**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Influência da nutrição e temperatura na reprodução de
representantes de Noctuidae, Crambidae,
Tortricidae e Elachistidae**

Patrícia Milano

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2008**

Patrícia Milano
Bióloga

**Influência da nutrição e temperatura na reprodução de
representantes de Noctuidae, Crambidae,
Tortricidae e Elachistidae**

Orientador:
Prof. Dr. **EVONEO BERTI FILHO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2008**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Milano, Patrícia

Influência da nutrição e temperatura na reprodução de representantes de
Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elachistidae / Patrícia Milano.- - Piracicaba, 2008.
75 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Comportamento reprodutivo animal 2. Lagartas 3. Nutrição animal 4. Pragas
de plantas 5. Temperatura I. Título

CDD 632.78

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

AGRADEÇO

A Deus pelas oportunidades concedidas

OFEREÇO

Aos meus amados avós Rosa, Ulysses (*in memorian*) e
Aída pelo enorme carinho e apoio que sempre me
dedicaram

DEDICO

Aos meus amados pais Edson e Meire, pelo amor,
incentivo e confiança que sempre depositaram
em mim, fornecendo-me forças para atingir
meus objetivos e ajudando-me
a me tornar quem sou.

AGRADECIMENTOS

Ao orientador, Prof. Dr. Evoneo Berti Filho pela oportunidade, amizade, orientação e ensinamentos transmitidos permitindo que eu realizasse um bom trabalho, além da confiança que me dedicou durante todo o trabalho de doutorado.

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra pela co-orientação e ensinamentos transmitidos os quais, me permitiram realizar meu trabalho com segurança, além das oportunidades concebidas, amizade, confiança e apoio que sempre me dedicou.

Ao Prof. Dr. Fernando Luis Cònsoli pela inestimável ajuda e contribuição na realização desta pesquisa, amizade, apoio, confiança e agradável convivência durante minha monitoria junto aos alunos da turma de biologia no segundo semestre de 2007.

Ao Prof. Dr. José Djair Vendramim pela amizade e apoio.

Ao Prof. Dr. Luís Carlos Marchini pela amizade e agradável convivência durante minha monitoria frente aos alunos de agronomia em 2006.

Aos demais professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP pelos ensinamentos transmitidos.

À minha amiga Neide G. Zério, técnica do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela amizade, apoio, companheirismo e confiança.

As minhas estagiárias e amigas Sheila Salles de Carvalho e Thais Cristiane Degasperi pela ajuda, amizade, companheirismo e apoio, além da agradável convivência durante todo meu doutorado.

Aos meus amigos Alexandre de Sene, Bruno Souza, Dori Nava, Élio Guzzo, Geni S. Sodré, Keiko Uramoto, Melissa Oda e Nívea da Silva pela amizade, carinho, confiança e apoio que sempre recebi nos momentos difíceis. Ao amigo Élio Guzzo agradeço ainda pela agradável convivência e companheirismo durante as monitorias que realizamos juntos.

Aos amigos Alexandre Jordão, Claudia, Edmilson, Eliana, Gerane, José Wilson, Jurema, Mônica, Márcio, Nádia, Renata Cònsoli e Wyratã, pela amizade e carinho que sempre me dedicaram.

Aos colegas do Laboratório de Ciências Florestais Leonardo, Rubinho, Rogério, Mateus, Áurea e Rose além do técnico do Laboratório João Gorá pela amizade e convivência.

Aos Professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, Mário Minomoto, Gilberto J. de Moraes e as doutorandas Rosângela A. da Silva e Tatiane Marie M.G. de Castro pelas oportunidades concebidas, confiança em meus trabalhos de ilustração, além da amizade que sempre me dedicaram.

Aos funcionários de campo, Carlinhos e “Dino”, Ana Gabriela Brancalhão, Maria Marta Barella e Regina de Moraes pela amizade e préstimos oferecidos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da ESALQ/USP, pela oportunidade de realizar os meus estudos de Doutorado e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão das bolsas de Mestrado e Doutorado.

Aos funcionários da Biblioteca central da ESALQ/USP pela ajuda e em especial a Eliana.

Agradeço a Deus, por ter permitido que a “arte” sempre estivesse presente em minha vida, quer nas ilustrações ou na dança realizada na Escola de dança de salão Rafael Thomé, pois isso me trouxe muita paz e tranquilidade nos momentos adversos e me deu suporte para que eu pudesse realizar meus trabalhos de pesquisa com serenidade.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
Referências	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Investimento de recursos nutricionais e reprodução.....	13
2.2 Influência da frequência de cópulas, idade dos adultos e transferência de nutrientes pelo macho na reprodução em Lepidoptera.....	14
2.2.1 Frequência de cópulas.....	14
2.2.1.1 Cópulas múltiplas e mobilidade do esperma.....	14
2.2.1.2 Influência da idade dos adultos na cópula, fecundidade e fertilidade dos lepidópteros.....	16
2.2.1.3 Transferência de nutrientes pelo macho	17
Referências	18
3 IMPORTÂNCIA DA ALIMENTAÇÃO NA FASE ADULTA NA REPRODUÇÃO DE SEIS ESPÉCIES DE LEPIDÓPTEROS-PRAGA, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO.....	20
Resumo	20
Abstract	21
3.1 Introdução.....	21
3.2 Material e Métodos.....	23
3.3 Resultados e Discussão.....	26
3.4 Considerações Finais.....	34
Referências	34
4 FREQUÊNCIA DE CÓPULA DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> E <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM LABORATÓRIO.....	38
Resumo	38
Abstract	39
4.1 Introdução.....	39
4.2 Material e Métodos.....	41

4.2.1	Criação estoque de insetos e obtenção de adultos.....	41
4.2.2	Influência da frequência de cópulas na aptidão reprodutiva de fêmeas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	42
4.2.3	Contribuição da cópula do macho na aptidão reprodutiva de fêmeas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	44
4.3	Resultados e Discussão.....	45
4.3.1	Influência da frequência de cópulas na aptidão reprodutiva de fêmeas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	45
4.3.2	Contribuição da cópula do macho na aptidão reprodutiva de fêmeas de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	48
4.4	Considerações Finais.....	53
Referências		53
5	INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA FREQUÊNCIA DE CÓPULA DE <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	58
Resumo		58
Abstract		59
5.1	Introdução.....	59
5.2	Material e Métodos.....	60
5.2.1	Criação de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	60
5.2.2	Influência da temperatura na frequência de cópula e reprodução.....	61
5.3	Resultados e Discussão.....	63
5.3.1	Influência da temperatura na frequência de cópula e reprodução de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	63
5.3.2	Ocorrência de “cópulas imperfeitas”	69
5.4	Considerações Finais.....	70
Referências		71

RESUMO

Influência da nutrição e temperatura na reprodução de representantes de Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elachistidae

Este trabalho teve como objetivo verificar a estratégia reprodutiva de seis lepidópteros-praga, os noctuídeos *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens* e *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Crambidae), *Gymnandrosoma aurantianum* (Família) e *Stenoma catenifer* (Elachistidae), tendo como alvo principal o uso de recursos nutricionais na fase adulta para sustentar o processo de reprodução e o efeito da atividade de cópula e temperatura na reprodução dessas espécies. Apesar de todas as espécies apresentarem índice de ovigenia bem inferior a 1, indicando a maturação de oócitos no decorrer da vida adulta, apenas *A. gemmatalis* e *H. virescens* necessitaram de alimentação na fase adulta para sustentar o processo reprodutivo, enquanto as demais espécies se utilizam dos nutrientes armazenados durante a fase larval. A partir destes resultados, foram escolhidas duas espécies que apresentavam estratégias reprodutivas distintas. Uma que utilizava apenas os nutrientes armazenados na fase imatura, *S. frugiperda*, enquanto a outra necessitava adquirir nutrientes na fase adulta para a sua reprodução, *A. gemmatalis*, para se verificar o efeito da frequência de cópula e de seus efeitos na fecundidade, fertilidade e longevidade de adultos com estratégias reprodutivas distintas. A frequência de cópula afetou de forma semelhante a longevidade de ambas espécies, havendo redução na longevidade com o aumento no número de cópulas. Porém, a fecundidade de *S. frugiperda* mostrou correlação positiva com a frequência de cópula, não sendo verificado nenhum efeito na fecundidade de *A. gemmatalis*. Machos de ambas as espécies podem contribuir de forma semelhante para a reprodução da fêmea, independentemente de sua experiência prévia. Assim, a reprodução de fêmeas que copularam com machos experientes (2 cópulas prévias) foi similar àquela de fêmeas acasaladas com machos virgens. No entanto, a duração da cópula aumentou com a experiência do macho, sendo a terceira cópula mais longa do que a primeira. A relação da temperatura (15, 20, 25, 30 e 35°C) e frequência de cópula também foi investigada para essas espécies, sendo observado que as temperaturas extremas (15 e 35°C) afetaram a frequência de cópula de ambas espécies. Porém, a temperatura demonstrou afetar as interações entre o número de cópulas e demais atributos biológicos relacionados à reprodução apenas para *S. frugiperda* mantidas a 25°C, onde o aumento no número de cópulas resultou em maior fecundidade.

Palavras-chave: Nutrição de adultos; Fecundidade; Frequência de cópulas; Temperatura

ABSTRACT

Influence of nutrition and temperature on the reproduction of species from Noctuidae, Crambidae, Tortricidae and Elachistidae

This paper deals with the reproductive strategies of six lepidopteran species, considering the use of food sources in the adult stage and the effect of mating activity and temperature in the reproduction of those species. The lepidopteran species were: *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens*, *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Crambidae), *Gymnandrosoma aurantianum* (Tortricidae), and *Stenoma catenifer* (Elachistidae). From this group two species with different reproductive strategies were selected: *S.frugiperda*, which uses the nutrients stored during the larval stage, and *A.gemmatalis*, which uses nutrients acquired in the adult stage. Then one verified the mating frequency and its effects on adult fecundity, fertility and longevity. For both species longevity decreased as the number of matings increased. Female reproduction was similar either when they mated with virgin males or non virgin males. However mating duration was different for the third mating was longer than the first one. The temperatures of 15° and 35°C did affect the mating frequency of both species. The frequency of matings was positively related to fecundity but only for *S.frugiperda*. Also *S.frugiperda* at 25°C presented higher fecundity with the increasing in the number of matings.

Keywords: Adult nutrition; Fecundity; Mating frequency; Temperature

1 INTRODUÇÃO

O sucesso dos insetos na conquista de vários ambientes deve-se às características de sua reprodução e desenvolvimento. Muitas são as formas de reprodução nos insetos e uma delas, a partenogênese, não necessita do sexo oposto para dar origem a descendentes. Contudo, a maior parte dos insetos se reproduz de forma sexuada, na qual o embrião resulta da fecundação do óvulo pelo espermatozóide (CHAPMAN, 1998).

Muitos fatores estão envolvidos no processo de reprodução incluindo: aquisição de nutrientes durante o desenvolvimento na fase imatura; investimento destes nutrientes em reprodução ou crescimento; tipos de desenvolvimento ovariano das fêmeas, os quais estão relacionados com a maturação de oócitos; maturidade sexual; encontro entre os sexos; corte; acasalamento; frequência de cópulas; idade dos adultos; transferência de nutrientes do macho para a fêmea e competição entre espermatozoides (BOGGS; GILBERT, 1979; WARD; LANDOLT, 1995; JERVIS et al., 2001; JERVIS; BOGGS; FERNS, 2005).

Um dos fatores mais importantes na reprodução dos insetos é a aquisição de recursos nutricionais. Tal aquisição ocorre principalmente na fase larval e os nutrientes podem ser “investidos” em crescimento ou reprodução. Quando “investidos” em reprodução, estes recursos energéticos podem contribuir com o processo de vitelogênese e maturação dos ovos antes da emergência do adulto. Contudo, em alguns casos, a maturação dos ovos é concluída na fase adulta após a tomada de alimento. Muitos pernilongos (mosquitos) transmissores de doenças exigem sangue para iniciar e manter o desenvolvimento dos ovos, sendo esta uma importante estratégia reprodutiva para muitas espécies de dípteros (CHAPMAN, 1998; ATTARDO; HANSEN; RAIKHEL, 2005). Assim, o investimento de recursos energéticos em várias ordens de insetos está relacionado ao tipo de estratégia reprodutiva, ou seja, ao tipo de ovário das fêmeas com maturação prévia ou tardia dos ovos, e a relação deste fator com as decisões de investimento das espécies em reprodução ou crescimento (JERVIS et al., 2001; JERVIS; BOGGS; FERNS, 2005).

O comportamento das espécies frente à reprodução nos insetos não está somente na aquisição de recursos nutricionais conseguidos na alimentação externa via fase larval ou adulta, mas também em estratégias utilizadas em algumas espécies, nas quais o macho pode transferir nutrientes para a fêmea no momento da cópula. Os nutrientes transferidos do macho para a fêmea

podem ser originários não somente da dissolução de espermatóforos no trato reprodutivo da fêmea, mas também de secreções transferidas junto com os espermatozoides. Esta aquisição de nutrientes tem efeito na fisiologia e no comportamento reprodutivo das espécies, interferindo na frequência de cópula, sendo que cópulas múltiplas podem ser muito vantajosas (WARD; LANDOLT, 1995; CHAPMAN, 1998).

O conhecimento das estratégias reprodutivas dos insetos é importante para o entendimento do comportamento reprodutivo das espécies, que pode ser utilizado pelo homem no desenvolvimento de estratégias de controle de pragas agrícolas, urbanas ou, ainda no combate a insetos transmissores de doenças.

Assim, a presente pesquisa buscou verificar a estratégia reprodutiva adotada por diferentes espécies representadas por algumas famílias de Lepidoptera por meio de pesquisas, avaliando: a) importância da alimentação na fase adulta, b) o papel da frequência de cópula na atividade reprodutiva dos adultos de lepidópteros com diferentes estratégias reprodutivas e c) o efeito da temperatura na atividade de cópula desses insetos.

Referências

ATTARDO, G.M.; HANSEN, I.A.; RAIKHEL, A.S. Nutritional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: Implications for anautogeny. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 35, p. 661-675, 2005.

BOGGS, C.L.; GILBERT, L.E. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer of nutrients at mating. **Science**, Washington, v. 206, p. 83-84, 1979.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770 p.

JERVIS, M.A.; BOGGS, C.L.; FERNS, P.N. Egg maturation strategy and its associated trade-offs: a synthesis focusing on Lepidoptera. **Ecological Entomology**, London, v. 30, p. 359-375, 2005.

JERVIS, M.A.; HEIMPEL, G.E.; FERNS, P.N.; HARVEY, J.A.; KIDD, N.A.C. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 70, p. 442-458, 2001.

WARD, K.E.; LANDOLT, P.J. Influence of multiple matings on fecundity and longevity of female cabbage looper moths (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of América**, London, v. 88, n. 6, p. 768-772, 1995.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Investimento de recursos nutricionais e reprodução

Durante o desenvolvimento, os insetos têm a capacidade de armazenar nutrientes obtidos na fase larval. Essas reservas nutricionais podem ou não ser “investidas” na reprodução, no caso, no início da fase adulta. Quando “investidos” na reprodução, estes recursos nutricionais adquiridos na fase larval são destinados à produção e maturação dos ovos na fase adulta do inseto. Nesse caso, fêmeas emergirão com todos os oócitos maduros. De forma contrária, outras espécies “preferem investir” os nutrientes armazenados para crescimento e sobrevivência dos adultos. Assim, os ovários dessas espécies são pouco desenvolvidos e a reprodução será dependente da aquisição de nutrientes pelo adulto. A chave para o entendimento do comportamento das espécies frente à reprodução está na aquisição e decisões de investimento dos recursos armazenados pelos imaturos, para favorecer o crescimento de tecidos somáticos e a sobrevivência do adulto e/ou a reprodução. Uma das formas para se verificar a estratégia de investimento de recursos e, portanto, a estratégia reprodutiva adotada, é a determinação do índice de ovigenia (IO) (JERVIS et al., 2001; JERVIS; BOGGS; FERNS, 2005).

O índice de ovigenia (IO) é a razão (expressa em proporção) do número total de ovos colocados pela fêmea e o número que se espera que a fêmea coloque durante a vida (determinado pelo número de oócitos maduros no momento da emergência). Índice de ovigenia (IO) igual a um significa que todos os oócitos estão maduros no momento da emergência da fêmea, indicando que as reservas nutricionais da fase imatura são destinadas à reprodução, favorecendo a reprodução rápida. Índice de ovigenia igual a zero significa ausência de oócitos maduros na emergência, indicando que a reprodução dependerá de recursos nutricionais adquiridos pelo adulto. Ao contrário de outras ordens que apresentam valores extremos de IO, apenas Lepidoptera e Hymenoptera contêm representantes que podem apresentar IO variável de zero a um. Se o IO é próximo a um, significa que recursos larvais são utilizados para a maturação dos ovos, correspondendo ao conceito de investimento de “capital” em reprodução; em contraste, se o IO é próximo a zero, os recursos larvais são armazenados na forma de gorduras corporais, que serão utilizadas, quando necessário, sendo destinadas à reprodução, alimentação dos adultos ou “investimento” em vôos nupciais do macho durante sua vida (JERVIS et al., 2001).

No entanto, “investimento” adiantado de recursos armazenados na reprodução não significa, necessariamente, ter direção evolutiva. A associação do índice de ovigenia com um amplo investimento e aquisição de recursos paternos, pressupõe que exista uma correlação entre IO e história de vida das fêmeas como: período de vida, hábito alimentar e estratégia de oviposição. Deste modo, “investimentos” paternos ao longo da vida dos insetos e aspectos da ecologia comportamental individual (todo e qualquer potencial que afeta a estrutura e dinâmica das populações), são igualados. Assim, determinou-se que o IO é uma estimativa do empenho reprodutivo inicial (pré-adulto), que supõe-se estar ligado às decisões de “investimento” de recursos: entre as células e a reprodução e entre ovos e células somáticas (JERVIS; BOGGS; FERNS, 2005).

2.2 Influência da frequência de cópulas, idade dos adultos e transferência de nutrientes pelo macho na reprodução em Lepidoptera.

2.2.1 Frequência de cópulas

2.2.1.1 Cópulas múltiplas e mobilidade do esperma

Cópulas múltiplas é um fenômeno comum entre os insetos, especialmente em lepidópteros, onde machos e fêmeas são capazes de acasalar mais de uma vez. Cópulas múltiplas de machos são esperadas quando o “investimento” dos machos na reprodução é relativamente maior quando comparado ao “investimento” das fêmeas (WARD; LANDOLT, 1995).

O tempo necessário para produção e armazenamento de espermatóforos pelos machos é tão importante quanto a qualidade das fêmeas e o “status” de cópula e todos são fatores que podem influenciar na proporção de novos acasalamentos pelo macho (BOGGS; GILBERT, 1979).

Cópulas múltiplas em fêmeas podem trazer benefícios para a reprodução das espécies. Ward e Landolt (1995) estudaram o efeito de cópulas múltiplas em *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) (lagarta-do-repolho) e verificaram que fêmeas que copularam múltiplas vezes foram mais fecundas e longevas do que as que acasalaram uma única vez.

Outro fator interessante para a ocorrência de cópulas múltiplas seria a viabilidade dos espermatozóides e a mobilidade dos mesmos dentro do trato reprodutivo da fêmea.

Seth et al. (2002) verificaram o efeito de cópulas múltiplas em *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) e observaram que o aumento do intervalo entre cópulas, de 24 horas para 48 horas foi importante no sucesso das cópulas. Os autores constataram, claramente, que cópulas com machos férteis estimularam a oviposição na fêmea. O número de ovos colocados por fêmeas normais depois da primeira cópula com macho estéril (esterilizado por radiação) foi menor do que depois da primeira cópula com um macho normal. Adicionalmente, o número de ovos colocados depois da segunda cópula com um macho fértil aumentou para fêmeas que acasalaram previamente com macho estéril. Os autores consideraram duas causas para este efeito: 1) que a presença de esperma fértil nas fêmeas pode causar aumento no número de ovos colocados e 2) que machos esterilizados por radiação podem ser deficientes em algum outro componente do sêmen ou o espermatóforo que estimula a oviposição. Fêmeas do bicho-da-seda, *Bombyx mori*, também mostraram aumento na postura depois da cópula, resultado proveniente da presença de espermatozóides férteis no trato reprodutivo. Os autores acreditam que isso seja também provável para *S. litura*, embora sem comprovação experimental.

Snook (1998) citou trabalhos sobre *Drosophila melanogaster* (Diptera) em que a percepção da presença de esperma no aparelho reprodutivo estimulou o sistema nervoso central, o qual desencadeou mecanismos que levaram as fêmeas a se tornarem receptivas novamente. A mobilidade de esperma pode ser detectada pela inervação do receptáculo ventral e quando o volume de esperma em estoque decresce abaixo de determinado limiar, a detecção da mobilidade do esperma também decresce, induzindo as fêmeas a novas cópulas.

Contudo, algumas mariposas e borboletas não acasalam mais de uma vez, ou por não serem mais receptivas ou por estarem “bloqueadas” para novas cópulas

Seth et al. (2002) discutiram a utilização de secreções do macho que são transferidas durante a cópula, e afetam a receptividade da fêmea, induzindo-a à monoandria. Essas secreções são produzidas pelas glândulas acessórias dos machos e servem para bloquear o orifício genital da fêmea, evitando que outros machos tenham acesso a essa fêmea. O bloqueio do orifício genital ocorre pelo endurecimento da secreção depositada pelo macho, quando a mesma é exposta ao ar, formando o chamado tampão gelatinoso ou espermatofragma.

Paluch, Casagrande e Mielke (2003) explicaram o evento de bloqueio das fêmeas para novas cópulas e usaram o termo “tampão” genital para caracterizar a secreção depositada por machos de borboletas do gênero *Actinote* (Lepidoptera, Nymphalidae, Acraeinae) sendo que esta secreção, depois de endurecida em contato com o ar, pode não somente impedir novas cópulas e assegurar a prioridade dos machos, mas também servir como caráter taxonômico na identificação de espécies deste gênero.

2.2.1.2 Influência da idade dos adultos na cópula, fecundidade e fertilidade dos lepidópteros

A idade dos adultos pode afetar o número e o acesso às cópulas. Rogers e Marti (1996) estudaram os efeitos da idade no momento da primeira cópula sobre o potencial reprodutivo de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) e observaram que a fecundidade e a fertilidade dos ovos colocados foram, significativamente, afetadas pela idade de machos e fêmeas. Os autores observaram que a demora no acasalamento das fêmeas aumentou a longevidade, mas diminuiu a fecundidade e fertilidade. A demora no acasalamento de machos também aumentou a longevidade, mas diminuiu o número de espermatóforos transferidos para as fêmeas, reduzindo a fecundidade e fertilidade das mesmas. Os autores observaram que a idade ótima para o primeiro acasalamento de machos e fêmeas de *S. exigua* foi de zero a dois dias após a emergência. A demora do primeiro acasalamento depois de três a quatro dias após a emergência reduziu significativamente o potencial reprodutivo da praga em ambos os sexos.

Delisle e Bouchard (1995) verificaram a influência da idade dos machos de *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) no tamanho dos espermatóforos e na frequência de cópulas. Observaram que o tamanho dos espermatóforos aumentou com a idade dos machos, o que influenciou a frequência de cópulas, a qual foi significativamente maior nos machos com até quatro dias de idade. Contudo os autores concluíram que a idade e o tamanho dos espermatóforos não tiveram efeito significativo na longevidade, fecundidade ou fertilidade das fêmeas, sugerindo não haver semelhança entre os investimentos dos machos e o tamanho reduzido dos espermatóforos em condições experimentais. Os autores verificaram a importância da qualidade de fontes nutricionais na capacidade de novas cópulas de *C. rosaceana*, pois a proporção de novos acasalamentos foi significativamente maior quando os machos se alimentaram em dietas

mais ricas. O tamanho do bulbo dos espermátóforos diminuiu em todas as fontes de alimento, mas a reprodução das fêmeas foi reduzida somente em 25%, demonstrando não haver relação entre a qualidade do alimento e o tamanho dos espermátóforos.

2.2.1.3 Transferência de nutrientes pelo macho

Ward e Landolt (1995) discutiram a contribuição de machos para a produção de ovos pela transferência de material nutritivo (fluido seminal) para as fêmeas durante a cópula, em várias ordens de insetos, incluindo Lepidoptera. Alguns estudos relataram o crescimento na fecundidade associada à transferência do espermátóforo em adição ao esperma em Lepidoptera. Estudos têm demonstrado que a transferência de nutrientes que derivam do espermátóforo em Lepidoptera são usados na produção de ovos. Entretanto, esta parece ser a mais provável explicação observada para a maior oviposição de fêmeas que acasalam mais de uma vez, o que os autores não evidenciaram diretamente em *Trichoplusia ni*. Os autores também observaram que a similaridade na fecundidade das fêmeas de *T. ni* acasaladas com machos virgens versus fêmeas acasaladas previamente com machos acasalados, demonstrou que cópulas prévias não influenciaram na qualidade do material dos espermátóforos transferidos dos machos para as fêmeas.

Sabendo-se que fêmeas de *T. ni* são atraídas até os machos, Landolt e Heath (1990) supuseram que as fêmeas de *T. ni* obtêm benefícios nutricionais pelos espermátóforos, e que a atração destas pelo feromônio sexual do macho pode ser uma estratégia de obtenção de benefícios e crescimento da fecundidade. Isto sugere que fêmeas de *T. ni* renovam seus “investimentos” em novas cópulas para obter maior acesso aos nutrientes.

No entanto, a qualidade dos nutrientes transferidos pelos machos durante a cópula pode sofrer alterações. Em *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) a supressão do feromônio é atenuada nas fêmeas acasaladas com machos mais velhos e já acasalados (machos com mais de 24 horas de acasalamento), em comparação com machos jovens virgens, sugerindo que a qualidade dos materiais passados dos machos para as fêmeas durante a cópula é influenciada pelo número de cópulas anteriores (WARD; LANDOLT, 1995).

Rutowski, Gilchrist e Terkanian (1987) observaram redução na reprodução e longevidade das fêmeas de *Colias eurytheme* (Lepidoptera) acasaladas com machos experientes; no entanto,

isso foi verificado com machos que acasalaram novamente 1 hora após a primeira cópula, os quais produziram menos espermatozoides.

Referências

- BOGGS, C.L.; GILBERT, L.E. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer of nutrients at mating. **Science**, Washington, v. 206, p. 83-84, 1979.
- DELISLE, J.; BOUCHARD, A. Male larval nutrition in *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae): an important factor in reproductive success. **Oecologia**, Berlin, v. 104, p. 508-517, 1995.
- JERVIS, M.A.; BOGGS, C.L.; FERNS, P.N. Egg maturation strategy and its associated trade-offs: a synthesis focusing on Lepidoptera. **Ecological Entomology**, London, v. 30, p. 359-375, 2005.
- JERVIS, M.A.; HEIMPEL, G.E.; FERNS, P.N.; HARVEY, J.A.; KIDD, N.A.C. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 70, p. 442-458, 2001.
- LANDOLT, P.J.; HEATH, R.R. Sexual role reversal in mate-finding strategies of the cabbage looper moth. **Science**, Washington, v. 249, p. 1026-1028, 1990.
- PALUCH, M.; CASAGRANDE, M.M.; MIELKE, O.H.H. Tampão genital de *Actinote* Hübner, como caráter taxonômico (Lepidoptera, Nymphalidae, Acraeinae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 573-580, 2003.
- ROGERS, C.E.; MARTI, O.G.JR. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): effects of age at first mating on reproductive potencial. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.70, p. 402-410, 1996.
- RUTOWSKI, R.L.; GILCHRIST, G.W.; TERKANIAN, B. Female butterflies mated with recently mated males show reduced reproductive output. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, New York, v. 20, p. 319-322, 1987.

SETH, R.K.; KAUR, J.J.; RAO, D.K.; REYNOLDS, S.E. Sperm transfer during mating, movement of sperm in the female reproductive tract, and sperm precedence in the common cutworm *Spodoptera litura*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 27, p. 1-14, 2002.

SNOOK, R.R. The risk of sperm competition and the evolution of sperm heteromorphism. **Animal Behaviour**, London, v. 56, p. 1497-1507, 1998.

WARD, K.E.; LANDOLT, P.J. Influence of multiple matings on fecundity and longevity of female cabbage looper moths (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of América**, College Park, v. 88, n. 6, p. 768-772, 1995.

3 IMPORTÂNCIA DA ALIMENTAÇÃO NA FASE ADULTA NA REPRODUÇÃO DE SEIS ESPÉCIES DE LEPIDÓPTEROS-PRAGA, EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Resumo

A presente pesquisa buscou avaliar a importância da alimentação na fase adulta na reprodução de seis espécies de lepidópteros-praga, sendo elas: *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens*, *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Crambidae), *Gymnandrosoma aurantianum* (Tortricidae) e *Stenoma catenifer* (Elachistidae). Para tanto, dois tratamentos foram instalados oferecendo-se aos adultos, de todas as espécies, apenas água (T1) e solução aquosa de mel a 10% (T2). Foram observados 25 casais de cada espécie e, verificados a fecundidade, viabilidade das 1ª e 2ª posturas, longevidade dos adultos e número de cópulas (avaliado pelo número de espermatóforos presentes na bolsa copuladora das fêmeas). Fêmeas virgens (25/espécie) foram dissecadas para o cálculo do índice de ovigenia (grau de maturação ovariana), calculado como a razão entre a capacidade reprodutiva esperada (número de oócitos maduros) e a observada (número de ovos depositados). *A. gemmatalis* e *H. virescens* tiveram uma drástica redução da fecundidade com apenas água. A viabilidade da 1ª postura não sofreu alterações nas espécies estudadas em ambos os tratamentos. A viabilidade da 2ª postura foi reduzida para *S. frugiperda* e *D. saccharalis* no T2 e para *S. catenifer* no T1. As fêmeas de *A. gemmatalis*, *H. virescens* e *S. frugiperda* foram menos longevas no T1 e os machos de todas as espécies sobreviveram menos no mesmo tratamento. O número de acasalamentos foi maior nas espécies *A. gemmatalis* e *D. saccharalis* quando submetidas ao tratamento 1. O índice de ovigenia não chegou a 1 nas espécies observadas, ou seja, em nenhuma das espécies as fêmeas emergiram com a maioria dos óvulos maduros. Baseado no índice de ovigenia e na redução da fecundidade de *A. gemmatalis* e *H. virescens* verificou-se que a alimentação na fase adulta é importante para a reprodução de ambas as espécies. No entanto, *D. saccharalis* não demonstrou necessidade de alimentação na fase adulta, sendo a aquisição de carboidratos nociva para esta espécie.

Palavras-chave: Nutrição; Índice de ovigenia; Lepidópteros-praga; Reprodução; Fisiologia reprodutiva

IMPORTANCE OF ADULT FEEDING ON THE REPRODUCTION OF SIX LEPIDOPTERAN PEST SPECIES IN LABORATORY CONDITIONS

Abstract

This research evaluates the importance of adult feeding on the reproduction of the following lepidopteran species: *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens*, *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), *Diatraea saccharalis* (Crambidae), *Gymnandrosoma aurantinum* (Tortricidae) and *Stenoma catenifer* (Elachistidae). The adults of all species were submitted to two treatments: water (T1) and 20% honey solution (T2). Twenty-five couples of each species were observed as to viabilities of 1st and 2nd oviposition, adult fecundity, longevity and number of matings (evaluated by the number of spermatophores in the *bursa copulatrix*). Also 25 virgin females of each species were dissected to determine the ovigeny index (degree of ovarian maturation) calculated as the ration between the expected reproductive capacity (number of mature oocytes) and the observed one (number of laid eggs). The fecundity of *A. gemmatalis* and *H. virescens* were drastically reduced in treatment (T1). The viability of the 1st oviposition of all the species did not change in both treatments. The viability of the 2nd oviposition was reduced for *S. frugiperda* and *D. saccharalis* in treatment (T2) and for *S. catenifer* in treatment (T1). The females of *A. gemmatalis*, *H. virescens*, and *S. frugiperda*, and the males of all the species have presented lower longevity in treatment (T1). The number of matings was higher for *A. gemmatalis* and *D. saccharalis* submitted to treatment (T1). The ovigeny index was lesser than one for all the species, that is, none of the female species emerged with most of the ovules mature. Based on the ovigeny index and the reduction of fecundity of *A. gemmatalis* and *H. virescens*, one observes that adult feeding is important for the reproduction of both species. However, *D. saccharalis* did not present the need of adult feeding, for the ingestion of carbohydrates is noxious for this species.

Keywords: Nutrition; Ovigeny index; Lepidoptera pest species; Reproduction; Reproductive physiology

3.1 Introdução

Muitas são as formas de reprodução e desenvolvimento de insetos que permitiram a estes organismos conquistarem vários ambientes. Apesar de algumas espécies apresentarem reprodução partenogênica, ou seja, sem a presença de machos, a maioria das espécies apresenta reprodução sexuada, onde o embrião resulta da fecundação do óvulo pelo espermatozóide (CHAPMAN, 1998).

Vários fatores estão envolvidos no processo de reprodução de insetos; porém, o mais importante é a aquisição de recursos nutricionais que ocorre principalmente durante a fase larval, os quais poderão ser destinados para sustentar o crescimento ou a reprodução. Uma vez destinados à reprodução, esses recursos energéticos podem contribuir com o processo de vitelogênese e maturação de óvulos antes da emergência do adulto. No entanto, em alguns casos é necessário que haja aquisição de recursos nutricionais para que ocorra não somente a maturação do aparelho reprodutor, mas também a maturação de óvulos, como é o caso de alguns mosquitos transmissores de doenças que concluem a maturação reprodutiva após a refeição (CHAPMAN, 1998; ATTARDO et al., 2005).

Em Lepidoptera, de modo geral, considerava-se que água e carboidratos, em concentrações variáveis, oferecidos aos adultos eram suficientes para a obtenção da capacidade reprodutiva máxima de insetos em laboratório. No entanto, trabalhos mais recentes mostraram que, para a obtenção de adultos mais longevos e fecundos, além da alimentação com soluções de carboidratos, devem ser adicionados à sua dieta diversos outros nutrientes, tais como sais, minerais, lipídeos, aminoácidos e vitaminas (PARRA, 2000).

Apesar de algumas informações disponíveis na literatura, a nutrição de adultos de insetos holometabólicos ainda é pouco conhecida e a alocação de recursos energéticos em várias ordens de insetos está relacionado ao tipo de estratégia reprodutiva, ou seja, ao processo de maturação de oócitos e às decisões de investimento de nutrientes adquiridos na fase imatura, se para desenvolvimento de tecidos somáticos ou reprodução (JERVIS et al., 2001; JERVIS; BOGGS; FERNS, 2005).

Porém o comportamento frente à reprodução nos insetos não está somente na aquisição de recursos nutricionais adquiridos na fase larval ou adulta, via alimentação. Algumas espécies contam com a transferência de recursos nutricionais do macho para a fêmea durante o processo de cópula ou pelo posterior dissolução de espermatóforos no trato reprodutivo das fêmeas. A aquisição de nutrientes via cópula tem efeito na fisiologia e comportamento reprodutivo, interferindo na aptidão biológica e capacidade reprodutiva das fêmeas, onde cópulas múltiplas podem ser muito vantajosas (WARD; LANDOLT, 1995; CHAPMAN, 1998).

Baseando-se nestas informações, seis espécies de lepidópteros-praga foram observadas quanto ao índice de ovigenia (maturação dos óvulos) e a necessidade de alimentação na fase adulta através da observação da fecundidade, viabilidade dos ovos, longevidade dos adultos e

número de acasalamentos para casais mantidos exclusivamente com água ou alimentados com solução de mel a 10%.

3.2. Material e Métodos

A importância da alimentação na fase adulta dos lepidópteros-praga: *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens*, *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis*, *Gymnandrosoma aurantianum* e *Stenoma catennifer* foi observada através da instalação de dois tratamentos: T1 oferecendo-se apenas água e T2 oferecendo-se solução aquosa de mel a 10% aos adultos de cada espécie.

Com exceção de *S. catennifer* cuja fase larval foi criada em sementes de abacate do cultivar Breda (NAVA; PARRA, 2005), todas as espécies foram criadas em dieta artificial, sendo utilizada a dieta de Mihsfeldt e Parra (1999) para *A. gemmatalis*, *H. virescens*, *S. frugiperda*, dieta de Garcia e Parra (1999) para *G. aurantianum* e dieta de King e Hartley (1985) para *D. saccharalis*.

Após a obtenção das pupas, as mesmas foram separadas por sexo e pesadas para minimizar a variação causada pelo efeito do peso na reprodução. Os pesos utilizados nos bioensaios para pupas fêmeas e machos, respectivamente, foram: 220 a 235 mg e 240 a 275 mg, para *A. gemmatalis*; 230 a 255 mg e 260 a 285 mg, para *H. virescens*; 230 a 255 mg e 260 a 280 mg, para *S. frugiperda*; 180 a 210 mg e 220 a 260 mg para fêmeas; 120 a 140 mg e 150 a 170 mg para machos, para *D. saccharalis*; 20 a 25 mg e 30 a 35 mg, para *G. aurantianum* e 70 mg e 50 a 70 mg, para *S. catennifer*. Foram utilizados dois pesos de pupas para ambos os sexos de *D. saccharalis* devido à grande variação que ocorreu na população desta espécie. A pesagem foi realizada 48 h antes da emergência dos adultos baseando-se nos dados presentes na literatura quanto a duração do ciclo das espécies estudadas a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm 10\%$ e fotofase 14h (SILVA, 1981; NALIM, 1991; SOUZA; ÁVILA; PARRA, 2001; PARRA et al., 1999; GARCIA, 1998; NAVA; PARRA, 2005).

Após pesadas, as pupas foram colocadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro e 2 cm de altura) forradas com papel filtro umedecido e transferidas para gaiolas de emergência de PVC forradas em seu interior com papel do tipo sulfite.

Após a emergência, os adultos foram escolhidos ao acaso e 25 casais/tratamento foram individualizados. Os casais de *S. frugiperda*, *H. virescens* e *D. saccharalis* foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) fechadas em sua parte superior e inferior por placa de Petri (15 cm de diâmetro) (Fig. 1A), seguindo metodologia descrita por Parra (1996).

Os adultos de *A. gemmatilis* foram primeiramente transferidos para gaiola cilíndrica (40 cm de altura e 30 cm de diâmetro) revestida por tecido “tule” para que pudessem acasalar (Fig. 1B) (MAGRINI et al., 1996). Após 48 h, os adultos foram individualizados em casais e transferidos para gaiolas de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) fechadas em sua parte inferior por placa de Petri (15 cm de diâmetro e 2 cm de diâmetro) e em sua parte superior por tecido “tule”.

Os casais de *G. aurantianum* foram mantidos em gaiolas plásticas (10 cm de altura e 10 cm diâmetro) fechadas em sua parte inferior e superior por placas de Petri (15 cm de diâmetro e 2 cm de altura) (Fig. 1C). As gaiolas foram revestidas em seu interior por uma tira plástica para que as fêmeas pudessem depositar seus ovos (GARCIA, 1998).

Para *S. catennifer*, os casais foram mantidos em gaiolas de PVC (23 cm de altura por 15 cm de diâmetro) apoiada na parte inferior sobre um prato plástico (18 cm de diâmetro e 2 cm de altura) e fechada na parte superior por tampa plástica telada de 0,02 cm² de malha (Fig. 1D). Estas gaiolas foram revestidas internamente com papel toalha dupla face com depressões (SNOB) para que as fêmeas pudessem depositar seus ovos. Como estímulo à oviposição, foi colocada em cada gaiola uma semente de abacate do cultivar Breda (NAVA; PARRA 2005).

Foram observadas a fecundidade, a viabilidade da 1ª e 2ª posturas, a longevidade dos adultos e o número de cópulas (número de espermatóforos presentes na bolsa copuladora das fêmeas após a morte) de todas as espécies estudadas em ambos os tratamentos.

Paralelamente à condução dos bioensaios, 25 fêmeas virgens, recém-emergidas, foram sacrificadas em álcool 70%, para a determinação do índice de ovigenia (grau de maturação ovariana). Para tanto, foram observados o número de ovariolos presentes nos ovários das fêmeas e o número de óvulos maduros presentes nos mesmos. O índice de ovigenia foi calculado através da razão do número médio de óvulos maduros e o número médio de ovos depositados pelas fêmeas acasaladas.

As observações dos ovários, da bolsa copuladora das fêmeas acasaladas e dos espermatozoides presentes nas mesmas foram realizadas em microscópio estereoscópico, sem o uso de agentes químicos específicos.

Figura 3.1 - A- Gaiola de PVC utilizada para manutenção dos casais de *A. gemmatalis*, *S. frugiperda*, *H. virescens*, *D. saccharalis*; B- Gaiola revestida por tecido “tule” utilizada para acasalamento de *A. gemmatalis*; C- Gaiola plástica utilizada para manutenção dos casais de *G. aurantianum* e D- Gaiola de PVC (23 cm de altura por 15 cm de diâmetro) utilizada para manutenção de *S. catenifer*. ← Frasco contendo alimento (mel a 10%) ou água; ▲ tira plástica revestindo o interior da gaiola de *G. aurantianum*; ◀ semente de abacate (cultivar Breda) para estímulo de oviposição de *S. catenifer*

Os bioensaios foram realizados em condições controladas de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h) e os dados obtidos submetidos a análise exploratória para verificação da homogeneidade de variâncias e normalidade pelos testes de Bartlett (BARTLETT, 1937) e Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965) respectivamente, sendo as variáveis transformadas pelo Método Potência Ótima de Box-Cox (BOX; COX, 1964). Para os dados expressos em porcentagem utilizou-se a transformação $\arcsin \sqrt{y/100}$ (BANZATTO; KRONKA, 1995). Após esse procedimento inicial foi realizada a análise de variância ($F < 0,05$), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), sempre que a análise de variância indicava diferença entre os tratamentos, utilizando-se do programa R de computação estatística (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2005).

3.3 Resultados e Discussão

Todas as espécies de lepidópteros abordadas nesse estudo apresentaram índice de ovigenia bastante reduzido, indicando o desenvolvimento de oócitos durante a sua fase adulta (Tabela 3.1), evidenciando a possibilidade dos adultos necessitarem da aquisição de nutrientes durante a essa fase para a sustentação dos gastos energéticos necessários ao desenvolvimento do aparelho reprodutor.

Apesar do índice de ovigenia ser reduzido para todas as espécies estudadas, indicando poder ser necessária a aquisição de nutrientes na fase adulta, e a alimentação ter aumentado a sobrevivência de várias das espécies estudadas, a alimentação na fase adulta mostrou-se necessária à reprodução apenas para *Anticarsia gemmatalis* e *Heliothis virescens*. No entanto, a alimentação também afetou o adulto de forma negativa, assim como observado para *D. saccharalis*, que apresentou fecundidade e longevidade reduzidas quando alimentada com solução aquosa de mel a 10% (Figuras 3.7 e 3.8).

Tabela 3.1 - Índice de ovigenia das seis espécies estudadas quanto a importância da alimentação na fase adulta dos lepidópteros-praga

Espécies	Índice de Ovigenia	Espécies	Índice de Ovigenia
<i>A. gemmatalis</i>	0,43	<i>D. saccharalis</i>	0,32
<i>H. virescens</i>	0,77	<i>G. aurantianum</i>	0,12
<i>S. frugiperda</i>	0,19	<i>S. catenifer</i>	0,75

As espécies de lepidópteros estudadas apresentaram aparelho reprodutor composto por oito ovários, quatro associados a cada um dos ovários, todos do tipo politrófico ou meroístico (Fig. 3.2) (ver CHAPMAN, 1998). A avaliação do estágio de maturação do ovário também permitiu observações da estrutura da bolsa copuladora da fêmea e do(s) espermatóforo(s) transferido(s) pelos machos (Fig. 3.3 e 3.4).

Figura 3.2 - Ovariolos das seis espécies estudadas evidenciando o tipo de desenvolvimento ovariano. A- *A. gemmatalis*; B- *H. virescens*; C- *S. frugiperda*; D- *D. saccharalis*; E- *G. aurantianum* e F- *S. catennifer*

Figura 3.3 - Bolsa copuladora da fêmea virgem (esquerda), bolsa copuladora da fêmea acasalada contendo espermatóforo(s) (parte central) e espermatóforos (direita), respectivamente, de três espécies de lepidópteros-praga estudadas quanto à importância da nutrição na fase adulta na reprodução. (A1, A2, A3) *A. gemmatalis*; (B1,B2,B3) *H. virescens*; (C1, C2, C3) *S. frugiperda*

Figura 3.4 - Bolsa copuladora da fêmea virgem (esquerda), bolsa copuladora da fêmea acasalada contendo espermatóforo(s) (parte central) e espermatóforos (direita), respectivamente, de três espécies de lepidópteros-praga estudadas quanto à importância da nutrição na fase adulta na reprodução. (D1,D2,D3) *D. saccharalis*; (E1,E2,E3) *G. aurantianum* e (F1,F2,F3) *S. catenifer*

Outro parâmetro reprodutivo, como a viabilidade dos ovos também foi afetada pelo acesso ao alimento na fase adulta. A viabilidade da primeira postura não foi afetada, independentemente do acesso ou não ao alimento (solução aquosa de mel a 10%) na fase adulta. No entanto, a viabilidade da 2ª postura foi afetada pelo alimento de forma diferente dependendo da espécie (Fig. 3.5). Ovos de fêmeas de *S. frugiperda* e *D. saccharalis* alimentadas na fase adulta foram menos viáveis do que aqueles originados de fêmeas que tiveram acesso exclusivo à água, enquanto o oposto foi encontrado para *S. catenifer* (Fig. 3.5).

Figura 3.5 - Viabilidade da 1ª e 2ª posturas (%) das seis espécies estudadas quanto a necessidade de alimentação na fase adulta. * Médias transformadas em $\arcsin \sqrt{y/100} \pm$ erro padrão diferem entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

A alimentação na fase adulta também influenciou de forma espécie-específica a atividade de cópula do inseto. Assim, casais de *A. gemmatalis* e *D. saccharalis* tiveram capacidade de acasalamento reduzida quando alimentados com solução de mel a 10% sem, no entanto, ocorrer qualquer redução na fecundidade (Figuras 3.6 e 3.7).

Figura 3.6 - Número de cópulas das seis espécies estudadas quanto a necessidade de alimentação na fase adulta. * Médias transformadas pelo método da potência ótima de Box-Cox em $\sqrt{y} \pm$ erro padrão diferem entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

Comumente, noctuídeos, assim como outras espécies de lepidópteros, mantidos em criações de laboratório são alimentados com solução de mel a 10%. No entanto, verificou-se que a alimentação para *S. frugiperda* não influenciou a fecundidade (Fig. 3.7), mesmo quando permitiu sobrevida maior aos adultos (Fig. 3.8). A utilização de fontes de carboidratos parece não ser necessária a outras espécies de noctuídeos, como *Spodoptera cosmioides*, pois Bavaresco et al. (2001) não encontraram diferenças na fecundidade desta espécie criada em água ou em diferentes fontes de carboidratos. Além de ser indiferente para a maioria das espécies estudadas, a fonte de carboidratos utilizada na alimentação de adultos pode afetar de forma negativa a aptidão

biológica do adulto, assim como observado para *D. saccharalis*. O efeito nocivo de fontes de carboidratos aos adultos dessa espécie já havia sido relatado previamente (PARRA et al., 1999), mas a causa exata desse efeito permanece desconhecida.

O fornecimento de carboidratos para fase adulta das espécies *Diatraea saccharalis*, *Gymnandrosoma aurantianum* e *Stenoma catenifer* também foi indiferente para o aumento da fecundidade destas espécies, uma vez que o número médio de ovos/fêmea foi maior no tratamento água para *D. saccharalis* (Fig. 3.7) e, semelhante estatisticamente entre os tratamentos para *G. aurantianum* (Fig. 3.7) e *S. catenifer* (Fig. 3.7). Na espécie *D. saccharalis* observou-se redução da fecundidade (Fig. 3.7), viabilidade da 2ª postura (Fig. 3.5) e longevidade dos adultos na presença de carboidratos (Fig. 3.8). Em relação aos tortricídeos, dados obtidos por Fonseca et al. (2005) não apresentaram diferenças estatísticas para a fecundidade e viabilidade dos ovos de *Bonagota cranaodes* quando mantidas com água ou em duas diferentes fontes de carboidratos. Já *Epinotia aporema*, observada por Benz (1991), apresentou o número de ovos/fêmea 15x superior quando mantidas com solução de mel a 10% em relação às fêmeas mantidas apenas com água.

Figura 3.7 - Número médio de ovos/fêmea das seis espécies estudadas quanto a necessidade de alimentação na fase adulta. * Médias transformadas pelo método da potência ótima de Box-Cox em $\sqrt{y} \pm$ erro padrão diferem entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

Figura 3.8 - Longevidade dos adultos das seis espécies estudadas quanto a necessidade de alimentação na fase adulta. * Médias transformadas pelo método da potência ótima de Box-Cox em $\sqrt{y} \pm$ erro padrão diferem entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

Através dos resultados obtidos para *S. frugiperda*, *D. saccharalis*, *G. aurantianum* e *S. catennifer*, respectivamente, pode-se sugerir que estas espécies podem ser mantidas em laboratório apenas com o fornecimento de água na fase adulta, pois a redução na longevidade dos adultos neste tratamento não afetou a fecundidade das espécies. A substituição da solução de mel a 10% por água para estas espécies implicaria na redução do tempo gasto com a manutenção e alimentação dos adultos, redução custos e em alguns casos, o aparecimento de formigas nas criações.

Os índices de ovigenia calculados e o efeito da nutrição na capacidade reprodutiva dos adultos das espécies estudadas indicam a utilização de diferentes estratégias de alocação e utilização de nutrientes durante o desenvolvimento. Assim, *A. gemmatalis* e *H. virescens* utilizam boa parte das reservas acumuladas durante a fase imatura para sustentar suas atividades metabólicas, exigindo a aquisição de nutrientes via alimentação para o completo desenvolvimento de sua capacidade reprodutiva, enquanto as demais espécies dependem exclusivamente dos nutrientes adquiridos durante sua fase imatura para sua reprodução.

3.4 Considerações Finais

-A aquisição de nutrientes na fase adulta é importante para a reprodução de *Anticarsia gemmatalis* e *Heliothis virescens*.

-Adultos de *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis*, *Gymnandrosoma aurantianum* e *Stenoma catennifer* podem ser mantidos em laboratório sem o oferecimento de alimento.

-O índice de ovigenia de todas as espécies estudadas foi abaixo de 1, indicando que estas espécies desenvolvem novos oócitos durante a fase adulta.

Referências

ATTARDO, G.M.; HANSEN, I.A.; RAIKHEL, A.S. Nutricional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: Implications for anautogeny. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 35, p. 661-675, 2005.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.

BARTLETT, M.S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**. Series A, London, v. 160, p. 268-282, 1937.

BAVARESCO, A.; GARCIA, M.S.; GRÜTZMACHER, A.D.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Efeito de fontes de carboidratos sobre o desempenho reprodutivo de *Spodoptera cosmioides* (Walk., 1858) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 177-180, 2001.

BENZ, G. Physiology reproduction and ecology. In: VAN DER GEEST, L.P.S.; EVENHUIS, H.H. **Tortricid pest their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. p. 89-147.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

CHAPMAN, R.F. **The insects: structure and function**. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770 p.

FONSECA, F.L.; MANFREDI-COIMBRA, S.; FORESTI, J.; KOVALESKI, A. 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.

GARCIA, M.S. **Bioecologia e potencial do controle biológico de *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), o bicho-furão-dos-citros, através de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879**. 1998. 118 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

GARCIA, M.S.; PARRA, J.R.P. Comparação de dietas artificiais, com fontes protéicas variáveis para a criação de *Ecdytoplopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, p. 219-232, 1999.

JERVIS, M.A.; BOGGS, C.L.; FERNS, P.N. Egg maturation strategy and its associated trade-offs: a synthesis focusing on Lepidoptera. **Ecological Entomology**, London, v. 30, p. 359-375, 2005.

JERVIS, M.A.; HEIMPEL, G.E.; FERNS, P.N.; HARVEY, J.A.; KIDD, N.A.C. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 70, p. 442-458, 2001.

KING, E.G.; HARTLEY, G.G. *Diatraea saccharalis*. In: SINGH, P.; MOORE, R.F. **Handbook of insect rearing**. New York: Elsevier, 1985. p. 265-270.

MAGRINI, E.A.; SILVEIRA NETO, S.; PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M. Efeito da temperatura sobre a capacidade de postura e longevidade de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 71, n.1, p. 93-103, 1996.

MIHSFELDT, L.H.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 769-776, 1999.

NALIM, D.M. **Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais**. 1991. 150 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Stenoma catennifer* Walsingham (Lepidoptera: Elachistidae) em dieta natural e artificial e estabelecimento de um sistema de criação. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 751-759, 2005.

PARRA, J.R.P. A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório à aplicação em campo. In: GUEDES, J.V.C.; COSTA, I.D. da; CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas de manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM, CCR, DFS. 2000. p. 1-29

PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; CÔNSOLI, 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**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 49-57, 1999.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2005. Disponível em :<<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 14 jan. 2005.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, London, v. 52, n. 34, p. 591-611, 1965.

SILVA, R.F.P. **Aspectos biológicos e nutrição de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em meios natural e artificial e influência da temperatura e fotoperíodo no seu desenvolvimento.** 1981. 130 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1981.

SOUZA, A.M.L.; ÁVILA, C.J.; PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera:Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperatura. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 11-17, 2001.

WARD, K.E.; LANDOLT, P.J. Influence of multiple matings on fecundity and longevity of female cabbage looper moths (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 88, n. 6, p. 768-772, 1995.

4 FREQUÊNCIA DE CÓPULA DE *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM LABORATÓRIO

Resumo

O objetivo deste trabalho foi observar a influência da frequência de cópulas e suas implicações na capacidade reprodutiva de espécies que utilizam estratégias reprodutivas diferentes, como *Anticarsia gemmatalis*, que utiliza nutrientes adquiridos na fase adulta para o desenvolvimento de oócitos, e *Spodoptera frugiperda*, que depende exclusivamente de nutrientes acumulados na fase imatura para sustentar sua reprodução. Assim, além da verificação do efeito da realização de cópulas múltiplas, também foi verificada a contribuição do macho de cada espécie em cópulas sucessivas. O efeito da atividade de cópula (1 vs. 3) e da contribuição do macho (primeira, segunda ou terceira cópula) foi verificado avaliando-se aspectos biológicos como a fecundidade, fertilidade, longevidade de adultos, duração das cópulas e número de espermatozoides transferidos por cópula. Observou-se que a frequência de cópulas afetou a longevidade de fêmeas de *A. gemmatalis*, sendo menos longevas as fêmeas que realizaram até 3 cópulas. Já para *S. frugiperda*, a frequência de cópula afetou tanto a longevidade quanto a fecundidade. No entanto, apesar do efeito negativo observado na fecundidade dessa espécie, fêmeas que realizaram cópulas múltiplas foram mais longevas do que aquelas que acasalaram uma única vez. A duração das cópulas foi inferior nas cópulas subseqüentes quando comparada à primeira cópula para as espécies estudadas. Quanto à contribuição dos machos para a reprodução das espécies estudadas, a realização de cópulas prévias não interferiu na capacidade reprodutiva das fêmeas, ou seja, fêmeas que copularam com machos experientes (segunda ou terceira cópula) receberam complemento de esperma suficiente para sustentar sua atividade reprodutiva, visto a ausência de efeitos na fecundidade e fertilidade das fêmeas. No entanto, a segunda e terceira cópulas realizadas por esses machos foram mais longas do que a primeira. Independentemente da experiência, machos sempre depositaram um único espermatozóide por cópula.

Palavras-chave: Frequência de cópulas; Capacidade reprodutiva; Duração de cópulas; Fecundidade

MATING FREQUENCY OF *ANTICARSIA GEMMATALIS* AND *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN LABORATORY

Abstract

This paper deals with the influence of mating frequency in the reproductive abilities of species such as *Anticarsia gemmatalis*, which uses nutrients acquired during the adult stage for developing the oocytes, and *Spodoptera frugiperda*, which depends exclusively on nutrients obtained during the larval stage for sustaining its reproduction. The contribution of males of each species was observed as well. The effect of mating activity (1 versus 3) and male contribution (1st, 2nd, or 3rd mating) was verified by evaluating biological aspects of adult fecundity, fertility, and longevity, mating duration and number of spermatophores transferred in each mating. Mating frequency did affect longevity of *A.gemmatalis* females, for those with up to three matings lived less. Regarding *S.frugiperda*, mating frequency affected longevity and fecundity. However multiple-mated females lived longer than those once-mated ones. The duration of mating was shorter in the subsequent ones, when compared to the first mating for all the species. Females mated with recent-mated males did receive enough sperm for sustaining its reproductive activities. However such males presented the 2nd and 3rd matings longer than the first one. Regardless mating activity, males always transferred only one spermatophore per mating.

Keywords: Mating frequency; Reproductive capacity; Mating duration; Fecundity

4.1 Introdução

A cópula tem como principal função a transferência de esperma do macho para a fêmea, para assegurar que a mesma possa reproduzir, sendo que a cada oportunidade de cópula aumenta a probabilidade de gerar descendentes, sendo o sucesso reprodutivo do macho diretamente relacionado com sua atividade de cópula. O sucesso reprodutivo de fêmeas, por sua vez, está relacionado com a sua capacidade em produzir o maior número possível de ovos férteis, o que nem sempre está diretamente relacionado à sua atividade de cópula. Apesar de fêmeas poderem obter sucesso reprodutivo com uma única cópula, a ocorrência de poliandria em insetos é bastante comum. O conflito existente entre os sexos, dado os benefícios reprodutivos de machos e fêmeas quanto à atividade de cópula, têm intrigado biólogos por décadas e a compreensão dos mecanismos que beneficiam a prática da poliandria por fêmeas são um dos principais aspectos

abordados em estudos da biologia reprodutiva de insetos (ver revisão realizada por (ARNGVIST; NILSSON, 2000)).

O desenvolvimento e maturação do aparelho reprodutivo de insetos estão ligados à própria nutrição, seja na fase imatura e/ou adulta, e que normalmente afeta o tamanho e a longevidade de adultos (DELISLE; BOUCHARD, 1995; ROGERS; MARTI, 1996; SETH et al., 2002; BERGSTROM; WIKLUND; KAITALA, 2002; TREGENZA; WEDELL, 1998). No entanto, são vários os fatores que podem desencadear os processos fisiológicos que levam a maturação de oócitos e à sua postura. Esses estímulos podem ser comportamentais, como a cópula em si (OPP; PROKOPY, 1986), físicos, como a distensão da bolsa copuladora dada pela transferência de esperma ou ainda a presença de esperma viável (GROMKO; NEWPORT; KORTIER, 1984; SETH et al., 2002), ou químico, como a transferência de substâncias moduladoras junto ao ejaculado do macho, que podem ou não apresentar função nutritiva (THORNHILL; ALCOCK, 1983; SIMMONDS; GWYNNE, 1993; CHAPMAN, 1998). É evidente que a participação de um ou mais desses estímulos no processo de reprodução está ligada à própria estratégia de reprodução adotada pela espécie, a qual depende do processo de alocação e uso de nutrientes para a maturação do ovário. Essas decisões dependem da fisiologia reprodutiva do inseto e das decisões de alocação e utilização dos nutrientes obtidos na fase imatura, os quais podem ser utilizados no desenvolvimento de tecidos somáticos ou reprodutivos. A alocação diferencial dos nutrientes está relacionada à ecologia nutricional da espécie e dos riscos associados à reprodução no habitat por ela explorado (ATTARDO; HANSEN; RAIKHEL, 2005).

Assim, a proliandria pode servir como fonte de aquisição de nutrientes pela fêmea, que poderão, dependendo da estratégia reprodutiva da mesma, ser utilizados na manutenção de suas atividades metabólicas, utilizados para o desenvolvimento de tecido reprodutivo ou alocados diretamente para a sustentação do desenvolvimento de novos embriões (THORNHILL; ALCOCK, 1983; GILLOTT, 1988; CHAPMAN, 1998). No entanto, apesar dos efeitos benéficos que podem estar associadas à prática de cópulas múltiplas, a cópula também pode apresentar riscos, prejudicando a aptidão reprodutiva da fêmea. Em alguns casos, a cópula pode reduzir a aptidão do adulto devido ao custo energético associado (THORNHILL; ALCOCK, 1983; WATSON; ARNGVIST; STALLMAN, 1998), ao risco de predação (THORNHILL; ALCOCK, 1983; CHAPMAN, 1998; ROWE, 1994), infecção por patógenos (HURST et al., 1995) e redução

na capacidade de recópula (SNOOK, 1998; RETNAKARAN, 1974; EBERHARD, 1996). De uma forma geral, mesmo com os riscos associados à realização de múltiplas cópulas, vários são os casos em que ocorre estreita relação entre o número de cópulas realizado pela fêmea e a fecundidade (SVÄRD; MCNEIL, 1994; WARD; LANDOLT, 1995; COSTA; BORGES; VILELA, 1998; HSU; WU, 2000).

Baseando-se na importância da frequência de cópula e alimentação do adulto na reprodução de insetos, a presente pesquisa teve por objetivo observar o efeito do acasalamento múltiplo em espécies que alocam e utilizam nutrientes de forma distinta para a sua reprodução, como *Anticarsia gemmatalis*, que necessita adquirir nutrientes na fase adulta para sustentar suas atividades reprodutivas, e *Spodoptera frugiperda*, que depende exclusivamente de nutrientes adquiridos na fase imatura para sustentar sua reprodução. Assim, foram comparados parâmetros biológicos de fêmeas que realizam cópulas isoladas vs. múltiplas e de comparações quanto à contribuição do macho para a reprodução da fêmea, analisando a eficiência do mesmo em cópulas sucessivas.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Criação estoque de insetos e obtenção de adultos

Anticarsia gemmatalis e *Spodoptera frugiperda* foram criadas em dieta artificial a base de feijão, germe de trigo, proteína de soja, caseína e levedura (MIHSFELDT; PARRA, 1999) e mantidas em condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm 10\%$ e fotofase 14h) até a obtenção de adultos. As pupas foram separadas por sexo e pesadas 48 h antes da emergência de adultos, baseando-se na duração da fase pupal de *A. gemmatalis* (10 dias) (SILVA, 1981) e *S. frugiperda* (11 dias) (NALIM, 1991).

Após a obtenção das pupas e a separação destas por sexo, apenas pupas que apresentaram peso de 240 a 255 mg, para fêmeas, e de 250 a 265 mg, para machos, de *A. gemmatalis*, e de 230 a 265 mg para ambos os sexos de *S. frugiperda*, foram utilizadas nos experimentos. Em seguida, as pupas foram colocadas em placas de Petri (9cm de diâmetro e 2cm de altura) forradas por papel filtro umedecido e transferidas para gaiolas de emergência formadas por tubo de PVC (20cm de altura e 10cm de diâmetro) contendo papel sulfite em seu interior.

Em todos os bioensaios foram utilizados adultos virgens com 24h de idade para que os fatores idade e “status” de cópula não interferissem nos resultados obtidos. O acompanhamento das cópulas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi realizado durante o período de escotofase (entre 20:00 e 06:00h) e as observações realizadas a cada 15 minutos utilizando-se lanterna com luz vermelha (LEPPLA et al., 1987), sendo registrados o início e término das cópulas para a observação da duração das mesmas.

4.2.2 Influência da frequência de cópulas na aptidão reprodutiva de fêmeas de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

O acasalamento de *A. gemmatalis* foi realizado em gaiolas cilíndricas (40 cm de altura e 30 cm de diâmetro) revestidas por tecido do tipo “tule” (MAGRINI et al., 1996) para o acompanhamento do acasalamento dos insetos. Para a obtenção de fêmeas que copularam uma única vez, 25 fêmeas virgens de *A. gemmatalis*, escolhidas ao acaso, foram divididas em 5 grupos, sendo possível acompanhar a cópula dos insetos durante o período de escotofase. Ao ser observado o acasalamento foi estabelecido, ao acaso, um período de 120s para o isolamento do casal. Cada casal, ainda em cópula, foi transferido individualmente para uma gaiola formada por tubo de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) forrada em seu interior por papel sulfite. A manipulação dos casais ocorreu de forma lenta e não interferiu na cópula dos mesmos, sendo que não ocorreu a interrupção da cópula em nenhum dos casais manipulados. Após o término do acasalamento, os machos foram transferidos para outras gaiolas de PVC permitindo somente uma cópula para ambos os sexos.

Para a obtenção de fêmeas que realizaram cópulas múltiplas, casais foram agrupados como anteriormente, mas as fêmeas de cada grupo foram numeradas de 1 a 5, utilizando-se de marcação pela descamação localizada no primeiro par de asas, realizada com o auxílio de um estilete envolto em algodão umedecido (Fig. 4.1), permitindo o acompanhamento correto das cópulas. Fêmeas que realizaram a primeira cópula foram selecionadas e expostas a novos machos nas gaiolas de acasalamento, para que as mesmas pudessem realizar a segunda e terceira cópulas. Todos os machos oferecidos para as fêmeas eram virgens e com 24 h de idade. A tentativa de aquisição de fêmeas com até 3 cópulas ocorreu apenas até o quinto dia, já que as cópulas não

eram realizadas em dias consecutivos. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% e mantidos em condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $60\pm 10\%$ UR e fotofase 14h).

Figura 4.1 - Esquema de marcação por descamação de asas, de fêmeas de *A. gemmatalis* utilizado para o acompanhamento da atividade de cópula

Para *S. frugiperda*, 25 casais escolhidos ao acaso foram individualizados em gaiolas formadas por tubos de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) revestidas por papel jornal (PARRA, 1996). A cópula foi acompanhada por observação direta, sendo o macho removido logo ao término da cópula, permitindo, assim, uma única cópula ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm 10\%$ e fotofase 14h) Fêmeas que realizaram cópulas múltiplas foram obtidas pelo oferecimento de novos machos consecutivamente ao término de cada cópula. Apenas machos virgens, com até 24 h de idade, foram utilizados para o acasalamento.

Os experimentos foram todos conduzidos em condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm 10\%$ e fotofase 14h), sendo oferecido apenas água aos adultos dessa espécie. Foram observadas a fecundidade, viabilidade da 1ª e 2ª posturas, longevidade dos adultos e o número de espermatóforos depositados pelo macho na bolsa copuladora da fêmea. A determinação do número de espermatóforos foi realizada dissecando-se as fêmeas em solução aquosa, logo após sua morte, sob microscópio estereoscópico.

4.2.3 Contribuição da cópula do macho na aptidão reprodutiva de fêmeas de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

A contribuição dos machos para a reprodução de fêmeas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi avaliada, verificando-se a capacidade reprodutiva de fêmeas copuladas com machos virgens e experientes (1 ou 2 cópulas). Assim, casais de *A. gemmatalis* foram colocados em gaiolas de acasalamento como descrito anteriormente. Após a cópula, as fêmeas foram individualizadas em gaiolas de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro), sendo os machos retidos nas gaiolas de acasalamento, para que pudessem inseminar novas fêmeas virgens (24 h de idade) oferecidas. Procedimento semelhante foi adotado para *S. frugiperda*, permitindo a obtenção de fêmeas que realizaram uma única cópula, mas com machos que apresentavam experiência distinta. Os experimentos foram conduzidos em condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h).

Para ambas as espécies, foram observadas a duração de cada cópula, o número de espermatóforos depositados por cópula através da dissecação da bolsa copuladora das fêmeas, a fecundidade das fêmeas, viabilidade da 1ª e 2ª posturas e a longevidade das fêmeas, sendo a longevidade dos machos deste bioensaio comparada com a longevidade dos machos do bioensaio 1 que acasalaram somente uma vez.

Os dados foram submetidos a análise exploratória para verificação da homogeneidade de variâncias e normalidade pelos testes de Bartlett (BARTLETT, 1937) e Shapiro-Wilk (SHAPIRO; WILK, 1965), respectivamente, sendo as variáveis transformadas pelo Método da Potência Ótima de Box-Cox (BOX; COX, 1964). Para os dados expressos em porcentagem, utilizou-se a transformação $\text{arc sen} \sqrt{y/100}$ (BANZATTO; KRONKA, 1995). Após esse procedimento inicial, foi realizada a análise de variância ($F < 0,05$) e médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Nesse estudo, as análises foram realizadas utilizando o programa R de computação estatística (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2005).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Influência da frequência de cópulas na aptidão reprodutiva de fêmeas de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

Durante a condução deste bioensaio, foi possível observar todo comportamento de cópula de *A. gemmatalis* descrito por Leppla et al. (1987), podendo-se visualizar os vôos de investida do macho, com mais de 10 cm de distância em relação à fêmea, durante o processo de aproximação em relação a mesma. Estas observações tornaram evidente a importância do espaço para esta espécie durante o processo de corte, sendo a gaiola cilíndrica (30 cm de diâmetro) revestida por tecido “tule”, a mais adequada para o acasalamento desta espécie em relação à gaiola de PVC (10 cm de diâmetro).

Através dos resultados obtidos quanto a aptidão reprodutiva das fêmeas, de ambas as espécies, verificou-se que a frequência de cópula de *A. gemmatalis* não afetou a fecundidade da espécie; no entanto, para *S. frugiperda* o aumento no número de cópulas reduziu a fecundidade das fêmeas (Tabela 4.1), diferindo dos resultados encontrados na literatura, para a maioria dos insetos, nos quais se observa o aumento da fecundidade pelo crescimento no número de cópulas das fêmeas (SVÄRD; MCNEIL, 1994; WARD; LANDOLT, 1995; ROGERS; MARTI, 1996; ARNGVIST; NILSSON, 2000; HSU; WU, 2000; FEDORKA; MOUSSEAU, 2002; KAMIMURA, 2003).

Porém, a diminuição da fecundidade de fêmeas com cópulas múltiplas pode acontecer. Svärd e McNeil (1994) observaram que a fecundidade das fêmeas de *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) diminuiu após o segundo acasalamento e Cook (1999) observou que fêmeas de *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) não aumentaram a fecundidade após o segundo acasalamento. O custo energético envolvido na cópula das fêmeas (THORNHILL; ALCOCK, 1983; WATSON; ARNQVIST; STALLMAN, 1998; ARNGVIST; NILSSON, 2000) e o excesso de esperma (poliespermia) (EBEHARD, 1996) são fatores que podem reduzir a fecundidade das fêmeas e que poderiam explicar os resultados observados em *S. frugiperda*. Outro fator que poderia explicar os resultados obtidos com *S. frugiperda* seriam as investidas insistentes de alguns machos para copular com algumas fêmeas em franca deposição de ovos, observado logo na primeira hora de escotofase. Embora repelidos, a presença dos machos pode

ter sido um fator estressante para as fêmeas, o que poderia ter causado a redução da fecundidade das mesmas (CHAPMAN, 1998).

A porcentagem de fêmeas que aceitaram a terceira cópula variou entre as espécies, sendo maior em *S. frugiperda* (76%) com três cópulas e (24%) com duas cópulas, e para *A. gemmatalis*, (60%) com três cópulas e (40%) com duas cópulas. A rejeição das fêmeas à terceira cópula pode ter ocorrido devido ao custo energético do acasalamento ou ao estoque de espermatozóides mantidos pelas mesmas (THORNHILL; ALCOCK, 1983; WATSON; ARNQVIST; STALLMAN, 1998; ARNGVIST; NILSSON, 2000).

A porcentagem de ovos colocados pelas fêmeas com uma ou três cópulas decresceu ao longo das posturas (Fig. 4.2) em ambas as espécies, mostrando uma queda na fecundidade com o aumento da idade, fato observado em outras espécies de insetos (COSTA; BORGES; VILELA, 1998; BLAY; YUVAL, 1999). Fêmeas de *A. gemmatalis* com uma cópula colocaram mais ovos nas três primeiras posturas, enquanto as fêmeas com cópulas múltiplas tiveram uma distribuição irregular do número de ovos colocados, sendo a porcentagem dos mesmos, reduzida a partir do 7º dia (Fig. 4.2 A). Fêmeas de *S. frugiperda* com acasalamentos múltiplos ou não colocaram a maior porcentagem de ovos nas duas primeiras posturas (Fig. 4.2 B).

Tabela 4.1 - Influência da frequência de cópulas no número de ovos, viabilidade das posturas e longevidade dos adultos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* (25±2°C, UR 60±10% e fotofase 14h)

	<i>A. gemmatalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
	Adultos		Adultos	
	1 cópula ²	2 ou 3 cópulas ²	1 cópula ²	2 ou 3 cópulas ²
Nº de ovos / fêmea	464,08 ± 61,50 a	611,68 ± 55,88 a	1605,52 ± 131,56 a	1294,20 ± 57,92 b
Viabilidade (%)	82,61 ± 4,54 a	82,28 ± 4,46 a	82,51 ± 07,47 a	73,49 ± 08,69 a
1ª e 2ª posturas ¹				
Longevidade das fêmeas (dias)	20,15 ± 0,98 a	12,88 ± 1,46 b	09,20 ± 0,39 b	10,76 ± 0,46 a
Longevidade dos machos (dias)	20,88 ± 1,43 a	21,80 ± 0,99 a	09,12 ± 0,37 a	9,04 ± 0,25 a

¹ Dados transformados em $\arcsin \sqrt{y/100}$

² Médias ± erro da média seguidas de mesma na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05)

Figura 4.2 - Porcentagem de ovos colocados, por postura, de fêmeas com uma e três cópulas de (A) *A. gemmatalis* e (B) *S. frugiperda* ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $60\pm 10\%$ e fotofase 14h)

A fertilidade das fêmeas de ambas as espécies não foi afetada pela frequência de cópulas das mesmas, deixando evidente que apenas uma cópula é suficiente para a fertilização dos ovos destas espécies (Tabela 4.1).

A longevidade das fêmeas, de ambas as espécies, foi afetada de forma diferente pela frequência de cópulas. Fêmeas de *A. gemmatalis* com cópulas múltiplas sobreviveram menos em relação a fêmeas com uma única cópula (Tabela 4.1), resultado análogo ao encontrado na literatura para algumas espécies de insetos (ARNGVIST; NILSSON, 2000). No entanto, fêmeas de *S. frugiperda* com cópulas múltiplas foram mais longevas em relação a fêmeas com cópula única (Tabela 4.1), fato que parece ser comum em espécies que apresentam poliandria, o que não implica em diminuição na fecundidade ou fertilidade das mesmas (KENNETH; LANDOLT, 1995; ARNGVIST; NILSSON, 2000). Na presente pesquisa, a fecundidade das fêmeas de *S.*

frugiperda foi reduzida, embora as fêmeas tenham sido mais longevas; no entanto, as explicações para tal ocorrência encontram-se discutidas neste trabalho.

4.3.2 Contribuição da cópula do macho na aptidão reprodutiva de fêmeas de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

O “status” de cópula dos machos, de ambas as espécies, não influenciou a capacidade reprodutiva dos mesmos, bem como a fecundidade, fertilidade ou longevidade das fêmeas, não havendo diferenças destes parâmetros biológicos entre as três fêmeas oferecidas para os machos (Tabela 4.2). Kenneth e Landolt (1995) também não observaram a influência de acasalamentos prévios dos machos de *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) na fecundidade e fertilidade das fêmeas, no entanto, o “status” de cópula dos machos pode influenciar a capacidade reprodutiva das fêmeas de algumas espécies levando, em alguns casos, a diminuição da fecundidade e fertilidade das mesmas (RUTOWSK; GILCHRIST; TERLANIAN, 1987, PEREZ; WANG, 2004).

A fecundidade das fêmeas de ambas as espécies decresceu com a idade, sendo a maior porcentagem de ovos colocados por *A. gemmatalis* nas três primeiras posturas (Fig. 4.3 A) e, *S. frugiperda* nas duas primeiras posturas (Fig. 4.3 B).

A fertilidade média de todas as posturas quando comparadas entre as três fêmeas não diferiu estatisticamente (Tabela 4.2), porém observou-se uma queda na porcentagem de ovos viáveis em menos de 50% para *A. gemmatalis* a partir da 10ª postura e de *S. frugiperda*, a partir da 7ª postura para a primeira e segunda fêmeas, e 8ª para a terceira fêmea (Figuras 4.4 A e 4.4 B) respectivamente.

Tabela 4.2 - Influência da frequência de cópulas de um macho acasalado com três fêmeas no número de ovos, viabilidade das posturas e longevidade das mesmas para *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* (25±2°C, UR 60±10% e fotofase 14h)

	<i>A. gemmatalis</i>		
	(fêmea 1) ³	(fêmea 2) ³	(fêmea 3) ³
Nº de ovos/fêmea ¹	491,20 ± 66,68 a	517,08 ± 56,80 a	569,24 ± 64,37 a
Viabilidade (%) 1ª e 2ª posturas ²	48,88 ± 09,15 a	52,77 ± 07,73 a	61,63 ± 08,92 a
Longevidade das Fêmeas	20,28 ± 0,91 a	20,64 ± 0,98 a	19,32 ± 1,14 a
	<i>S. frugiperda</i>		
	(fêmea 1) ³	(fêmea 2) ³	(fêmea 3) ³
Nº de ovos/fêmea	1614,72 ± 163,36 a	1571,68 ± 146,37 a	1514,56 ± 118,38 a
Viabilidade (%) 1ª e 2ª posturas ²	83,83 ± 04,80 a	79,88 ± 07,03 a	91,65 ± 04,23 a
Longevidade das fêmeas ¹	9,28 ± 0,41 a	9,60 ± 0,54 a	10,52 ± 0,53 a

¹ Dados transformados pelo Método da Potência Ótima de Box-Cox em $\sqrt{y}$

² Dados transformados em $\arcsin \sqrt{y/100}$;

³ Médias ± erro da média seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05)

O fator idade não interferiu na capacidade reprodutiva dos machos com 24 a 120 h (1 a 5 dias) em ambas as espécies. Os resultados obtidos para *S. frugiperda* foram semelhantes aos observados por Rogers e Marti (1994) os quais verificaram que fêmeas de *S. frugiperda* acasaladas com machos de até 3 dias de idade foram mais fecundas e férteis do que quando acasaladas com machos mais velhos. A idade é um fator que pode afetar a reprodução, de ambos os sexos, em algumas espécies de insetos (DELISLE; BOUCHARD, 1995; ROGERS; MARTI, 1996; SETH et al., 2002). Fêmeas com acasalamentos tardios podem ter a fecundidade reduzida (ROGERS; MARTI, 1994), assim como machos muito jovens ou muito velhos podem afetar, negativamente, a fecundidade e fertilidade das mesmas (JONES; ELGAR, 2004).

Figura 4.3 - Porcentagem de ovos colocados, por postura, de três fêmeas (F1, F2, F3) de (A) *A. gemmatalis* e (B) *S. frugiperda* acasaladas com um macho em comum ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

Figura 4.4 - Viabilidade dos ovos (%), por postura, de três fêmeas (F1, F2, F3) de (A) *A. gemmatilis* e (B) *S. frugiperda* acasaladas com um macho em comum ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

O número de espermatozóides depositados pelos machos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi igual a um/cópula. No entanto, observou-se, em alguns casos, na espécie *A. gemmatalis*, que machos que copularam três vezes depositaram apenas 1 espermatozóide (4%) ou 2 espermatozóides (8%), portanto, não depositando espermatozóides em algumas cópulas. Também se verificou a presença de machos estéreis nesta espécie (32%) dos 25 machos observados, o que afetou a fecundidade das fêmeas que, uma vez acasaladas com estes machos, depositaram em média, 260 ovos, enquanto, que fêmeas acasaladas com machos férteis colocaram em média 650 ovos. Através dos resultados obtidos verificou-se que *A. gemmatalis* foi estimulada a ovipositar não somente pelo acasalamento, mas principalmente pela presença de espermatozóides viáveis no trato reprodutivo das fêmeas, fato observado em outras espécies de insetos (GROMKO; NEWPORT; KORTIER, 1984; OPP; PROKOPY, 1986; ARNGVIST; NILSSON, 2000; SETH et al., 2002).

Quanto a espécie *S. frugiperda*, embora apenas um espermatozóide tenha sido depositado por cópula, autores como Rogers e Marti (1994) observaram que dos 389 machos estudados, dois machos com 8 a 9 dias de idade depositaram 2 espermatozóides em uma única cópula.

A duração das cópulas dos machos, de ambas as espécies, foi inferior nas cópulas subseqüentes quando comparada à primeira cópula (Tabela 4.3), porém isso não interferiu na capacidade reprodutiva de ambos os sexos das espécies estudadas.

Tabela 4.3 - Duração das cópulas (em minutos) de machos e fêmeas com até três acasalamentos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h)

	<i>A. gemmatalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
	1 Fêmea com 3 machos	1 macho com 3 fêmeas	1 Fêmea com 3 machos	1 macho com 3 fêmeas
1ª cópula	165,16 $\pm$ 12,31 a	139,92 $\pm$ 07,27 b	267,28 $\pm$ 17,74 a	210,72 $\pm$ 13,90 b
2ª cópula	104,20 $\pm$ 08,50 b	187,24 $\pm$ 12,35 a	161,76 $\pm$ 18,08 b	284,76 $\pm$ 17,72 a
3ª cópula	119,53 $\pm$ 10,66 b	186,20 $\pm$ 10,49 a	237,95 $\pm$ 24,65 a	285,72 $\pm$ 20,83 a

Médias $\pm$ erro da média seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)

4.4 Considerações Finais

- Para *Anticarsia gemmatalis*, o aumento no número de cópulas reduziu a longevidade das fêmeas.
- A duração das cópulas dos machos com até três acasalamentos, em ambas as espécies, aumentou nas cópulas subseqüentes quando comparada à primeira cópula.
- Para *Spodoptera frugiperda*, fêmeas com até três cópulas foram menos fecundas e mais longevas, observação oposta, para ambos os aspectos biológicos, em relação às fêmeas com uma cópula.
- O número de espermatóforos depositados pelos machos com até 5 dias de idade, em ambas as espécies, foi igual a 1 por cópula.
- Através dos resultados obtidos quanto à fecundidade e fertilidade das fêmeas de ambas as espécies estudadas, pode-se sugerir que os machos sejam excluídos da criação estoque destas espécies, mantidas em laboratório, após dois dias de permanência com as fêmeas, o que reduziria o número de insetos a serem mantidos.

Referências

ARNGVIST, R.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**, London, v. 60, p. 145-164, 2000.

ATTARDO, G.M.; HANSEN, I.A.; RAIKHEL, A.S. Nutricional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: Implications for anautogeny. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 35, p. 661-675, 2005.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 3.d. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.

BARTLETT, M.S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**. Series A, London, v. 160, p. 268-282, 1937.

BERGSTROM, J.; WIKLUND, C.; KAITALA, A. Natural variation in female mating frequency in a polyandrous butterfly: effects of size and age. **Animal Behaviour**, London, v. 64, p. 49-54, 2002.

BLAY, S.; YUVAL, B. Oviposition and fertility in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): effects of male and female body size and the availability of sperm. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 92, n. 2, p. 278-284, 1999.

BOGGS, C.L.; GILBERT, L.E. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer of nutrients at mating. **Science**, Washington, v. 206, p. 83-84, 1979.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An Analysis of Transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

CHAPMAN, R.F. **The isects**: structure and function. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770 p.

COOK, D.F. Influence of temperature on copula duration and mating propensity in *Lucilia cuprina* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae). **Journal of the Australian Entomological Society**, Brisbane, v. 33, p. 5-8, 1994.

COSTA, M.L.M.; BORGES, M.; VILELA, E.F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 4, p. 559-568, 1998.

DELISLE, J.; BOUCHARD, A. Male larval nutrition in *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae): an important factor in reproductive success. **Oecologia**, Berlin, v. 104, p. 508-517, 1995.

EBERHARD, W.G. **Female control**: sexual selection by cryptic female choice. New Jersey: Princeton University Press, 1996. 501 p.

FEDORKA, K.M.; MOUSSEAU, T.A. Material and genetic benefits of female multiple mating and polyandry. **Animal Behaviour**, London, v. 64, n. 3, p. 361-367, 2002.

GILLOTT, C. Arthropoda: insecta. **Reproductive Biology of Invertebrates**, New York, v. 3, p. 319-471, 1988.

GROMKO, M.H.; NEWPORT, M.E.A.; KORTIER, M.G. Sperm dependence of female receptivity to remating in *Drosophila melanogaster*. **Evolution**, Lancaster, v. 38, p. 1273-1282, 1984.

HSU, M.H.; WU, W.J. Effects of multiple mating on female reproductive output in the Cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 37, n. 6, p. 828-834, 2000.

HURST, G.D.D.; SHARPE, R.G.; BROOMFIELD, A.H.; WALKER, L.E.; MAJERUS, T.M.O.; ZAKHAROV, I.A.; MAJERUS, M.E.N. Sexually transmitted disease in a promiscuous insect, *Adalia bipunctata*. **Ecological Entomology**, Cambridge, v. 20, p. 230-236, 1995.

JONES, T.M.; ELGAR, M.A. The role of male age, sperm age and mating history on fecundity and fertilization success in the hide beetle. **Proceedings of The Royal Society of London. Biological Sciences B**, London, v. 271, n. 1545, p. 1311-1318, 2004.

KAMIMURA, Y. Effects of repeated mating and polyandry on the fecundity, fertility and maternal behaviour of female earwings, *Euborellia plebeja*. **Animal Behaviour**, London, v. 65, n. 1, p. 205-214, 2003.

LEPPLA, N.C.; ASHLEY, T.R.; GUY, R.H.; BUTLER, G.D. Laboratory life history of the velvetbean caterpillar. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, n. 2, p. 217-220, 1987.

MAGRINI, E.A.; SILVEIRA NETO, S.; PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M. Efeito da temperatura sobre a capacidade de postura e longevidade de *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 71, n. 1, p. 93-103, 1996.

MIHSFELDT, L.H.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 769-776, 1999.

NALIM, D.M. **Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais**. 1991. 150 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

OPP, S.B.; PROKOPY, R.J. Variation in laboratory oviposition by *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) in relation to mating status. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 79, p. 705-710, 1986.

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

PEREZ, A.J.; WANG, Q. Male remating behavior and its effect on female reproductive fitness in *Cnephasia jactatana* Walker (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Insect Behavior**, The Hague, v. 17, n. 5, p. 685-694, 2004.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2005. Disponível em :<<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 14 jan. 2005.

RETNAKARAN, A. The mechanism of sperm precedence in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 106, p. 1189-1194, 1974.

ROGERS, C.E.; MARTI, O.G. JR. Reproductive potencial of once-mated moths of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 77, n. 4, p. 402-410, 1994.

_____. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): effects of age at first mating on reproductive potencial. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 70, p. 402-410, 1996.

ROWE, L. The costs of mating and mate choice in water striders. **Animal Behaviour**, London, v. 48, n. 5, p. 1049-1056, 1994.

RUTOWSKI, R.L.; GILCHRIST, G.W.; TERLANIAN, B. Female butterflies mated with recently mated males show reduced reproductive output. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Berlin, v. 20, p. 319-322, 1987.

SETH, R.K.; KAUR, J.J.; RAO, D.K.; REYNOLDS, S.E. Sperm transfer during mating, movement of sperm in the female reproductive tract, and sperm precedence in the common cutworm *Spodoptera litura*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 27, p. 1-14, 2002.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, London, v. 52, n. 34, p. 591-611, 1965.

SILVA, R.F.P. **Aspectos biológicos e nutrição de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em meios natural e artificial e influência da temperatura e fotoperíodo no seu desenvolvimento.** 1981. 130 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1981.

SIMMONS, L.W.; GWYNNE, D.T. Reproductive investment in bushcrickets: the allocation of male and female nutrients to offspring. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B**, London, v. 252, p. 1-5, 1993.

SNOOK, R. R. The risk of sperm competition and the evolution of sperm heteromorphism. **Animal Behaviour**, London, v. 56, p. 1497-1507, 1998.

SVÄRD, L.; McNEIL, J.N. Female benefit, male risk: polyandry in the true armyworm *Pseudaletia unipuncta*. **Journal of Behavioral Ecology and Sociobiology**, Berlin, v. 35, n. 5, p. 319-326, 1994.

THORNHILL, R.; ALCOCK, A. **The evolution of insect mating systems.** Cambridge: Harvard University Press, 1983. 546 p.

TREGENZA, T.; WEDELL, N. Benefits of multiple mates in the cricket *Gryllus bimaculatus*. **Evolution**, Lancaster, v. 52, p. 1726-1730, 1998.

WARD, K.E.; LANDOLT, P.J. Influence of multiple matings on fecundity and longevity of female cabbage looper moths (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 88, n. 6, p. 768-772, 1995.

WATSON, P.J.; ARNQVIST, G.; STALLMAN, R.R. Sexual conflict and the energetic costs of mating and mate choice in water striders. **American Naturalist**, Chicago, v. 151, p. 46-58, 1998.

5 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA FREQUÊNCIA DE CÓPULA DE *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Resumo

Este trabalho trata da influência da temperatura na frequência de cópula de duas espécies, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), que utilizam diferentes estratégias de alocação e utilização de nutrientes para suas atividades reprodutivas. Os insetos foram criados em dieta artificial a 25°C e a influência da temperatura na frequência de cópula, fecundidade, fertilidade e longevidade dos adultos foi verificada, expondo-se os adultos a cinco temperaturas (15, 20, 25, 30 e 35°C). A temperatura afetou a frequência de cópula de ambas as espécies, sendo o seu efeito mais evidente nas temperaturas extremas estudadas (15 e 35°C), principalmente para *A. gemmatalis*, que apresentou redução drástica em sua atividade de cópula. Temperaturas intermediárias (20 a 30°C) foram as que permitiram o maior número de acasalamentos para as espécies em estudo, com *S. frugiperda* apresentando (0-8), atividade de cópula muito superior à de *A. gemmatalis* (0-2). Mesmo com a variação encontrada quanto à atividade de cópula nas diferentes temperaturas, não foi verificada nenhuma correlação entre o número de acasalamentos e os demais parâmetros biológicos observados (fecundidade, fertilidade e longevidade), com exceção da fecundidade de *S. frugiperda* a 25°C, que apresentou correlação positiva com a atividade de cópula das fêmeas mantidas nessa temperatura ($R = 0,589$; $P = 0,003$), indicando que as alterações encontradas na atividade reprodutiva desse inseto foram decorrentes, basicamente da sua resposta à temperatura. As fêmeas de *S. frugiperda* foram mais fecundas nas temperaturas de 20 a 30°C e as fêmeas de *A. gemmatalis* na de 25°C. A longevidade de ambos os sexos decresceu com o aumento da temperatura, para as duas espécies.

Palavras-chave: Temperatura; Frequência de cópula; Reprodução em insetos

MATING FREQUENCY OF *Anticarsia gemmatalis* AND *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AS INFLUENCED BY TEMPERATURE

Abstract

This paper deals with the influence of temperature on the mating frequency of two lepidopteran species, *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) which use different strategies of allocation and utilization of nutrients for their reproductive activities. The insects were reared on artificial diet at 25°C. The adults were exposed to five temperatures (15°, 20°, 25°, 30°, and 35°C) to observe the influence of each temperature on mating frequency, fecundity, fertility and longevity. The temperature did affect mating frequency of both species, being more evident at 15° and 35°C, mainly for *A.gemmatalis* which presented a drastic reduction in its mating activities. The highest numbers of matings were observed from 20° to 30°C with *S.frugiperda* presenting mating activity (0-8) much higher than that presented by *A.gemmatalis* (0-2), but no correlation was observed among the number of matings and the other biological parameters such as fecundity, fertility and longevity. However, *S.frugiperda* at 25°C did present a positive correlation between fecundity and mating activity of females ($R = 0.589$; $P = 0.003$). The highest fecundity values were observed at temperatures from 20° to 30°C for *S.frugiperda* and at 25°C for *A.gemmatalis*. For both species, the longevity of males and females decreased as temperature increased.

Keywords: Temperature; Mating frequency; Insect reproduction

5.1 Introdução

A temperatura é, dentre os fatores abióticos, um dos mais importantes, pois afeta a biologia de insetos, provocando alterações no metabolismo, desenvolvimento e reprodução, principalmente quando estes organismos são expostos a extremos térmicos (CHAPMAN, 1998). Estas alterações são causadas diretamente pela temperatura por serem os insetos organismos pecilotérmicos em que a atividade metabólica está diretamente relacionada com a temperatura, resultando em taxas de crescimento mais elevadas em temperaturas mais altas (TOBA et al., 1973; MOSCARDI; BARFIELD; ALLEN, 1981; MAGRINI et al., 1996; BAVARESCO et al., 2002; PESSOA et al., 2004; BUSATO et al., 2005).

A reprodução dos insetos, por sua vez, é dependente de fatores como comportamento de corte, disputas territoriais por parceiros, frequência de cópulas, entre outros aspectos reprodutivos, além de ser afetada direta ou indiretamente pela temperatura (THORNHILL;

ALCOCK, 1983; WICKMAN, 1985; LARSSON; KUSTVALL, 1990; DELISLE, 1992; RITCHIE et al., 2001; HEDRICK et al., 2002).

A frequência de cópula nos insetos é um dos aspectos reprodutivos que pode ser afetado pela temperatura e influenciar o sucesso reprodutivo visto que além da transferência de espermatozóides, há também a transferência de substâncias adicionais presentes no ejaculado dos machos no momento da cópula cuja função pode ser nutritiva e/ou moduladora, influenciando a fecundidade e fertilidade das fêmeas (BOGGS; GILBERT, 1979; THORNHILL; ALCOCK, 1983; GILLOTT, 1988; CHAPMAN, 1998; ARNGVIST; NILSSON, 2000).

Porém, a fecundidade e a fertilidade podem ser afetadas não somente pela frequência de cópulas (OPP; PROKOPY, 1986), mas também pela idade (DELISLE; BOUCHARD, 1995; ROGERS; MARTI, 1996; SETH et al., 2002) e o tamanho dos adultos (BERGSTROM; WIKLUND; KAITALA, 2002), além da maturação ovariana que por sua vez, pode ou não ser afetada pela temperatura (TAUFER et al., 2000; CREMA; CASTELO BRANCO, 2004) ou fatores nutricionais (JERVIS et al., 2001; JERVIS; BOGGS; FERNS, 2005).

Assim, sabendo que a temperatura afeta o metabolismo dos insetos e, por conseguinte, influencia a reprodução dos mesmos, a presente pesquisa buscou avaliar a influência da temperatura na frequência de cópulas de *Anticarsia gemmatalis* e de *Spodoptera frugiperda*, espécies que apresentam estratégia reprodutiva diferenciada (Milano et al., dados submetidos a publicação) e verificar as alterações causadas na fecundidade, fertilidade e longevidade dos adultos para ambas as espécies em condições de laboratório.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Criação de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

A. gemmatalis e *S. frugiperda* foram criadas em dieta artificial à base de feijão, germe-de-trigo, proteína de soja, caseína e levedura (MIHSFELDT; PARRA, 1999) e mantidas em condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase 14h) até a pupação. As pupas foram separadas por sexo e pesadas 48 h antes da emergência dos adultos, baseando-se na duração da fase pupal de *A. gemmatalis* (10 dias) (SILVA, 1981) e *S. frugiperda* (11 dias) (NALIM, 1991).

5.2.2 Influência da temperatura na frequência de cópula e reprodução

Para minimizar a variação causada pelo efeito do peso na reprodução, os experimentos foram realizados utilizando-se pupas com peso de 240 a 255 mg para fêmeas, e 260 a 285 mg para os machos, de *A. gemmatalis* e de 270 a 295 mg para fêmeas e machos de *S. frugiperda*. Após pesadas, as pupas de *A. gemmatalis* foram colocadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro e 2 cm de altura) forradas com papel filtro umedecido e transferidas para gaiolas de emergência de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) forradas em seu interior com papel do tipo sulfite. Os mesmos procedimentos foram adotados para as pupas de *S. frugiperda*.

Após a emergência, adultos de *A. gemmatalis*, escolhidos ao acaso, foram transferidos em número de 25 casais para as temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C. Os casais foram colocados em gaiola cilíndrica (40 cm de altura e 30 cm de diâmetro) revestida por tecido tipo “tule” (Fig. 5.1A), e transferidos para câmaras climatizadas do tipo BOD nas temperaturas testadas com 60 ± 10 UR e 14h de fotofase. No início da escotofase, das quatro lâmpadas presentes em cada BOD, três foram retiradas, sendo, apenas uma mantida acesa e envolta por uma proteção de papel cartão de cor preta (Fig. 5.1B). Este procedimento foi realizado com a finalidade de se manter, nas câmaras, luminosidade mínima necessária para garantir o acasalamento nessa espécie (MAGRINI, 1993).

Os casais foram mantidos na gaiola de acasalamento (gaiola revestida por “tule”) por 48h, sendo posteriormente individualizados em gaiolas de PVC (20 cm de altura e 10 cm de diâmetro) forradas em seu interior com papel do tipo sulfite, contendo solução aquosa de mel a 10% como alimento (Fig. 5.1C). Os casais individualizados foram mantidos nas mesmas temperaturas em que permaneceram durante o período de acasalamento.

Para *S. frugiperda*, adultos recém-emergidos foram escolhidos ao acaso e 25 casais, por temperatura, foram individualizados em gaiolas de PVC (Fig. 5.1C) forradas em seu interior por papel jornal (PARRA, 1996), contendo apenas água para os adultos.

Figura 5.1 - Influência da temperatura na frequência de cópula de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. A- Gaiola revestida por tecido “tule” utilizada para acasalamento de *A. gemmatalis*; B- Gaiola no interior de uma câmara climatizada (BOD), contendo uma lâmpada envolvida por papel cartão preto, utilizada durante o período de escotofase; C- Gaiola de PVC utilizada para a manutenção dos adultos de ambas as espécies na BOD. ◀ frasco contendo alimento (mel a 10%) ou água; ◀ detalhe da lâmpada envolta por papel cartão; ◀ placa de Petri (10 cm de diâmetro) no interior da gaiola utilizada como suporte para o frasco com alimento/água; ◀ plástico preso por elástico fechando a parte inferior da gaiola; ◀ tecido tipo “tule” fechando a parte superior da gaiola.

O número de cópulas realizado pelas espécies em estudo em cada temperatura avaliada foi determinado pela verificação do número de espermatóforos presentes na bolsa copuladora das fêmeas, após sua morte. Nenhum processo químico foi empregado para a observação dos espermatóforos, pois estes foram facilmente reconhecidos após dissecação das fêmeas utilizando-se microscópio estereoscópico. Foram ainda observadas a fecundidade e fertilidade das fêmeas (determinada pela a viabilidade da segunda postura), longevidade dos adultos, a porcentagem de acasalamento e o número médio de posturas.

Os dados de todos os aspectos biológicos observados para *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Somente os dados de longevidade das fêmeas de *S. frugiperda* foram transformados por $\log(y)$ pelo Método Potência Ótima de Box-Cox (BOX; COX, 1964).

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Influência da temperatura na frequência de cópula e reprodução de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

O número de cópulas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi afetado pela temperatura, sendo reduzido nos extremos térmicos de 15 e 35°C (Tabela 5.1). No entanto, o número de cópulas realizado por ambas as espécies estudadas não apresentou nenhuma correlação com as demais variáveis observadas (fecundidade, fertilidade e longevidade) com exceção da fecundidade de *S. frugiperda* a 25°C a qual, demonstrou estar diretamente correlacionada com a atividade de cópula dessa espécie (Pearson Product Moment Correlation, $P = 0,003$, $R = 0,589$).

Os resultados obtidos concordaram com os dados observados na literatura em relação a influência da temperatura no número de cópulas dos insetos, o qual pode aumentar (COOK, 1994; KINDLE et al., 2006) ou diminuir (FAY; MEATS, 1983) com a elevação térmica. Assim, apesar de não ter havido correlação entre o número de cópulas e os parâmetros biológicos observados, para a espécie *S. frugiperda* observada a 25°C o aumento no número de acasalamentos implicou em aumento da fecundidade, concordando com dados presentes na literatura sobre várias espécies de insetos (ARNGVIST; NILSSON, 2000). Apesar de a temperatura ter sido responsável pelas variações ocorridas, como já mencionado anteriormente, a frequência de cópulas pode influenciar, de forma diferenciada, a fecundidade e a longevidade das fêmeas de ambas as espécies estudadas (MILANO et al., dados submetido a publicação).

Tabela 5.1 - Número de cópulas de *A. gemmatalis* (A) e *S. frugiperda* (B) em cinco temperaturas constantes ($60 \pm 10\%$ UR; 14h fotofase)

Temperatura (°C)	(A) N° de cópulas ¹ (x±EP) (IV)	(B) N° de cópulas ¹ (x±EP) (IV)
15	0,16±0,07 b (0 – 1)	2,04±0,27 bc (0 – 5)
20	1,16±0,09 a (0 – 2)	3,52±0,34 a (0 – 8)
25	1,32±0,11 a (0 – 2)	3,21±0,29 ab (0 – 6)
30	1,52±0,13 a (0 – 2)	2,52±0,37 abc (0 – 7)
35	0,12±0,09 b (0 – 1)	1,32±0,19 c (0 – 4)

¹ Médias ± erro da média seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05) (IV) Intervalo de variação.

As maiores porcentagens de acasalamento, para ambas as espécies, foram verificadas entre as temperaturas de 20 a 30°C. Nesta faixa térmica, os resultados obtidos para *A. gemmatalis* (Fig. 5.2 A), aproximaram-se dos resultados observados por Leppla et al. (1977). As menores porcentagens de acasalamento observadas nas temperaturas de 15 e 35°C ocorreram, provavelmente, devido à influência da temperatura no metabolismo de insetos.

Os adultos de *A. gemmatalis* permaneceram imóveis a maior parte do tempo, quer nas gaiolas de acasalamento, ou nas gaiolas de manutenção de adultos, na temperatura mínima estudada. Na temperatura extrema (35°C), os insetos movimentaram-se pouco e procuraram constantemente pelo alimento mesmo durante o período da escotofase. Provavelmente, este comportamento seja devido à baixa atividade metabólica nas temperaturas inferiores e à desidratação em temperaturas elevadas, uma vez que a reação dos insetos frente a extremos térmicos pode variar entre as espécies, provocando alterações no metabolismo dos mesmos e por consequência, no comportamento e reprodução (CHAPMAN, 1998).

Figura 5.2 - Acasalamento (%) de *A. gemmatalis* (A) e *S. frugiperda* (B) em cinco temperaturas ($60 \pm 10\%$ UR; 14h fotofase)

A frequência de cópulas das espécies estudadas foi maior entre as faixas térmicas de 20 a 30°C (Tabela 5.1) (Fig. 5.3). O número de acasalamentos de *S. frugiperda* nessa faixa térmica coincidiu com os resultados observados por Simmons e Marti (1992) e foi superior, na temperatura de 25°C, aos resultados obtidos por Burton e Perkins (1972) e Nalim (1991) cujo número médio de cópulas observado foi de 2,6 e 2,2 respectivamente.

Figura 5.3 - Frequência (%) observada na atividade de cópula de fêmeas de *A. gemmatalis* (A) e *S. frugiperda* (B) em cinco temperaturas ($60 \pm 10\%$ UR; 14h fotofase) baseando-se no número de espermatozoides presentes na bolsa copuladora. □ 0; ■ 1; ■ 2; ■ 3; ▨ 4; ▩ 5; ▤ 6; ▦ 7 e ▧ 8

A atividade de cópula sofreu redução, em ambas as espécies em estudo, quando observadas nas temperaturas extremas de 15 e 35°C (Tabela 5.1). Assim, sabendo-se que o número de cópulas pode afetar os parâmetros biológicos (fecundidade, fertilidade e longevidade) dos insetos (ARNGVIST; NILSSON, 2000), os dados obtidos nestas temperaturas extremas foram suprimidos das análises estatísticas para a espécie *A. gemmatalis* devido ao número limitado de casais que copularam.

A fecundidade das fêmeas de *A. gemmatalis* não foi afetada pelo número de cópulas nas temperaturas de 20°C ($P = 0,261$, $R = 0,239$); 25°C ($P = 0,660$, $R = 0,094$) e 30°C ($P = 0,382$, $R = 0,191$). O número médio de ovos colocados foi maior a 25°C (Tabela 5.2), concordando com os dados obtidos em observações anteriores disponíveis para essa espécie (MOSCARDI; BARFIELD; ALLEN, 1981; SILVA, 1981; MAGRINI, 1993, 1996).

A espécie *S. frugiperda* também não teve sua fecundidade afetada pelo número de cópulas com exceção das observações realizadas a 25°C, temperatura na qual a fecundidade foi diretamente relacionada ao número de acasalamentos (Fig. 5.4) concordando com os resultados presentes na literatura os quais, demonstram que a fecundidade dos insetos é dependente do número de cópulas, onde na maioria das vezes o aumento do número de acasalamentos implica no aumento da fecundidade (SVÄRD; McNEIL, 1994; COSTA; BORGES; VILELA, 1998; HSU; WU, 2000).

No limite térmico inferior de 15°C observou-se que a fecundidade das fêmeas de *S. frugiperda*, embora inferior quando comparada às temperaturas de 20 a 30°C (Tabela 5.3), foi superior à fecundidade observada por Bowling (1967), Burton e Perkins (1972) e Ferraz (1982) em temperaturas mais elevadas.

No extremo térmico de 35°C, *S. frugiperda* realizou a deposição de ovos o que diferiu das observações realizadas por Ferraz (1982), que não observou oviposição desta espécie nesta temperatura.

Tabela 5.2 - Influência da temperatura no número de ovos, viabilidade da 2ª postura e longevidade dos adultos de *A. gemmatalis* em 5 temperaturas (60±10% UR; 14h fotofase)

Temperatura (°C)	Fecundidade ¹ (ovos/fêmea)	Viabilidade da 2ª postura ¹ (%)	Longevidade ¹ (dias)	
			Fêmeas	Machos
15	*	*	*	*
20	448,46±38,24 b	90,00±1,32 a	16,29±0,67 a	16,29±0,86 a
25	638,33±51,44 a	89,18±4,92 a	13,46±0,64 b	11,96±0,68 b
30	447,17±57,18 b	68,44±7,70 b	11,70±0,62 b	11,65±0,61 b
35	*	*	*	*

¹Médias ± erro da média seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05)

*Dados obtidos nas temperaturas de 15 e 35°C foram insuficientes para serem analisados.

Tabela 5.3 - Influência da temperatura no número de ovos, viabilidade da 2ª postura e longevidade dos adultos de *S. frugiperda* em 5 temperaturas (60±10%UR; 14h fotofase)

Temperatura (°C)	Fecundidade ² (ovos/fêmea)	Viabilidade da 2ª postura ² (%)	Longevidade ² (dias)	
			Fêmeas ¹	Machos
15	761,70±104,42 b	100,00±0,00 a	20,70±3,81 a	19,00±0,72 a
20	1500,08±130,09 a	99,92±0,08 a	13,12±2,59 b	11,83±0,47 b
25	1571,22±148,93 a	99,87±0,09 a	9,13±2,22 c	10,24±0,48 bc
30	1327,08±143,82 a	99,92±0,05 a	7,79±1,10 c	8,70±0,34 c
35	443,00±86,68 b	0,00±0,00 b	6,41±1,18 d	6,32±0,28 d

¹Dados transformados log(y)

²Médias ± erro da média seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05)

Figura 5.4 - Influência da frequência de cópula na fecundidade de *S. frugiperda* em cinco temperaturas ($60 \pm 10\%$ UR; 14h fotofase)

A viabilidade dos ovos de *A. gemmatalis* foi maior a 20 e 25°C (Tabela 5.2), sendo superior aos resultados encontrados por Moscardi (1979) em temperaturas mais elevadas.

Na espécie *S. frugiperda*, a viabilidade dos ovos foi alta entre as faixas térmicas de 15 a 30°C (Tabela 5.3), diferindo dos resultados observados por Busato et al. (2005) quando estudaram dois biótipos de *S. frugiperda* nos extremos térmicos de 18 e 32°C. Ferraz (1982) e Busato et al. (2005) verificaram a maior viabilidade dos ovos para *S. frugiperda* na temperatura de 25°C e os valores observados por estes autores foram superiores aos encontrados por Nalim (1991) e Souza et al. (2001). A temperatura de 35°C foi a mais prejudicial para a espécie onde a porcentagem de ovos viáveis foi nula. As variações ocorridas entre os dados obtidos na presente pesquisa e os resultados conseguidos por outros autores podem estar relacionados a metodologia aplicada na condução dos trabalhos.

A longevidade dos adultos de ambas as espécies decresceu com o aumento da temperatura (Tabelas 5.2 e 5.3), sendo os resultados obtidos para *A. gemmatalis* semelhantes aos observados por Moscardi, Barfield e Allen, (1981) e Magrini et al. (1996) e para *S. frugiperda*, aos observados por Ferraz (1982), Nalim (1991), Busato et al. (2005).

Embora todos os aspectos biológicos observados nesta pesquisa tenham sido influenciados pela temperatura, com exceção da fecundidade para a espécie *S. frugiperda* a 25°C, não foi possível verificar se a frequência de cópulas uma vez influenciada pela temperatura também foi influenciada pela alimentação dos adultos ou não e, quais as consequências disso na reprodução das espécies estudadas. Ou ainda, se a nutrição dos adultos influenciou a maturação ovariana das espécies estudadas e quais as consequências disso em função da influencia da temperatura na reprodução das espécies. Assim, torna-se ainda necessário a elaboração de um bioensaio que possa estabelecer qual o papel de cada fator (nutrição dos adultos, temperatura e frequência de cópulas) na reprodução de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* ainda que aplicados simultaneamente sobre estas espécies.

5.3.2 Ocorrência de “cópulas imperfeitas”

Também foi observada a ocorrência de “cópulas imperfeitas” para *S. frugiperda*, as quais foram definidas pela transferência incompleta do espermatóforo para a fêmea durante o processo de cópula. Este fenômeno ocorreu porque apenas o bulbo do espermatóforo foi introduzido na

fêmea, permanecendo a parte tubular do mesmo presa no aparelho reprodutor do macho, fazendo com que o casal permanecesse em cópula, causando, por consequência, a morte prematura dos mesmos. Isso foi observado em todas as temperaturas testadas, porém a maior percentagem de “cópulas imperfeitas” foi observada na temperatura de 35°C (Fig. 5.5).

Seth et al. (2002) observaram a transferência do espermatóforo e a transferência de esperma durante a cópula de *Spodoptera litura* e verificaram que 30 minutos após a cópula, a parte tubular do espermatóforo ainda estava parcialmente dentro do aparelho genital do macho. A transferência do espermatóforo foi finalizada aos 45 minutos, mas o bulbo do espermatóforo continha apenas metade das secreções, tornando-se completamente cheio, na bolsa copuladora da fêmea, após 60 minutos. Através deste estudo, pode-se hipotetizar que o processo de transferência de espermatóforos em *S. frugiperda* seja semelhante ao de *S. litura*, e que a temperatura afetou a cópula de *S. frugiperda* no momento de transferência do espermatóforo, não permitindo que o macho concluísse a transferência por motivos ainda desconhecidos.

Figura 5.5 - Ocorrência de “cópulas imperfeitas” (%) de *S. frugiperda* em 5 temperaturas (60±10% UR; 14h fotofase)

5.4 Considerações Finais

A temperatura afetou a frequência de cópulas de *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda*, bem como todos os parâmetros biológicos observados. No entanto, para a espécie *S. frugiperda*, a temperatura de 25°C afetou a frequência de cópula, ocorrendo, apenas nessa temperatura, correlação positiva entre a atividade de cópula e a fecundidade.

Referências

- ARNGVIST, R.; NILSSON, T. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. **Animal Behaviour**, London, v. 60, p. 145-164, 2000.
- BAVARESCO, A.; GARCIA, M.S.; GRÜTZMACHER, A.D.; FORESTI, J.; RINGENBERG, R. Biologia e exigências térmicas de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 49-54, 2002.
- BERGSTROM, J.; WIKLUND, C.; KAITALA, A. Natural variation in female mating frequency in a polyandrous butterfly: effects of size and age. **Animal Behaviour**, London, v. 64, p. 49-54, 2002.
- BOGGS, C.L.; GILBERT, L.E. Male contribution to egg production in butterflies: evidence for transfer of nutrients at mating. **Science**, Washington, v. 206, p. 83-84, 1979.
- BOWLING, C.C. Rearing of two lepidopterous pests of rice on a common artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 60, p. 1215-1216, 1967.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An Analysis of Transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.
- BURTON, R.L.; PERKINS, W.D. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 65, p. 385-386, 1972.
- BUSATO, G.R.; GRÜTZMACHER, A.D.; GARCIA, M.S.; GIOLO, F.P.; ZOTTI, M.J.; BANDEIRA, J.M. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações dos biótipos “milho” e “arroz” de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 4, p. 329-335, 2005.
- CHAPMAN, R.F. **The Insects: structure and function**. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770 p.
- COOK, D.F. Influence of temperature on copula duration and mating propensity in *Lucilia cuprina* Wiedemann (Diptera: Calliphoridae). **Journal of the Australian Entomological Society**, Brisbane, v. 33, p. 5-8, 1994.

COSTA, M.L.M.; BORGES, M.; VILELA, E.F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 4, p. 559-568, 1998.

CREMA, A.; CASTELO BRANCO, M. Impacto da temperatura e fotoperíodo no desenvolvimento ovariano e oviposição da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 305-308, 2004.

DELISLE, J. Age related changes in the calling behaviour and the attractiveness of obliquebanded leafroller virgin females, *Choristoneura rosaceana*, under different constant and fluctuating temperature conditions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 63, n. 1, p. 55-62, 1992.

DELISLE, J.; BOUCHARD, A. Male larval nutrition in *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae): an important factor in reproductive success. **Oecologia**, Berlin, v. 104, p. 508-517, 1995.

FAY, H.A.C.; MEATS, A. The influence of age, ambient temperature, thermal history and mating history on mating frequency in males of the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni* (Diptera: Tryptetidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 34, n. 3, p. 273-276, 1983.

FERRAZ, M.C.V.D. **Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de milho**. 1982. 75 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1982.

GILLOTT, C. Arthropoda: Insecta. **Reproductive Biology of Invertebrates**, New York, v. 3, p. 319-471, 1988.

HEDRICK, A.; PEREZ, D.; LICHTI, N.; YEW, J. Temperature preferences of male field crickets (*Gryllus integer*) after their mating calls. **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, Berlin, v. 188, n. 10, p. 799-805, 2002.

HSU, M.H.; WU, W.J. Effects of multiple mating on female reproductive output in the Cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 37, n. 6, p. 828-834, 2000.

JERVIS, M.A.; BOGGS, C.L.; FERNS, P.N. Egg maturation strategy and its associated trade-offs: a synthesis focusing on Lepidoptera. **Ecological Entomology**, London, v. 30, p. 359-375, 2005.

JERVIS, M.A.; HEIMPEL, G.E.; FERNS, P.N.; HARVEY, J.A.; KIDD, N.A.C. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 70, p. 442-458, 2001.

KINDLE, T.K.; JOHNSON, K.M.; IVY, T.M.; WEDDLE, C.B.; SALALUK, S.K. Female mating frequency increases with temperature in two cricket species, *Gryllobates sigillatus* and *Acheta domesticus* (Orthoptera: Gryllidae). **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 84, p. 1345-1350, 2006.

LARSSON, F.K.; KUSTVALL, V. Temperature reverses size-dependent male mating success of a cerambycid beetle. **Functional Ecology**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 85-90, 1990.

LEPPLA, N.C.; ASHLEY, T.R.; GUY, R.H.; BUTLER, G.D. Laboratory life history of the velvetbean caterpillar. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 70, n. 2, p. 217-220, 1977.

MAGRINI, E.A. **Tabela de vida para *Anticarsia gemmatilis* HÜBENER 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de laboratório**. 1993. 77 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1993.

MAGRINI, E.A.; SILVEIRA NETO, S.; PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M. Efeito da temperatura sobre a capacidade de postura e longevidade de *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 71, n. 1, p. 93-103, 1996.

MIHSFELDT, L.H.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 769-776, 1999.

MOSCARDI, F. **Effect of soybean crop phenology on development, leaf consumption, and oviposition of *Anticarsia gemmatilis* Hübner**. 1979. 139 p. Thesis (Ph. D.) - Florida University Gainesville, 1979.

MOSCARDI, F.; BARFIELD, C.S.; ALLEN, G.E. Effects of temperature on adult velvetbean caterpillar oviposition, egg hatch and longevity. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 74, n. 2, p. 167-171, 1981.

NALIM, D.M. **Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais.** 1991. 150 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

OPP, S.B.; PROKOPY, R.J. Variation in laboratory oviposition by *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) in relation to mating status. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 79, p. 705-710, 1986.

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

PESSOA, L.G.A.; LEITE, M.V.; FREITAS, S. DE; GARBIN, G.C. Efeito da variação da temperatura sobre o desenvolvimento embrionário e pós-embrionário de *Ceraeochrysa paraguaria* (Navás) (Neuroptera: Chrysopidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 473-476, 2004.

RITCHIE, M.G.; SAARIKETTU, M.; LIVINGSTONE, S.; HOIKKALA, A. Characterization of female preference functions for *Drosophila montana* courtship song and a test of the temperature coupling hypothesis. **Evolution**, Lancaster, v. 55, n. 4, p. 721-727, 2001.

ROGERS, C.E.; MARTI, O.G. JR. Beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): effects of age at first mating on reproductive potencial. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 70, p. 402-410, 1996.

SETH, R.K.; KAUR, J.J.; RAO, D.K.; REYNOLDS, S.E. Sperm transfer during mating, movement of sperm in the female reproductive tract, and sperm precedence in the common cutworm *Spodoptera litura*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 27, p. 1-14, 2002.

SILVA, R.F.P. **Aspectos biológicos e nutrição de *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em meios natural e artificial e influência da temperatura e fotoperíodo no seu desenvolvimento.** 1981. 130 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1981.

SIMMONS, A.M.; MARTI, O.G. Mating by the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): frequency, duration, and effect of temperature. **Environmental Entomology**, College Park, v. 21, n. 2, p. 371-375, 1992.

SOUZA, A.M.L.; ÁVILA, C.J.; PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera:Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperatura. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 11-17, 2001.

SVÄRD, L.; McNEIL, J.N. Female benefit, male risk: polyandry in the true armyworm *Pseudaletia unipuncta*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Berlin, v. 35, n. 5, p. 319-326, 1994.

TAUFER, M.; NASCIMENTO, J.C. do; CRUZ, I.B.M. da; OLIVEIRA, A.K. de. Efeito da temperatura na maturação ovariana e longevidade de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 639-648, 2000.

THORNHILL, R.; ALCOCK, A. **The evolution of insect mating systems**. Cambridge: Harvard University Press, 1983. 546 p.

TOBA, H.H.; KISHABA, A.N.; PANGALDEN, R.; VAIL, P.V. Temperature and the development of the cabbage looper. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 66, p. 965-974, 1973.

WICKMAN, P.C. The influence of temperature on the territorial and mate locating behaviour of the small heath butterfly, *Coenonympha pamphilus* (L.) (Lepidoptera:Satyridae). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, Berlin, v. 16, n. 3, p. 233-238, 1985.