1 apresentou o corpo marcado por azul ou vermelho. Porém, as lagartas da geração F2 perderam o efeito da marcação logo nos primeiros dias ao se alimentaram de dieta sem adição de corante.

3.6 Pré-oviposição e fecundidade

Os insetos não apresentaram diferenças significativas na avaliação da fecundidade e período de pré-oviposição entre todos os tratamentos e em relação a insetos que se desenvolveram alimentando-se de dieta sem adição de corantes (Tabelas 5 e 6). O acasalamento foi observado para todos os casais avaliados, pois houve desenvolvimento embrionário em ovos dos casais, o que indica que os corantes não interferiram no acasalamento dos insetos.

Não foram observadas diferenças estatísticas, entre machos e fêmeas, nos períodos larval e pupal e na longevidade dos insetos. Para *D. grandiosella* foram observadas diferentes respostas em termos de tempo de desenvolvimento entre fêmeas e machos quando se alimentaram de dieta com os corantes Solvent Blue ou Sudan Red 7 B (QURESHI et al., 2004). Foi observado que a fêmea de *D. grandiosella* teve seu desenvolvimento retardado quando alimentada com a dieta vermelha, enquanto que o desenvolvimento de machos foi mais rápido. As fêmeas geralmente são mais dependentes de recursos e aparentemente empregaram maiores custos no metabolismo dos corantes do que os machos (QURESHI et al., 2004).

Tabela 5. Período de pré-oviposição, oviposição, número de ovos e longevidade da fêmea (\pm E.P.) de *D. saccharalis* oriundos de laboratório.

Tratamentos	Período (dias)		Fecundidade ¹	Longevidade Fêmea (dias)
	Pré-Oviposição	Oviposição ¹		
Testemunha (sem corante)	2,11 \pm 0,11 a	5,11 \pm 0,73 a	786,00 \pm 173,70 a	7,22 \pm 0,70 a
Azul, 100 ppm	2,08 \pm 0,08 a	6,00 \pm 0,46 a	649,25 \pm 78,90 a	8,08 \pm 0,48 a
Azul, 200 ppm	2,09 \pm 0,09 a	6,64 \pm 0,58 a	763,18 \pm 56,98 a	8,72 \pm 0,59 a
Azul, 400 ppm	2,17 \pm 0,11 a	5,00 \pm 0,46 a	386,17 \pm 77,64 a	7,17 \pm 0,47 a
Vermelho, 100 ppm	2,08 \pm 0,08 a	5,08 \pm 0,56 a	607,50 \pm 96,53 a	7,17 \pm 0,57 a
Vermelho, 200 ppm	2,09 \pm 0,09 a	6,18 \pm 0,42 a	553,45 \pm 67,11 a	8,27 \pm 0,38 a
Vermelho, 400 ppm	2,08 \pm 0,08 a	6,25 \pm 0,51 a	594,08 \pm 73,90 a	8,33 \pm 0,53 a
CV %	2,16	8,40	27,55	7,08

¹ Dados originais, transformação para análise em $\sqrt{x+5}$ ANOVA

Tabela 6. Período de pré-oviposição, oviposição, número de ovos e longevidade da fêmea (\pm E.P.) de *D. saccharalis* oriundos do campo.

Tratamentos	Período (dias)			
	Pré-Oviposição	Oviposição ¹	Fecundidade ¹	Longevidade Fêmea (dias) ¹
Testemunha (sem corante)	2,22 \pm 0,15 a	4,78 \pm 0,91 a	369,00 \pm 83,76 a	7,00 \pm 0,90 a
Azul, 100 ppm	2,22 \pm 0,15 a	4,22 \pm 0,92 a	278,11 \pm 46,74 a	6,44 \pm 0,91 a
Azul, 200 ppm	2,11 \pm 0,11 a	4,22 \pm 0,78 a	290,44 \pm 78,14 a	5,89 \pm 1,08 a
Azul, 300 ppm	2,00 \pm 0,26 a	3,33 \pm 0,76 a	278,83 \pm 52,60 a	5,33 \pm 0,67 a
Azul, 400 ppm	2,25 \pm 0,25 a	3,75 \pm 0,25 a	242,00 \pm 92,93 a	6,00 \pm 0,41 a
Vermelho, 100 ppm	2,22 \pm 0,15 a	3,55 \pm 0,63 a	486,00 \pm 67,96 a	5,78 \pm 0,59 a
Vermelho, 200 ppm	2,22 \pm 0,15 a	4,22 \pm 0,85 a	452,89 \pm 74,10 a	6,44 \pm 0,78 a
Vermelho, 300 ppm	2,00 \pm 0,17 a	3,78 \pm 0,49 a	339,44 \pm 72,37 a	5,78 \pm 0,46 a
Vermelho, 400 ppm	2,17 \pm 0,17 a	3,00 \pm 0,52 a	296,67 \pm 83,80 a	5,17 \pm 0,65 a
CV %	3,18	11,81	33,6	10,32

¹ Dados originais, transformação para análise em $\sqrt{x+5}$ ANOVA.

4. CONCLUSÕES

A adição dos corantes azul e vermelho à dieta artificial fornecida para alimentação de lagartas de *D. saccharalis* nas concentrações de 100 a 400 ppm proporciona a marcação de adultos e ovos.

A adição dos corantes azul e vermelho não afeta o período de pré-oviposição e a fecundidade de *D. saccharalis*.

A utilização de Sudan Red 7B na concentração de 100 ppm em dieta artificial permite marcar adultos e ovos sem interferir no desenvolvimento do inseto e poderá ser usada para estudos futuros de dispersão.

CAPÍTULO 3. DISPERSÃO DE ADULTOS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO.

1. INTRODUÇÃO

Diversos são os fatores que atuam na regulação de populações como a imigração e emigração. Assim, estudos sobre o movimento de insetos têm considerável valor para melhor compreensão sobre o comportamento e sobre suas interações ecológicas.

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, é um herbívoro que causa sérios prejuízos econômicos aos produtores de milho e apresenta estratégia generalista de alimentação. Este inseto faz parte de menos de 10% dos insetos herbívoros que utilizam mais de três famílias como hospedeiros naturais (BERNAYS & GRAHAM, 1988). Apesar de *S. frugiperda* ser de significativa importância econômica, os estudos realizados limitam-se muitas vezes aos seus aspectos biológicos.

Além de fatores biológicos de insetos-praga, existem outros fatores de relevante importância científica e econômica como o estudo da dispersão destes insetos no ambiente. Ainda recentemente, estudos de dispersão e movimento de insetos recebem pouca atenção. Essas informações de caráter ecológico são essenciais para a elaboração e implementação de programas de manejo de insetos-praga. No que se refere a *S. frugiperda*, há condições de aprimoramento ou inovação das táticas de manejo empregadas, pois não há informações sobre as características da capacidade de dispersão deste inseto.

Métodos de controle de insetos-praga como o uso de plantas geneticamente modificadas está sendo empregado há vários anos em países que adotaram esta biotecnologia (CAPRIO, 1998). Entretanto, existem problemas decorrentes da utilização de plantas geneticamente modificadas como o progresso da resistência pelos lepidópteros alvos sobre as plantas que expressam proteínas inseticidas sendo esta a principal inquietação dos estudiosos (GUSE et al., 2002).

A seleção e a sobrevivência de insetos resistentes numa população pode ocorrer diante do uso de qualquer tratamento inseticida (PEFEROEN, 1997). Para retardar a evolução da resistência de insetos às toxinas de *B. thuringiensis*, a utilização de áreas de refúgio é uma alternativa recomendada (ALSTAD & ANDOW, 1995). O emprego de áreas de refúgio para o manejo de resistência está relacionado com a ecologia do inseto, dispersão e padrões de acasalamento. Segundo GOULD (1998), as áreas de refúgio são áreas de plantas não resistentes a insetos dispostas interna ou externamente aos campos cultivados com plantas transgênicas. Essas áreas objetivam o fornecimento de um grande número de indivíduos homocigotos suscetíveis (SS) para copularem com os suscetíveis heterocigotos (SR) ou ainda com raros resistentes homocigotos (RR) diluindo os alelos de resistência presentes na população. Desta forma, áreas de refúgio podem favorecer a ocorrência de acasalamento ao acaso entre as populações da área tratada e das áreas de refúgio (CAPRIO, 1998). Para tanto, um dos métodos mais comuns de estudo de dispersão de insetos de importância econômica é a marcação-liberação-recaptura (HUNT et al., 2001; QURESHI et al., 2006).

Embora *S. frugiperda* seja uma praga importante em diversos países e um dos alvos para desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas, estudos sobre dispersão de *S. frugiperda* não existem. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo estudar a dispersão por meio de técnicas de marcação-liberação-recaptura de *S. frugiperda* em campos de milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Insetos

Os insetos utilizados nos estudos de marcação-liberação-recaptura de *S. frugiperda* foram obtidos a partir da criação mantida em laboratório da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas/MG, em condições de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 12 horas. A criação massal dos insetos marcados para as liberações no campo foi mantida em sala

climatizada no Laboratório de Ecologia Aplicada da FCAV/UNESP nas mesmas condições da criação do laboratório da Embrapa Milho e Sorgo.

2.2 Marcação dos insetos para estudos de dispersão (Marcação externa e interna)

Para a marcação interna dos insetos foi utilizado o corante marcador vermelho Sudan Red 7B® (Aldrich Company Inc.) na concentração de 400 ppm (VILARINHO et al., 2006) adicionado à dieta artificial a base de feijão. O corante Sudan Red 7B® foi diluído em óleo de milho na proporção de 4 g de corante / 40 ml de óleo e em seguida adicionado à dieta adotando a proporção de 0,4 ml da solução por litro de dieta (OSTLIE et al., 1984). Após o preparo, a dieta artificial das lagartas foi despejada em uma bandeja plástica (40cm x 25cm). Após o resfriamento a dieta foi recortada em cubos de aproximadamente 4 cm³ e foram distribuídos individualmente nas células de bandejas plásticas (16 células cada) utilizadas na criação de *S. frugiperda*. Dentro de cada célula foi colocada apenas uma lagarta de segundo ínstar. Em seguida, as bandejas foram devidamente vedadas com tampas plásticas e colocadas sobrepostas em estantes em sala climatizada (25 ± 3°C e fotofase 12 h) até a formação das pupas. Quando atingiram o estágio de pupa, realizou-se a coleta destas para liberação em campo.

A marcação externa dos insetos foi realizada com o corante fluorescente Fire Orange®. Os insetos foram criados em dieta artificial a base de feijão modificada a partir de proposta de PARRA (1999). A marcação com o pó fluorescente foi realizada apenas quando os insetos atingiram a fase adulta e foi realizada no campo.

2.3 Áreas experimentais para estudo de dispersão de adultos de *S. frugiperda*

O experimento foi realizado em áreas de plantio de milho localizadas em Pirajuba/MG (áreas de produção comercial) e Jaboticabal/SP (áreas de pesquisa da fazenda experimental da FCAV/UNESP). Informações sobre essas áreas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições das áreas experimentais onde foram realizadas as liberações de adultos de *S. frugiperda* marcados.

Safras	Local (Altitude)	Área (ha)	Cultura Anterior	Culturas Vizinhas
Safra 2005/2006	Pirajuba/MG (599 m)	45	Soja	Milho em diferentes fases, cana-de-açúcar e pastagem.
Safrinha 2006	Pirajuba/MG (570 m)	21	Soja	Cana-de-açúcar, reserva nativa e sorgo.
Safra 2006/2007	Jaboticabal/SP (595 m)	40	Soja	Milho, seringueira e cana-de-açúcar.

Os cultivos foram realizados seguindo as técnicas convencionais para a cultura de milho. A marcação realizada pelo corante Sudan Red 7B® pode ser detectada através de posturas marcadas encontradas nas plantas de milho. No caso da marcação externa dos adultos pelo corante Fire Orange®, apenas a marcação de adultos pode ser observada. As liberações dos adultos marcados de *S. frugiperda* ocorreram em diferentes fases de desenvolvimento do milho (Tabela 2).

Tabela 2. Liberações de adultos marcados de *S. frugiperda* em diferentes estádios na cultura do milho e o período de recaptura.

Safra / Ano	Data Liberação	Nº Liberações Realizadas	Estádio Fenológico do Milho	Nº Insetos Liberados	Período de Recaptura (Dias)
Safra 2005/2006	14/1/2006	Única	V 10 e pendoamento	9000	13
Safrinha 2006	12/4/2006	1 ^a	V 3	10600	14
	5/5/2006	2 ^a	V 6	11500	14
Safra 2006/2007	20/12/2006	1 ^a	V 8	10400	11
	11/1/2007	2 ^a	pendoamento	8400	11

Os insetos internamente marcados foram coletados quando atingiram a fase de pupa. As pupas coletadas foram levadas para o campo logo após o início da emergência dos adultos. Para a liberação em campo, as pupas foram misturadas com vermiculita e colocadas em uma caixa de madeira (80 cm x 50 cm x 40 cm). Esta caixa foi protegida

para evitar que as pupas fossem molhadas pela chuva ou orvalho, porém mantendo-se um espaço de 6 cm para a saída das mariposas recém-emergidas. Para evitar a presença de formigas ou outros insetos indesejáveis, a caixa foi colocada sobre uma base de madeira que foi pincelada com cola entomológica (Tanglefoot®).

Armadilhas luminosas de luz negra (BLB Sylvania®) foram utilizadas para a recaptura dos adultos, conforme HUNT et al (2001) e QURESHI et al (2006). Durante o período de recaptura, as armadilhas permaneciam ligadas do crepúsculo ao amanhecer. Para manutenção das lâmpadas acesas, baterias de automóveis de 40 amp foram conectadas em cada armadilha em campo. Para a recaptura de adultos marcados de *S. frugiperda* pelas armadilhas, um saco plástico coletor (40 L) contendo fitas de jornal amassadas foram amarrados na base de cada armadilha luminosa. As armadilhas luminosas foram vistoriadas diariamente durante período de 11 a 14 dias consecutivos a partir da emergência dos adultos marcados, considerado adequado conforme proposta de SIMMONS & MARTI Jr. (1992), sugeriram coletas até 15 dias, e SHOWERS et al. (1989), que sugeriram pelo menos 8 dias. Logo ao amanhecer todas as armadilhas eram vistoriadas e os sacos coletores recolhidos. Todas as baterias eram retiradas do campo, levadas para recarregamento e retornadas para à lavoura ao fim do dia. Após levar os sacos coletores para a triagem em laboratório, os insetos eram mortos por éter etílico e todo os insetos marcados e coletados foram contados e distância de recaptura registrada.

Também foram utilizadas armadilhas de feromônio (ISCA Tecnologia, Iscalure®) para a recaptura dos machos de *S. frugiperda* marcados nas safras de 2006 e 2005/2006. A instalação ocorreu no mesmo dia das armadilhas luminosas. Os insetos comprovadamente marcados para cada armadilha e, conseqüentemente, as distâncias foram devidamente registrados. Foram realizadas observações da presença de ovos em oriundos de indivíduos marcados por corante em plantas de milho. Essa vistoria foi realizada em plantas escolhidas aleatoriamente, procurando avaliar em torno de 100 plantas.

2.4 Liberação-recaptura em condições de campo

2.4.1 Liberação-recaptura durante a safra 2005/2006

As armadilhas luminosas foram dispostas em quatro direções, correspondentes aos pontos cardeais (N, S, L e O). O ponto de liberação foi estabelecido no ponto central da área ocupada pelas armadilhas luminosas (Figura 1). As distâncias estabelecidas foram de 100 m a partir das quatro direções do ponto de liberação (Figura 1). Foi realizada apenas uma liberação no dia 14/01/2006. O milho estava no estágio vegetativo V10 no momento da liberação e em estágio de pendramento (Tabela 1) nos últimos 4 dias de avaliação. As armadilhas foram colocadas em campo e vistoriadas diariamente por 13 dias consecutivos após o início da liberação dos adultos.

2.4.2 Liberação-recaptura durante a safrinha 2006

O segundo experimento de campo para estudo de dispersão de *S. frugiperda* foi realizado durante a safrinha de 2006 em área comercial de milho localizado em Pirajuba/MG (Tabela 1). Foram realizadas duas liberações de *S. frugiperda*. A primeira liberação foi realizada no dia 12/4/2006 e o milho encontrava-se no estágio V3 (Tabela 2). A segunda liberação foi realizada no dia 05/5/2006 e o milho encontrava-se no estágio V6 (Tabela 2).

As armadilhas foram dispostas em duas linhas paralelas e distribuídas na lavoura de forma que ocupasse a parte central desta (Figura 2). Após serem colocadas em campo, as armadilhas luminosas foram vistoriadas diariamente por 14 dias consecutivos após o início da emergência dos adultos marcados, tanto na primeira quanto na segunda liberação dos insetos.

Dentro da lavoura, entre as duas linhas de armadilhas luminosas foram instaladas duas armadilhas de feromônio a 600 e 700 m a partir do ponto de liberação. Na área externa da lavoura, foram instaladas 15 armadilhas de feromônio em distâncias variáveis sendo as três mais próximas situadas a 100 m a partir do ponto de liberação.

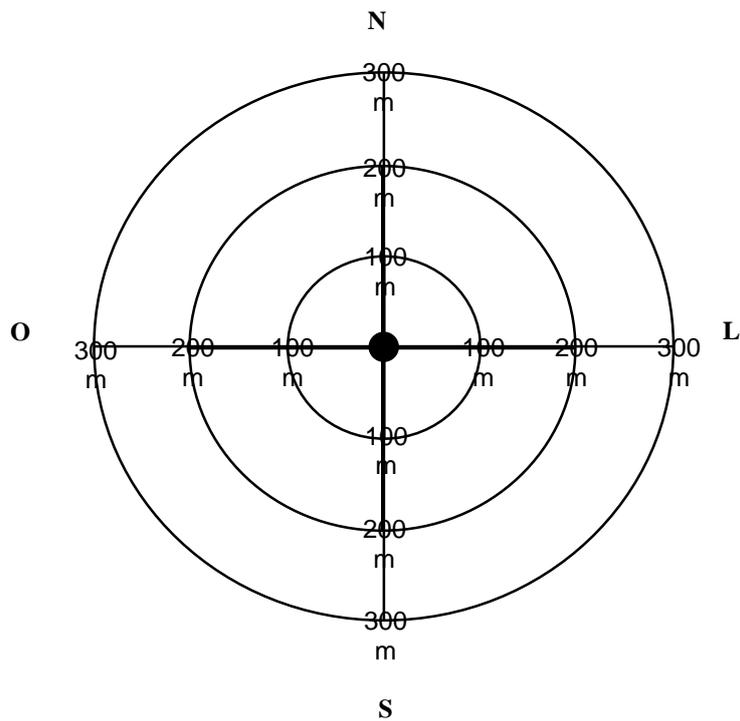


Figura 1. Esquema da distribuição das armadilhas luminosas na lavoura de milho e ponto de liberação dos insetos no centro (Pirajuba/MG, Safra 2005/2006).

2.4.3 Liberação-recaptura durante a safra 2006/2007

O terceiro experimento de campo para estudo de dispersão de *S. frugiperda* foi realizado durante a safra 2006/2007. A distribuição das armadilhas foi semelhante àquela adotada na safrinha de 2006, porém foram instaladas duas armadilhas a mais (total de 9 armadilhas luminosas) em cada linha (Figura 3). As distâncias a partir do ponto de liberação de *S. frugiperda* estão detalhadas na Tabela 3.

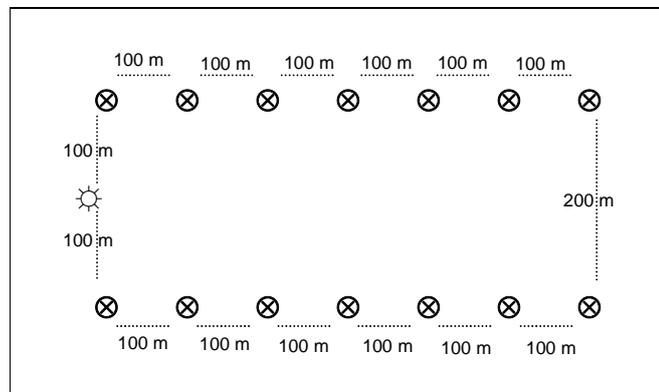
Tabela 3. Distâncias das armadilhas luminosas a partir do ponto de liberação de adultos marcados de *S. frugiperda* (safrinha 2006 e safra 2006/2007).

Armadilhas luminosas (seqüência em uma linha)	Distâncias do ponto de liberação (m)
1	100,00
2	141,42
3	223,61
4	312,23
5	412,31
6	509,90
7	608,28
8	707,11 *
9	806,22 *

* Armadilhas luminosas apenas para a safra 2006/2007.

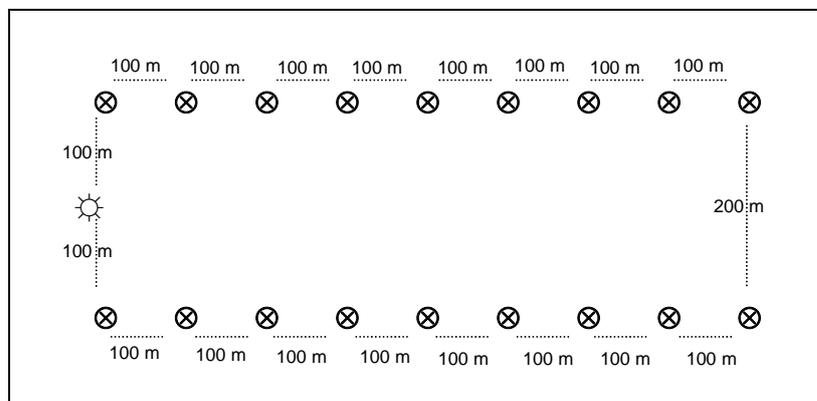
Nas bordas da lavoura foram instaladas 8 armadilhas de feromônio sendo as três mais próximas situadas a 100 metros do ponto de liberação. As demais foram distribuídas em área externa a 1000 metros distantes do ponto de liberação aos arredores.

Foram realizadas duas liberações de *S. frugiperda*. A primeira liberação foi realizada no dia 20/12/2006 e o milho encontrava-se no estádio V8 no momento da liberação (Tabela 1). A segunda liberação foi realizada no dia 11/1/2007 e o milho encontrava-se no estádio de pendoamento. As armadilhas luminosas foram vistoriadas diariamente por 11 dias após o início da emergência dos adultos marcados, tanto na primeira quanto na segunda liberação dos insetos marcados.



⊗ armadilhas luminosas (14)
 ☀ Ponto de liberação

Figura 2. Esquema da distribuição das 14 armadilhas luminosas na lavoura de milho e ponto de liberação dos insetos (Pirajuba / MG, Safrinha 2006).



⊗ Armadilhas luminosas (18)
 ☀ Ponto de liberação

Figura 3. Esquema da distribuição das 18 armadilhas luminosas na lavoura de milho e ponto de liberação dos insetos (UNESP / FCAV, Safra 2006 / 2007).

2.5 Levantamento de posturas de mariposas marcadas de *S. frugiperda* em condições de campo

Durante as avaliações de liberação-recaptura (safrinha 2006 e safra 2006/2007), a partir do dia inicial da emergência de adultos, foram feitas observações sobre a presença de posturas marcadas nas plantas de milho e nos próprios pontos de recaptura (armadilhas luminosas). Foram vistoriadas aproximadamente 100 plantas de forma aleatória na área de milho. As posturas foram identificadas pela coloração vermelha, típica de fêmeas marcadas pela concentração de Sudan Red 7B utilizada (VILARINHO et al., 2006). Ao encontrar posturas marcadas, à distância do ponto de liberação foi medida e registrada. O número de ovos e a localização na planta (ou fora da planta) foram registrados. Para comprovação da viabilidade dos ovos, logo após serem localizadas, as posturas foram recortadas das folhas de milho (ou retiradas com cautela das armadilhas luminosas) e colocadas em copos plásticos (200 ml) sendo mantidas em sala com temperatura ambiente (25 ± 10 °C).

2.6 Análises estatísticas

Foram realizadas análises de variância dos dados e separação das médias através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se os procedimentos PROC GLM e PROC REG (SAS Institute, 2001). O método de Quasi-Newton foi utilizado na estimativa dos parâmetros dos modelos de dispersão adotando o modelo exponencial decrescente $y = a + be^{(-Kx)}$ para ajuste das análises de recapturas dos insetos empregando o programa Statistica (Statsoft 6.0). Cálculos de porcentagem foram realizados para o número de insetos marcados recapturados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Recaptura de *S. frugiperda* através de armadilhas luminosas durante a safra 2005/2006, safrinha 2006 e safra 2006/2007

Durante a safra 2005/2006 o número de insetos recapturados não diferiu significativamente em relação às direções norte, sul, leste ou oeste sugerindo dispersão em todas as direções, ou seja, os insetos se dispersaram de forma aleatória. Neste experimento, foram recapturados apenas 12 de um total de 9000 insetos liberados (Tabela 4). Essa quantidade representou 0,11% do total liberado.

Tabela 4. Adultos marcados de *S. frugiperda* recapturados durante a safra 2005/2006.

	Adultos recapturados		
	Macho	Fêmea	Total
Safra 2005/2006	11	1	12

O número médio de adultos (machos e fêmeas) de *S. frugiperda* recapturados foi significativamente maior na safrinha de 2006 (período seco) do que na safra 2006/2007 (período úmido) (Tabela 5). Isso deve ter ocorrido devido à época de plantio (safra e safrinha), condições climáticas na época de liberação e durante o período de recaptura dos insetos e estágio de desenvolvimento da cultura ou culturas vizinhas. As plantas de milho da safrinha 2006 estavam subdesenvolvidas em relação às plantas da safra 2006/2007, mesmo considerando o mesmo estágio. Devido ao subdesenvolvimento as plantas apresentavam menor área foliar e altura. Dessa forma, representavam obstáculos reduzidos para o movimento das mariposas na área, uma vez que esses insetos se deslocaram poucos metros e a baixa altura (até cerca de 1 m acima da altura máxima das plantas) de uma planta para a outra.

Durante a safrinha 2006, por todo o período da primeira e segunda liberação e recaptura de *S. frugiperda* marcadas, não houve qualquer índice de precipitação pluviométrica, o que pode ter sido um dos fatores favoráveis para o maior número de insetos recapturados em relação à safra 2006/2007. Na safra 2006/2007 houve precipitação praticamente todas as noites de recaptura, ou seja, exatamente no período

de vôo dos insetos o que pode ter sido um fator que influenciou no menor número de insetos recapturados.

Tabela 5. Número médio de adultos (\pm EP) de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilhas luminosas durante as safrinha 2006 e safra 2006/2007 a partir de duas liberações em safras de milho em diferentes estações.

		Média (\pm EP)			P		
		Macho	Fêmea	Total	Macho	Fêmea	Total
Safrinha	2006	4,74 a	2,28 a	7,02 a	0,0003	0,0002	0,0001
	2006/2007	2,41 b	0,56 b	2,97 b			
Liberação	1 ^a	3,52 a	2,19 a	5,71 a	0,4887	< 0,0001	0,0162
	2 ^a	3,35 a	0,43 b	3,78 a			
Linhas de armadilhas luminosas	1	3,43 a	1,40 a	4,82 a	0,8387	0,5909	0,8204
	2	3,44 a	1,22 a	4,66 a			

Em relação ao número de insetos recapturados nas duas liberações das safras de 2006 e 2006/2007, observou-se que a recaptura de fêmeas foi significativamente maior na 1^a. liberação, ocorrida quando as plantas encontravam-se no estágio V3 e V8 respectivamente. Todavia, não houve diferença significativa na recaptura de machos. Ao comparar as coletas de insetos nas armadilhas luminosas das duas linhas paralelas, verificou-se que não houve diferença significativa no número insetos recapturados nas safras 2006 e 2006/2007. Assim, de modo geral, a despeito da disposição das armadilhas no campo, há indicação de que o movimento de *S. frugiperda* ocorre de forma difusa em todas as direções.

3.2 Dispersão de adultos de *S. frugiperda*.

3.2.1 Recaptura de *S. frugiperda* através de armadilhas luminosas na safra 2005/2006

Durante a safra 2005/2006, a maior porcentagem observada (58,33%) de

recaptura de adultos de *S. frugiperda* foi para 100 m a partir do ponto de liberação (Figura 4). Em todas as recapturas, apenas uma fêmea (8,33%) de *S. frugiperda* foi recapturada no total de 12 indivíduos.

3.2.2 Recaptura de adultos *S. frugiperda* através de armadilhas luminosas durante a safrinha 2006

Houve 0,09 % de adultos de *S. frugiperda* recapturados de um total de 22100 insetos considerando as duas liberações realizadas na safrinha 2006. Durante o estudo de dispersão de *S. frugiperda* foi observado que as maiores porcentagens de adultos recapturados ocorreram até aproximadamente 141 m do ponto de liberação, sendo que nesta faixa houve coleta de 48,34% do total de insetos recapturados (Figura 5). A porcentagem de insetos recapturados na faixa de aproximadamente 220 a 610 m variou entre 8,53% e 11,85%, totalizando 51,66% dos insetos recapturados. Houve recaptura de adultos até as duas maiores distâncias, de 509,9 m e 608,28 m. No período em que as armadilhas permaneceram no campo observou-se que houve correlação negativa entre o número de insetos coletados e distância do ponto de liberação.

Ao analisar separadamente a primeira e segunda liberação-recaptura observa-se que a dispersão dos adultos ao longo das distâncias é semelhante independente do estágio de desenvolvimento do milho (V3 e V6) (Figura 6). Apesar do estágio de desenvolvimento da cultura, observou-se que o número de insetos recapturados decresceu com o aumento da distância. Na primeira liberação houve recaptura de 166 insetos (1,66% do total liberado) enquanto na segunda liberação houve a coleta de 45 insetos (0,45% do total liberado). Durante todo o período de recaptura dos insetos não houve precipitação pluviométrica na área de estudo.

Na avaliação conjunta das duas liberações, a porcentagem de machos recapturados foi maior do que a porcentagem de fêmeas recapturadas (Figura 7a). Esta

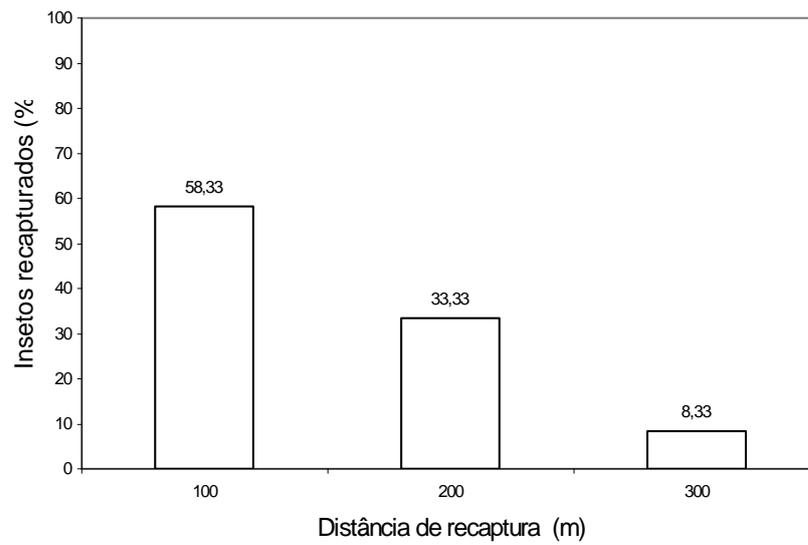


Figura 4. Porcentagem de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilhas luminosas de campo e a distância do ponto de liberação (safra 2005/2006).

condição se manteve na segunda liberação-recaptura também aliada ao fato de que não houve qualquer recaptura de fêmeas nas distâncias de 312,23 m, 412,31 m e na maior distância 608,28 m (Figura 7b). Em estudos com *O. nubilalis*, SHOWERS et al (2001) observou que machos desta espécie podem se dispersar a distâncias superiores a 800 m a procura de fêmeas para acasalar, contudo, maior porcentagem de machos recapturados ocorreu a 200 metros do ponto de liberação.

Ao analisar todos os dados de adultos machos e fêmeas de *S. frugiperda* recapturados durante as duas liberações na safrinha 2006, observa-se que o movimento de insetos machos ocorreu a distâncias maiores do que as fêmeas (Figura 8). Todavia, destaca-se que a razão sexual dos insetos marcados foi de praticamente 1:1 ao serem liberados. Portanto, as armadilhas luminosas exerceram maior atratividade dos machos do que das fêmeas. Isso também foi observado por QURESHI et al. (2006) para *Diatraea grandiossela* Dyar (Lepidoptera: Crambidae) em que houve maior recaptura de machos do que fêmeas utilizando armadilhas de feromônio e luminosas.

Dentro da área interna de distribuição das armadilhas na lavoura foram recapturados quatro machos de *S. frugiperda* por armadilha de feromônio, sendo que um inseto foi coletado a 600 m do ponto de liberação. Não houve qualquer recaptura de indivíduos marcados em todas as outras armadilhas de feromônio localizadas fora da área de milho. Desta forma, observa-se que o feromônio exerce atração para os machos pois houve recaptura na parte interna da lavoura onde as armadilhas luminosas estavam instaladas. Contudo, os insetos não foram capturados por armadilhas dispostas em área externa à lavoura de milho, distantes 50 a 1000 m.

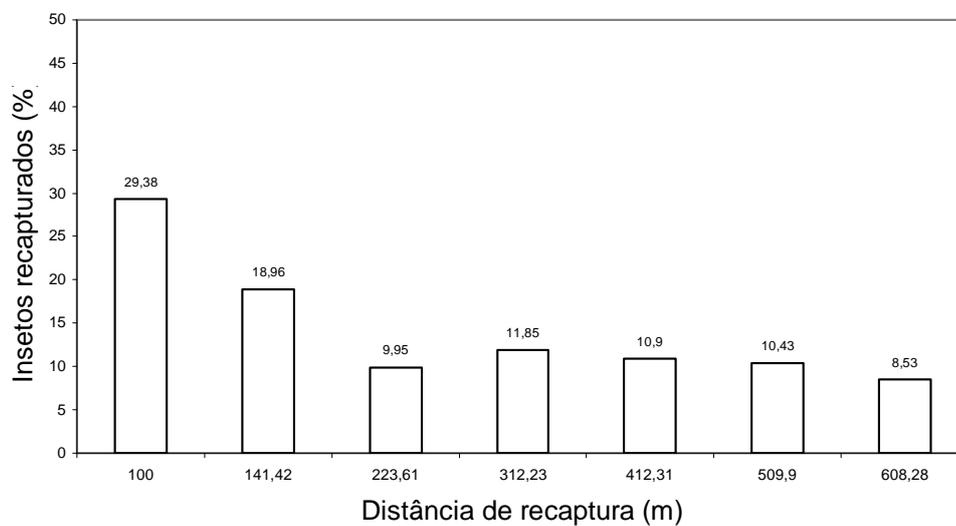


Figura 5. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilhas luminosas de campo em duas liberações e a distância a partir do ponto de liberação (safrinha 2006).

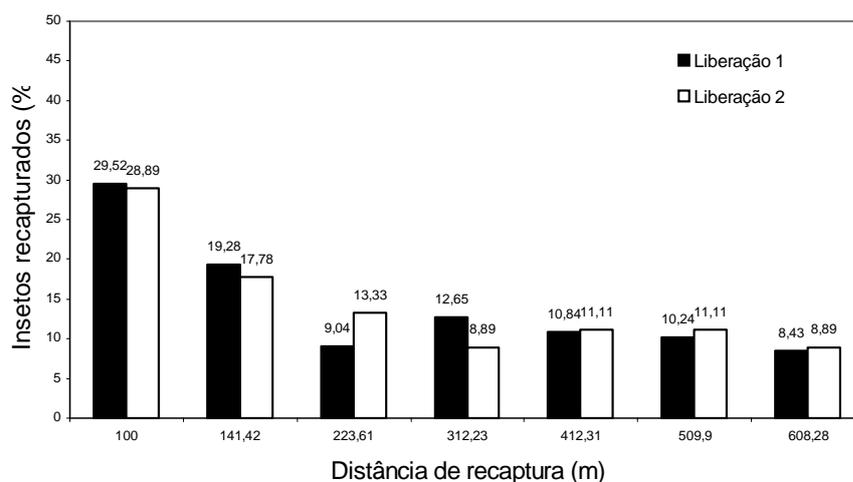


Figura 6. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo na primeira e na segunda liberação e a distância a partir do ponto de liberação (safrinha 2006).

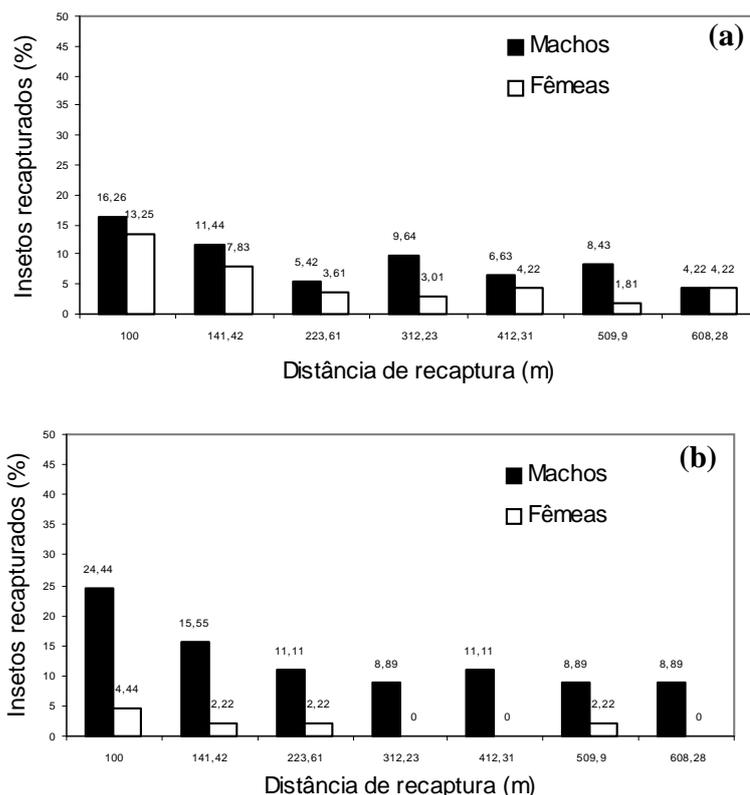


Figura 7. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo na primeira liberação (a) e segunda liberação (b) e a distância do ponto de liberação (safrinha 2006).

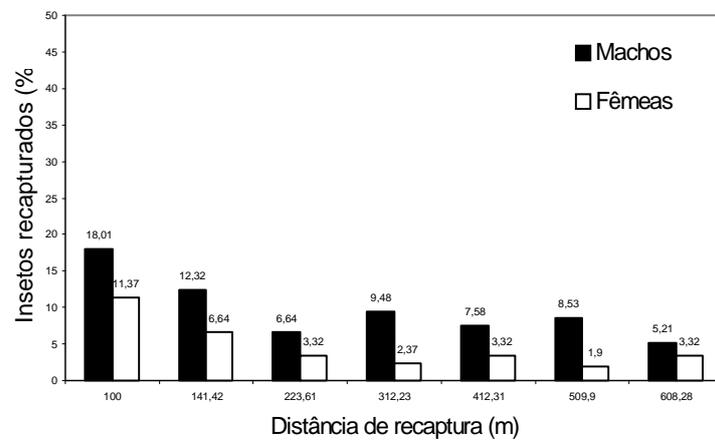


Figura 8. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* machos e fêmeas da primeira liberação-recaptura e a distância do ponto de liberação (safrinha 2006).

3.2.3 Recaptura de *S. frugiperda* através de armadilhas luminosas durante a safra 2006/2007

Os estudos de liberação-recaptura de *S. frugiperda* ocorreram quando a cultura do milho estava no estágio V8 (primeira liberação-recaptura) e pendoamento (segunda liberação-recaptura). As mariposas de *S. frugiperda* marcadas foram recapturadas em maior quantidade na distância de 100m a partir do ponto de liberação (Figura 9); mas, 47,36% dos insetos foram recapturados até cerca de 223 m do ponto de liberação. Os adultos foram recapturados em todas as distâncias a partir do ponto de liberação, inclusive na maior distância (806,22 m). A capacidade de dispersão de lepidópteros é bem variável, pois para *D. grandiosella* mais de 90% dos adultos foram recapturados na faixa dos 300 m do ponto de liberação (QURESHI et al., 2006). Estudo semelhante com *O. nubilalis* foi realizado por HUNT et al. (2001) que obteve a maioria dos insetos recapturados 70% a 98% a 450 metros do local de liberação.

Observa-se que apenas para a segunda liberação houve recaptura em todas as distâncias a partir do ponto de liberação, quando o milho já estava em estágio de pendoamento. Em contrapartida, quando o milho estava no estágio vegetativo, os insetos foram recapturados em menores distâncias (primeira liberação-recaptura). A distância máxima de recaptura de *S. frugiperda* na primeira liberação-recaptura foi de 608,28 m do ponto de liberação (Figura 10). O número de adultos de *S. frugiperda* recapturados foi maior na segunda liberação (68 adultos: 0,68 % do total liberado) em relação à primeira liberação (27 adultos: 0,27 % do total liberado).

Os dados de recaptura entre machos e fêmeas foram bastante variados na primeira e segunda liberação. Apenas os machos foram recapturados em todas as armadilhas localizadas a diferentes distâncias (Figura 11a). Não houve recaptura nas armadilhas localizadas nas distâncias 707 metros e 806 metros do ponto de liberação (Figura 11a).

Observa-se que após a segunda liberação houve recaptura para machos em todas as distâncias (100 m a 806,22 m); contudo as fêmeas foram recapturadas apenas em três pontos (100; 312,23 e 707,11 m) e em porcentagem muito menor em relação aos machos (Figura 11b). A porcentagem de recaptura de adultos machos de *S.*

frugiperda apresentou maiores proporções e regularidade ao longo das distâncias em relação às fêmeas (Figura 12).

Foram recapturados dois machos de *S. frugiperda* marcados em apenas uma armadilha de feromônio localizada a 100 m do ponto de liberação. Nas armadilhas de feromônio externas à lavoura não houve recaptura.

3.3 Análises de regressão para recaptura de *S. frugiperda* a diferentes distâncias

Através das análises de regressão dos adultos de *S. frugiperda*, observa-se que o número de insetos recapturados decresce com o aumento da distância de recaptura. Apesar da direção e dos poucos insetos recapturados verificou-se que a relação entre o número de insetos coletados e distância é negativa (Figura 13).

Nos dados da safrinha 2006, observou-se que o número de insetos recapturados após a primeira liberação decresce de forma mais acentuada até 200 m do ponto de liberação (Figuras 14 e 15). A tendência decrescente ocorre também após a segunda liberação quando se analisam as curvas de recaptura (Figuras 16 e 17).

Através dos dados da primeira liberação-recaptura durante a safra 2006/2007, observa-se que houve queda acentuada no número de insetos recapturados a partir da primeira armadilha (Figuras 18 e 19). Contudo, a recaptura do total de insetos da segunda liberação (Figura 20) e de machos (Figura 21a) demonstram um decréscimo gradativo à medida que se aumenta a distância de recaptura a partir do ponto de liberação. Apenas 8 fêmeas foram recapturadas em três distâncias (Figura 21b).

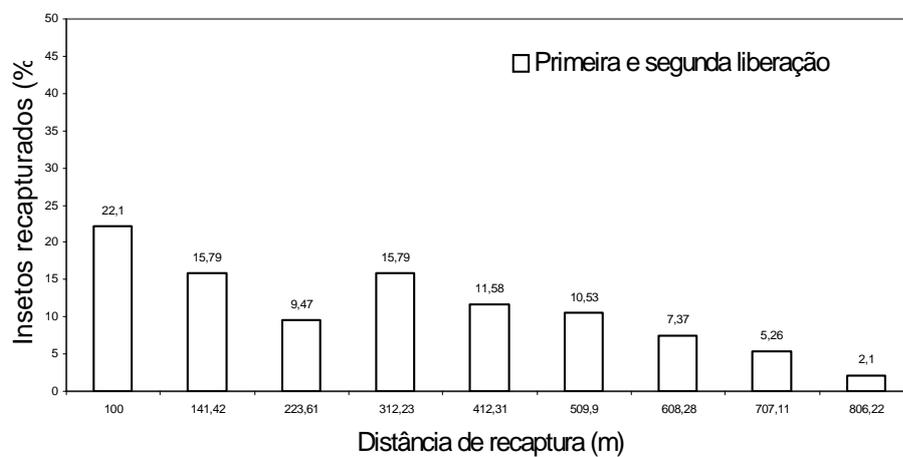


Figura 9. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo na primeira e na segunda liberação e a distância a partir do ponto de liberação (safra 2007).

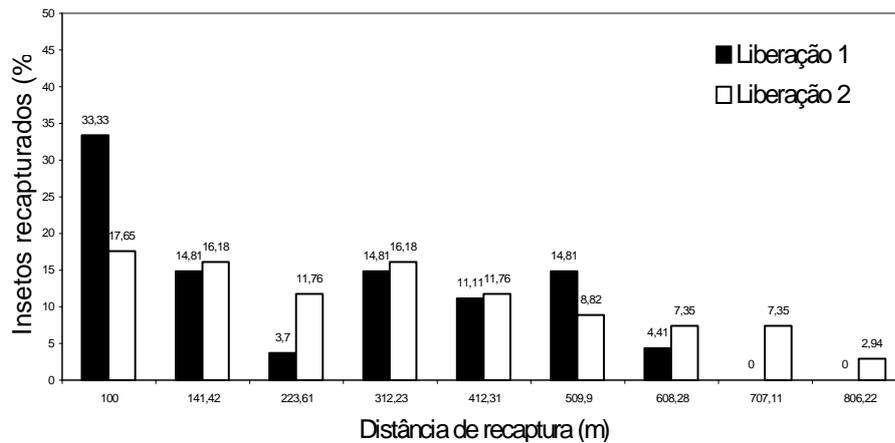


Figura 10. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo na primeira e na segunda liberação e a distância a partir do ponto de liberação (safra 2007).

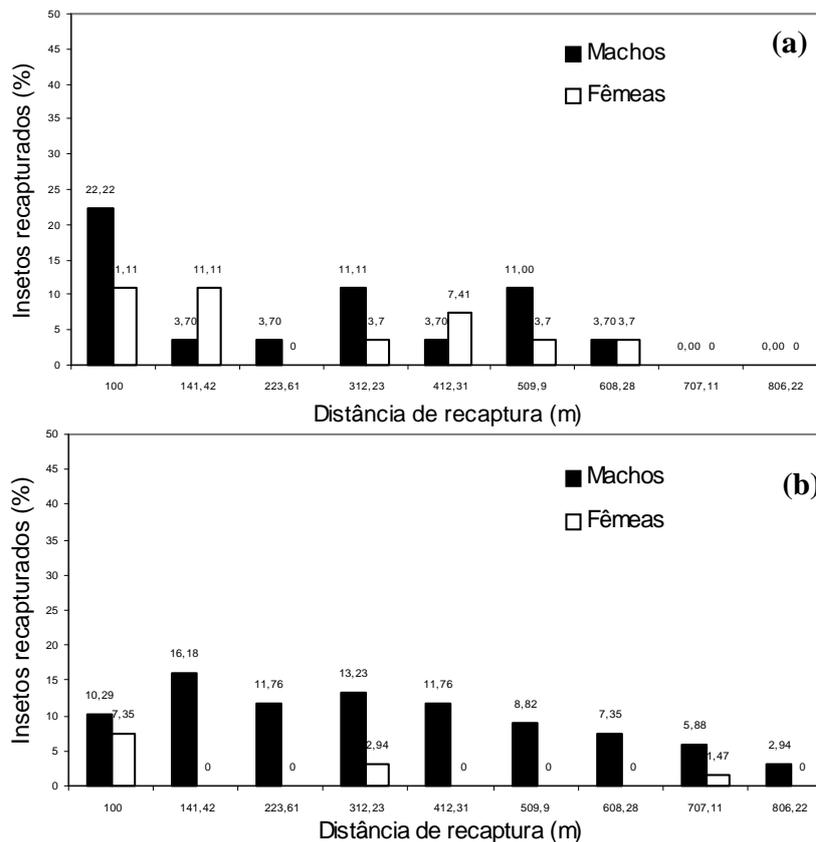


Figura 11. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo na primeira (a) e segunda (b) liberação e a distância do ponto de liberação (safra 2007).

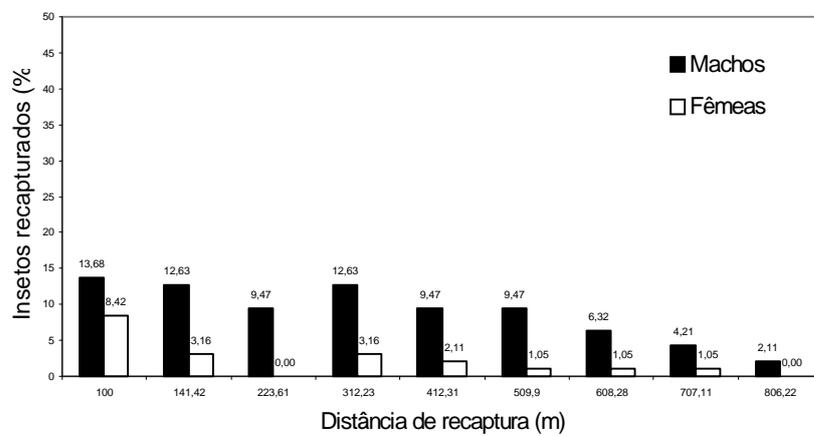


Figura 12. Porcentagem total de adultos de *S. frugiperda* machos e fêmeas da primeira liberação-recaptura e a distância do ponto de liberação (safra 2007).

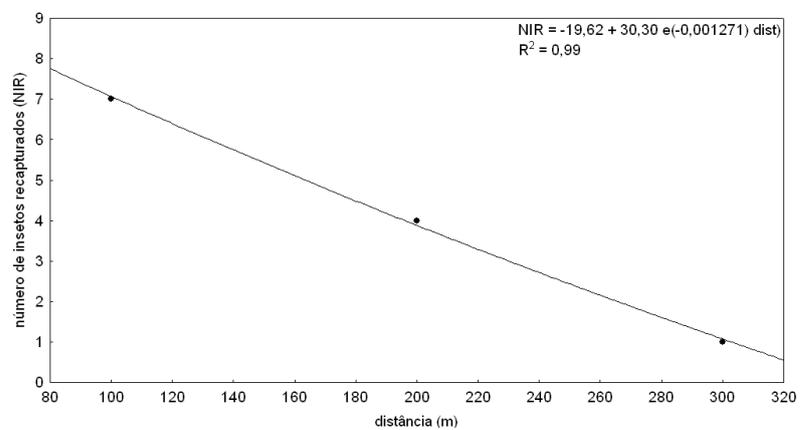


Figura 13. Relação de adultos de *S. frugiperda* (machos + fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (liberação única / safra 2005/2006).

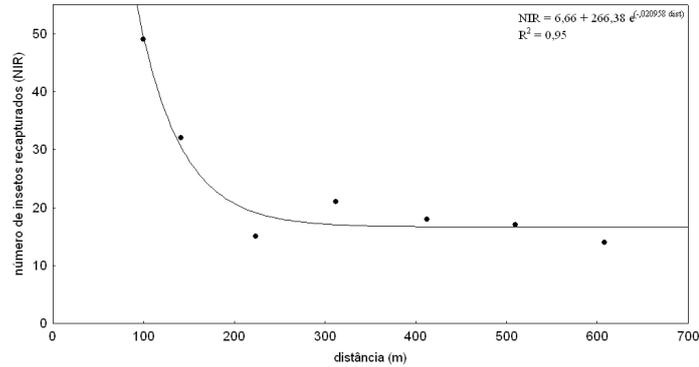


Figura 14. Relação de adultos de *S. frugiperda* (machos + fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (primeira liberação / safrinha 2006).

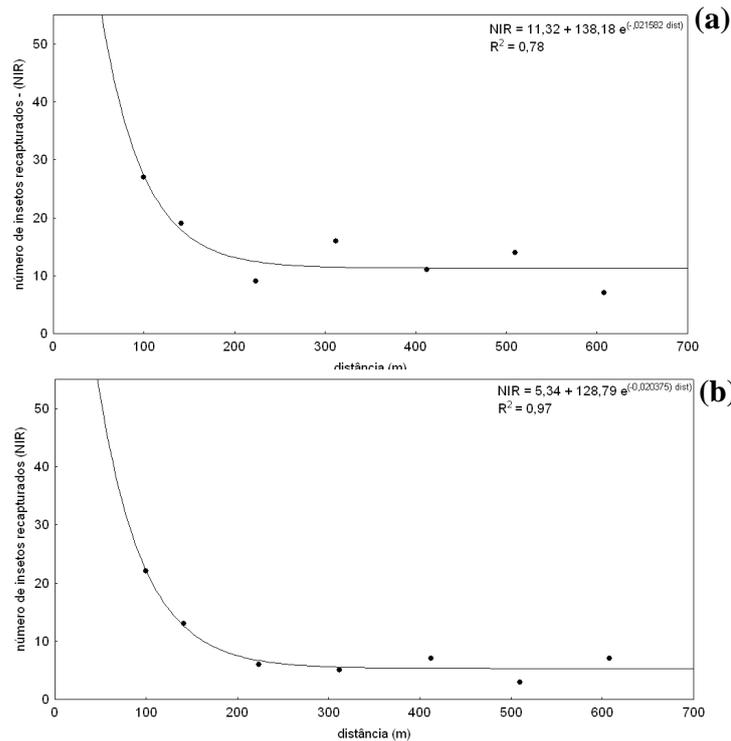


Figura 15. Relação de adultos de *S. frugiperda* machos (a) e fêmeas (b) recapturados por armadilha luminosa nos estudos de campo e a distância a partir de liberação (primeira liberação / safrinha 2006).

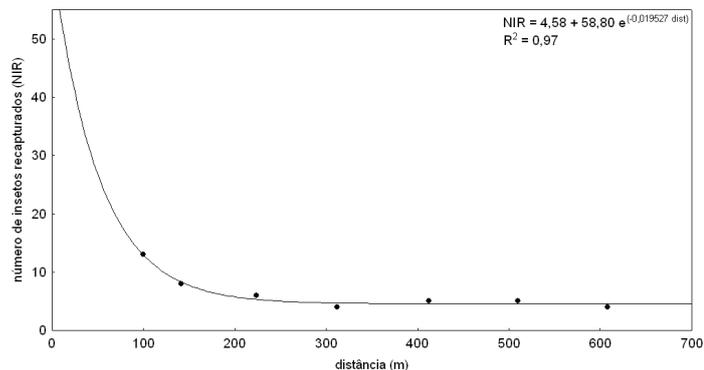


Figura 16. Relação de adultos de *S. frugiperda* (machos + fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (segunda liberação / safrinha 2006).

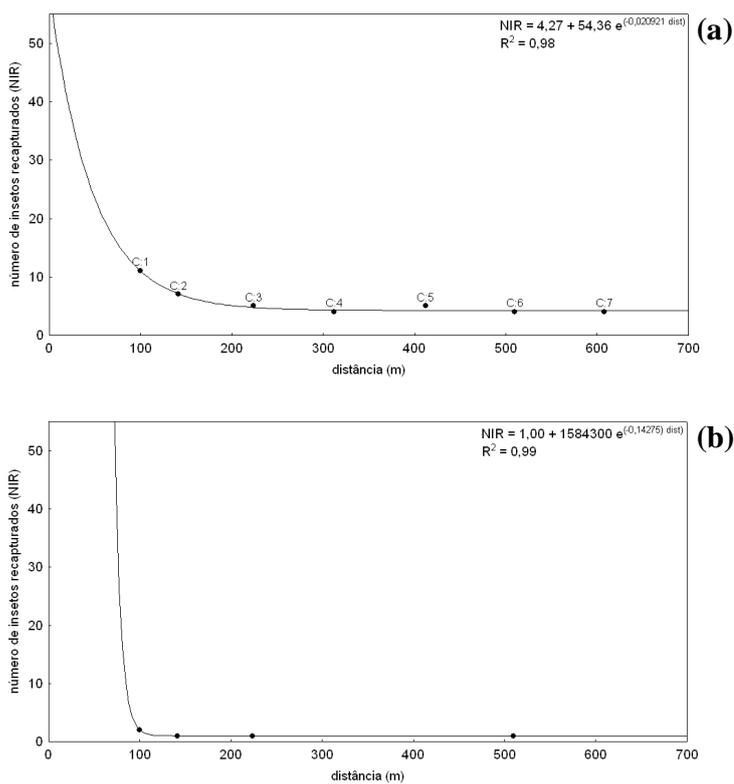


Figura 17. Relação de adultos de *S. frugiperda* machos (a) e fêmeas (b) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (segunda liberação / safrinha 2006).

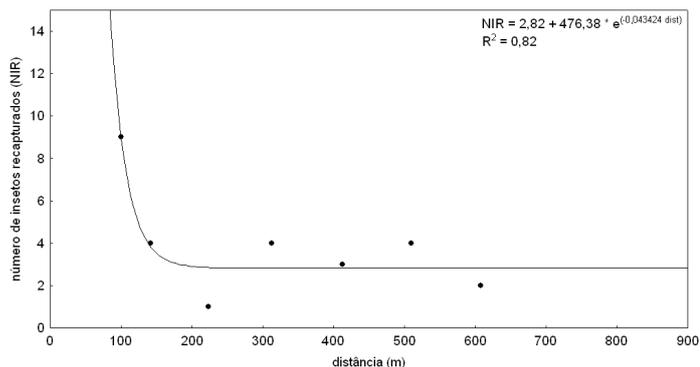


Figura 18. Relação de adultos de *S. frugiperda* (machos + fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (primeira liberação / safra 2006/2007).

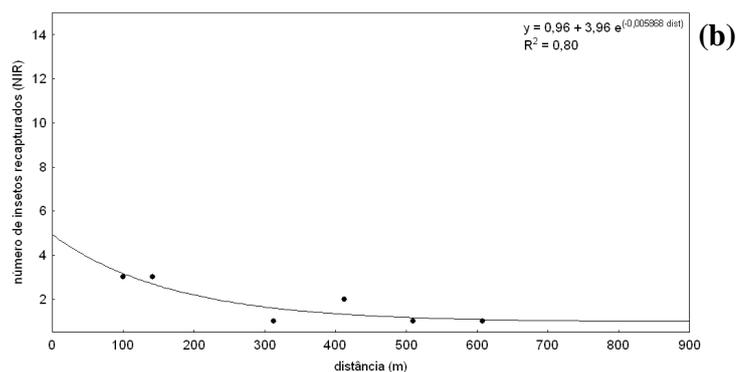
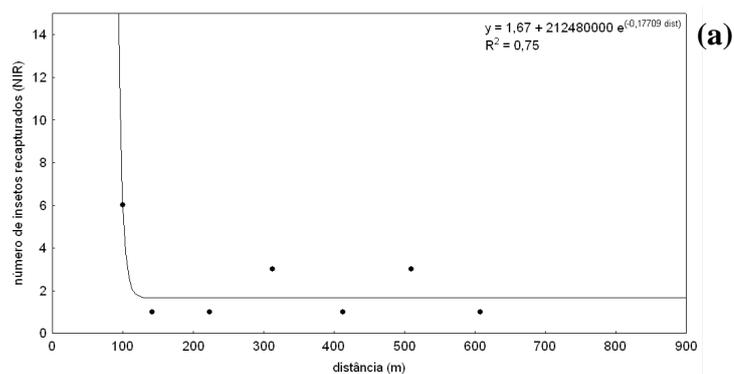


Figura 19. Relação de adultos de *S. frugiperda* machos (a) e fêmeas (b) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (primeira liberação / safra 2006/2007).

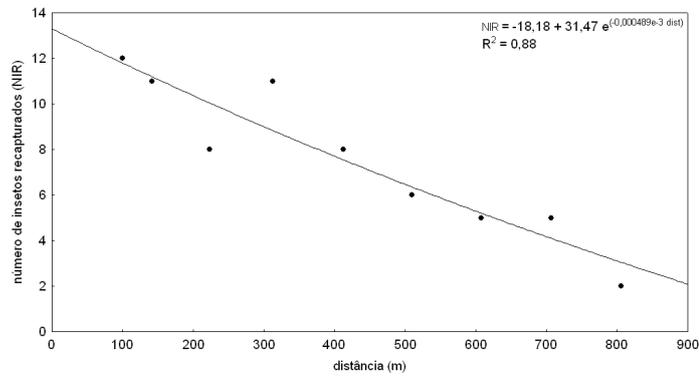


Figura 20. Relação entre de adultos de *S. frugiperda* (machos e fêmeas) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (segunda liberação / safra 2007).

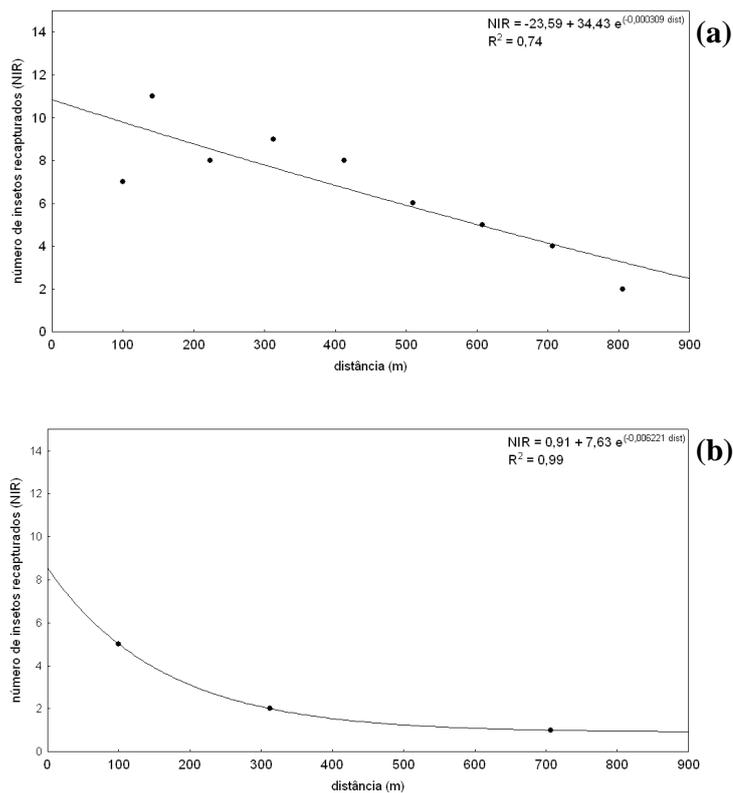


Figura 21. Relação de adultos de *S. frugiperda* machos (a) e fêmeas (b) recapturados por armadilha luminosa de campo e a distância do ponto de liberação (segunda liberação / safra 2006/2007).

3.5 Recapturas diárias de adultos de *S. frugiperda*

Durante a safrinha de 2006, após a liberação-recaptura foi observado que as primeiras recapturas de fêmeas ocorreram no terceiro dia após o início da emergência nas distâncias de 223,61 m, 412,31 e 509,9 m a partir do ponto de liberação. Ou seja, no terceiro dia mariposas fêmeas já haviam percorrido mais de 500 metros. Em contrapartida, as primeiras recapturas de machos ocorreram em menores distâncias, 100 a 141 metros (Figura 22) (safra 2006).

Após a primeira liberação-recaptura, foi observado a primeira recaptura de fêmeas no quinto dia de avaliação a 608,28 metros a partir do ponto de liberação sendo esta a distância máxima obtida durante toda a avaliação da safra. A primeira recaptura de adultos ocorreu no segundo dia a 223 metros (primeira liberação) e primeiro dia a 100 metros (segunda liberação) (Figura 23) (safra 2006/2007).

3.6 Levantamento de posturas de mariposas marcadas de *S. frugiperda* em condições de campo

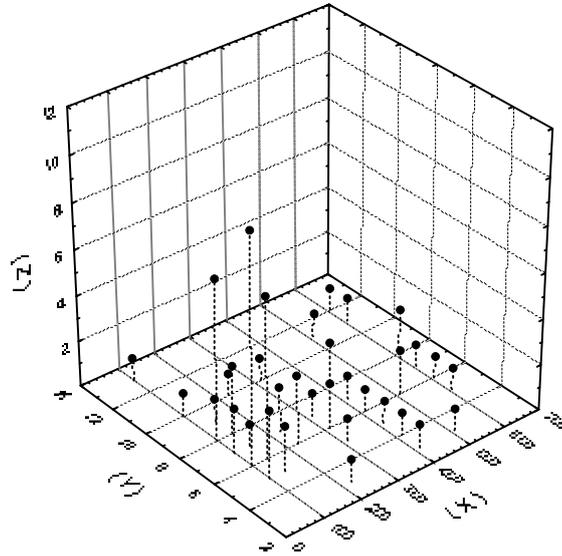
Durante os experimentos de liberação-recaptura (safrinha 2006) foram observadas posturas oriundas de fêmeas marcadas nas plantas de milho e também nas armadilhas luminosas ou nos próprios sacos plásticos (coleta) durante as coletas.

A maioria das posturas marcadas pelo corante vermelho encontradas nas plantas estava localizada entre a primeira e terceira folhas abaixo da folha bandeira e no terço superior da face adaxial. O mesmo padrão de localização de posturas na planta foi observado para posturas oriundas de indivíduos de *S. frugiperda* de ocorrência natural do campo. As posturas marcadas tinham em média 200 ovos correspondente a média de número de ovos normalmente já registrada (VILARINHO et al., 2006). Todas as posturas encontradas eram de fêmeas copuladas, pois houve registro da eclosão de lagartas para todas as posturas. No caso de *O. nubilalis*, a condição de umidade relativa mais elevada é mais favorável ao sucesso de acasalamento e também a maior capacidade de oviposição (ROYER & McNEIL, 1991) pois no caso de *O. nubilalis* a

produção e fertilidade de ovos dependem de condições adequada de umidade (KIRA et al., 1969). Em contrapartida, durante as avaliações de recaptura de *S. frugiperda* na safrinha de 2006 foi observada baixa umidade relativa e não houve precipitação pluviométrica.

De acordo com o levantamento de posturas marcadas durante a safrinha 2006 (duas liberações) nota-se que maior porcentagem de posturas marcadas e férteis foram realizadas a 12 metros a partir do ponto de liberação. Houve registro de 1 postura marcada de mariposa acasalada na maior distância de 608,28 m a partir do ponto de liberação (Figura 24 e 25), observada no quarto dia após o início da emergência dos adultos. Durante a safra 2006/2007 também foram encontradas posturas marcadas num raio de 12 metros a partir do ponto de liberação.

Recaptura de Fêmeas de *S. frugiperda* (safra 2006)



Recaptura de Machos de *S. frugiperda* (safra 2006)

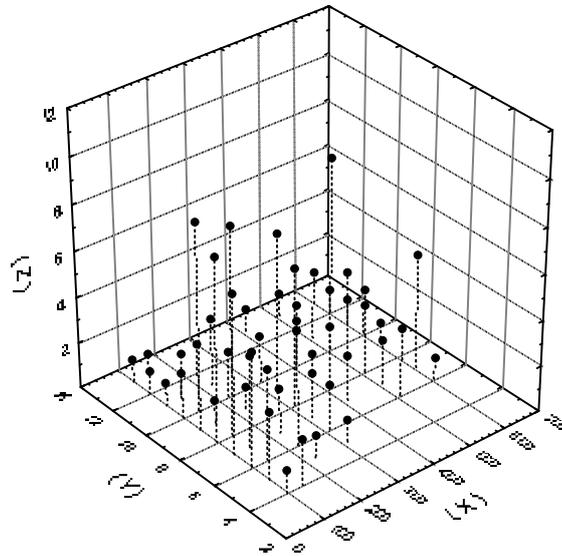
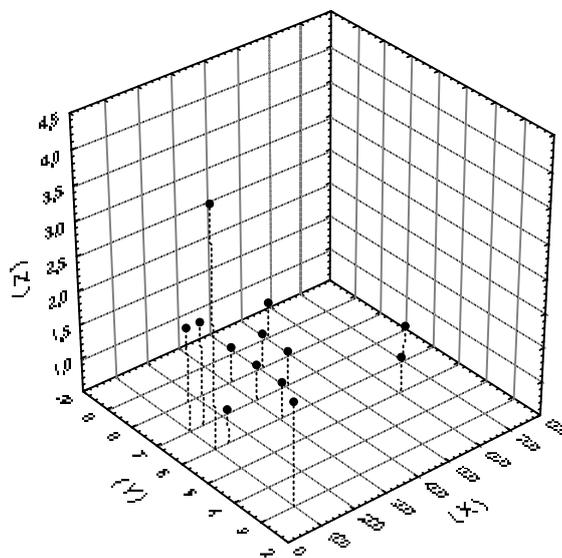


Figura 22. Recaptura diária de adultos de *S. frugiperda* (fêmeas e machos) e a distância do ponto de liberação. Eixos: **Z** = Número de adultos recapturados; **Y** = Período de recaptura (dias); **X**= Distância de recaptura (m), (Safrinha 2006).

Recaptura de Fêmeas de *S. frugiperda* (safra 2006/2007)



Recaptura de Machos de *S. frugiperda* (safra 2006/2007)

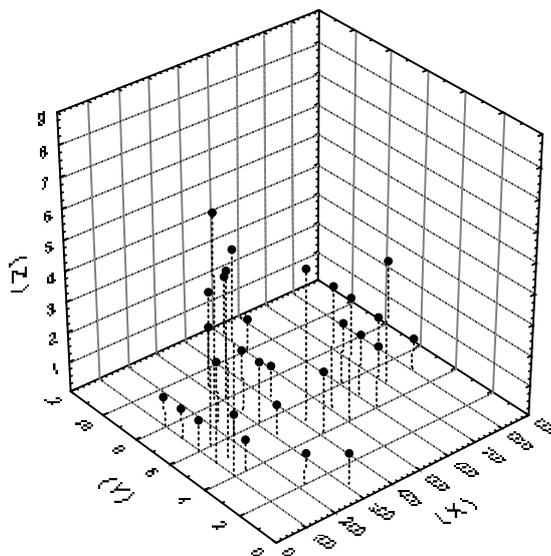


Figura 23. Recaptura diária de adultos de *S. frugiperda* (fêmeas e machos) e a distância do ponto de liberação. Eixos: **Z** = Número de adultos recapturados; **Y** = Período de recaptura (dias); **X**= Distância de recaptura (m), (Safra 2006/2007).

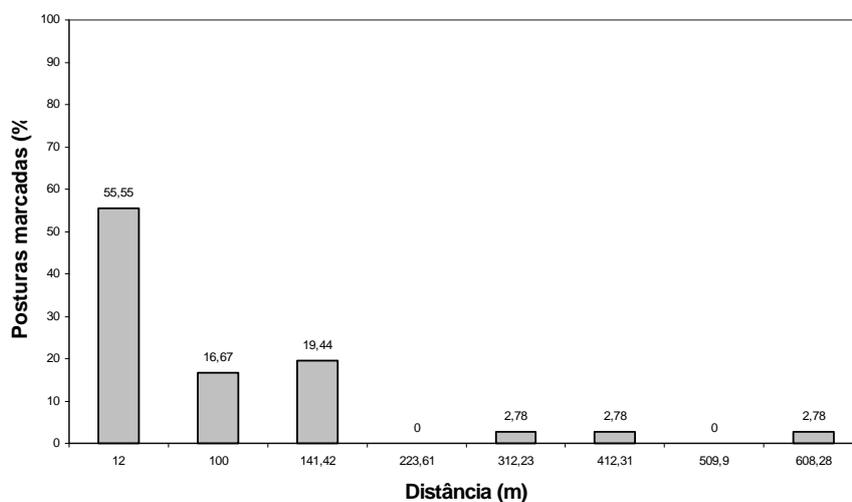


Figura 24. Porcentagem de posturas marcadas de *S. frugiperda* observadas no campo durante o período de avaliação das duas liberações-recaptura e a distância de liberação (safrinha 2006).

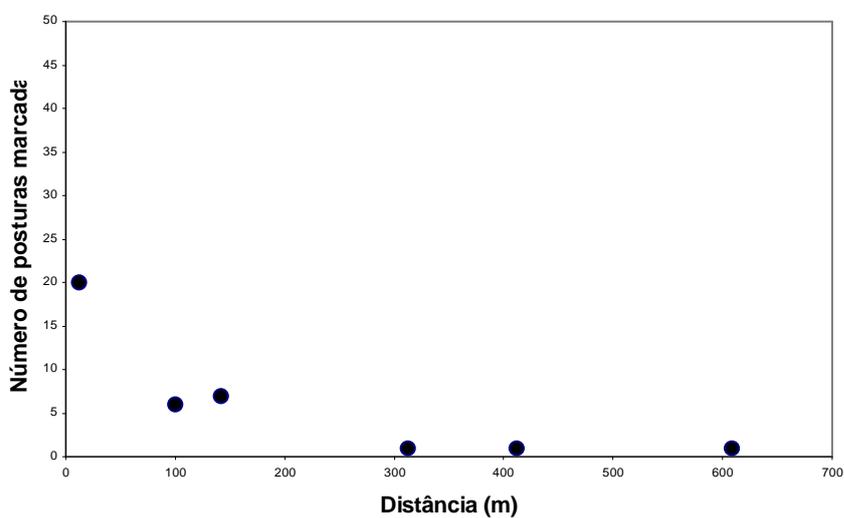


Figura 25. Número de posturas marcadas de *S. frugiperda* observadas no campo durante o período de avaliação das duas liberações-recaptura e a distância de liberação (safrinha 2006).

4. CONCLUSÕES

Armadilhas luminosas atraem mais machos do que fêmeas de *S. frugiperda*.

Machos de *S. frugiperda* se dispersam por pelo menos 806 metros.

Fêmeas de *S. frugiperda* fertilizadas se movimentam e ovipositam por pelo menos 608 metros.

Adultos de *S. frugiperda* se dispersam em todas as direções.

A maioria dos adultos de *S. frugiperda* recapturados permanece no interior da área de milho.

REFERÊNCIAS

- AGRIANUAL, Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, 2007.
- ALSTAD, D. N., ANDOW, D. A. Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. *Science*, v. 268, n. 5219, p. 1894-1896, 1995.
- ANDOW, D. A.; ALSTAD, D. N. F. Screen for rare resistance alleles. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 91, n.3, p. 572-578, 1998.
- BAILLEY, R. I.; BOURGUET, D.; PALLEC, A-E. PONSARD, D. Dispersal propensity and settling preferences of European corn bores in maize field borders. **Journal of Applied Ecology**, Ichthyology, v.44, p.385-394, 2007.
- BERNAYS, E . A & Graham M.. On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. **Ecology**, Ichthyology, v. 69, p.886-892, 1988.
- BOURGUET, D.; DESQUILBET, M.; LEMARIÉ, S. Regulating insect resistance management: the case of non-*Bt* corn refuges in the US. **Journal Environmental Management**, v.76, p.210-220, 2005.
- BURTON, R. L. & SNOW, J. W. A marker dye the corn Earworm. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.63, p.1976-1977, 1970.
- CAPRIO, M.A. Evaluating Resistance Management strategies for multiple toxins in the presence of external refuges. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.91, p.1021-1031, 1998.
- FARONI, L. R. D., OLIVEIRA, C. R. F., GONÇALVES, J. R., MATIOLI, A. L., Zanúncio, J. C. Efeito do corante Calco Oil Red n-1700 sobre o desenvolvimento de *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae). **Revista Brasileira de Armazenamento**. Viçosa, v.27, p.3-7, 2002.
- FILHO M. L. & LIMA. J. O. G. Massas de Ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em cana-de-açúcar: Número de Ovos e Porcentagem de

Parasitismo por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em Condições Naturais. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, p.483-488, 2001.

GREEN, M. B., LeBARON, H. M., MOBERG, W. K. Managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies. **American Chemical Society**, Washington, D C. 1990.

GANGWERE, S. K., CHAVIN W., EVANS F. C. Methods of marking insects, with especial reference to Orthoptera (Seans. Lat). **Annals of the Entomological Society**, College Park, v.57, p.662-669, 1964.

GAST, R. T., LANDIN, M. Adult boll weevils and eggs marked with dye fed in larval diets. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.59, p.474-475, 1966.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest and ecology. **Annual Review Entomology**, Stanford, v.43, p.701-726, 1998.

GUSE, C. A; ONSTAD, D. W.; BUSCHMAN, L. L.; PORTER, P.; HIGGINS, R. A. Modeling the development of resistance by Stalk-Boring (Lepidoptera: Crambidae) in areas with irrigated transgenic corn. **Environmental Entomology**, Lanhan, v.31, n.4, p.676-685, 2002.

HAAGSMA, K. A. & RUST, M. K. Two marking dyes useful for field populations of *Reticulitermes hesperus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v.23, p.155-164, 1993.

HAGLER, J. R. & JACKSON, C. G. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.46, p.511-43, 2001.

HAWTHORNE, D. Predicting pest evolution predicting insect adaptation to a resistant crop. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 91, n. 3, p. 565-571, 1998.

HENDRICKS, D. E., LEAL, M. P., ROBINSON, S. H., HERNANDEZ N. S. Oil-soluble black dye in larval diet marks adults and eggs of tobacco budworm and pink bollworm. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.64, p.1339-1401, 1971.

HUNT, T. E., HELLMICH, R. L., DYER, J. M., HIGLEY, L. H., WITKOWSKI, J. F. Oil-Soluble dyes for marking European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomological**, Lanhan, v.35, p.338-341, 2000.

HUNT, T. E., HIGLEY, L. G., WITKOWSKI, J. F., YOUNG L. J., HELLMICH R. L. Dispersal of adult European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) within and proximal to irrigated and non-irrigated corn. **Journal of Economic Entomology**. Lanhan, v.94, p.1369-1377, 2001.

KIRA, M.T.; GUTHRIE, W.D.; HUGGANS, J.L. Effect of drinking water on production of eggs by the European corn borer. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.62, p.1366-1368, 1969.

LLOYD, E. P., DAUM, R. J., MCLAUGHLIN, R. E., TINGLE, F. C., MCKIBBEN, G. H. A red dye to evaluate bait formulations and to mass mark field populations of boll weevils. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.61, p.1440-1444, 1968.

NEPPEL, C. C. **Managing resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins**. Chicago: thesis. (B. A.) University of Chicago, 2000. 35p.

OSTLIE, K. R., HIGLEY, L. G., KASTER, L. V. SHOWERS, W. B. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) development, larval survival and adult vigor on meridic diets containing marker dyes. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.77, p.118-120, 1984.

PARRA, J.R. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. PIRACICABA: FEALQ, 1999. 137p.

PEFEROEN, M. Insect control with transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. IN: CAROSI. **Advances in insect control: The role of transgenic plants**. London: Taylor & Francis, 1997. p. 31-48.

QURESHI, A. J.; BUSCHMAN, L. L.; THRONE, J. E. Dispersal of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) and its implications for corn borer resistance management in

Bacillus thuringiensis maize. **Annals of Entomological Society of America**, College Park, v.99, p.279-291, 2006.

QURESHI, A. J.; BUSCHMAN, L. L.; THRONE, J. E. E. Oil-soluble dyes incorporated in meridic diet of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) as markers for adult dispersal studies. **Journal of Economic Entomology**. Lanhan, v.97, p.836-845, 2004.

ROUSH, R. Managing resistance to transgenic. IN: CAROSI. **Advances in insect control: The role of transgenic plants**. London: Taylor & Francis, 1997.

SHOWERS, W.B.; HELLMICH, R.L.; DERRICK-ROBINSON, M.E.; HENDRIX III, W.H. aggregation and dispersal behaviour of marked and released european corn borer (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) adults. **Environmental Entomology**, Lanhan, v.30, p.700-710, 2001.

SHOWERS, W.B.; SMELSER, A.J.; KEASTER, A.J.; WHITFORD, F.; ROBINSON, J.F. LOPEZ, J.S.; TAYLOR, S.E. Recapture of marked black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) males after long-range transport. **Environmental Entomology**, Lanhan, v. 18, p.447-458, 1989.

SIMMONS, A.M.; MARTI JUNIOR, O.G. Mating by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) frequency, duration, and of temperature. **Environmental Entomology**, Lanhan, v.21, p.371-375, 1992.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods: with particular reference to the study of insect populations**, London - United kingdom: Chapman & Hall, 1992. 524p.

STATISTICA. STATSOFT (Data Analysis Software System and User's Manual). Versión 6. StatSoft Inc., Tulsa . 2001.

SUGDEN, A. & PENNISI, E. When to go, where to stop. **Science**, v.313, p.775, 2006.

TABASHNIK, B.E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review Entomological**, Stanford, v.39, p.47-79, 1994.

TALEKAR, N. S. & SHELTON, A. M. Biology, ecology, and management of diamondback moth. **Annual Review Entomological**, Stanford, v.38, p.275-301, 1993.

TAYLOR, M. R. FEYEREISEN, R. Molecular biology and evolution of resistance to toxicants. **Molecular Biology and Evolution**, 13, p.719-734, 1996.

VILARINHO, E. C.; FERNANDES, O A; OMOTO, C; HUNT, T. E. Oil-Soluble Dyes for Marking *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v.99, p.2110-2115, 2006.

WALDBAUER, G. P. 1968. The consumption and utilization of food by insects. **Advance Insect Physiology**, v.5, p.229-288.