BIOLOGIA COMPARADA DE *Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857)
(LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) EM DIETAS NATURAIS E ARTIFICIAIS E
EFEITO DE UM VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR NA SUA MORTALIDADE
E NO CONSUMO DA ÁREA FOLIAR DA SOJA.

WILLY RAMÓN CHIARAVALLE VÁZQUEZ

Dissertação apresentada à Escola
Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz", da Universidade de São
Paulo, para obtenção do Título
de Mestre em Ciências Biológi-
cas - Área de Concentração: Ento-
mologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Dezembro - 1988

Chiaravalle Vázquez, Willy Ramón

C532b Biologia comparada de Pseudoplusia includens
(Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas
naturais e artificiais e efeito de um vírus de po
liedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo
da área foliar da soja. Piracicaba, 1988.
164p. *ilus.*

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Lagarta da soja - Biologia 2. Lagarta da so
ja - Controle biológico 3. Lagarta da soja - Dieta
4. Soja - Praga - Controle biológico 5. Vírus ento
mopatogênico I. Escola Superior de Agricultura Luiz
de Queiroz, Piracicaba

CDD 632.78

BIOLOGIA COMPARADA DE *Pseudoplusia includens*
(WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) EM DIETAS NATURAIS
E ARTIFICIAIS E EFEITO DE UM VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR
NA SUA MORTALIDADE E NO CONSUMO DA ÁREA FOLIAR DA SOJA

WILLY RAMÓN CHIARAVALLE VÁZQUEZ

Aprovada em: 19/12/88

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. José Roberto Postalí Parra

ESALQ/USP

Prof. Dr. Evoneo Berti Filho

ESALQ/USP

Dr. Flávio Moscardi

EMBRAPA/CNPSo

Prof. Dr. José Roberto Postalí Parra

- Orientador -

AOS MEUS PAIS

FAUSTINO E OLGA

Agradeço

À CRISTINA E ANA LAURA

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. José Roberto Postalí Parra, Professor Adjunto do Departamento de Entomologia, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), pelos ensinamentos e amizade, assim como, pela criteriosa orientação, estímulo constante e ajuda na condução desta pesquisa.

Ao Dr. Flávio Moscardi, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSo), pela amizade, coorientação, apoio e valiosas sugestões na execução de todas as etapas deste trabalho. A ele agradecemos também, pela nossa iniciação na área de Patologia de Insetos e aos ensinamentos sobre Manejo de Pragas da Soja.

Ao Dr. Sérgio Batista Alves, Professor Adjunto do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pelos ensinamentos em Patologia de Insetos, assim como pelo seu constante apoio, ajuda e amizade durante a condução dos experimentos do trabalho.

À Dirección de Sanidad Vegetal, do Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca do Uruguai, pela liberação para

realizar este curso de Pós-Graduação em Entomologia.

À Organização de Estados Americanos (O.E.A.) pela concessão da bolsa de estudos para realização do referido Curso de Pós-Graduação.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Entomologia, da ESALQ/USP, pela amizade e conhecimentos transmitidos, especialmente aos Drs. Sinval Silveira Neto e Roberto Antonio Zucchi pela colaboração direta em diferentes etapas deste trabalho e ao Dr. Octávio Nakano pela sua compreensão e ajuda.

À Dra. Marinêia de Lara Haddad pela paciência e amizade com que nos auxiliou nas análises estatísticas do trabalho.

À bibliotecária Eliana Maria Garcia Sabino da ESALQ/USP, pela revisão das referências bibliográficas.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, pela concessão do laboratório de Entomologia, materiais e equipamentos para a realização de parte dos experimentos da dissertação, em Londrina, PR.

Às Biólogas Roseli do Carmo Estevam e Ana Lúcia P. Santos es
tagiárias do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, e
Sandra Lucia Bocchi Pollato, do CNPSo/EMBRAPA pela amiza-
de e constante colaboração durante a condução dos experi-
mentos.

Aos colegas José Roberto Salvadori e Rogério de P. Almeida e
a técnica de laboratório Neide G. Maria pela ajuda, amiza-
de e companheirismo com que souberam compartilhar co-
nosco, o espaço e materiais, do laboratório de Biologia
de Insetos da ESALQ/USP.

Aos colegas do Curso de Pós-graduação em Entomologia da
ESALQ/USP, especialmente os amigos Miguel Neira Camaño,
Guillermo Sanchez, Roberto Lecuona, Eliane Dias Quintela,
Carlos Masis Chacon, Bernardo Alleoni, Thora Lilly Aagsen,
Celso Omotto e Luiz Leite, pela amizade e companheirismo
durante o Curso.

À Cristina pelo seu grande sacrifício, maravilhoso compa-
nheirismo, carinho e ajuda, com que me acompanhou nesta
importante etapa de nossas vidas.

INDICE

Página

LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xxii
RESUMO.....	xxvi
SUMMARY.....	xxix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Importância, distribuição geográfica e hospedei- ros de <i>Pseudoplusia includens</i> (Walker, 1857)....	3
2.2. Biologia de <i>P. includens</i>	4
2.2.1. Em meios naturais.....	4
2.2.2. Em meios artificiais.....	7
2.3. Consumo de área foliar por <i>P. includens</i>	12
2.4. Controle natural de <i>P. includens</i>	13
2.5. Entomopatôgenos coletados em <i>P. includens</i>	14
2.5.1. Vírus de poliedrose nuclear (VPN) de <i>P.</i> <i>includens</i>	17
2.5.2 Efeito de entomopatôgenos no consumo de lagartas desfolhadoras.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1. Material biológico da pesquisa.....	24

3.2. Procedimentos gerais de criação.....	25
3.2.1. Preparo das dietas.....	25
3.2.2. Transferência das lagartas para a dieta ("inoculação").....	26
3.2.3. Técnicas de criação.....	26
3.3. Seleção de dietas e biologia de <i>P. includens</i> ...	28
3.3.1. Avaliação preliminar de dietas arti- ficiais comparadas com folhas de soja.....	28
3.3.2. Biologia comparada de <i>P. includens</i> em die- tas artificiais, soja e girassol.....	32
3.3.2.1. Determinação do número de <u>í</u> nsta- res de <i>P. includens</i>	36
3.3.2.2. Oviposição e longevidade de a- dultos de <i>P. includens</i> prove- nientes de três substratos ali- mentares.....	36
3.3.2.3. Determinação do número de cópu- las de <i>P. includens</i>	37
3.3.2.4. Estudo do período de incubação e viabilidade dos ovos de <i>P. <u>i</u>n</i> <u>cludens</u>	38
3.3.3. Análise estatística.....	39

3.4. Utilização de proteína por <i>P. includens</i> em dieta artificial, por quatro gerações sucessivas..	40
3.5. Efeito da posição dos recipientes de criação na viabilidade larval e no peso de pupas criadas em dieta artificial.....	41
3.6. Tabela de vida de fertilidade de <i>P. includens</i> para meio artificial e naturais.....	43
3.7. Determinação da CL ₅₀ , CL ₈₅ e do TL ₅₀ do vírus de poliedrose nuclear para <i>P. includens</i>	44
3.7.1. Purificação do vírus.....	44
3.7.2. Obtenção das lagartas.....	45
3.7.3. Preparação das concentrações do vírus...	45
3.7.4. Infecção das lagartas.....	46
3.7.5. Procedimentos gerais.....	47
3.7.6. Avaliação e análise estatística dos dados.....	48
3.8. Efeito do vírus de poliedrose nuclear no consumo de área foliar de soja por lagartas de <i>P. includens</i>	51
3.8.1. Obtenção do vírus.....	51
3.8.2. Material utilizado.....	51
3.8.3. Infecção das lagartas.....	52

3.8.4. Avaliação dos dados e análise estatística.....	53
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1. Seleção preliminar de dietas e biologia de <i>Pseudoplusia includens</i> (Walker, 1857).....	54
4.2. Biologia comparada de <i>P. includens</i> em dietas artificiais, soja e girassol.....	59
4.2.1. Fase de ovo.....	59
4.2.2. Fase de lagarta.....	62
4.2.3. Fase de pré-pupa.....	75
4.2.4. Fase de pupa.....	77
4.2.5. Duração do ciclo (ovo-adulto).....	83
4.2.6. Fase adulta.....	86
4.2.7. Tabela de vida de fertilidade.....	94
4.2.8. Viabilidade ovo-adulto nos diferentes substratos de alimentação.....	95
4.2.9. Análise de proteína na lagarta, fezes e alimento de <i>P. includens</i>	102
4.2.10. Considerações gerais.....	104
4.3. Determinação da mortalidade, CL_{50} , CL_{85} e TL_{50} para o VPN de <i>P. includens</i>	106

4.3.1. Mortalidade.....	110
4.3.2. Determinação da CL ₅₀ e CL ₈₅	114
4.3.3. Determinação do TL ₅₀	117
4.4. Sintomas.....	118
4.5. Efeito da infecção por VPN no consumo de área foliar de <i>P. includens</i>	121
4.6. Consumo médio diário e tempo de alimentação....	127
4.7. Mortalidade total e diária das lagartas.....	134
4.8. Viabilidade do uso do VPN no controle de <i>P. in-</i> <i>cludens</i>	135
5. CONCLUSÕES.....	138
6. LITERATURA CITADA.....	140

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Composição das dietas artificiais <u>u</u> tilizadas na seleção de dietas para <i>P. includens</i>	30
2	Número de tubos utilizados em cada tratamento, na seleção de dietas ar tificiais para <i>P. includens</i>	31
3	Composição das dietas artificiais <u>u</u> tilizadas na biologia comparada de <i>P. includens</i>	33
4	Número de tubos e total de lagartas utilizados, em cada tratamento no es tudo da biologia comparada de <i>P. in</i> <i>cludens</i> em meios naturais e artifi ciais.....	34
5	Cálculo de suspensões do vírus de poliedrose nuclear de <i>P. includens</i>	

	usadas na determinação da CL ₅₀ e do TL ₅₀	46
6	Parâmetros biológicos de <i>P. includens</i> obtidos em quatro dietas artificiais e em folhas de soja 'IAC-8'. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; fotofase de 14 h.....	57
7	Período de incubação e viabilidade média dos ovos de <i>P. includens</i> , no quarto dia de postura, procedentes de adultos obtidos na dieta artificial de BURTON (1969), folhas de girassol 'Uruguai' e de soja 'IAC-8'. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase: 14 h.....	61
8	Duração média da fase larval de <i>P. includens</i> alimentada com dietas artificiais e naturais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase: 14 h.....	63

Tabela

Página

9	Média e intervalo de variação (IV) da largura da cápsula cefálica, de lagartas de <i>P. includens</i> , nos tratamentos onde encontraram-se cinco e seis ínstaes. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.....	67
10	Média e intervalo de variação (IV) da largura da cápsula cefálica, de lagartas de <i>P. includens</i> , nos tratamentos com cinco ínstaes. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.	68
11	Coeficiente de correlação, constante de Dyar e médias estimadas e observadas da largura da cápsula cefálica do primeiro ínstar de <i>P. includens</i> , determinados a partir do método linear. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e Fotofase: 14	72

12	Duração média dos ínstaes de <i>P. includens</i> alimentadas com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.....	73
13	Duração média da fase de prē-pupa de <i>P. includens</i> quando alimentada com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.	76
14	Duração média da fase pupal de <i>P. includens</i> quando alimentada com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h..	78
15	Peso médio das pupas de <i>P. includens</i> provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e Fotofase: 14 h.....	80

Tabela

Página

16	Peso médio de pupas (σ e φ) de <i>P. includens</i> provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.....	84
17	Duração do período ovo-adulto de <i>P. includens</i> alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.....	85
18	Longevidade média dos adultos de <i>P. includens</i> provenientes de lagartas alimentadas na dieta artificial de BURTON (1969) e folhas de girassol e soja. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.....	87
19	Períodos de pré-oviposição e oviposição das fêmeas de <i>P. includens</i> , provenientes de lagartas alimentadas na dieta artificial de BURTON (1969) e folhas de girassol e soja. Temp.:	

Tabela

Página

	25±20°C; UR: 65 ± 5%; Fotofase de 14 h.....	87
20	Número total de ovos por fêmea de <i>P. includens</i> , provenientes de lagartas alimentadas com dieta artificial e natural. Temp.: 25±20°C; UR: 65±5%; Fotofase: 14 h.....	89
21	Postura média diária de <i>P. includens</i> procedentes de lagartas alimentadas com dietas artificial e naturais. Temp.: 25±20°C; UR: 65 ± 5%; fotofase de 14 h.....	90
22	Número médio de espermatozoides presentes na bolsa copuladora das fêmeas de <i>P. includens</i> procedentes de lagartas alimentadas com dietas artificial e naturais. Temp.: 25 ± 20°C; UR: 65 ± 5%; Fotofase: 14 h.....	91

Tabela

Página

23	Número de machos e fêmeas, razão e proporção sexual de <i>P. includens</i> , quando alimentada com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h.....	92
24	Tabela de vida de fertilidade para <i>P. includens</i> , quando alimentada com a dieta artificial de BURTON (1969). Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase de 14 h.....	97
25	Tabela de vida de fertilidade para <i>P. includens</i> , quando alimentada com folhas de soja 'IAC-8'. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h.....	98
26	Tabela de vida de fertilidade para <i>P. includens</i> , quando alimentada com folhas de girassol 'Uruguai'. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h...	99

Tabela

Página

- 27 Parâmetros de crescimento populacional determinados nas tabelas de vida de fertilidade para *P. includens*, quando alimentada com dietas naturais e artificiais, Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h..... 100
- 28 Viabilidade total (ovo-adulto normal) de *P. includens*, quando criada em meios naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: de 14 h..... 100
- 29 Efeito da posição do recipiente de criação na viabilidade e peso das pupas de *P. includens*, quando alimentadas com dieta artificial de BURTON (1969). Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h..... 101

Tabela

Página

- 30 Médias de porcentagem de proteína nas fezes e lagartas de *P. includens* durante quatro gerações sucessivas, quando alimentadas com dieta artificial de BURTON (1969). Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h.... 103
- 31 Número de lagartas mortas e porcentagens de mortalidade de *P. includens*, quando infectadas com diferentes concentrações do seu VPN nos diferentes instares. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; Fotofase: 14 h..... 109
- 32 Mortalidade corrigida de lagartas de *P. includens*, infectadas com diferentes concentrações do VPN nos cinco instares. Fotofase: 14 h.... 111
- 33 Mortalidade corrigida de lagartas de *P. includens* infectadas com diferentes concentrações do VPN nos cin

	co ínsta-res. Fotofase: 14 h.....	112
34	Valores de CL ₅₀ e CL ₈₅ do VPN de <i>P. includens</i> , quando aplicados nos diferentes ínsta-res de lagarta. Fotofase: 14 h.....	114
35	Tempo letal 50 (TL ₅₀) do VPN de <i>P. includens</i> para lagartas dos diferentes ínsta-res infectadas com diferentes concentrações. Fotofase: 14 h.	119
36	Consumo médio total de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de <i>P. includens</i> , sadias e infectadas pelo seu VPN nos diferentes ínsta-res. Fotofase: 14 h.....	122

Tabela

Página

37	Consumo médio diário e tempo de <u>ali</u> mentação de lagartas de <i>P. inclu-</i> <i>dens</i> , sadias ou infectadas pelo seu VPN nos diferentes <u>ins</u> tares. Foto- fase: 14 h.....	124
38	Mortalidade diária e total das la- gartas de <i>P. includens</i> sadias e in- fectadas pelo VPN nos diferentes <u>ins</u> tares. Fotofase: 14 h.....	136

LISTA DE FIGURAS

Figura

Página

1	Posição dos tubos de dieta paracriação de <i>P. includens</i> . A-) posição inclinada com a dieta para cima; B-) posição inclinada com a dieta para baixo; C-) posição vertical, com a dieta para baixo na grade de arame; D-) disposição dos tubos na prateleira de madeira.....	42
2	Larguras da cápsula cefálica de lagartas de <i>P. includens</i> alimentadas com folhas de soja 'IAC-8' e girassol 'Uruguai'. Temp. : $25 \pm 2^{\circ}$; UR: $60 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.....	69
3	Larguras da cápsula cefálica de lagartas de <i>P. includens</i> alimentadas com dietas artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; fotofase de 14 h.	70

- 4 Peso médio de pupas de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; fotofase de 14 h..... 81
- 5 Peso médio das pupas machos e fêmeas de *P. includens*, provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 20^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h..... 82
- 6 Postura média diária de fêmeas copuladas de *P. includens*, provenientes de lagartas alimentadas com dietas artificial e natural. Temp.: 25°C ; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h..... 93
- 7 Frequências das temperaturas registradas no laboratório de Patologia de Insetos da ESALQ/USP, durante os experimentos com o VPN de *P. includens*..... 107

- 8 Relação entre as concentrações do vírus e as mortalidades nos diferentes instares de *P. includens*, com as respectivas equações obtidas da análise de probites..... 116
- 9 Consumo médio total de área foliar de soja 'Paraná' e porcentagem de redução do consumo, por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas com seu VPN, nos diferentes instares. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; fotofase de 14 h... 125
- 10 Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no primeiro instar larval. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h..... 128
- 11 Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo

Figura

Página

seu VPN no segundo ínstar larval.
Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h..

129

- 12 Consumo médio de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no terceiro ínstar larval. Temp: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; Fotofase: 14 h

130

- 13 Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no quarto ínstar larval. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h..

131

- 14 Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no quinto ínstar larval. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.....

132

BIOLOGIA COMPARADA DE *Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857)
(LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) EM DIETAS NATURAIS E ARTIFICIAIS E
EFEITO DE UM VÍRUS DE POLIEDROSE NUCLEAR NA SUA MORTALIDADE
E NO CONSUMO DA ÁREA FOLIAR DA SOJA.

Autor: Willy Ramón Chiaravalle Vázquez

Orientador: José Roberto Postalí Parra

RESUMO

Com o objetivo de desenvolver uma dieta artificial que permita a criação contínua de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e de avaliar a potencialidade do uso de um *Baculovirus* no controle desta lagarta, desenvolveu-se a presente pesquisa. Os estudos foram conduzidos em condições de laboratório mantido a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com uma umidade relativa de $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

Foram comparadas oito dietas artificiais e dois alimentos naturais (folhas de soja 'IAC-8' e de girasol 'Uruguai'), avaliando-se os diferentes parâmetros biológicos e elaborando-se tabelas de vida de fertilidade para as dietas mais promissoras. O desempenho do inseto ao longo das gerações foi estudado com base em sua capacidade de conver-

são protéica.

O efeito do *Baculovirus* foi determinado nos cinco instares larvais do inseto, nas concentrações de 3, 9, 27, 81 e 243 poliedros/mm² de superfície de dieta artificial, avaliando-se o seu efeito na mortalidade e no consumo de área foliar quando infectada nos diferentes instares. Foram determinados a CL₅₀ e o TL₅₀ para estas concentrações estudadas. Os resultados obtidos permitem concluir que as dietas artificiais à base de feijão, levedura e germe de trigo ou à base destes componentes mais caseína e farinha de soja (além de solução vitamínica) podem substituir as dietas naturais para criação massal de *P. includens*, pois não afetaram a longevidade, capacidade e ritmo de postura, número de cópulas, período de incubação e razão sexual deste inseto em relação aos alimentos naturais. Apesar de terem proporcionado maior duração da fase larval em relação às folhas de girassol e soja, promoveram um maior peso de pupas, maior viabilidade total e um menor número de instares de *P. includens* em relação à soja. A dieta artificial à base de feijão, levedura e germe de trigo, permitiu a criação da falsa medideira por gerações sucessivas, com uma taxa líquida de reprodução superior às dietas naturais, além de ser uma dieta de baixo custo e fácil preparo.

As viabilidades totais obtidas nas dietas artificiais podem ser melhoradas com ajustes no preparo da die

ta e com a manutenção dos recipientes de criação numa posição adequada durante o desenvolvimento larval deste noctuideo.

O vírus de poliedrose nuclear (VPN) é eficiente, em laboratório, no controle de *P. includens*. A CL_{50} aumenta com o passar dos instares, e o TL_{50} aumenta com o passar dos instares para cada concentração do vírus e diminui, para cada instar, com o aumento da concentração.

Este vírus tem condições de ser incorporado em programas de Manejo de Pragas da soja, desde que aplicado em lagartas de *P. includens* que se encontrem, no máximo, no 3º instar.

COMPARED BIOLOGY OF *Pseudoplusia includens* (WALKER, 1857) (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) ON NATURAL AND ARTIFICIAL DIETS AND THE EFFECT OF A NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS ON ITS MORTALITY AND ON THE CONSUMPTION OF SOYBEAN LEAF AREA.

Author: Willy Ramón Chiaravalle Vázquez

Adviser: José Roberto Postalí Parra

SUMMARY

The objective of this study was to develop an artificial diet which would permit the continuous rearing of *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) as well as to assess the potentiality of the use of a *Baculovirus* for controlling such a larva. The studies were carried out under laboratory conditions maintained at $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, relative humidity of $65 \pm 5\%$, and photophase of 14 hours.

Eight artificial diets and two natural foods ('IAC-8' soybean and 'Uruguai' sunflower leaves) were compared, the different biological parameters were evaluated, and fecundity life tables were prepared for the most promising diets. The performance of the insect along generations was studied on the basis of its protein conversion capacity.

The *Baculovirus* effect was determined in the

five larval instars of the insect at concentrations of 3, 9, 27, 81, and 243 polyhedrons/mm² of artificial diet surface, and its effect on the mortality and consumption of leaf area when infected in the different instars was evaluated. The LC₅₀ and LT₅₀ were determined for the concentrations studied. The results obtained allow stating that artificial diets based on beans, yeast and wheat germ, or based on these components plus casein and soybean meal (besides a vitamin solution) may replace natural diets for mass rearing of *P. includens*, as these diets did not affect the longevity, egg laying capacity and rate, number of copulations, incubation period and sexual ratio of this insect, when compared with natural foods. In spite of having provided a greater duration of the larval phase as compared with sunflower and soybean leaves, they promoted a greater pupa weight, higher total viability, and a lower number of *P. includens* instars, as compared with soybeans. The bean, yeast and wheat germ artificial diet permitted the soybean looper rearing for successive generations, with a net reproduction rate superior to the natural diets, besides being a low cost and easy preparation diet.

The total viabilities obtained on the artificial diets may be improved with adjustments in the preparation of the diet and by maintaining the rearing containers in an adequate position during the larval development of this noctuid.

The nuclear polyhedrosis virus (NPV) is efficient for *P. includens* control under laboratory conditions. The LC_{50} increases through the instars, and the LT_{50} increases through the instars for each concentration of the virus and decreases, for each instar, with the increase in concentration.

This virus may be incorporated into soybean pest management programs provided it is applied on *P. includens* larvae which are in the 3rd instar, at the maximum.

1. INTRODUÇÃO

A subfamília Plusiinae compreende espécies que são importantes pragas agrícolas, como a lagarta falsa medeira, *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857), um dos importantes desfolhadores da soja (HERZOG, 1980). De ampla distribuição geográfica, esta espécie é polífaga, sendo referida nos países produtores de soja do Cone Sul, como um dos componentes constantes do complexo de desfolhadores desta cultura embora, na maioria dos casos, seja menos importante do que a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818. Segundo HERZOG (1980), NAKANO *et alii* (1981) e GAZZONI *et alii* (1981), esta posição secundária é devida à ação de parasitoides, predadores e patógenos, que a mantêm em baixos níveis populacionais.

Em função do significativo complexo de inimigos naturais desta praga, a utilização de pesticidas de amplo espectro, comuns na cultura de soja, poderá acarretar desequilíbrios e fazer com que *P. includens*, assuma, em determinados anos e locais, a posição de praga primária (HERZOG, 1980).

No Brasil, tem aumentado, de ano para ano, a área agrícola que realiza o controle de *A. gemmatalis*, a-

través do vírus de poliedrose nuclear, *Baculovirus antiscarsia*. Entretanto, devido a grande especificidade deste vírus, *P. includens* não é afetada pelo mesmo (MOSCARDI, 1983) e assim, não sofrendo a competição da lagarta-da-soja (KING, 1983) tem condições de aumentar suas populações podendo exigir medidas de controle. Embora este efeito possa ser compensado pelo aumento de mortalidade desta lagarta por agentes naturais de controle, que são preservados na área com o uso do *B. antiscarsia*, faz-se necessário o desenvolvimento de uma técnica de controle que seja compatível com o complexo de parasitoides, predadores e patógenos, que ocorrem naturalmente e com o programa de controle de *A. gemmatilis* através de *B. antiscarsia*. Dentre estes agentes naturais, a utilização de patógenos para o controle da falsa-medideira parece então ser uma alternativa desejável, embora ainda não pesquisada no Brasil.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo, fornecer subsídios à produção de um vírus a ser utilizado no controle de *P. includens*. Para tal, foi pesquisada a biologia e definida uma dieta artificial, para a criação massal do inseto por gerações sucessivas, aspecto este, essencial para a produção do patógeno. Paralelamente, foi avaliado, em condições de laboratório, o efeito de um *Baculovirus*, isolado de *P. includens*, na sua mortalidade e no consumo de área foliar de soja, quando a lagarta foi infectada nos diferentes instares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância, distribuição geográfica e hospedeiros de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857).

Das lagartas que atacam a soja, *P. includens* é o Plusiinae mais abundante, sendo sua distribuição restrita ao hemisfério ocidental, ocorrendo desde o norte dos EUA, até o sul da América do Sul (HENSLEY *et alii*, 1964; CANERDAY & ARANT, 1966; EICHLIN, 1975; EICHLIN & CUNNINGHAM, 1978; ANGULO, 1978 e ALFORD & HAMMOND, 1982).

A sua importância é ressaltada pelo grande número de hospedeiros, sendo a revisão mais completa sobre o assunto feita por HERZOG (1980), que relacionou 73 espécies de plantas hospedeiras, pertencentes a 29 diferentes famílias. Esta diversidade, compreende culturas como soja, algodão, feijão, fumo, girassol; hortaliças como alface, tomate, couve; plantas não cultivadas como *Senecio* e *Sonchus* e flores como crisântemo, gerânio, etc. EDELSON & HYCHE (1980) acrescentaram a esta relação, diversas espécies de essências florestais, atacadas nas sementeiras após a colheita de soja e algodão.

A despeito deste grande número de hospedeiros, a falsa-medideira é referida nos EUA como praga chave da soja, pois seus danos podem atingir níveis que exigem medidas

de controle (MITCHEL, 1967; REID & GREENE, 1973; JENSEN *et alii*, 1974; NEWMAN & CARNER, 1974; SPRENKEL *et alii*, 1979; SHOUR & SPARKS, 1981; Mc CUTCHEON & TURNIPSEED, 1981; BROWN & GOYER, 1982; MASON & MACK, 1984; SMITH, 1985 e KOGAN & TURNIPSEED, 1987). Esta espécie apresentou preferência pela soja em relação a 17 culturas diferentes estudadas por MARTIN *et alii* (1976) e a sua melhor adaptação à soja em relação a outros Plusiinae, como *Autographa precationis* (Guenée, 1852), foi demonstrada por KHALSA *et alii* (1979).

No Brasil, especialmente em algumas regiões de soja, esta praga, juntamente com a lagarta-da-soja, pode atingir níveis populacionais que justifiquem medidas de controle químico (KOGAN *et alii*, 1977; CORRÊA, 1979; GAZZONI *et alii*, 1981 e KOGAN e TURNIPSEED, 1987).

2.2. Biologia de *P. includens*

2.2.1. Em meios naturais

P. includens é um inseto que se alimenta de folhas localizadas no terço inferior da planta. As lagartas, nos primeiros instares, selecionam as folhas mais tenras, se alimentando daquelas com pequena quantidade de fibra (KOGAN e COPE, 1974), tornando-se menos exigentes à medida que vão

se desenvolvendo, quando passam a alimentar-se de folhas com pletamente desenvolvidas e, portanto, mais fibrosas. Até o terceiro ínstar as lagartas deixam intactas regiões da epiderme; entretanto, a partir do quarto ínstar, consomem grandes áreas, mantendo porém, intactas as nervuras principais, o que confere um aspecto rendado característico às folhas atacadas (HERZOG, 1980).

O primeiro trabalho de biologia de *P. includens* foi realizado por MITCHEL (1967) na Geórgia, EUA, em condições de campo e laboratório. Na pesquisa de campo, cujas temperaturas variaram entre 12,8 e 35,0°C, as lagartas foram alimentadas com folhas de soja e algodoeiro. Na soja, o período de desenvolvimento lagarta-adulto foi de 26,58 dias e em folhas de algodoeiro de 31,7 dias. A maior duração em folhas de algodoeiro foi atribuída à presença de gossipol nas folhas desta malvacea.

No Peru, COMBE e PEREZ (1978) estudaram a biologia de *P. includens*, em folhas de couve. Em condições de laboratório a 23°C e 75% de UR, as durações dos períodos de incubação, lagarta, pré-pupa, pupa e ciclo total (ovo-adulto), foram respectivamente de 3; 17,3; 1,59; 11,71 e 33,62 dias. As lagartas apresentaram cinco ínstaes, com uma largura média da cápsula cefálica de 0,28; 0,48; 0,76; 1,16 e 1,98mm respectivamente. As fêmeas copuladas, foram mais longevas (14,29 dias) do que as não copuladas (6,06 dias), vivendo também mais do que os machos (13,86 dias). O número médio

de ovos por fêmea foi de 543, colocados em 7,33 dias de oviposição. O período de pré-oviposição foi de 3,82 dias e o pico máximo de postura ocorreu no nono dia de oviposição. A proporção sexual foi de 1♂ : 1,5♀.

O tempo de desenvolvimento, peso das pupas e consumo de área foliar de soja desta espécie, foram estudados na Flórida, EUA, por REID e GREENE (1973), em laboratório mantido a 29°C e 14 h de fotofase, utilizando a cultivar Bragg como fonte de alimentação. A duração da fase larval foi de 13,74 dias, com um total de seis instares larvais. O peso das pupas com 24 h de idade, foi de 193,4 mg, similar ao obtido quando os insetos foram criados em dieta artificial (183,3 mg), porém, ambos menores do que aquele obtido quando as pupas eram coletadas no campo (214 mg).

Por outro lado, JENSEN *et alii* (1974) observaram, em trabalho realizado na Louisiana, EUA, que o peso das pupas de *P. includens*, resultantes de lagartas alimentadas com folhas de soja, foi menor (176 mg) do que quando alimentadas com dieta artificial (245 mg). Estes autores observaram, para os insetos alimentados com soja uma média de 1,4 espermatóforos por fêmea, com uma variação de zero a quatro e com um total de 623 ovos por fêmea.

Diversos autores estudando o consumo, parasitismo e efeito de genótipos resistentes de soja à desfolha por *P. includens*, relataram parâmetros biológicos, bastante

variáveis, embora todos tenham utilizado folhas de soja como alimento em condições de laboratório. Estas variações são naturais, pois as condições de laboratório variaram, os genótipos estudados foram diferentes, as linhagens de insetos foram variáveis, entre outros fatores. Assim, o período larval variou de 10,7 a 21,2 dias; o peso das pupas de 171 a 247mg; a mortalidade larval variou de 10 até 50% e a duração da pupa oscilou entre 6,8 e 8,9 dias. O número de instares variou entre cinco e seis, sendo registrado um sétimo instar, no caso de lagartas parasitadas (SMITH e GILMAN, 1981; SMITH, 1985; LAMBERT e KILEN, 1984; REYNOLDS *et alii*, 1984; BEACH, *et alii*, 1985 e ORR e BOETHEL, 1985).

2.2.2. Em meios artificiais

O progresso nas pesquisas entomológicas e o sucesso dos programas de manejo de pragas, dependem em grande parte da habilidade em se criarem insetos e se estabelecerem colônias em condições artificiais. Em última análise este sucesso depende da qualidade e performance dos insetos criados (SINGH e MOORE, 1985). Assim, existem vários laboratórios no mundo dedicando-se à criação de insetos para fornecer subsídios aos diferentes métodos de controle e que seriam integrados em programas de manejo. Estes insetos, in-

cluindo os Plusiinae são mantidos em dietas artificiais (Mc EWEN e HERVEY, 1960; IGNOFFO, 1963; SHOREY e HALE, 1965 e VAIL *et alii*, 1973).

Da literatura consultada, 34 trabalhos mencionam dietas artificiais para a criação de *P. includens*. Destas, 47% correspondem à dieta desenvolvida por SHOREY (1963) modificada por SHOREY e HALE (1965) e por BURTON (1969), dieta esta à base de feijão, germe de trigo e levedura de cerveja; 23% das citações referem-se à dieta de GREENE *et alii* (1976), que utiliza como fontes protéicas proteína de soja, feijão, germe de trigo, caseína e levedura de cerveja. Esta dieta é utilizada pelo Centro Nacional de Pesquisa de Soja no Brasil (CNPSo - EMBRAPA) para a criação massal de *A. gemmatilis* e *P. includens*, com uma série de adaptações de recipientes e ingredientes para as condições brasileiras, (HOFFMANN-CAMPO *et alii*, 1985).

Mc MORRAN (1965) descreveu uma dieta à base de germe de trigo e caseína para a criação de *Choristoneura fumiferana* (Clemens) a qual foi utilizada posteriormente por GRISDALE (1973), para a criação de diversos lepidópteros, entre eles *P. includens*, possibilitando a manutenção do inseto por gerações sucessivas.

Uma dieta à base de farinha de alfafa, caseína e germe de trigo, foi desenvolvida por IGNOFFO (1963), para *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802), a qual foi modificada

posteriormente por HENNEBERRY e KISHABA (1966) e usada por vários autores para a criação de *P. includens*.

Baseando-se na metodologia desenvolvida por SHOREY e HALE (1965), e usando a mesma dieta artificial, CANERDAY e ARANT (1966), no Alabama, EUA, estudaram a biologia de *T. ni*, *P. includens* e *Rachiplusia* ou (Guenée, 1852), em laboratório mantido a 26°C e 50% de UR. *P. includens* apresentou, nesta dieta, seis instares larvais, com uma duração das fases de ovo, lagarta, pupa, período de pré-oviposição, oviposição e longevidade dos adultos de 2,7; 13,4; 7,0; 3,1; 6,0 e 11,5 dias, respectivamente. As pupas, com 24 h, pesaram 265mg e foi observada a presença de duas manchas amarelas na parte dorsal do quinto segmento abdominal das lagartas, correspondentes aos rudimentos testiculares, as quais permitiram separar o sexo dos insetos a partir do terceiro instar. Esta mesma característica fora observada por Mc EWEN e HERVEY (1960) e SHOREY *et alii* (1962) em *T. ni*.

MITCHEL (1967) estudou a biologia de *P. includens*, em condições de laboratório, na mesma dieta artificial utilizada por CANERDAY e ARANT (1966). Os resultados, em geral, coincidiram com os encontrados por estes autores, registrando-se porém um menor período de oviposição. O número total de ovos por fêmea atingiu 640; em média, com uma viabilidade dos ovos de 85,6%. As fêmeas que não copularam colocaram um número significativamente menor de ovos, do que as copuladas. As

larguras das cápsulas cefálicas foram 0,25; 0,39; 0,60; 0,96; 1,45 e 2,18mm para os seis instares observados. O peso das pupas foi semelhante para ambos os sexos, e a proporção sexual de 1♂ : 0,96♀.

Em trabalho realizado na Louisiana, EUA, SHOUR e SPARKS (1981) estudaram a biologia em laboratório mantido a 27°C e 40% de UR, e caracterizaram o último instar larval de *P. includens*, usando a dieta descrita por BURTON (1969). Os resultados biológicos obtidos foram semelhantes aos de outros autores, registrando, porém, 5, 6 (predominantemente) ou 7 instares e em função desta variação, a fase larval apresentou 15,4; 16,8 e 20,7 dias, respectivamente. A separação dos sexos foi feita através das manchas testiculares das lagartas, sendo que o peso das pupas "machos" (268mg) foi maior que o das "fêmeas" (251mg). Estes autores fizeram detalhada descrição da ecdise e pupação, relatando inclusive que a emergência se dá durante o dia, em contraposição à da maioria dos Plusiinae que ocorre à noite.

A influência da temperatura na oviposição e longevidade das fêmeas de *P. includens* foi estudada por MASON e MACK (1984), usando a dieta de GREENE *et alii* (1976). O trabalho, conduzido em Alabama, EUA, demonstrou a existência de uma correlação linear inversa, entre a temperatura e a longevidade dos adultos, enquanto a fecundidade aumentou com a temperatura. Assim, este parâmetro afetou não somente

a longevidade das fêmeas, como também a taxa de oogênese.

Tentando explicar o fato de que surtos de *P. includens* são maiores em agroecossistemas onde a soja e o algodoeiro estão próximos, JENSEN *et alii* (1974), na Louisiana, EUA, estudaram o efeito da nutrição dos adultos na oviposição, frequência de cópulas e longevidade. Adultos provenientes de lagartas criadas na dieta de BURTON (1969) receberam diferentes fontes de alimentação. A longevidade, oviposição e frequência de cópulas aumentaram quando era fornecido o nêctar das flores de algodoeiro como alimento. Este fato pode explicar o maior índice populacional de *P. includens* na soja quando existem áreas de algodão nas proximidades.

PARRA e KOGAN (1981) forneceram também dados de parâmetros biológicos em estudos realizados em Illinois, EUA, comparando diferentes métodos para avaliar consumo e utilização do alimento por *P. includens*. Utilizando a dieta artificial de HENNEBERRY e KISHABA (1966), a duração do período larval variou de 12,6 a 15,7 dias, sendo o peso das pupas "machos" maior que o das "fêmeas", e o ciclo total ovo-adulto variável de 19,7 a 24,8 dias.

2.3. Consumo de área foliar por *P. includens*

A quantificação da capacidade de dano de um inseto é um dos primeiros passos na determinação do seu nível de dano econômico, sendo, no caso dos desfolhadores, determinada através da capacidade de consumo de área foliar.

REID e GREENE (1973) avaliaram, na cultivar 'Bragg', o consumo de área foliar dos diferentes instares de *P. includens*. Do primeiro ao sexto instar foram consumidos, respectivamente 0,25; 0,83; 1,77; 7,93; 15,50 e 55,75cm², totalizando um consumo de 82,03cm² durante toda a fase larval. Deste total, 97% foi consumido nos três últimos instares. Estes autores observaram que as lagartas agrupadas consomem menos do que as lagartas mantidas isoladamente.

Em trabalho similar também conduzido em Illinois; EUA, KOGAN e COPE (1974) determinaram o consumo total de *P. includens*, encontrando valores mais altos (206,71cm²), mas constatando também que o quinto e o sexto instares, foram responsáveis por 91% do consumo total. BOLDT *et alii* (1975), em Columbia, EUA, encontraram um consumo de 114cm² de folhas de soja para esta espécie.

BEACH *et alii* (1985) e ORR e BOETHEL (1985) estudando o efeito de genótipos resistentes sobre *P. includens*, encontraram nas lagartas testemunhas, alimentadas com cultivares susceptíveis, consumos de 69,4 e 130,1cm² de área

foliar por lagarta, respectivamente. Os resultados obtidos mostram variações bastante grandes de autor para autor, em função das condições de estudo.

2.4. Controle natural de *P. includens*

Embora em determinados locais e condições, *P. includens* possa, juntamente com *A. gemmatalis*, exigir medidas de controle, de um modo geral permanece em níveis populacionais abaixo do nível de dano econômico para a cultura da soja (HERZOG, 1980). Este fato tem explicação nos agentes que naturalmente suprimem estas populações (predadores, parasitoides e patógenos). Assim, o controle natural das lagartas desfolhadoras de soja é muito importante, sendo abundantes as referências sobre o assunto (HARDING, 1976; KOGAN *et alii*, 1977; CORRÊA, 1979; RICHMAN *et alii*, 1980; SALVADORI e GOMEZ, 1981; PRADO *et alii*, 1981; BROWN e GOYER, 1982 e REED *et alii*, 1984).

SHEPARD *et alii* (1977) demonstraram que o tratamento da soja com inseticidas de amplo espectro provocou ressurgência nas populações de *P. includens*, *A. gemmatalis* e outros lepidópteros desfolhadores. Os autores atribuíram este fato à redução dos agentes bióticos de controle natural, tanto predadores como fungos entomopatogênicos, pela

ação de produtos químicos. Afirmações similares foram feitas por BURLEIGH (1972); HERZOG (1980) e KOGAN (1981).

Com a filosofia de minimizar o impacto das medidas de controle sobre estes agentes de mortalidade natural, foi desenvolvido pelo CNPSO/EMBRAPA, o Programa de controle da lagarta-da-soja (*A. gemmatilis*) com um vírus de poliedrose nuclear, *Baculovirus anticarsia*. MOSCARDI (1983 e 1986); MOSCARDI e CORRÊA-FERREIRA (1985) e ZONTA (1987), apresentaram detalhes deste programa. Porém, este vírus é referido como ineficiente para *P. includens*, nas dosagens atualmente utilizadas a nível de campo. Mesmo em laboratório, são necessárias altas concentrações do vírus para se obter a morte desta espécie (CARNER *et alii*, 1979; PAVAN e BOUCIAS, 1981 e MOSCARDI e CORRÊA-FERREIRA, 1985). Daí a necessidade de se buscar um método alternativo ao controle químico de *P. includens*, compatível tanto com os agentes naturais de controle, como com o programa do vírus da lagarta-da-soja desenvolvido pelo CNPSO-EMBRAPA.

2.5. Entomopatógenos coletados em *P. includens*

Uma das bases do Manejo de Pragas é a exploração dos fatores bióticos de mortalidade, para manter as populações das espécies pragas a níveis toleráveis. Assim, a

utilização de microrganismos no controle de insetos tem tido um grande impulso nos últimos 20 anos, mostrando-se como importante alternativa ao controle químico.

Dois fatos têm contribuído grandemente para esse avanço. Em primeiro lugar, as vantagens do uso de inseticidas microbianos e, em segundo, o desenvolvimento de técnicas de produção para estes microrganismos "in vitro" (bactérias e fungos), bem como dos insetos hospedeiros em dietas artificiais, para sobre eles multiplicar os patógenos, principalmente no caso dos vírus.

A falsa-medideira-da-soja (*P. includens*), é freqüentemente citada na literatura estrangeira como sendo altamente susceptível a fungos entomopatogênicos. Os fungos mais comumente encontrados parasitando esta espécie em condições de campo são: *Entomophthora gammae* (Weiser), citado como o principal fator de mortalidade natural desta lagarta (NEWMAN e CARNER, 1974; 1975a e 1975b; LIVINGSTON *et alii*, 1978 e HARPER *et alii*, 1984) e *Nomuraea riley* (Farlow) Samson (BURLEIGH, 1972; SHEPARD *et alii*, 1977; SPRENKEL *et alii*, 1979; HORTON *et alii*, 1980; Mc CUTCHEON e TURNIPSEED, 1981; BOUCIAS *et alii*, 1984 e FUXA, 1984). Também o fungo *Massospora* spp. foi relatado como eficiente patógeno de *P. includens* por BURLEIGH (1972).

No Brasil, em diversos trabalhos de levantamento de pragas e inimigos naturais, e da dinâmica populacio

nal das pragas da soja, são mencionados os fungos *N. rileyi* e *Entomophthora* spp. provocando epizootias em lagartas de *A. gemmatilis* e *P. includens* (HOFFMANN *et alii*, 1979; CORRÊA, 1979; PANIZZI *et alii*, 1979 e PRADO *et alii*, 1981). Em levantamento dos entomopatôgenos de lepidópteros que atacam a cultura da soja, MOSCARDI *et alii* (1984) citaram os fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *N. rileyi*, *E. gammae*, *Erynia radicans* (Brefeld) Humber e um microsporídeo do gênero *Nosema*, infectando *P. includens*.

Na Colômbia, AGUDELO e FALCON (1977) citaram *N. rileyi* e *Entomophthora* sp. atacando *P. includens* em cultura de algodão.

FUXA (1981) na Louisiana, EUA, encontrou em condições de laboratório, alta mortalidade de *P. includens* e outros lepidópteros, causada pelo microsporídeo *Vairimorpha necatrix* (Kramer).

A eficiência do *Bacillus thuringiensis* Berliner, para o controle de *P. includens*, foi confirmada por IGNOFFO *et alii* (1977) em condições de laboratório e por HUTCHINS e PITRE (1984) no campo.

2.5.1. Vírus de poliedrose nuclear (VPN) de *P. includens*

Segundo SMITH (1967) e ALVES (1986) os vírus são candidatos promissores como inseticidas biológicos e em particular os *Baculovirus*, são os mais interessantes, por serem altamente específicos aos invertebrados e apresentarem boa estabilidade e eficiência, quando aplicados no campo para controle de pragas.

Embora uma alta incidência de patógenos (fundamentalmente fungos) tenha sido amplamente citada na literatura sobre *P. includens*, somente no ano de 1972 foi isolado um vírus desta lagarta. O material procedente de uma cultura de algodão da Guatemala, foi estudado por LIVINGSTON e YEARIAN (1972), num trabalho conduzido na Universidade de Arkansas, EUA. O vírus foi descrito como de poliedrose nuclear (*Baculovirus*), tendo um nucleocapsídeo envolvido por envelope (SEV) e os vírions inclusos ao acaso na matriz proteica. A histopatologia e sintomatologia apresentadas por lagartas de *P. includens* quando infectadas foi similar aos de outros lepidópteros afetados por VPN.

HALL (1957) e LEWIS *et alii* (1977) descreveram detalhadamente os sintomas apresentados por dois *Plusiinae*, quando infectados por VPN. As lagartas entre o terceiro e o quinto dias após a infecção, reduzem sua alimentação e

são menos ativas, sofrendo descoloração, adquirindo uma coloração branca, devido a presença de vírus nos corpos gordurosos que são visíveis por transparência do tegumento. Pouco antes da morte as lagartas cessam a alimentação e o seu tegumento fica brilhante. Embora muitas morram em posição normal, geralmente ficam penduradas ao substrato pelas falsas pernas; se perfurados os cadáveres liberam um fluido leitoso. Após a morte, o corpo, ainda intacto e contendo fluidos, escurece gradualmente até atingir coloração preta; nesta fase, rompe-se facilmente, liberando grande quantidade de poliedros ficando finalmente o tegumento seco e preto.

A especificidade do VPN de *P. includens* e outros *Plusiinae* foi estudada na Alabama, EUA, por HARPER (1976), infectando, de forma cruzada, oito espécies com seus VPN. As lagartas somente foram afetadas quando inoculadas com o seu próprio vírus, ou com grandes concentrações de alguns dos outros [$2,5 \times 10^4$ corpos poliédricos de inclusão (CPI)/mm² de dieta artificial], o qual confirma a grande especificidade dos *Baculovirus*. Esta afirmação, é, também suportada pelos resultados de IGNOFFO e GARCIA (1979), os quais necessitaram concentrações de 7263 CPI/mm² de dieta artificial, do VPN de *P. includens* para obter 50% de mortalidade de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1776), demonstrando a baixa atividade do vírus sobre a lagarta rosca.

YOUNG e YEARIAN (1979) visando avaliar o efeito de aplicações no solo, na persistência e infecção do VPN

de *P. includens*, em Arkansas, EUA, determinaram as DL_{50} para lagartas do primeiro ínstar. Quando o vírus era proveniente do laboratório a DL_{50} foi de 1,42 CPI/mm² de dieta artificial, e quando era proveniente do solo, era de 2,13 CPI/mm². Os autores concluíram que, o VPN permanece no solo, sendo capaz de iniciar epizootias no ano seguinte; porém a sua persistência é menor que a encontrada para outros *Baculovirus*.

O efeito na mortalidade de lagartas de *P. includens*, provocada pelo seu VPN, foi estudado em Arkansas, EUA, por LIVINGSTON et alii (1980), em testes de laboratório e de campo. No laboratório, foram usadas lagartas criadas em dieta artificial, na superfície da qual espalhava-se com pipeta a suspensão do vírus (0,1ml/recipientes de criação). A CL_{50} aos 10 dias da inoculação, do primeiro ao sexto ínsta-res, foi respectivamente, de 8,0; 8,3; 2,1; 6,9; 21,6 e 74,5 CPI/mm². O TL_{50} teve pouca variação entre ínsta-res, sendo em média de 7,5 dias e variando de 6,9 a 8,1 dias. Os testes de campo mostraram que o vírus embora tenha provocado uma mortalidade de 79% das lagartas presentes em cultura de soja, não foi tão eficiente quanto o inseticida metomil. Os autores, explicaram a maior desfolha no tratamento com o vírus, pelo avançado estágio de desenvolvimento em que encontravam-se as lagartas quando o vírus foi aplicado. Eles concluíram que estudos mais detalhados sobre as dosagens e os momentos de aplicação deveriam ser conduzidos antes que o VPN de *P. inclu*

dens, pudesse ser incluído em programas de manejo de pragas.

YOUNG e YEARIAN (1982) estudaram na Universidade de Arkansas, EUA a transmissão e o efeito do VPN de *P. includens* em pupas e adultos deste inseto. Lagartas infectadas no quarto, quinto e sexto ínstares, apresentaram mortalidades de 5; 20 e 50% respectivamente. A mortalidade pelo vírus das pupas provenientes destas lagartas variou de 1,5 a 15,2% e o peso das pupas, longevidade dos adultos e razão sexual não foram afetadas por este patógeno. Não registrou-se mortalidade de adultos devido ao patógeno aplicado; porém, observou-se redução na fecundidade e viabilidade dos ovos, quando as lagartas foram infectadas no sexto ínstar. Uma baixa porcentagem de lagartas da geração F1 morreu devido ao vírus, indicando que os adultos infectados podem manter o vírus nas populações de campo de uma geração para a outra em níveis endêmicos. Entretanto, outros métodos de transmissão são necessários, para o desenvolvimento de epizootia.

A viabilidade do uso do VPN de *P. includens* como um inseticida microbiológico foi testada por Mc LEOD et alii (1982) em Arkansas, EUA. Aplicações de 247 lagartas equivalentes por hectare (LE/ha), em grandes parcelas de soja, demonstraram que o patógeno iniciou epizootias. Porém as reduções populacionais só foram verificadas de 11 a 13 dias após a aplicação. A persistência do vírus sobre a folhagem e no solo foi também estudada. As concentrações do VPN

sobre as folhas diminuíram 72h após a aplicação, aumentando nos 6 a 7 dias seguintes, quando as lagartas começaram a morrer, liberando grandes quantidades de poliedros sobre as folhas. No solo, os resultados foram coincidentes aos obtidos por YOUNG e YEARIAN (1979).

2.5.2. Efeito de entomopatôgenos no consumo de lagartas desfolhadoras

Não foram encontrados na literatura trabalhos relacionando o efeito de patôgenos no consumo de *P. includens*.

Porém alguns estudos foram feitos com outras espécies de lagartas, demonstrando em geral, que os patôgenos provocam reduções de até o 90% no consumo de área foliar, efeito este, que só começa a ser percebido, próximo ao quarto dia após a infecção (com exceção do *B. thuringiensis*). A redução é atribuída entre outros fatores ao fato que, as lagartas infectadas morrem, enquanto as sadias continuam a se alimentar (TATCHEL, 1981; MOHAMED et alii, 1982; SAREEN et alii, 1983 e THORVILSON, et alii, 1985).

No Brasil, MOSCARDI e CORSO (1980) determinaram que o consumo de *A. gemmatilis* infectada pelo seu VPN foi de 27cm² de folhas de soja, enquanto que as lagartas testemunhas consumiram 108cm². Quatro

dias após a inoculação as lagartas doentes cessavam sua alimentação, enquanto as sadias, continuavam a se alimentar consumindo em cada novo ínstar, quantidades cada vez maiores de folhas.

O consumo e utilização do alimento por *A. gemmatalis* infectada com *B. anticarsia* e *N. rileyi*, foram determinados por ZONTA (1987). Neste trabalho, tanto o fungo como o vírus, reduziram o consumo de área foliar das lagartas infectadas após o quarto dia da inoculação. O fungo, não afetou o tempo de alimentação nem alguns índices nutricionais estudados, enquanto que o vírus, teve um efeito negativo sobre estes parâmetros. O efeito do vírus sobre o consumo de área foliar decresceu com o avanço do ínstar no qual ocorreu a infecção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho, foi desenvolvido nos laboratórios de Biologia e Patologia de Insetos, do Departamento de Entomologia, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, São Paulo, durante os anos de 1985 e 1986 e no laboratório de Entomologia do Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSo), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Londrina, Paraná, durante o mês de novembro de 1986.

Numa primeira etapa, foi selecionada uma dieta artificial, que permitisse a criação contínua do inseto em laboratório. Para esta seleção, foram feitos estudos biológicos comparativos, entre dietas artificiais e alimentos naturais da falsa medideira da soja. Para verificar se os insetos produzidos eram comparáveis aos da natureza, foi avaliada a sua performance ao longo das gerações, baseando-se na sua capacidade de conversão protéica.

Numa segunda etapa, após a seleção da dieta artificial, foram determinados, para o mesmo inseto, os valores da concentração letal para 50% da população (CL_{50}), da CL_{85} e do tempo letal de 50% da população (TL_{50}) para um *Baculovirus* i

solado desta lagarta, bem como avaliado o efeito deste vírus, no consumo de área foliar de soja, quando aplicado nos diferentes instares desta praga.

3.1. Material biológico da pesquisa

A espécie estudada foi *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857), (Lepidoptera: Noctuidae), procedente da criação mantida no CNPSO em dieta artificial proposta por GREENE et alii (1976) (Tabela 1). A identificação da espécie foi confirmada pelos Drs. Roberto Antonio Zucchi e Sinval Silveira Neto, professores do Departamento de Entomologia da ESALQ.

O vírus utilizado, foi fornecido pelo CNPSO, sendo proveniente da Universidade da Flórida, Gainesville, EUA, onde foi isolado de *P. includens*. Este material encontra-se armazenado na coleção de patógenos do laboratório de Patologia de Insetos da ESALQ, identificado com o número 460.

3.2. Procedimentos gerais da criação

3.2.1. Preparo das dietas

Foram adotados os procedimentos gerais descritos por PARRA (1979). Assim, da quantidade total de água de cada dieta, aproximadamente 50% foi utilizada para dissolver o ágar, e os 50% restante, para misturar os demais ingredientes. O feijão utilizado em algumas dietas foi previamente cozido, sendo a água da cocção utilizada no preparo das mesmas. Em algumas dietas que continham vitaminas na sua composição, resfriava-se a mistura a 55°C, antes da colocação do complexo vitamínico, a fim de evitar a degradação do mesmo.

Uma vez preparada, a dieta foi transferida, ainda quente, para tubos de vidro cilíndricos, com fundo chato (2,3 cm de diâmetro x 8,5cm de comprimento). Cada tubo recebeu uma quantidade de dieta que possibilitasse a complementação da fase larval (cerca de 1/4 do seu comprimento). Estes tubos foram previamente tampados com algodão hidrófugo, e esterilizados em estufa regulada a 150°C, pelo tempo mínimo de 60 minutos. A seguir, os tubos foram mantidos em temperatura ambiente, por 24 horas, para resfriamento e evaporação do excesso de água da dieta. Depois deste período, eram armazenados em geladeira, envolvidos por sacos de polietileno, etiquetados de acordo com o tratamento e data de preparo da

dieta.

3.2.2. Transferência das lagartas para a dieta ("inoculação").

Todo o material utilizado na "inoculação", incluindo os tubos contendo a dieta, foi esterilizado expondo-o à lâmpada germicida (ultravioleta), durante uma hora, no interior de uma câmara asséptica modelo PLANALSUCAR (MENDES, 1980). Nesta mesma câmara, com o auxílio de um pincel, duas lagartas recém-eclodidas foram colocadas em cada tubo. Após a "inoculação", os tubos foram fechados, identificados, numerados e colocados em prateleiras em posição inclinada, com o algodão voltado para baixo, para facilitar o escoamento de água e diminuir a contaminação por microorganismos (Fig: 1-D).

3.2.3. Técnicas de criação

Os tubos contendo as lagartas foram colocados em laboratório mantido a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $65 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14 h de fotofase, até a pupação.

As pupas foram retiradas dos tubos com dieta, "sexadas" (BUTT e CANTU, 1962) e colocadas em tampas de pla-

ca de Petri (9cm de diâmetro x 1,5 cm de altura), dentro de gaiolas cilíndricas de PVC (10 cm de diâmetro x 20 cm de altura). O interior da gaiola foi forrado com papel jornal umedecido diariamente, sendo que na parte superior colocou-se um filô branco e na inferior outra tampa de placa de Petri (15 cm de diâmetro x 0,5 cm de altura), com papel de filtro no fundo. Em todos os casos, as pupas foram pesadas, em balança de precisão, 24h após a pupação.

Quando emergidos, adultos de ambos os sexos foram submetidos a baixas temperaturas (colocados em "freezer" por três minutos) para imobilizá-los, por serem muito ativos, e assim transferidos para acasalamento e oviposição, para gaiolas idênticas às anteriormente descritas. O número de adultos por gaiola variou com a sua disponibilidade, mas nunca foi maior que 20. Para a alimentação, foi fornecida solução aquosa de mel a 10%, contida em um recipiente de vidro (3,0cm de diâmetro x 4,0cm de altura) e fornecida por capilaridade, com um pavio de algodão, inserido através de um orifício na tampa.

O filô e o papel jornal que revestia a gaiola foram trocados diariamente, a fim de se retirarem os ovos añ depositados. Estes eram colocados em placas de Petri (9cm de diâmetro x 1,5cm de altura), com papel de filtro umedecido no fundo e levados para uma câmara climatizada, regulada a 25°C e 14h fotofase, até a eclosão. Depois, as lagartas e-

ram transferidas à câmara asséptica para a "inoculação" dos tubos contendo dieta.

3.3. Seleção de dietas e biologia de *P. includens*

Procurando fornecer subsídios a uma produção massal de *P. includens*, que permita a multiplicação do *Baculovirus*, foram testadas várias dietas artificiais, estudando-se também a biologia comparada do inseto em meios naturais e artificiais.

3.3.1. Avaliação preliminar de dietas artificiais comparadas com folhas de soja

Neste experimento foram comparadas cinco dietas artificiais em relação a um alimento natural (folhas de soja) como testemunha.

As composições das dietas artificiais foram extraídas da literatura e de SINGH (1977) (Tabela 1), procedendo-se algumas substituições de componentes, buscando aqueles de menor custo e/ou de mais fácil aquisição no mercado nacional. Assim, o feijão utilizado foi, em todos os casos, da cultivar 'Carioca' (PARRA e CARVALHO, 1984); a farinha de

soja da dieta de GREENE et alii (1976), foi substituída por farelo de soja; o alfamel foi substituído nas dietas de Mc MORRAN (1965) e IGNOFFO (1963) por lâminas de celulose de *Eucalyptus* sp. sulfato branqueadas e trituradas em liquidificador (VENDRAMIN et alii, 1982). A mistura vitamínica utilizada foi aquela citada por PARRA (1979).

A farinha de milho da dieta de POITOUT e BUES (1970) foi da cultivar Opaco 2 (PARRA et alii, 1986) obtida em moinho e a de folhas de alfafa, contida na dieta de IGNOFFO (1963), foi obtida por secagem das plantas em estufa a 60°C e posterior trituração das folhas em liquidificador.

No caso do alimento natural (folhas de soja), ele foi obtido de uma cultura instalada na área experimental do Departamento de Entomologia da ESALQ, com a cultivar 'IAC-8'. O fornecimento de folhas foi iniciado quando as plantas encontravam-se no estágio V5, segundo a escala de FEHR et alii (1971). Folhas completamente desenvolvidas, porém, novas, eram lavadas e mantidas em água destilada durante uma hora para ficarem túrgidas e permanecerem em condições satisfatórias por um tempo maior. Eram fornecidas diariamente, uma ou duas folhas em função do tamanho da lagarta. Usaram-se tubos de vidro idênticos aos utilizados para dietas artificiais, sendo que, neste caso, um papel de filtro embebido em água destilada foi colocado no interior do tubo, para manter o ambiente úmido e diminuir a perda de água pela folha.

Tabela 1 - Composição das dietas artificiais utilizadas na seleção de dietas para *P. includens*.

Dieta (1)	BURTON (1969)	Mc MORRAN (1965)	IGNOFFO (1963) (modificada)	POITOUT e BUES (1970) (modificada por MHSFELDT, 1985)	GREENE et alii (1976) (modificada)
Composicao					
Feijão (g)	184,42				88,10
Levedura de cerveja (g)	56,20				44,05
Grão de trigo (g)	87,82			45,19	44,05
Caséina (g)		45,02	44,12	42,18	70,48
Farinha de milho (g)		52,50			26,43
Faréolo de soja (g)				168,70	35,24
Farinha de alfafa (g)					
Celulose (g)		7,50	22,06		
Sacarose (g)		52,50	7,35		
Solução vitamínica (ml) ²		15,00	39,22		
Alfatocoferol (g)			66,18		
Inositol (g)			0,10		
Cloreto de colina (g)		1,48	0,24		
Óleo de linhaca cru (ml)		7,48	0,60		
Óleo de germe de trigo (ml)					
Sais de Messon (g)		15,00	3,68		
Ácido ascórbico (g)	5,71		14,71		
Ácido sorbico (g)	1,75	6,00	5,30	6,03	4,23
Ácido benzóico (g)			2,77	1,50	2,11
Aureomicina (g)		0,40	0,19		0,09
Tetraciclina (g)					
Formaldeído 10% (ml)	14,05	0,74	6,13		
Formaldeído 37% (ml)					
Formaldeído 40% (ml)					
Bipagin (g)	3,51	2,24	2,77	1,20	4,23
KOH 4% (ml)		7,49	7,35		3,52
Água destilada (ml)	1124,12	1260,00	1257,81	1205,06	1198,23
Ágar (g)	22,39	26,67	20,34	30,13	16,21

(1). Quantidades ajustadas para 1500g de dieta.

(2). Composição em PARRA (1979).

Para a obtenção dos adultos, em todos os tratamentos, as pupas eram transferidas depois de "sexadas" e pesadas para tubos iguais aos de criação. O número de tubos por tratamento foi variável (Tabela 2), sendo os procedimentos e as condições de criação iguais aos descritos em 3.2.

Tabela 2 - Número de tubos utilizados em cada tratamento, na seleção de dietas artificiais para *P. includens*.

Tratamentos	Nº de tubos (1)
<u>Dietas artificiais</u>	
BURTON (1969)	90
Mc MORRAN (1965)	78
IGNOFFO (1963)	84
POITOUT e BUES (1970) (modificada por MIHSFELDT, 1985)	96
GREENE et alii (1976)	108
<u>Dieta natural</u>	
FOLHAS DE SOJA 'IAC-8'	79

(1) - 2 lagartas por tubo em todos os tratamentos.

Avaliaram-se os seguintes parâmetros biológicos: viabilidade (porcentagem de lagartas "inoculadas", que atingiam a fase adulta), duração dos períodos larval, pré-pupal e peso de pupas.

3.3.2. Biologia comparada de *P. includens* em dietas artificiais, soja e girassol

Nesta etapa, foram estudadas as dietas mais promissoras de 3.3.1., sendo incluídas também outras de uso rotineiro no laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ, para a criação de espécies de Noctuidae e Pyralidae. Na composição das dietas, realizaram-se as seguintes modificações: na dieta de IGNOFFO (1963), a farinha de folhas de alfafa, foi substituída por farinha de folhas de soja, obtida usando-se o mesmo procedimento descrito em 3.3.1. para a primeira. No caso da dieta de GREENE et alii (1976) foi utilizada proteína de soja (produto comercial Sojinha) e não farelo de soja como no item 3.3.1. A composição das dietas artificiais é apresentada na Tabela 3.

Como testemunha, utilizaram-se duas dietas naturais (soja e girassol), totalizando oito tratamentos. O número de tubos por tratamento foi variável (Tabela 4).

Tabela 3 - Composição das dietas artificiais utilizadas na biologia comparada de *P. includens*. (1)

Dieta Composição	BURTON (1969)	IGNOFFO (1963) (modificada)	IGNOFFO (1963) (modificada)	HENSLEY e HAMMOND (1968)	GREENE et alii (1976)	POITOUT e BUES (1970) modifica da por KHSSELDI, (1985).
Feijão (g)	184,42				88,10	
Levedura de cerveja (g)	56,20				44,05	45,10
Germe de trigo (g)	87,20				70,48	42,18
Caséina (g)		44,12	44,12	43,95	26,43	
Farinha de milho (g)				43,95		168,70
Proteína de soja (g)					35,24	
Farinha de alfafa (g)		22,06				
Farinha de folhas de soja (g)						
Celulose (g)		7,35	22,06			
Sacarose (g)		39,22	7,35			
Solução vitamínica (ml) (2)		66,18	39,22	73,25		
Alfatocoferol (g)		0,10	66,18	14,65	7,05	
Inositol (g)		0,24	0,10			
Cloreto de colina (g)		0,60	0,24			
Óleo de germe de trigo (ml)		3,68	0,60	1,46		
Sal de Kesson (g)		14,71	3,68			
Ácido ascórbico (g)	5,71	5,30	14,71	14,65		6,03
Ácido sórbico (g)	1,75	2,77	5,30	5,86	4,23	
Ácido benzóico (g)			2,77		2,11	1,50
Aureomicina (g)		0,19		0,41		
Tetraciclina (g)			0,19		0,09	
Formaldeído 10% (ml)	14,05	6,13	6,13			
Formaldeído 37% (ml)				0,73		
Formaldeído 40% (ml)					4,23	
Hipaglin (g)	3,51	2,77	2,77	2,19	3,52	1,20
NCB 4% (ml)		7,35	7,35			
Água destilada (ml)	1124,12	1257,81	1257,81	1269,60	1198,23	1205,06
Agar (g)	22,39	20,34	20,34	29,29	16,21	30,13

(1) Quantidades ajustadas para 1500 g.

(2) Composição em PARRA (1979).

Tabela 4 - Número de tubos e total de lagartas utilizados em cada tratamento no estudo de biologia comparada de *P. includens* em meios naturais e artificiais.

TRATAMENTOS	Nº DE TUBOS	Nº TOTAL DE LAGARTAS (1)
<u>Dietas naturais</u>		
FOLHAS SE SOJA 'IAC-8'	100	185
FOLHAS DE GIRASSOL 'URUGUAI'	100	185
<u>Dietas artificiais</u>		
BURTON (1969)	90	165
HENSLEY e HAMMOND (1968)	90	165
IGNOFFO (1963)	97	179
IGNOFFO (1963) (modificada)	88	161
GREENE et alii (1976)	96	177
POITOUT e BUES (1970) (modificada por MIHSFELDT (1985)	93	171

(1) Os primeiros 15 tubos de cada tratamento s̄o continham uma lagarta para medição de cápsula cefálica e determinação do número de ínstaes.

As folhas de girassol e soja, foram obtidas de culturas instaladas na área experimental do Departamento de

Entomologia da ESALQ. No caso do girassol, cultivar Uruguai, foram retiradas folhas a partir do momento que as plantas alcançaram o estágio V4, segundo a caracterização dos estágios de desenvolvimento do girassol de PALUDZYSZYN et alii (1984). Usaram-se sempre folhas verdadeiras (com mais de 4 cm de comprimento). No caso dos alimentos naturais (soja 'IAC-8' e girassol 'Uruguai') adotaram-se os mesmos procedimentos citados em 3.3.1..

As técnicas de criação e condições de laboratório foram semelhantes aos do item 3.2., com a única diferença de que as pupas, após "sexadas" e pesadas, foram colocadas em copos plásticos (5,5 cm de altura x 5,5 cm de diâmetro na abertura de 4,0 cm de diâmetro no fundo). Estes, foram emborcados sobre bandejas forradas com papel de filtro, umedecido duas vezes ao dia. A mudança de recipiente foi necessária, devido às dificuldades dos adultos distenderem as asas, no interior dos pequenos tubos de vidro anteriormente usados (3.3.1.). Visando a comparação do peso das pupas provenientes de campo, com o obtido no laboratório, coletaram-se em cultura comercial de soja 'Paraná', lagartas no máximo desenvolvimento, as quais foram mantidas com folhas retiradas da própria cultura até a pupação. Estas pupas, à semelhança daquelas obtidas em laboratório, foram pesadas com 24 h de idade.

3.3.2.1. Determinação do número de ínstares de *P. includens*

Os primeiros 15 tubos de cada tratamentos, continham somente uma lagarta para medição da sua cápsula cefálica, realizada diariamente. A medição foi feita através dos tubos de vidro transparentes, utilizando-se uma ocular micrométrica acoplada a um microscópio estereoscópico (PARRA e HADDAD, 1983). Com os dados obtidos, construiu-se uma curva de distribuição de frequências (PARRA e HADDAD, 1983). As hipóteses estabelecidas foram testadas pelo método linear, para determinação do número de ínstares. As medidas diárias, foram acompanhadas de observações das cápsulas cefálicas e/ou exúvias eliminadas, assim como, do comportamento das lagartas antes e durante a ecdise.

3.3.2.2. Oviposição e longevidade de adultos de *P. includens* provenientes de três substratos alimentares.

Adultos provenientes de insetos alimentados com folhas de girassol, soja e dieta artificial à base de feijão, levedura e germe de trigo (BURTON, 1969), foram coloca-

dos em gaiolas em condições semelhantes às descritas no item 3.2.

Estudaram-se 15 casais por tratamento, formados sempre que possível com machos e fêmeas emergidos com diferença não maior do que 24 horas. Os ovos colocados foram retirados diariamente e contados. Os adultos ao morrerem eram individualizados em caixas plásticas contendo pastilhas de paraformaldeído e guardados para determinação posterior do sexo e número de cópulas.

3.3.2.3. Determinação do número de cópulas de *P. includens*

Os abdômens dos adultos de cada casal, utilizados nos estudos de oviposição, foram fervidos individualmente em potassa 10% (KOH 10%) por dois minutos e as genitálias dissecadas, em microscópio estereoscópico, adotando-se a técnica de LIMA (1945). Contou-se o número de espermatozoides presentes na bolsa copuladora das fêmeas, pois, segundo BROWN e DEWHURST (1975) cada espermatozoide representa uma cópula. A identificação de ambos os sexos pela dissecação permitiu avaliar a sua longevidade (3.3.2.2.) desde que externamente não ocorre dimorfismo sexual aparente.

3.3.2.4. Estudo do período de incubação e viabilidade dos ovos de *P. includens*

Do experimento de oviposição (3.3.2.2.), eram retirados, ao acaso, ovos do quarto dia de postura, dentre as várias fêmeas de cada tratamento. Os ovos foram colocados em parte de placas de Petri (9cm de diâmetro), contendo papel de filtro umedecido, e tampadas com outras de igual diâmetro, sendo o conjunto vedado com fita adesiva e mantido em câmara climatizada regulada a 25⁰C e 14 h de fotofase.

Estudaram-se nove repetições para o tratamento de folhas de soja, cinco para o de folhas de girassol e sete para a dieta artificial, considerando-se cada repetição, como sendo uma das placas de Petri contendo de 30 a 35 ovos.

Próximo a eclosão, colocavam-se dentro das placas de Petri folhas de girassol, para evitar que as primeiras lagartas eclodidas predassem os ovos restantes, cujo embrião ainda não havia completado o desenvolvimento. As lagartas eram contadas e posteriormente mortas, colocando-se novas folhas de girassol; foram realizadas observações gerais sobre o desenvolvimento embrionário, sendo medidos, com auxílio de uma ocular micrométrica (3.3.2.1) os diâmetros de dez ovos por tratamento. Para determinação do período de incubação e viabilidade foram realizadas observações duas vezes ao dia (9.00 e 18.00 h).

3.3.3. Análise estatística

Para todas as variáveis analisadas nos itens 3.3.1. e 3.3.2., o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, tendo cada tratamento diferentes números de repetições.

No caso da viabilidade, os dados foram agrupados para conjuntos de 5 lagartas, seguindo a ordem numérica dos tubos, sendo os dados transformados para arcoseno de $\sqrt{\frac{P}{100}}$.

Para a análise dos parâmetros biológicos pré-oviposição, longevidade dos adultos, número de total de ovos e número de espermatozoides por fêmea, cada indivíduo foi considerado uma repetição. Igual procedimento foi utilizado no caso do peso das pupas, duração do ciclo total (ovo-adulto) e a duração das fases de lagarta, pré-pupa e pupa.

Após os dados serem submetidos aos testes de normalidade, homogeneidade de variâncias e aditividade, foram submetidos à análise de variância. A comparação de médias foi realizada através do teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade, quando a diferença do número de repetições entre tratamentos foi menor do que cinco. Quando esta diferença era maior do que cinco utilizou-se o teste "t".

A razão sexual foi calculada pela fórmula:

$\frac{\sigma^2}{\sigma^2 + \sigma^2}$ e os dados comparados pelo teste não paramétrico de qui-quadrado (CAMPOS, 1983).

3.4. Utilização de proteína por *P. includens* em dieta artificial, por quatro gerações sucessivas

Com o objetivo de se proceder, a um controle de qualidade das lagartas na dieta artificial, foi conduzido este experimento por quatro gerações sucessivas. Assim, a cada geração, foram mantidas na dieta artificial à base de levedura de cerveja, germe de trigo e feijão (BURTON, 1969), 160 lagartas (80 tubos com duas lagartas cada) nas condições descritas no item 3.2.. Na fase de pré-pupa ou pouco antes, 25 indivíduos de cada lote foram mortos em "freezer" e posteriormente mantidos em estufa a 55°C; as dietas e fezes foram secas em condições semelhantes. Quando secas, as amostras foram maceradas separadamente até se obter um pó homogêneo, do qual retiraram-se oito amostras de 100 mg. Estas foram digeridas em um bloco digestor, sendo o conteúdo de nitrogênio determinado por destilação num aparelho micro Kjeldahl, baseando-se no método descrito por BATAGLIA et alii (1978), adotando-se a concentração de H₂SO₄ de 0,01 N para a titulação. O volume obtido em ml, foi multiplicado pelo fa-

tor 6,25 para se obter a porcentagem de proteína por mg de dieta, lagarta ou fezes. Cada amostra foi considerada uma repetição num delineamento inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos a análise da variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.5. Efeito da posição dos recipientes de criação na viabilidade larval e no peso de pupas criadas em dieta artificial

A fim de se verificar se a posição do tubo de dieta afetava a mortalidade larval e o peso de pupas de *P. includens*, instalou-se o presente experimento com 30 tubos por tratamento. Cada tubo, semelhante aos utilizados em 3.2.1., continha duas lagartas, sendo estudados os seguintes tratamentos: A. posição inclinada do tubo, com a dieta para cima (normalmente utilizada) (Fig. 1 A); B. posição inclinada, com a dieta para baixo (Fig. 1 B) e C. posição vertical, com a dieta para baixo (Fig. 1 C). Estas posições foram obtidas com o auxílio de prateleiras de madeira e grades de arame (Fig. 1). Neste experimento utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, considerando-se cada lagarta como uma repetição, sendo os dados submetidos à análise de variância e a comparação das médias feita pelo teste "t" ao nível

de 5% de probabilidade.

Fig. 1 - Posição dos tubos de dieta para criação de *P. includens*. A-) posição inclinada com a dieta para cima. B-) posição inclinada com a dieta para baixo. C-) posição vertical com a dieta para baixo na grade de arame; D-) disposição dos tubos na prateleira de madeira.

3.6. Tabela de vida de fertilidade de *P. includens* para meio artificial e naturais

Com os dados obtidos no item 3.3.2. elaboraram-se tabelas de vida de fertilidade, para a dieta artificial de BURTON (1969), para folhas de soja e girassol. Para isto determinaram-se conforme SILVEIRA NETO et alii (1976), os valores de:

x = intervalo de tempo no qual foi tomada a amostra;

mx = fertilidade específica, calculada em função da razão sexual, que representa o número de descendentes produzidos no estágio, por fêmea, e que darão fêmeas.

lx = taxa de sobrevivência.

A partir destes dados calcularam-se os seguintes índices:

. Taxa líquida de reprodução - $R_0 = \sum mx \cdot lx$

. Duração média de uma geração - $T = \frac{\sum mx \cdot lx \cdot x}{R_0}$

. Capacidade inata de aumentar em número - $r_m = \frac{LR_0}{T}$

. Razão finita de aumento da população - $\lambda = e^{r_m}$

3.7. Determinação da CL_{50} , CL_{85} e do TL_{50} do Vírus de Poliédrose Nuclear para *P. includens*

3.7.1. Purificação do vírus

A suspensão original do vírus foi diluída em água estéril, aplicando-se, com pipeta 0,3ml, da suspensão obtida na superfície de dieta artificial de GREENE et alii (1976), contida em copos de papelão (8,3cm de diâmetro na abertura x 7,0cm de diâmetro na base x 7,3cm de altura). Após a secagem da superfície da dieta, foram colocadas 10 lagartas de *P. includens* por copo. Para se obter maior produção de poliedros, utilizaram-se lagartas do quarto instar. Quando mortas pelo vírus, as lagartas foram coletadas, maceradas com água e a mistura resultante coada com tecido duplo de malha fina a fim de separar os restos do corpo das lagartas.

A suspensão resultante foi centrifugada a 1000 rpm durante um minuto, conservando-se o sobrenadante, o qual foi novamente centrifugado a 8500 rpm, por dez minutos, ficando no fundo do tubo um "pellet", formado pelos poliedros do vírus. Esse "pellet" foi separado e agitado em água estéril até a completa homogeneização, obtendo-se a suspensão estoque com a qual realizaram-se os trabalhos.

3.7.2. Obtenção das lagartas

O número de lagartas em cada tratamento foi de 51, procedentes da criação estoque mantida no laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ na dieta de BURTON (1969), segundo a metodologia descrita em 3.2. Para este experimento, o formaldeído (Tabela 1) era excluído, pois poderia afetar o desenvolvimento do vírus (VAIL et alii, 1968).

3.7.3. Preparação das concentrações do vírus

Em cada um dos cinco instares de *P. includens* foram testadas cinco concentrações do vírus além de um tratamento testemunha que só recebeu água esterilizada em autoclave (1 atmosfera e 120°C) por 30 minutos.

Da suspensão original, contendo $7,5 \times 10^8$ corpos poliédricos de inclusão (CPI) por ml, foram feitas diluições, para se obterem concentrações de 3, 9, 27, 81 e 243 CPI/mm² de superfície de dieta artificial, comprovadas em câmara de contagem de Neubauer. O cálculo das concentrações necessárias exigiu o conhecimento da superfície de dieta a ser tratada e da quantidade de água necessária para uma perfeita cobertura desta superfície. Para isto, mediu-se o diâmetro interno de 30 tubos de dieta, utilizando-se um paquíme

tro, e calculou-se a área média a ser tratada. Através de uma pipeta graduada de 0,01ml, determinou-se a quantidade de água necessária. Com esses dois valores, determinaram-se as concentrações em CPI/ml (Tabela 5).

Tabela 5 - Cálculo de suspensões do vírus de poliedrose nuclear de *P. cludens* usadas na determinação da CL₅₀ e do TL₅₀.

DOSAGENS CPI/mm ²	POLIEDROS NECESSÁRIOS POR TUBO PARA ATINGIR A DOSAGEM (1)	CONCENTRAÇÃO NECESSÁRIA EM CPI/ml (2)
3	$1,20 \times 10^3$	$2,40 \times 10^4$
9	$3,55 \times 10^3$	$7,10 \times 10^4$
27	$1,06 \times 10^4$	$2,12 \times 10^5$
81	$3,19 \times 10^4$	$6,38 \times 10^5$
243	$9,57 \times 10^4$	$1,91 \times 10^6$

(1) Área do tubo = 394 mm²

(2) Quantidade de suspensão aplicada por tubo = 0,05ml

3.7.4. Infecção das lagartas

Cada tubo com dieta, igual aos descritos em 3.2.1., recebeu 0,05ml da suspensão do vírus dosada com pipe

tador e pipeta de 1ml, colocando-se três gotas equidistantes sobre a superfície da dieta. Depois de fechado, o tubo era agitado em círculos para se conseguir uma cobertura uniforme de toda a superfície.

Depois da evaporação da água da suspensão do vírus, cada tubo recebia uma lagarta, a qual após 48 horas de alimentação, era transferida com auxílio de um pincel ou pinça, para um outro tubo contendo dieta completa (incluindo formaldeído) e sem vírus, até a sua morte ou emergência do adulto.

3.7.5. Procedimentos gerais

A preparação das diluições foi feita em capela de fluxo laminar VECO modelo VLFS 09, e o material usado foi esterilizado em estufa a 170°C por duas horas. O restante do trabalho, incluindo a aplicação da suspensão do vírus nos tubos com dieta, foi conduzido em sala asséptica por fluxo de ar filtrado, existente no Laboratório de Patologia de Insetos da ESALQ.

Após os tratamentos, os tubos (3.7.4.) foram acondicionados em caixas de madeira de 26cm de comprimento x 13cm de largura e 7cm de altura (uma caixa por tratamento), as quais foram colocadas em prateleiras de metal,

com os tubos permanecendo em posição horizontal.

Para diminuir os riscos de contaminação, as testemunhas foram preparadas na capela de fluxo laminar, e depois levadas à sala asséptica; além deste cuidado, manipularam-se, em primeiro lugar, as menores concentrações do vírus. Todos os dias, antes e depois das observações e manipulação, os balcões e locais de trabalho foram desinfestados com solução de hipoclorito de sódio 0,05%. O piso e paredes da sala, foram diariamente desinfestados com 4 - cloro, 3,5 xilenel (Espamax^R).

Não houve controle de temperatura na sala da pesquisa, registrando-se apenas os dados (Fig. 7); a fotofase foi de 14h, sendo que a umidade relativa também não foi controlada, embora considere-se que no interior dos tubos de dieta esta umidade seja próxima a saturação.

3.7.6. Avaliação e análise estatística dos dados

Foram feitas observações diárias de todas as lagartas, registrando-se: início de sintomas, morte, pupação e a emergência dos adultos. Toda lagarta morta no experimento sem apresentar sintomas típicos de ataque de vírus foi objeto de diagnóstico. Para isto, prepararam-se lâminas contendo hemolinfa e tecidos da lagarta e observações ao micros

cópio biológico de contraste de fase (400 X), permitiram separar as lagartas que morreram devido ao vírus, daquelas mortas por outras causas. Considerou-se neste caso, que a lagarta era morta pelo vírus apenas quando a quantidade de poliedros presentes na lâmina era muito grande, ocupando a maior parte do campo microscópico, caso contrário, a lagarta era considerada como morta por outra causa.

Desde que existem diferentes critérios para a correção dos dados de mortalidade em bioensaios com patógenos, os valores desta pesquisa foram corrigidos através de três fórmulas com o objetivo de se compararem os resultados. Foram considerados assim dois critérios diferentes de correção: um que considera que a mortalidade obtida na testemunha, ainda que não devida a ação do patógeno, deve ser descontada da mortalidade dos tratamentos. O fundamento do método é que nos tratamentos, certo número de insetos iria morrer naturalmente, da mesma forma que na testemunha. Ainda que se observasse o patógeno nas lagartas, este não seria a causa principal da sua morte. Assim, para efetuar as correções segundo este critério, recorreu-se à fórmula de Abbott e a utilizada no Depto. de Entomologia da ESALQ/USP.

- Fórmula de Abbott:

$$MC = \frac{\% \text{ de mortalidade no tratamento} - \% \text{ de mortal. na testem.}}{100 - \% \text{ mortalidade na testemunha}}$$

- Fôrmla utilizada no Depto. de Entomologia da ESALQ/USP:

$$MC = \frac{Mt - MT}{Ni}$$

Mt = nº total de insetos mortos (por vřrus e outras causas);

MT = nº de insetos mortos na testemunha;

Ni = nº inicial de insetos.

Um segundo critřrio utilizado desconta a mortalidade, por outras causas, do nřmero de insetos iniciais no tratamento, calculando a mortalidade baseando-se no nřmero de insetos em que se tem certeza que morreram pela açaõ do vřrus, sobre o nřmero de insetos iniciais daquele tratamento menos os mortos por outras causas. Neste caso, utilizou-se a fôrmla empregada no Depto. de Entomolgia da Universidade de Gainesville, Flřrida, EUA e pelo CNPSO/EMBRAPA.

$$MC = \frac{MV}{Ni - MOC}$$

MV = nº total de insetos mortos pelo vřrus;

MOC = nº de insetos mortos por outras causas que nřo o vřrus;

Ni = nº inicial de insetos.

Os dados obtidos foram submetidos a anřlise de prřbitos para a determinaçaõ da CL₅₀, CL₈₅ e TL₅₀ de cada concentraçaõ em cada ĩnstar.

3.8. Efeito do vírus da Poliedrose Nuclear no consumo de área foliar de soja por lagartas de *P. includens*

3.8.1. Obtenção do vírus

O vírus obtido como em 3.7.1., utilizando-se uma concentração que permitisse a obtenção de 81 poliedros/mm² de superfície de folha de soja, baseando-se nos resultados do item 3.7.

3.8.2. Material utilizado

Lagartas provenientes da criação massal do laboratório de Entomologia do CNPSO/EMBRAPA, mantida na dieta artificial de GREENE et alii (1976), foram usadas para avaliar o efeito do vírus no consumo de área foliar, nos cinco instares de *P. includens*. Para cada instar estudado, foram infectadas 60 lagartas, sendo 60 sadias utilizadas como testemunha.

As folhas de soja 'Paraná', utilizadas durante todo o experimento, foram obtidas de cultura estabelecida em condições de campo no CNPSO. Ao iniciar-se o experimento, a soja encontrava-se no estágio R2 segundo FEHR et alii (1971). As folhas completamente desenvolvidas eram coletadas diariamente da metade superior da planta. Após transferidas para o laboratório e desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,3%, durante 3 minutos, eram lavadas em água corrente quatro vezes. Com esta operação, procurou-se evitar a contaminação por outros microrganismos, principalmente o fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson, frequente em áreas de soja.

Com o auxílio de um vazador manual cortaram-

-se discos de folha de dois diâmetros, os quais eram mantidos em água destilada por duas horas a fim de que ficassem túrgidos por mais tempo, secos com papel toalha, e depois oferecidos às lagartas. Devido ao consumo diferencial das lagartas segundo o seu estágio de desenvolvimento, até o terceiro ínstar elas recebiam discos pequenos ($6,00 \text{ cm}^2$) e a partir do quarto ínstar, discos maiores ($14,12 \text{ cm}^2$). As quantidades de discos oferecidos foram determinados pelo próprio consumo das lagartas, fornecendo-se sempre uma quantidade que permitisse sobra de alimento.

As lagartas eram colocadas em placas de Petri de plástico, de 8,5 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, contendo papel de filtro umedecido no fundo. Diariamente, as placas eram trocadas e oferecidos novos discos de folha. O alimento rejeitado, era medido com integrador de área foliar, marca LI-COR, modelo LI-3100. O experimento foi conduzido em câmara climatizada, regulada a 25°C , 14 h de fotofase e UR próxima à saturação.

3.8.3. Infecção das lagartas

Discos de folha (de 6 cm^2), neste caso, eram mantidos não em água destilada, mas em solução de Tween 0,01%, por duas horas. Esta operação permitiu quebrar a tensão superficial da folha para que a suspensão do vírus se espalhasse mais facilmente, conseguindo-se uma melhor cobertura. Após a secagem do líquido espalhou-se com pipeta, na superfície dos discos, 0,08 ml de suspensão do vírus.

Cada disco tratado foi colocado em placa de Petri (3.8.2.) e recebeu 6 lagartas de *P. includens*, quando o tratamento foi do primeiro ao terceiro ínstaes. Já no quarto e quinto ínstaes, cada disco recebia somente uma lagarta, devido ao maior consumo nestas fases do desenvolvimento. Após 24 horas de alimentação, ou antes, se o disco era consumido totalmente, as lagartas eram individualizadas em placas como em 3.8.2.

e passavam, a receber discos de folha sem vírus. As lagartas das testemunhas receberam discos sem o patógeno, tratadas com um volume igual de água esterilizada em autoclave como descrito em 3.8.2.

3.8.4. Avaliação dos dados e análise estatística

Nas testemunhas, o consumo foi avaliado até a interrupção da alimentação (prestes a se transformar em prē-pupa), momento que foi determinado pela expulsão do último "pellet" de fezes de cor amarela, o qual contrastava com as fezes normais de cor preta. Nos tratamentos com vīrus a avaliação foi até a morte, ou até o dēcimo primeiro dia após a infecção, quando considerou-se que as mortes por vírus após esta data seriam por reinfecção e não devido a inoculação inicial.

A área consumida foi avaliada em integrador de área foliar, medindo-se a sobra do alimento, desde que a área inicial era conhecida, por se oferecerem discos em número e área conhecidos. A perda de água pelas folhas foi determinada através de uma alíquota de 15 folhas, colocadas diariamente nas mesmas condições daquelas que recebiam lagartas. A partir da diferença registrada no início e 24 horas após, estabeleceu-se um fator de correção para as folhas que continham lagartas.

O teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para a análise da variável consumo total por indivíduo. Para essa análise, foram consideradas amostras casualizadas compostas de 30 lagartas no tratamento com vírus e 30 na testemunha, para os cinco īnstares estudados.

Neste caso os resultados de mortalidade obtidos foram corrigidos pela seguinte fórmula:

$$MC = \frac{n^{\circ} \text{ insetos mortos pelo vírus}}{n^{\circ} \text{ total de insetos no tratam.} - n^{\circ} \text{ ins. mortos p/outras causas}}$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Seleção preliminar de dietas e biologia de *Pseudoplu- sia includens* (Walker, 1857)

Esta etapa constituiu-se numa fase exploratória e de acerto de metodologia de trabalho com esta espécie.

Neste experimento, as viabilidades totais (lar-
garta-adulto) foram muito baixas em todas as dietas utiliza-
das, incluindo a de folhas de soja (Tabela 6) sendo que os
valores obtidos estiveram muito aquém dos 75% (viabilidade
de ovo-adulto) preconizados por SINGH (1983) como um mínimo
para que a dieta (no caso, artificial) seja considerada sa-
tisfatória. Apesar de existirem publicações como as de
SMITH & GILMAN (1981), REYNOLDS *et alii* (1984) e SMITH (1985)
que registraram altas mortalidades larvais (variáveis de 26
a 50%) quando *P. includens* foi criada em laboratório em fo-
lhas de soja, os resultados obtidos no presente trabalho,
aparentemente, fugiram da normalidade. Dentre as hipóteses
levantadas para explicar estes resultados, observações poste-
riores demonstraram que o número de lagartas por recipiente
de criação e a posição do mesmo em prateleiras ou suportes

durante o desenvolvimento larval podem ter afetado esta viabilidade. Além disto, a inadequação nutricional, impureza de alguns componentes incluídos na dieta, e a própria manipulação das lagartas podem ter levado a estes baixos resultados; entretanto, ficou evidente que a principal causa destes resultados foi a degeneração da população de laboratório mantida por gerações sucessivas e que foi a origem dos insetos utilizados na presente pesquisa. Desta forma, a mortalidade registrada independeu da dieta utilizada, sendo provavelmente consequência de problemas de consangüinidade, deriva genética, etc. da população original.

Dentre os alimentos estudados, somente a dieta artificial descrita por IGNOFFO (1963) foi totalmente inadequada ao inseto, pois houve 100% de mortalidade, sendo que as lagartas, na sua totalidade, nem iniciaram a alimentação.

Como esta dieta foi utilizada com sucesso na criação de *P. includens* por outros autores (KOGAN & COPE, 1974 e PARRA & KOGAN, 1981), existem 2 prováveis causas para a sua inadequação; uma delas relacionada à textura da dieta, que, por ocasião do preparo, ficou muito consistente e outra ligada à qualidade da farinha de alfafa, que estava armazenada já há algum tempo no laboratório. Por não haver desenvolvimento larval nesta dieta, ela não foi incluída na análise estatística de comparação de dietas (Tabela 6).

A duração do período larval obtida nos dife-

rentes alimentos (Tabela 6) encontra-se nos limites referidos na literatura para a espécie, os quais vão desde 10,7 até 20,7 dias dependendo do alimento e da temperatura nos quais foram criadas as lagartas (MITCHEL, 1967; REID & GREENE, 1973; CANERDAY & ARANT, 1967; COMBE & PEREZ, 1978; SHOUR & SPARKS, 1981; PARRA & KOGAN, 1981; SMITH & GILMAN, 1981; REYNOLDS *et alii*, 1984; LAMBERT & KILLEN, 1984; BEACH *et alii*, 1985; ORR & BOETHEL, 1985).

Houve diferença na duração da fase larval de *P. includens* nos diferentes alimentos. A dieta à base de levedura, milho e germe de trigo (POITOUT & BUES, 1970) foi a mais adequada por promover um encurtamento desta fase, embora com uma baixa viabilidade total (Tabela 6). A seguir, vieram as dietas natural (folhas de soja) e de BURTON (1969) com viabilidade maiores.

As dietas de GREENE *et alii* (1976) e de Mc MORRAN (1965) promoveram um excessivo alongamento da fase larval.

Embora tenham sido encontradas diferenças estatísticas nas durações das fases de pré-pupa e pupa quando os insetos foram criados em diferentes dietas, estas diferenças, em termos biológicos, podem ser consideradas desprezíveis, especialmente levando-se em consideração o objetivo do trabalho que é a produção massal do inseto. Neste caso, como as coletas de pupas por exemplo, são realizadas, uma vez por

Tabela 6 - Parâmetros biológicos de *P. includens* obtidos em quatro dietas artificiais e em folhas de soja 'IAC-8'. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; fotofase: 14 h.

DIETA	VIABILIDADE TOTAL (2) (%)	DURAÇÃO (dias)				PESO DAS PUPAS COM 48h (mg)			
		LAGARTA	PRE-PUPA	PUPA	MÉDIA	NACIO	FÊMEA		
FOLHAS DE SOJA 'IAC-8'	32,50 $\pm$ 2,85a	17,28 $\pm$ 0,08 b	1,00 $\pm$ 0,00a	7,72 $\pm$ 1,00ab	202,95 $\pm$ 3,77 b	212,50 $\pm$ 4,80 b	193,14 $\pm$ 5,42		
BURTON (1969)	18,33 $\pm$ 2,46 b	18,44 $\pm$ 0,38 c	1,15 $\pm$ 0,06 b	8,08 $\pm$ 0,13 b	239,48 $\pm$ 8,15a	258,82 $\pm$ 11,31a	224,55 $\pm$ 10,64		
Mc MORRAN (1965)	15,33 $\pm$ 3,88 b	20,31 $\pm$ 0,50 d	1,21 $\pm$ 0,09 b	8,03 $\pm$ 0,18 b	241,94 $\pm$ 8,09a	266,92 $\pm$ 11,79a	223,89 $\pm$ 9,08		
GREENE et alii (1976)	11,66 $\pm$ 3,36 b	20,39 $\pm$ 0,41 d	1,04 $\pm$ 0,04a	7,54 $\pm$ 0,18a	225,71 $\pm$ 11,99a	250,77 $\pm$ 8,66a	203,33 $\pm$ 19,56		
POITOUT e BUES (1970)	11,05 $\pm$ 2,40 b	15,91 $\pm$ 0,13a	1,23 $\pm$ 0,06 b	8,31 $\pm$ 0,08 b	233,54 $\pm$ 6,54a	256,86 $\pm$ 6,28a	205,40 $\pm$ 10,83		
NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA									
F (%)	<0,01	<0,01	<0,07	<0,04	<0,01	<0,01	NS		

1) Para cada parâmetro, médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste "t" ao nível de 5% de probabilidade.

2) Dados transformados para $\arcseno \sqrt{p/100}$.

dia, estas diferenças inferiores a 24h, passam a ter um pequeno significado prático.

De modo geral, os pesos das pupas ficaram próximos àqueles referidos na literatura por CANERDAY e ARANT (1967); MITCHEL (1967); JENSEN et alii (1974); BCLDT et alii (1975); SHOUR e SPARKS (1981); PARRA e KOGAN (1981); SMITH e GILMAN (1981); YOUNG e YEARIAN (1982) e ORR e BOETHEL (1985). Lagartas alimentadas com folhas de soja, originaram pupas mais leves em relação àquelas provenientes de dietas artificiais (Tabela 6). Resultados similares foram encontrados por JENSEN et alii (1974), criando *P. includens* em folhas de soja 'Dare' e em dieta artificial de BURTON (1969).

Os pesos das pupas procedentes das diferentes dietas artificiais foram semelhantes (Tabela 6). Conforme observaram SHOUR e SPARKS (1981) e PARRA e KOGAN (1981) o peso das pupas machos foi maior que o das fêmeas.

Baseando-se nos resultados obtidos não foi possível selecionar uma dieta nutricionalmente adequada para criações de *P. includens*. Desta forma, na segunda fase da pesquisa, foi novamente incluída a grande maioria destas dietas, corrigindo-se erros ou alterando-se técnicas da 1ª fase, além da inclusão de outras dietas para criação de outras espécies de Noctuidae, utilizadas com sucesso no Laboratório de Biologia da ESALQ/USP.

4.2. Biologia comparada de *P. includens* em dietas artificiais, soja e girassol

4.2.1. Fase de ovo

O ovo de *P. includens* é depositado de forma isolada, registrando-se, na presente pesquisa, diâmetro de 0,52 a 0,53 mm. ANGULO (1978) encontrou medidas próximas do diâmetro do ovo (0,50 mm) e o descreveu como branco, translúcido com 31 a 33 costas radiais, com distintas costas transversais. A dieta pode afetar a coloração do ovo. Assim, constatou-se que o ovo proveniente de dieta artificial era branco, conforme referido por ANGULO (1978), mas, quando procedente de dieta natural, era amarelo brilhante.

Após a oviposição, não existem sinais de desenvolvimento embrionário até, aproximadamente, 36h da oviposição. Nesse momento, em ovos provenientes de criação com folhas de girassol ou soja, são visíveis duas manchas vermelhas, representando os rudimentos dos olhos; naqueles provenientes de dieta artificial, este fenômeno ainda não é observado. Após 48h da oviposição as manchas tornam-se vermelhos escuras nos ovos provenientes dos dois tipos de alimento. Com 60 horas, as manchas oculares tornam-se pretas, e abaixo delas, na parte central, aparecem outras duas manchas

vermelhas, que serão as mandíbulas. Após 72h, as lagartas estão totalmente desenvolvidas, podendo-se ver todas as suas estruturas (incluindo setas), através do cõrion. Para a eclosão, a lagarta abre um orifício com as mandíbulas, e sai do ovo por meio de uma série de movimentos do corpo; após a eclosão, invariavelmente, consome todo o cõrion. Descrição detalhada do processo de eclosão, foi realizada por SHOREY et alii (1962), para *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802), sendo essencialmente igual à encontrada neste trabalho para *P. includens*.

O período de incubação encontrado a 25°C, foi sempre de três dias, valor igual ao constatado por MITCHEL (1967); CANERDAY e ARANT (1967) e COMBE e PEREZ (1978). Todas as lagartas eclodiram, no mesmo dia, pela manhã.

Não houve diferença estatística entre os períodos de incubação de ovos provenientes de fêmeas criadas em diferentes alimentos (Tabela 7), indicando que a dieta artificial teve o mesmo desempenho das dietas naturais.

As viabilidades registradas na literatura para ovos de *P. includens* são muito discrepantes variando de 39,7 a 53,9% (YOUNG e YEARIAN, 1982); de 67 a 100% (JENSEN et alii, 1974) ou ficando em torno de 85% (MITCHEL, 1967 e BEACH e TODD, 1985). Estas diferenças, embora os autores não entrem em detalhes, devem estar relacionadas à metodologia. Assim, no presente trabalho, na fase inicial, eram mantidos

Tabela 7 - Período de incubação e viabilidade média dos ovos de *P. cludens* no quarto dia de postura, procedentes de adultos obtidos da dieta artificial de BURTON (1969), folhas de girassol 'Uruguai' e de soja 'IAC-8'. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase: 14 h.

ALIMENTO	VIABILIDADE (%)	n	PERÍODO DE INCUBAÇÃO (DIAS)
Dieta de Burton (1969)	$92,26 \pm 6,01$	7	3
Folhas de Soja 'IAC-8'	$94,66 \pm 5,65$	9	3
Folhas de Girassol 'Uruguai'	$89,52 \pm 8,38$	3	3

CV - 6,39%

F = ns

n = aproximadamente 30 ovos

100 ovos por placa de Petri para observações, não colocando-se alimento para as lagartas recém-eclodidas. Devido à predação dos ovos pelas primeiras lagartas eclodidas, obtinha-se uma viabilidade entre 40 e 50%. Para contornar o problema, colocaram-se, no máximo 35 ovos por placa de Petri, a qual continha 1 folha de girassol, que servia como alimento para as lagartas recém-eclodidas. Como as lagartas, imediatamente após a eclosão, dirigiam-se para o girassol, reduziu-se assim a predação, obtendo-se valores de viabilidade bem mais elevados (Tabela 7).

4.2.2. Fase de lagarta

A lagarta de *P. includens* possui somente dois pares de falsas pernas, sendo de cor verde brilhante com uma linha dorsal média branca; mede, aproximadamente, de 30 a 40mm no máximo desenvolvimento. A cápsula cefálica no primeiro instar é totalmente preta, e nos posteriores esverdeada e mais escura do que o corpo. Descrições mais detalhadas podem ser encontradas nos trabalhos de EICHLIN (1975); ANGULO (1978) e EICHLIN e CUNNINGHAM (1978).

A duração da fase larval foi menor quando o inseto foi alimentado com girassol, reduzindo em 1,63 dias esta fase em relação à soja (Tabela 8). Todas as dietas arti

Tabela 8 - Duração média da fase larval de *P. includens* alimentada com dietas artificiais e naturais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase: de 14 h.

ALIMENTO	DURAÇÃO (DIAS) ¹
<u>Dietas naturais</u>	
Folhas de Girassol 'Uruguai'	$13,59 \pm 0,65a$
Folhas de Soja 'IAC-8'	$15,13 \pm 1,25ab$
<u>Dietas artificiais</u>	
Burton (1969)	$16,80 \pm 1,26 b$
Greene et alii (1976)	$16,72 \pm 1,42 b$
Poitout e Bues (1970)	$17,66 \pm 1,63 b$
Hensley e Hammond (1968)	$21,96 \pm 2,30 c$
Ignoffo (1963)	$32,25 \pm 5,48 d$

CV = 8,99% Nível de significância (F) % 0,01

(1) Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste "t" ao nível de 5% de probabilidade.

ficiais alongaram a fase larval quando comparadas com os alimentos naturais. As dietas de BURTON (1969), GREENE et alii, (1976) e POITOUT e BUES (1970) mostraram-se capazes de substituir a dieta natural, especialmente a soja, desde que rea-

lizados alguns ajustes; no entanto, as de HENSLEY e HAMMOND (1968) e IGNOFFO (1963) mostraram-se totalmente inadequadas à *P. includens* (Tabela 8).

A literatura registra, para a fase larval, de *P. includens* valores variáveis de 10,7 a 21,2 dias; foram observados valores maiores quando os autores trabalharam em condições de campo, portanto, com temperatura flutuante (MITCHEL, 1967) ou em laboratório mantido em temperaturas mais baixas (23°C) do que a utilizada no presente experimento (COMBE e PEREZ, 1978). De forma inversa, foi observado encurtamento do período larval de *P. includens* quando a pesquisa foi conduzida em condições térmicas (30°C) mais elevadas (BEACH et alii, 1985). Existem alguns autores (SMITH e GILMAN, 1981; SMITH, 1985 e REYNOLDS et alii, 1984) que obtiveram durações maiores que as registradas na presente pesquisa, embora trabalhando na mesma temperatura (27°C); entretanto, os dados existentes em seus trabalhos não permitiram determinar as causas destas variações.

Embora seja muito difícil em biológicas realizadas em diferentes condições compararem-se valores (pois a própria linhagem é sempre uma variável) a grande maioria dos autores encontrou resultados próximos aos obtidos na presente pesquisa (CANERDAY e ARANT, 1967; REID e GREENE, 1973; SHOUR e SPARKS, 1981; PARRA e KOGAN, 1981; LAMBERT e KILLEN, 1984; ORR e BOETHEL, 1985).

Pesquisas realizadas no Brasil por HOFFMANN-CAMPQ (com. pessoal) mostraram uma duração da fase larval de *P.*

includens semelhante à da presente pesquisa, quando o inseto foi criado em folha de soja (15,3 dias). Entretanto, quando o inseto foi criado em dieta artificial (de GREENE et alii, 1976) o período foi maior (19,9 dias). Esta variação pode ser devida ao fato de se tratarem de gerações diferentes do inseto, ou efeito do complexo vitamínico e proteína de soja incluídos na dieta por este autor, os quais foram diferentes dos utilizados na presente pesquisa.

Para a determinação do número de Ínstares, consideraram-se somente as lagartas que completaram o seu desenvolvimento. *P. includens* completou a fase larval com 5 e/ou 6 Ínstares, dependendo do alimento (Tabelas 9 e 10). Houve, no entanto, um caso em que, a lagarta apresentou 7 Ínstares, quando alimentada na dieta de POITOUT e BUES (1970). A razão do crescimento obedeceu a regra de DYAR (1890) em todos os tratamentos (Tabelas 9, 10 e 11).

O histograma obtido com as frequências de larguras das cápsulas cefálicas de cada tratamento (Figs. 2 e 3) evidencia claramente a ocorrência de 5 Ínstares nas lagartas criadas em girassol, na dieta de BURTON (1969) e na de GREENE et alii (1976). Entretanto, nos insetos criados nas dietas de POITOUT e BUES (1970) e em folhas de soja, a separação entre Ínstares não foi tão nítida, havendo necessidade de se recorrer à análise estatística utilizando-se o método linear (PARRA e HADDAD, 1983), baseando-se na regra de DYAR

(1890) (Tabela 11).

Baseando-se nos resultados da Tabela 11 as lagartas criadas em soja e na dieta artificial de POITOUT e BUES (1970) apresentaram 6 ínstares, pois para esta hipótese os valores se encontram mais próximos da constante de Dyar (1,4). Entretanto, as observações diárias mostraram que existem algumas lagartas que apresentam 5 ínstares.

A literatura também registra uma variação do número de ínstares de *P. includens* em função do alimento. Assim, COMBE e PEREZ (1978) observaram 5 ínstares em alimento natural. CANERDAY e ARANT (1967); MITCHEL (1967); REID e GREENE (1976) e REYNOLDS et alii (1984) constataram 6 ínstares sobre dieta artificial e em folhas de soja. Por outro lado, SHOUR e SPARKS (1981) e ORR e BOETHEL (1985) registraram cinco, seis e até sete ínstares sendo que os primeiros autores trabalharam com dieta artificial de BURTON (1969) e verificaram a predominância de seis ínstares enquanto ORR e BOETHEL (1985) constataram predominância de lagartas de 5 ínstares quando alimentadas com folhas de soja. Nestes dois trabalhos, apenas algumas lagartas apresentaram sete ínstares, quando estressadas, como quando foram parasitadas (ORR e BOETHEL, 1985).

As larguras das cápsulas cefálicas observadas em dieta natural e artificiais (Tabelas 9 e 10) foram semelhantes aos valores obtidos por COMBE e PEREZ (1978) e MIT-

Tabela 9 - Média e intervalo de variação (IV) da largura da cápsula cefálica, de lagartas de *P. includens*, nos tratamentos onde encontraram-se cinco e seis ínstaes. Temp.: 25±2°C; UR: 65±5% e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	5 ínstaes	Média (mm)	IV	Razão de crescimento	6 ínstaes	Média (mm)	IV	Razão de crescimento
Folhas de soja 'IAC-8'	I	0,27	0,24-0,30	1,59	I	0,27	0,24-0,30	1,59
	II	0,43	0,40-0,49	1,67	II	0,43	0,40-0,49	1,67
	III	0,72	0,64-0,79	1,76	III	0,72	0,64-0,79	1,76
	IV	1,27	1,14-1,38	1,62	IV	1,27	1,14-1,38	1,35
	V	2,06	1,61-2,37		V	1,72	1,61-1,79	1,25
$\bar{x}$	-	-	-	1,66	VI	2,14	1,92-2,37	1,52
Dieta artificial de POITOUT e BUES (1970) modificada	I	0,27	0,25-0,29	1,63	I	0,27	0,25-0,29	1,63
	II	0,44	0,39-0,50	1,59	II	0,44	0,39-0,50	1,59
	III	0,70	0,65-0,88	1,94	III	0,70	0,65-0,88	1,76
	IV	1,36	1,01-1,80	1,54	IV	1,23	1,01-1,46	1,29
	V	2,10	1,95-2,36		V	1,59	1,49-1,80	1,36
$\bar{x}$				1,68	VI	2,10	1,95-2,36	1,53

Tabela 10 - Média e intervalo de variação (IV) da largura da cápsula cefálica, de lagartas de *P. includens*, nos tratamentos com cinco instares. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	Instar	Média (mm)	IV	Razão de crescimento
Dieta artificial de BURTON (1969)	I	0,28	0,25 - 0,32	1,64
	II	0,46	0,41 - 0,51	1,59
	III	0,73	0,62 - 0,94	1,57
	IV	1,15	1,08 - 1,30	1,45
	V	1,67	1,60 - 1,75	
				$\bar{x} = 1,56$
Folhas de Girassol "Uruguai"	I	0,27	0,25 - 0,28	1,59
	II	0,43	0,39 - 0,49	1,74
	III	0,75	0,66 - 0,81	1,73
	IV	1,30	1,16 - 1,37	1,54
	V	2,01	1,95 - 2,09	
				$\bar{x} = 1,65$
Dieta artificial de GREENE et alii (1976)	I	0,27	0,25 - 0,29	1,74
	II	0,47	0,44 - 0,50	1,64
	III	0,77	0,70 - 0,84	1,72
	IV	1,33	1,23 - 1,49	1,53
	V	2,04	1,85 - 2,19	
				$\bar{x} = 1,65$

Figura 2 - Larguras da cápsula cefálica de lagartas de *P. includens* alimentadas com folhas de soja 'IAC-8' e girassol 'Uruguai'. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h. As setas indicam os ínstarres.

Figura 3 - Larguras da cápsula cefálica de lagartas de *P. includens* alimentadas com dietas artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

As setas indicam os ínstaes.

CHEL (1967), respectivamente.

A duração do último ínstar larval foi sempre maior, independente do número de ínstaes e da dieta utilizada (Tabela 12), coincidindo com os resultados de REID e GREENE (1973) e BOLDT et alii (1975).

Segundo SHOUR e SPARKS (1981), cada ínstar larval de *P. includens* (como em todos lepidópteros) é dividido em uma fase de alimentação e uma fase na qual a lagarta prepara-se para a "muda". Nesta última, ocorre o esvaziamento do trato digestivo e a lagarta adquire uma coloração verde amarelada brilhante. Desloca-se, a seguir, para a tampa do recipiente de criação, onde tece uma proteção com fios de seda a qual servirá de apoio durante a ecdise.

SHOREY et alii (1962) fizeram uma detalhada descrição do processo de ecdise para *T. ni*, a qual é bastante semelhante àquele observado para *P. includens*.

Imediatamente após a ecdise, a cápsula cefálica torna-se verde claro como o corpo e logo a seguir, nas horas seguintes, torna-se verde mais escura, às vezes até preta. É grande a variação na coloração das lagartas e segundo CANERDAY e ARANT (1967) estes padrões de coloração são regulados geneticamente.

Tabela 11 - Coeficiente de correlação, constante de Dyar e médias estimadas e observadas da largura da cápsula cefálica do primeiro ínstar de *P. includens*, determinados a partir do método linear. Temp.: $25 \pm 20^\circ\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	HIPÓTESES	R^2	CONSTANTE DE DYAR	$\bar{Y}_i^*$ mm	Y_i mm
Dieta artificial					
POITOUT e BUES (1970)	M=5	99,99%	1,70	0,25	0,27
	M=6	99,99%	1,48	0,32	0,27
Dieta natural					
FOLHAS DE SOJA 'IAC-8'	M=5	99,99%	1,69	0,25	0,27
	M=6	99,99%	1,50	0,31	0,27

* $\bar{Y}_i$ - largura média da cápsula cefálica do primeiro ínstar

$\bar{Y}_i$ - estimada;

Y_i - observada.

Tabela 12 - Duração média dos instares de *P. includens* alimentadas com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 20^\circ\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase, de 14 h.

TRATAMENTO INSTAR	Folhas de Girassol 'Uruguai'	Dieta de GREENE et alii (1976)	Dieta de BURTON (1969)	Folhas de Soja 'IAC-8'	Dieta de POITOUT e BUES ¹ (1970)	Dieta de POITOUT e BUES ² (1970)	Folhas de Soja 'IAC-8'
I	$2,18 \pm 0,40$	$3,00 \pm 0,00$	$3,00 \pm 0,00$	$2,55 \pm 0,53$	$3,00 \pm 0,00$	$2,77 \pm 0,44$	$2,67 \pm 0,58$
II	$2,75 \pm 0,45$	$2,00 \pm 0,00$	$2,00 \pm 0,00$	$2,55 \pm 0,53$	$2,50 \pm 0,70$	$2,30 \pm 0,48$	$2,33 \pm 0,58$
III	$2,00 \pm 0,00$	$1,43 \pm 0,51$	$2,57 \pm 0,97$	$1,89 \pm 0,33$	$2,00 \pm 0,00$	$2,00 \pm 0,00$	$2,00 \pm 0,00$
IV	$2,09 \pm 0,30$	$2,64 \pm 0,50$	$2,71 \pm 0,48$	$2,22 \pm 0,44$	$3,00 \pm 0,00$	$2,00 \pm 0,53$	$2,00 \pm 0,00$
V	$3,72 \pm 0,47$	$4,38 \pm 0,50$	$4,85 \pm 0,89$	$4,11 \pm 0,60$	$4,50 \pm 0,70$	$2,25 \pm 0,46$	$2,00 \pm 0,00$
VI	-	-	-	-	-	$4,86 \pm 0,38$	$4,33 \pm 0,58$

¹ lagartas que apresentam 5 instares.

² lagartas que apresentam 6 instares.

Na presente pesquisa, quando as lagartas foram criadas em girassol, constatou-se que aquelas prestes a sofrer a ecdise, colocavam-se sobre a nervura e adquiriam uma coloração semelhante à mesma dificultando a sua visualização; este comportamento poderia caracterizar um mecanismo de defesa do inseto (mimetismo). Para *P. includens*, a primeira ecdise pode ser confirmada pela presença da cápsula cefálica ou muitas vezes pela exúvia deixada no recipiente de criação; no entanto, nas ecdises posteriores, esta exúvia é invariavelmente consumida pela lagarta. A troca de tegumento, no geral, ocorreu nas últimas horas da tarde, sendo o início do processo percebido pela alteração de coloração da lagarta, após o esvaziamento do trato digestivo.

A possibilidade de se separar o sexo de lagartas de *T. ni* através das manchas dos primórdios testiculares, visíveis por transparência do tegumento, foi estabelecida por SHOREY et alii (1962) e posteriormente adotado por CANERDAY e ARANT (1967) e SHOUR e SPARKS (1981) para diversos Plusiinae, entre eles *P. includens*. No presente trabalho, confirmou-se que a partir do terceiro ínstar, são visíveis, a olho nu, duas manchas amarelas no dorso das lagartas machos, na altura do primeiro par de falsas pernas (V segmento abdominal). Estas manchas correspondem aos primórdios testiculares e permitem a separação de sexo das lagartas, com uma margem de erro muito pequena (1,3%). Esta opera

ção é muito rápida, não exige a utilização de microscópio estereoscópico, como na separação feita na fase de pupa, e poderá, portanto, agilizar a produção massal de *P. includens*.

4.2.3. Fase de Prē-Pupa

O início para transformação em prē-pupa é visualizado por uma acentuada mudança de coloração, mais visível do que na mudança do ínstar. Esta transformação em prē-pupa envolve alterações no sistema hormonal, caracterizadas por marcadores que indicam as diferentes fases desta transformação. Estes marcadores de desenvolvimento foram também observados por JONES et alii (1981) em *Trichoplusia ni*, espécie próxima à *P. includens*. Esta sequência, para *P. includens* foi a seguinte: cessação de alimentação; mudança para uma coloração verde amarelada uniforme; liberação do último "pellet" fecal de coloração amarelo brilhante; migração para a tampa do recipiente de criação; início de construção do casulo; perda de mobilidade e transformação em pupa. A observação da presença do "pellet" fecal amarelo brilhante é uma indicação segura de que o inseto se encontra na fase de prē-pupa, pois contrasta com as fezes pretas, quando as lagartas se alimentaram de folhas ou marrons quando criadas em dieta artificial. Desta forma, este "pellet" foi utilizado

como indicativo seguro e simples no experimento visando a determinação do consumo de *P. includens*. A duração do período de pré-pupa para *P. includens* foi referida apenas por COMBE & PEREZ (1978) dentre os autores consultados, ou seja, de 1,57 dias, valor próximo ao registrado na presente pesquisa. Embora a influência da nutrição não seja muito marcante na fase de pré-pupa, houve diferença entre os tratamentos. Esta diferença, no entanto, é de pouca significação prática para estudos biológicos (Tabela 13).

Tabela 13 - Duração média da fase de pré-pupa de *P. includens* quando alimentada com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	DURAÇÃO (DIAS)*
Dieta de Ignoffo (1963)	$1,20 \pm 0,41a$
Folhas de Girassol 'Uruguai'	$1,30 \pm 0,48a$
Folhas de Soja 'IAC-8'	$1,35 \pm 0,50 b$
Dieta de Greene et alii (1976)	$1,63 \pm 0,61 bc$
Dieta de Hensley e Hammond (1968)	$1,70 \pm 0,48 c$
Dieta de Burton (1969)	$1,81 \pm 0,47 c$
Dieta de Poitout e Bues (1970)	$1,88 \pm 0,71 c$

Nível de significância (F) % < 0,01

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste t ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.4. Fase de pupa

Para transformar-se em pupa, *P. includens* geralmente dirige-se à tampa do recipiente (dieta artificial) ou enrola-se nas folhas (dieta natural), neste caso, escolhendo locais nos quais possa unir duas ou mais superfícies, tecendo um fino casulo de seda. No caso dos recipientes com dieta, o inseto mostrou preferência pelas paredes de vidro em relação à superfície da dieta ou o algodão contendo fezes, para esta transformação. O processo de formação do casulo e transformação em pupa foi detalhadamente descrito por SHOREY et alii (1962) para *T. ni*, num processo bastante semelhante ao observado para *P. includens* por SHOUR e SPARKS (1981) e confirmado pelas observações deste trabalho.

A pupa é de coloração verde clara brilhante, mantendo esta coloração até 48 horas antes da emergência, quando adquire a coloração marrom escura, vendo-se por transparência as estruturas do adulto. No dia da emergência, as manchas prateadas das asas são facilmente distinguíveis. Quando a exúvia pupal é abandonada, percebe-se que ela é transparente.

Os diferentes substratos de alimentação das lagartas provocaram uma variação de um dia na duração da fase pupal (Tabela 14). Estes valores ainda que estatisticamente diferentes, parecem ter pouco significado prático, considerando que somente as pupas provenientes da dieta de IG-

NOFFO (1963) tiveram uma duração superior a 8 dias, havendo, nas demais dietas, uma variação de 7,4 a 7,8 dias.

Tabela 14 - Duração média da fase pupal de *P. includens* quando alimentada com dietas naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	FASE PUPAL (DIAS)*
<u>. Dietas naturais</u>	
Folhas de Girassol 'Uruguai'	$7,40 \pm 0,58a$
Folhas de Soja 'IAC-8'	$7,45 \pm 0,72a$
<u>. Dietas artificiais</u>	
Greene et alii (1976)	$7,46 \pm 0,87a$
Hensley e Hammond (1968)	$7,66 \pm 1,07ab$
Burton (1969)	$7,78 \pm 0,62 b$
Poitout e Bues (1970) modificada por Mihsfeldt (1985)	$7,83 \pm 0,71 b$
Ignoffo (1963)	$8,66 \pm 1,45 c$

Nível de Significância (F) $\% < 0,01$

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de "t" ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores obtidos ratificam os resultados observados por CANERDAY e ARANT (1967); MITCHEL (1967); SHOUR e SPARKS (1981); SMITH e GILMAN (1981) e ORR e BOETHEL (1985), sendo inferiores porém aos 11,7 dias citados por COMBE e PEREZ (1978), fato possivelmente explicável pela menor temperatura na qual trabalharam estes autores (23°C).

O peso médio das pupas foi afetado pela fonte de alimentação (Tabelas 15 e 16 e Figuras 4 e 5), sendo que os alimentos naturais proporcionaram pesos menores do que os artificiais, provavelmente devido ao alongamento da fase larval nestes últimos, levando a um maior período de alimentação. Estes resultados coincidem com as citações de JENSEN et alii (1974), que trabalhando com a dieta de BURTON (1969), encontraram um peso de pupas de 245 mg, em relação aos 176mg quando criaram os insetos em folhas de soja.

O peso das pupas provenientes de lagartas coletadas no campo (Tabela 15) foi também menor que aquele obtido nos meios artificiais. Estes valores são discrepantes daqueles registrados por MITCHEL (1967) e REID e GREENE (1973), que encontraram um maior peso de pupas provenientes de culturas de soja e algodão em relação àquelas criadas em laboratório em dieta artificial.

O maior peso de pupas foi obtido na dieta de BURTON (1969) embora sem diferir dos valores obtidos na dieta de GREENE et alii (1976) (Tabela 15).

Tabela 15 - Peso médio das pupas de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp.: 25±20C; UR: 65±5% e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	PESO (mg) *
<u>. Dietas artificiais</u>	
Burton (1969)	253,88 ± 43,43a
Greene et alii (1976)	239,28 ± 36,18ab
Poitout e Bues (1970)	231,15 ± 51,91 b
<u>. Dietas naturais</u>	
Folhas de Girassol 'Uruguai'	194,46 ± 32,83 c
Folhas de Soja 'IAC-8'	168,66 ± 33,69 d
Pupas provenientes do campo**	
(soja 'Foscarin')	212,00 ± 32,34

CV = 20,79 % Nível de significância (F)% 0,01

* - Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de "t" ao nível de 5% de probabilidade.

** Não foram incluídas na análise da variância por não fazerem parte do delineamento experimental.

Figura 4 - Peso médio de pupas de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

Figura 5 - Peso médio das pupas machos e fêmeas de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

Em geral, o peso das pupas foi coincidente com o registrado pela literatura, o qual é variável de 159 até 271mg (CANERDAY e ARANT, 1967; MITCHEL, 1967; REID e GREENE, 1973; JENSEN et alii, 1974; BOLDT et alii, 1975; SMITH, e GILMAN, 1981; PARRA e KOGAN, 1981; YOUNG e YEARIAN, 1982; LAMBERT e KILEN, 1984; REYNOLDS et alii, 1984; BEACH et alii, 1985; SMITH, 1985; ORR e BOETHEL, 1985 e HOFFMAN CAMPO, 1986)*. Os pesos das pupas ♂ e ♀ (Tabela 16) mostram que exceto para girassol, os machos são mais pesados do que as fêmeas.

4.2.5. Duração do ciclo (ovo-adulto)

O alimento influenciou na duração do ciclo de *P. includens*, sendo a duração da fase larval responsável pelas maiores diferenças. De um modo geral, os alimentos mais inadequados promoveram um alongamento do ciclo do inseto. PARRA e KOGAN (1981) encontraram valores semelhantes para a duração período ovo-adulto de *P. includens* em dieta artificial.

*C.B. HOFFMAN-CAMPO - Comunicação Pessoal - Pesquisadora da CNPSO-EMBRAPA - Londrina-PR.

Tabela 16 - Peso médio de pupas (♂ e ♀) de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas em meios naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	PESC DAS PUPAS (mg) ¹	
	♂	♀
<u>. Dietas naturais</u>		
Folha de soja 'IAC-8'	172,56 $\pm$ 33,00a	164,76 $\pm$ 34,47 b
Folha de girassol 'Uruguai'	193,43 $\pm$ 37,15a	195,53 $\pm$ 28,48a
<u>. Dietas artificiais</u>		
Poitout e Bues (1970)	238,96 $\pm$ 46,90a	223,33 $\pm$ 56,18 b
Greene et alii (1976)	244,30 $\pm$ 39,19a	234,26 $\pm$ 32,78 b
Burton (1969)	260,56 $\pm$ 45,74a	247,20 $\pm$ 40,65 b
Pupas do campo (soja 'Foscarin' ²)	221,31 $\pm$ 36,50	186,37 $\pm$ 34,93

Nível de significância (F) % 0,01

- 1 - Médias seguidas das mesmas letras na horizontal não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.
- 2 - Não foram incluídas na análise de variância por não fazerem parte do delineamento experimental.

As dietas artificiais de BURTON (1969) e GREENE et alii (1976), consideradas as melhores entre as dietas, promoveram um alongamento do ciclo em relação às dietas naturais. A folha de girassol 'Uruguai' mostrou-se como o melhor alimento para *P. includens* (Tabela 17), baseando-se neste parâmetro biológico.

Tabela 17 - Duração do período ovo-adulto de *P. includens* alimentada em meios naturais e artificiais. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	Duração (dias) ¹
<u>. Dietas naturais</u>	
Folhas de girassol 'Uruguai'	$23,85 \pm 0,81a$
Folhas de soja 'IAC-8'	$25,50 \pm 1,40 b$
<u>. Dietas artificiais</u>	
Dieta de Greene et alii (1976)	$27,29 \pm 1,87 c$
Dieta de Burton (1969)	$27,65 \pm 1,27 c$
Dieta de Poitout e Bues (1970)	$28,37 \pm 1,91 d$
Dieta de Hensley e Hammond (1968)	$32,90 \pm 3,05 e$
Dieta de Ignoffo (1963)	$42,20 \pm 4,93$

Nível de significância (F) % 0,01

(1) Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste "t" ao nível de 5% de probabilidade..

4.2.6. Fase adulta

Descrições detalhadas do adulto de *P. includens* são encontradas nos trabalhos de EICHLIN (1975); EICHLIN e CUNNINGHAM (1978) e ANGULO (1978).

A emergência dos adultos foi observada, em geral, pela manhã, sendo que observações similares foram registradas por SHOUR e SPARKS (1981), que citaram que a maior emergência ocorre entre 10 e 16h, horário este semelhante ao constatado por SHOREY et alii (1962), para *T. ni*.

A longevidade, período de pré-oviposição e oviposição de *P. includens* não foram afetados pelo alimento da fase larval (Tabelas 18 e 19).

As longevidades dos adultos são semelhantes às citações da maioria dos autores consultados, que constataram longevidades variáveis entre 9,8 até 18,2 dias (MITCHEL, 1967; CANERDAY e ARANT, 1967; JENSEN et alii, 1974; COMBE e PEREZ, 1978; YOUNG e YEARIAN, 1982 e MASON e MACK, 1984).

Tabela 18 - Longevidade média dos adultos de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas na dieta artificial de BURTON (1969) e folhas de girassol e soja. Temp. $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65\pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	LONGEVIDADE (Dias)	
	MACHOS	FÊMEAS
<u>. Dietas naturais</u>		
Folhas de girassol 'Uruguai'	$12,69\pm 5,85$	$13,30\pm 4,19$
Folhas de soja 'IAC-8'	$12,84\pm 4,31$	$14,42\pm 2,70$
<u>. Dieta artificial</u>		
Dieta de Burton (1969)	$16,66\pm 5,61$	$14,80\pm 3,74$

- Não houve diferença estatística entre tratamentos.

Tabela 19 - Períodos de pré-oviposição e oviposição das fêmeas de *P. includens*, provenientes de lagartas alimentadas com alimentos naturais e dieta artificial, Temp. $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65\pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	DURAÇÃO (Dias)	
	PRÉ-OVIPOSIÇÃO	OVIPOSIÇÃO
<u>. Dietas naturais</u>		
Folhas de girassol 'Uruguai'	$3,42\pm 1,55$	$8,64\pm 2,59$
Folhas de soja 'IAC-8'	$4,76\pm 2,80$	$9,00\pm 3,46$
<u>. Dieta artificial</u>		
Burton (1969)	$4,42\pm 2,02$	$9,00\pm 3,35$

Não houve diferença estatística entre tratamentos.

O número total de ovos colocado por fêmea foi semelhante em alimento natural e artificial (Tabela 20).

O número total médio de ovos, foi muito variável, havendo um intervalo de variação, para as fêmeas copuladas de 144 a 1953 ovos. As fêmeas não copuladas, também ovipositaram, mas em número nunca maior que 172. A literatura consultada revela números totais de ovos por fêmea, menores do que os verificados neste trabalho, variando de 274 a 757 (MITCHEL, 1967; COMBE e PEREZ, 1978; YOUNG e YEARIAN, 1982; MASON e MACK, 1984; BEACH e TODD, 1985; BEACH et alii, 1985). Por outro lado, a grande variação do número de ovos por fêmea, e o fato de que as fêmeas não copuladas ovipositaram um número menor de ovos (ôvulos), são resultados confirmados pelos trabalhos de MITCHEL (1967); JENSEN et alii (1974) e COMBE e PEREZ (1978).

O ritmo diário de postura (Tabela 21 e Figura 6) mostrou que entre o sétimo e oitavo dias de postura, de 80 a 90% dos ovos já haviam sido colocados. Assim, em criações massais do inseto, baseando-se nestes resultados, após uma semana do início da oviposição, os insetos poderiam ser eliminados, pois a sua capacidade de postura, a partir daí, é grandemente diminuída.

Não existem pesquisas sobre o ritmo de oviposição diária de *P. includens* e apenas COMBE e PEREZ (1978) citaram que, os picos máximos de postura (106 e 88 ovos / ♀),

foram observados no nono e décimo-primeiro dias de postura, para as gerações F_1 e F_2 , respectivamente. No presente trabalho, os picos foram entre o primeiro e o quarto dias, com valores de 234; 283 e 262 ovos/♀ para as dietas de BURTON (1969); folhas de girassol e soja, respectivamente.

Não houve influência do alimento no número de cópulas de *P. includens* (Tabela 22), o qual foi variável de 1 a 6. Estes dados são coincidentes com as observações de MITCHEL (1967) e JENSEN et alii (1974).

Tabela 20 - Número total de ovos por fêmea de *P. includens*, provenientes de lagartas alimentadas com dieta artificial e natural. Temp.: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

SUBSTRATO DE ALIMENTAÇÃO	Nº de ovos/♀ ¹	Nº de ovos/♀ ²
<u>. Dieta artificial</u>		
Burton (1969)	1365±588	1279±645
<u>. Dietas naturais</u>		
Folhas de soja 'IAC-8'	1327±459	957±691
Folhas de girassol 'Uruguai'	1205±572	876±720

1 - Somente dados de fêmeas copuladas.

2 - Dados do total de fêmeas (15/tratamento).

Tabela 21 - Postura média diária de *P. includens* procedentes de lagartas alimentadas com dietas artificial e naturais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UK: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

BURTON (1969)		Folhas de Girassol 'Uruguai'		Folhas de Soja 'IAC-8'	
DIA	Postura média acumulada	Porcentagem acumulada	Postura média acumulada	Porcentagem acumulada	Porcentagem
1	160	12	283	24	11
2	334	24	447	38	31
3	568	42	576	49	46
4	756	55	725	62	57
5	924	68	836	71	69
6	1039	76	974	83	78
7	1154	85	1067	91	86
8	1242	91	1072	91	91
9	1275	94	1135	97	95
10	1307	95	1155	98	98
11	1339	98	1165	99	99,3
12	1344	98,5	1172	100	99,7
13	1358	99,7			100
14	1361	100			

¹Considerando somente as fêmeas que foram copuladas.

Tabela 22 - Número médio de espermatozoides presentes na bolsa copuladora das fêmeas de *P. includens* procedentes de lagartas alimentadas com dietas artificial e naturais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	Nº Médio de Espermatozoides/Fêmea ¹			
	todas as fêmeas	IV	só fêmeas copuladas	IV
<u>. Dietas naturais</u>				
Folhas de Girassol				
'Uruguai'	$1,23 \pm 1,23$	0-4	$1,78 \pm 1,09$	1-2
Folhas de Soja 'IAC-8'	$1,46 \pm 1,88$	0-6	$2,44 \pm 1,88$	1-6
<u>. Dieta artificial</u>				
Burton (1969)	$1,60 \pm 1,18$	0-4	$2,08 \pm 0,40$	1-4

IV - intervalo de variação.

Tabela 23 - Número de machos e fêmeas, razão e proporção sexual de *P. in cludens*, quando alimentada com dietas naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

ALIMENTO	Nº♀	Nº♂	RAZÃO SEXUAL	PROPORÇÃO SEXUAL
. <u>Dietas naturais</u>				
Folhas de Girassol				
'Uruguai'	53	51	0,50	1,04 : 1,00
Folhas de Soja 'IAC-8'	44	47	0,48	0,94 : 1,00
. <u>Dietas artificiais</u>				
Burton (1969)	49	53	0,43	0,92 : 1,00
Greene et alii (1976)	70	56	0,55	1,25 : 1,00
Poitout e Bues (1970)	35	47	0,42	0,74 : 1,00
Ignoffo (1963)	16	11	0,59	1,45 : 1,00
Hensley e Hammond (1968)	8	5	0,61	1,60 : 1,00

Quiquadrado calculado = 5,046 ns

Quiquadrado (Tabela) ao nível de 5% de probabilidade = 12,59.

Figura 6 - Postura média diária de fêmeas copuladas de *P. includens* provenientes de lagartas alimentadas com dietas artificial e natural. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

Fêmeas que não possuíam espermatozoides na sua bolsa copuladora, ovipositaram invariavelmente um número menor de ovos que as não copuladas. Por ocasião da dissecação sô foram encontrados ovos nos abdômens das fêmeas que não tinham sido copuladas.

A razão sexual foi semelhante e igual a 0,5 para todos os tratamentos, não havendo, portanto, influência do alimento neste parâmetro biológico (Tabela 23). MITCHEL (1967) e COMBE e PEREZ (1978) encontraram esta mesma relação sexual para *P. includens*.

4.2.7. Tabela de vida de fertilidade

Para verificar se a alimentação em dieta artificial afetou a performance de *P. includens*, elaboraram-se as tabelas de vida de fertilidade (Tabelas 24 a 26).

A taxa líquida de reprodução (R_0), foi maior na dieta de BURTON (1969), obtendo-se um aumento populacional de 276,21 vezes a cada geração; a capacidade de aumentar em número (rm), foi maior nas folhas de girassol, devido ao menor período para completar uma geração (T) neste alimento (Tabela 27). A razão finita de aumento foi bastante próxima nos 3 substratos alimentares (Tabela 27). Embora não tenham sido encontrados estudos de tabelas de vida de *P. includens*

na literatura, os resultados obtidos demonstram que a dieta artificial de BURTON (1969) pode substituir os alimentos naturais estudados.

4.2.8. Viabilidade ovo-adulto nos diferentes substratos de alimentação

As viabilidades obtidas nos diferentes substratos alimentares foram ainda baixas, embora superiores aos resultados obtidos em 4.1. Entretanto, as dietas de BURTON (1969) e de GREENE et alii (1976) foram as que apresentaram as maiores viabilidades, inclusive diferindo das dietas naturais. As demais dietas mostraram valores muito baixos para a manutenção do inseto em programas de criação massal (Tabela 28).

A despeito das viabilidades obtidas nas dietas de BURTON (1969) e GREENE et alii (1976) não terem atingido os 75%, preconizados por SINGH (1983) como um percentual limite para a utilização de uma determinada dieta, verificou-se, em observações posteriores, a possibilidade de aumentar estes valores com melhorias da técnica de criação, sem alterar a qualidade nutricional da dieta (que pôde ser considerada satisfatória).

Assim, no experimento com vírus, registraram-

-se, na testemunha, viabilidades variáveis de 86 a 98%. O que levou a este aumento foi a mudança da posição do tubo, o qual foi, neste caso, mantido na posição horizontal. Isto estaria, provavelmente, ligado ao fato de *P. includens*, tendo apenas 2 pares de falsas pernas, teria a sua superfície de aderência à parede de vidro do tubo menor do que lagartas com 4 pares de falsas pernas. Assim, no final do desenvolvimento a lagarta ficaria muito pesada e não conseguiria subir pela parede de vidro até a dieta para se alimentar e morreria sobre a tampa do tubo. O experimento, conduzido com o objetivo de avaliar a posição adequada do recipiente (3.5.), mostrou a importância deste aspecto (Tabela 29).

Tabela 24 - Tabela de vida de fertilidade para *P. includens*, quando alimentada com a dieta artificial de BURTON (1969). Temp: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

x	mx	lx	$mx.lx$	$x.mx.lx$	
0,5	⋮	⋮	⋮	⋮	Fases imaturas
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	
27,5	.	.	.	.	
28,5	.	.	.	.	Pré-oviposição
29,5	.	.	.	.	
30,5	.	0,62	.	.	
31,5	17,16	0,62	10,64	335,13	Fase adulta
32,5	64,13	0,62	39,76	1292,22	
33,5	77,43	0,62	48,01	1608,22	
34,5	62,10	0,62	38,50	1328,32	
35,5	92,77	0,58	53,81	1910,13	
36,5	78,15	0,58	45,33	1654,43	
37,5	11,88	0,58	6,89	258,39	
38,5	32,00	0,53	16,96	652,96	
39,5	17,00	0,46	7,82	308,89	
40,5	9,86	0,31	3,06	123,79	
41,5	3,75	0,22	0,82	34,24	
42,5	2,30	0,18	0,41	17,59	
43,5	8,12	0,13	1,06	45,92	
44,5	9,25	0,06	0,55	24,69	
45,5	16,25	0,06	0,97	44,36	
46,5	18,50	0,04	0,74	34,41	
47,5	22,00	0,04	0,88	41,80	
48,5	0	0,02	0	0	
49,5	0	0,02	0	0	
50,5	0	0,02	0	0	
51,5	0	0	0	0	
		Σ	276,21	9715,49	

Tabela 25 - Tabela de vida de fertilidade para *P. includens*, quando alimentada com folhas de soja 'IAC-8'. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$; fotofase de 14 h.

x	mx	lx	mx.lx	x.mx.lx	
0,5	.	.	.	.	Fases imaturas
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	
24,5	.	.	.	.	Pré-oviposição
25,5	.	.	.	.	
26,5	.	.	.	.	
27,5	.	.	.	.	
28,5	.	0,48	.	.	Fase adulta
29,5	0,90	0,48	0,43	12,74	
30,5	18,13	0,48	8,70	265,42	
31,5	53,80	0,48	25,82	813,46	
32,5	75,90	0,46	34,91	1134,70	
33,5	66,97	0,46	30,81	1032,01	
34,5	52,71	0,44	23,19	800,14	
35,5	43,32	0,42	18,19	645,90	
36,5	38,69	0,40	15,48	564,87	
37,5	31,61	0,40	12,64	474,15	
38,5	23,82	0,31	7,38	284,29	
39,5	17,10	0,27	4,62	182,37	
40,5	9,94	0,22	2,18	88,56	
41,5	5,67	0,17	0,96	40,00	
42,5	21,00	0,07	1,47	62,47	
43,5	0	0,05	0	0	
44,5	0	0,02	0	0	
45,5	0	0	0	0	
		Σ	186,78	6401,08	

Tabela 26 - Tabela de vida de fertilidade para *P. includens* quando alimentada com folhas de girassol 'Uruguai' Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

x	mx	lx	mx.lx	x.mx.lx	
0,5	.	.	.	.	Fases imaturas
:	:	:	:	:	
:	:	:	:	:	
:	:	:	:	:	
23,5	.	.	.	.	Pré-oviposição
24,5	.	.	.	.	
25,5	.	0,48	.	.	
26,5	1,03	0,48	0,49	13,16	
27,5	94,96	0,48	45,58	1253,49	Fase adulta
28,5	50,73	0,48	24,35	693,99	
29,5	63,30	0,46	29,12	858,98	
30,5	49,04	0,39	19,12	583,33	
31,5	51,09	0,37	15,33	482,89	
32,5	50,36	0,35	17,63	572,97	
33,5	46,10	0,33	15,21	509,53	
34,5	44,83	0,31	13,90	479,55	
35,5	49,57	0,25	12,39	439,84	
36,5	18,90	0,18	3,40	124,10	
37,5	14,75	0,16	2,36	88,50	
38,5	9,50	0,12	1,14	43,89	
39,5	0,50	0,05	0,02	0,79	
40,5	0,75	0,02	0,01	0,40	
41,5	0	0	0	0	
		Σ	200,05	6145,41	

Tabela 27 - Parâmetros de crescimento populacional determinados nas tabelas de vida de fertilidade para *P. includens*, quando alimentadas com dietas naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

SUBSTRATO DE ALIMENTAÇÃO	T	Ro	rm	λ
Dieta de Burton (1969)	35,17	276,21	0,1598	1,1732
Folhas de Girassol 'Uruguai'	30,72	200,05	0,1724	1,1881
Folhas de Soja 'IAC-8'	34,27	186,78	0,1525	1,1647

Tabela 28 - Viabilidade total (ovo-adulto normal) de *P. includens*, quando criada em meios naturais e artificiais. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

SUBSTRATO DE ALIMENTAÇÃO	VIABILIDADE (%) (o)
Dieta de Greene et alii (1976)	$66,31 \pm 21,40a$
Dieta de Burton (1969)	$61,66 \pm 24,79a$
Folhas de Girassol 'Uruguai'	$48,00 \pm 17,04 b$
Folhas de Soja 'IAC-8'	$47,50 \pm 14,09 b$
Dieta de Poitout e Bues (1970)	$33,33 \pm 17,49 c$
Dieta de Ignoffo (1963)	$8,42 \pm 7,65 d$
Dieta de Hensley e Hammond (1968)	$3,88 \pm 10,37 d$

Nível de significância (F) $\% < 0,01$

(o) Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste "t" ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 29 - Efeito da posição do recipiente de criação na viabilidade e peso das pupas de *P. includens*, quando alimentadas com dieta artificial de BURTON (1969). Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

POSIÇÃO DO RECIPIENTE	VIABILIDADE (%)	PESO DAS PUPAS (mg)
Vertical com a dieta para baixo	$46,66 \pm 13,66a$	$189,99 \pm 30,62 b$

Inclinada com a dieta para baixo	$45,00 \pm 12,25a$	$212,16 \pm 38,26a$

Inclinada com a dieta para cima	$11,66 \pm 7,53 b$	$159,45 \pm 30,75 c$

(1) Nível de significância (F) % 0,01.

(2) Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de "t", ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.9. Análise de proteína na lagarta, fezes e alimento de *P. includens*

Com o objetivo de avaliar a performance de *P. includens* ao longo das gerações na dieta artificial e visando uma técnica que auxilie no controle de qualidade dos insetos produzidos no laboratório ao longo das gerações, analisou-se o conteúdo de proteína, presente na dieta de BURTON (1969), fezes e lagartas de *P. includens*, por quatro gerações sucessivas.

Verificou-se que a dieta contém 18,35% de proteína total. Constatou-se que o conteúdo protéico das fezes foi decrescendo com o passar das gerações sendo mantido, no entanto, o teor protéico das lagartas (Tabela 30). Este fato poderia estar ligado a um efeito compensatório da lagarta. Entretanto, para tal comprovação seriam necessários estudos de consumo e utilização de alimento, pois ao lado da hipótese de que o inseto para manter o teor corporal de proteína, eliminaria menos proteína nas fezes, pode existir também a hipótese de que o maior nível protéico poderia estar associado ao maior consumo de alimento ao longo das gerações, e que não foi medido no presente trabalho. Sugerem-se estudos neste sentido; é conveniente salientar que estas compensações são freqüentes em animais quando ocorrem mudanças na composição de suas dietas. Este fenômeno foi observado no Brasil por

Tabela 30 - Médias de porcentagem de proteína nas fezes e lagartas de *P. includens* durante quatro gerações sucessivas, quando alimentadas com dieta artificial de BURTON (1969). Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

GERAÇÕES	PROTEÍNA (%)	
	FEZES	LAGARTAS
I	$19,93 \pm 0,62a$	$39,59 \pm 2,34a$
II	$17,01 \pm 0,39 b$	$37,79 \pm 0,76ab$
III	$15,43 \pm 0,34 c$	$38,67 \pm 1,50ab$
IV	$14,80 \pm 0,31 d$	$36,59 \pm 1,89 b$
	CV = 1,39%	CV = 2,68%

Nível de significância (F)% < 0,01

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

: Dados transformados para $\text{arc } \sqrt{x/100}$.

CRÔCÔMO & PARRA (1985) com *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e citado, entre outros, por SIMPSON & ABISGOLD (1985). Muitas vezes o inseto consegue extrair diferencialmente nitrogênio de diferentes dietas, às vezes retirando maior quantidade deste elemento de dietas mais pobres (ALZUBAIDI e CAPINERA, 1984).

O que se pode inferir deste trabalho é que baseando-se numa pequena população de insetos, pelo menos por 4 gerações *P. includens* pode ser criada na dieta de BURTON (1969) sem que ocorra degeneração da espécie. A capacidade de conversão protéica do inseto manteve-se em torno de 2 (2,16 a 1,99) ao longo destas 4 gerações, indicando a adequação nutricional da dieta. Embora a análise protéica tenha se revelado um bom parâmetro para avaliar a qualidade do inseto ao longo das gerações, sugerem-se estudos por um período de tempo maior, para se determinar em que momento se dará o início da degeneração da população de *P. includens*.

4.2.10. Considerações gerais

Pelos resultados obtidos, relacionados aos aspectos biológicos, pôde-se observar que as dietas artificiais podem substituir o alimento natural na criação de *P. includens*, em programas de criação massal do inseto.

Assim, as dietas de GREENE et alii (1976) e a de BURTON (1969) mostraram-se adequadas ao inseto, pois embora tenham levado a um ciclo maior em relação à soja e girasol, resultante do alongamento especialmente da fase larval, tiveram comportamento semelhante em muitos aspectos biológicos. Assim, não afetaram a longevidade, capacidade e ritmo

de postura (incluindo períodos de pré-oviposição e oviposição), número de cópulas, período de incubação e razão sexual de *P. includens*. Por outro lado, promoveram um maior peso de pupas, e juntamente com o girassol apresentaram para todas as lagartas um número de ínstaes igual a 5. Como houve alimentos que deram origem a lagartas com 5 ou 6 ínstaes, indicando uma inadequação nutricional, este número menor de ínstaes nas dietas artificiais, pode ser considerado uma adaptação do inseto a estes substratos alimentares, pois um meio inadequado leva, quase sempre a um aumento de ecdises. Além deste aspecto, apresentaram uma viabilidade superior aos alimentos naturais.

Em termos econômicos, a dieta de BURTON (1969) é mais aceitável em relação à de GREENE et alii (1976) especialmente para países de menor poder aquisitivo.

Os estudos realizados com esta dieta mostraram que ela apresentou uma maior taxa líquida de reprodução em relação aos alimentos naturais e permitiu por gerações sucessivas a criação de *P. includens*, com uma capacidade de conversão proteica semelhante ao longo das mesmas.

Existem laboratórios que produzem *Baculovirus anticarsia* para controle de *A. gemmatilis*. Neste caso, utiliza-se a dieta de GREENE et alii (1976) para criação da lagarta-da-soja, por ser uma das únicas dietas adequadas ao inse-

to. Assim, seria interessante, a utilização da mesma dieta para criação de *P. includens*, no caso de se iniciar um programa de controle biológico com vírus para a falsa medideira.

Embora não tenham sido realizados alguns estudos com os insetos criados nesta dieta, como tabela de vida de fertilidade e capacidade de conversão protéica ao longo das gerações, é de se supor que ela seja adequada para *P. includens*, baseando-se nos resultados biológicos obtidos.

As baixas viabilidades obtidas nestas 2 dietas artificiais (embora superiores aos alimentos naturais) estão mais ligadas a problemas de manipulação do que de adequação nutricional, a qual se mostrou satisfatória para a falsa medideira.

4.3. Determinação da mortalidade, CL_{50} , CL_{85} e TL_{50} para o VPN de *P. includens*

A temperatura durante estes experimentos, não pôde ser controlada, porém foi registrada em um termógrafo com registro semanal, e com os dados obtidos foram construídos os histogramas de frequência acumuladas (Figura 7). De acordo com estes resultados, observa-se que entre 78 a 95% do tempo a temperatura esteve na faixa de $26 \pm 2^{\circ}C$, com poucos períodos fora deste intervalo.

Figura 7 - Frequências das temperaturas registradas no laboratório de Patologia de Insetos da ESALQ/USP, durante os experimentos com o VPN de *P. includens*.

Em nenhum dos ensaios conduzidos, encontrou-se mortalidade na testemunha devido ao vírus. Este fato deve-se não somente aos cuidados de asspsia tomados durante a instalação e manipulação dos tratamentos, mas também por ser a primeira vez que se trabalhou com este vírus no local, não existindo, portanto, nenhuma contaminação prēvia nos laboratōrios por este patōgeno.

O número de lagartas mortas e as porcentagens de mortalidade obtidos com as diversas fōrmulas sōo apresentados na Tabela 31.

Das fōrmulas utilizadas nas correções, a proveniente do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, mostrou-se mais rigorosa registrando mortalidades menores que as demais. Isto é explicável, pois ela subtrai dos insetos mortos em cada tratamento, os mortos na testemunha, mas divide o resultado pelo número inicial de insetos. Assim para o cálculo da CL_{50} e do TL_{50} foram utilizados os dados corrigidos por esta fōrmula.

As demais fōrmulas, ou não escontam a mortalidade da testemunha (quando não é devida ao patōgeno), ou descontam a mortalidade do número inicial de insetos, fornecendo assim porcentagens de mortalidade mais elevadas.

Tabela 31 - Número de lagartas mortas e porcentagens de mortalidade de *P. includens*, quando infectadas com diferentes concentrações do seu VPN nos diferentes instares. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14 h.

	Concentrações em CIP/mm ²	Nº de insetos mortos pelo vírus	Nº de insetos mortos por outras causas	% mortalidade corrigida pela fórmula usada na ESALQ	% mortalidade corrigida pela fórmula de ASBOTT	% mortalidade corrigida pela fórmula usada no CNPSO/EMBRAPA	% de mortalidade sem correção
1º Instar	3	39	4	52,94	60,78	63,62	58,82
	9	43	1	72,55	83,31	86,00	84,31
	27	47	4	86,27	100,00	100,00	92,16
	81	48	2	84,31	98,03	97,95	94,12
	243	50	1	86,27	100,00	100,00	98,04
	0	0	7	0	0	0	0
2º Instar	3	10	1	19,60	17,64	20,00	19,61
	9	20	0	37,25	37,25	39,21	39,21
	27	39	0	74,50	76,47	76,47	76,47
	81	45	0	86,27	88,23	88,23	88,23
	243	47	0	90,19	92,16	92,16	92,16
	0	0	1	0	0	0	0
3º Instar	3	17	7	29,41	35,29	38,36	33,33
	9	23	2	31,37	37,25	46,94	45,69
	27	35	5	60,78	74,51	76,09	66,63
	81	44	2	72,55	88,23	89,79	96,27
	243	46	5	82,35	100,00	100,00	90,20
	0	0	9	0	0	0	0
4º Instar	3	7	0	5,88	5,88	13,72	13,72
	9	13	3	23,52	25,49	27,08	25,49
	27	17	0	25,49	27,45	33,33	52,94
	81	34	1	60,78	66,67	68,00	66,67
	243	47	0	84,31	92,16	92,16	92,16
	0	0	4	0	0	0	0
5º Instar	3	10	0	17,64	17,64	19,61	19,61
	9	22	1	43,14	43,14	43,14	43,14
	27	14	0	25,49	25,49	27,45	27,45
	81	43	4	90,20	92,16	91,49	84,31
	243	46	2	92,16	94,12	93,88	90,20
	0	0	1	0	0	0	0

4.3.1. Mortalidade

As mortalidades obtidas atingiram valores de até 100% (Tabelas 32 e 33) e aumentaram dentro de cada ínstar ao se elavar a concentração do vírus utilizada. Para uma mesma concentração, as mortalidades decresceram com o desenvolvimento da lagarta, determinando-se que as lagartas mais desenvolvidas são menos susceptíveis ao vírus. Esta tendência modificou-se no quinto ínstar, onde a mortalidade foi maior do que a esperada. Estes resultados porém, podem ser explicados pelo fato de que as lagartas neste ínstar consomem muito mais alimento que as dos ínstares anteriores. Assim, no 5º ínstar, as lagartas consumiam toda a superfície da dieta inoculada com o vírus, enquanto que nos demais ínstares isto não ocorria, havendo sobra de alimento. Desta forma, a quantidade total de poliedros consumidos por estas lagartas, era muito maior do que nos demais ínstares, embora as concentrações utilizadas fossem iguais.

Poucos trabalhos foram encontrados referindo-se ao efeito de VPN sobre *P. includens*, e somente LIVINGSTON et alii (1980) estudaram a CL_{50} e o TL_{50} para esta espécie, sem apresentar neste trabalho as mortalidades, ou as equações obtidas na análise de mortalidade transformada em pró-bites. Estes autores obtiveram, no campo, reduções populacionais da praga da ordem de 79% em parcelas tratadas com o VPN

Tabela 32 - Mortalidade corrigida (%)¹ de lagartas de *P. includens*, infectadas com diferentes concentrações do VPN nos cinco instares. Fotofase de 14 h.

INSTAR	Concentração em CPI/mm ² de dieta artificial				
	3	9	27	81	243
I	52,94	72,55	86,27	84,31	86,27
II	19,61	37,25	74,51	86,27	90,20
III	29,41	31,37	60,78	72,55	82,35
IV	5,88	23,53	25,49	60,70	84,31
V	17,65	43,14	25,49	90,19	92,16

¹ Mortalidade corrigida pela fórmula:

$$MC = \frac{Mt - MT}{Ni}$$

Mt = nº total de insetos mortos (por vírus e outras causas).

MT = nº de insetos mortos na testemunha.

Ni = nº inicial de insetos

Tabela 33 - Mortalidade corrigida (%)¹ de lagartas de *P. includens* infectadas com diferentes concentrações do VPN nos cinco instares. Fotofase de 14 h.

INSTAR	Concentração em CIP/mm ² de dieta artificial				
	3	9	27	81	243
I	63,83	86,00	100,00	97,96	100,00
II	20,00	39,22	76,47	88,23	92,16
III	38,64	46,94	76,08	89,79	100,00
IV	15,90	27,08	33,33	68,00	92,16
V	19,60	44,00	27,45	91,49	93,88

¹ Mortalidade corrigida pela fórmula:

$$MC = \frac{MV}{Ni - MOC}$$

MV = nº de insetos mortos pelo vírus.

MOC = nº de insetos mortos por outras causas que não o vírus.

Ni = nº inicial de insetos.

quando comparadas com as testemunhas (sem tratamento). A efetividade deste vírus sobre *P. includens* também foi demonstrada por YOUNG e YEARIAN (1979) e Mc LEOD et alii (1982) obtendo em aplicações em condições de campo, altas porcentagens de mortalidade, coincidentes com os resultados do presente trabalho. Os primeiros autores pulverizando o solo com VPN no momento da semeadura da soja, obtiveram 100% de mortalidade, enquanto Mc LEOD et alii (1982) conseguiram mortalidade de 97%, pulverizando plantas de soja.

No presente experimento, quando as lagartas sobreviventes dos diferentes tratamentos conseguiram pupar, na maioria dos casos, não foi observada mortalidade posterior pelo vírus. Assim, do total de pupas avaliadas somente duas morreram pelo vírus, as quais foram facilmente diferenciadas das sadias pela coloração, pois a pupa normal é verde claro uniforme e a morta pelo vírus é de coloração marrom escura a preta. A pupa com o vírus, quando perfurada com estilete, liberou uma massa liquefeita contendo grande quantidade de poliedros. YOUNG e YEARIAN (1982), também encontraram baixos níveis de mortalidade nas pupas de *P. includens*, usando concentrações de 4×10^3 até $12,3 \times 10^8$ (corpos poliédricos de inclusão/mm²) na superfície de dieta artificial. As concentrações utilizadas por estes autores foram muito mais elevadas do que as utilizadas no presente trabalho e assim a mortalidade máxima atingida naquele experimento foi de 15%.

4.3.2. Determinação da CL₅₀ e CL₈₅

Com os dados de mortalidade acumulados aos 10 dias da infecção (analisados pelo método de Pröbite) calcularam-se as CL₅₀ e CL₈₅ para cada instar (Tabela 34 e Figura 8).

Tabela 34 - Valores de CL₅₀ e CL₈₅ do VPN de *P. includens*, quando aplicados nos diferentes instares da lagarta. Fotofase de 14 h.

Instar	CL ₅₀ (CIP/mm ²)	Intervalo de Confiança	Equação	CL ₈₅ (CIP/mm ²)
I	1,07	0,05-22,54	$Y=4,98283+0,54960 \cdot \log x$	85,04
II	13,06	6,74-25,30	$Y=3,60714+1,24813 \cdot \log x$	88,37
III	17,69	8,99-34,80	$Y=3,93973+0,84970 \cdot \log x$	293,45
IV	50,05	25,98-96,41	$Y=2,82101+1,28222 \cdot \log x$	321,86
V	12,98	5,40-31,20	$Y=3,52312+1,32638 \cdot \log x$	78,49

Ficou mais uma vez evidenciado que lagartas mais desenvolvidas foram menos susceptíveis ao vírus e exigiram maiores concentrações do patógeno para morrer. Estes resultados deveriam ser levados em consideração para aplicação em condições de campo pois a eficiência será função do estágio de desenvolvimento da lagarta e da concentração utilizada. A diminuição do valor da CL_{50} no quinto ínstar tem uma explicação análoga àquela feita para mortalidade.

LIVINGSTON et alii (1980) trabalhando com o VPN de *P. includens* determinaram aos 10 dias da infecção valores de CL_{50} de 8,0; 8,3; 2,1; 6,9; 21,6 e 74,5 CIP/mm² de dieta artificial, desde o primeiro até o sexto ínstar larval, respectivamente. Estes resultados, embora com oscilações, mostraram a tendência esperada, qual seja, aumento de concentração, para matar 50% da população, com o passar dos instares. Os valores foram também menores que os encontrados no presente experimento; esta diferença se deve a diferente metodologia utilizada, pois os autores deixavam as lagartas nos copos contendo a dieta infectada com o vírus até a pupação, possibilitando um consumo de poliedros maior do que no presente trabalho, no qual após 48h de infecção, as lagartas eram transferidas para tubos com dieta sem o patógeno.

YOUNG e YEARIAN (1979) encontraram para o primeiro ínstar de *P. includens* uma CL_{50} de 1,42 CIP/mm², valor coincidente com o encontrado no presente trabalho.

Figura 8 - Relação entre as concentrações do vírus e as mortalidades nos diferentes instares de *P. includens*, com as respectivas equações obtidas da análise de Probites.

Observa-se também uma grande redução da susceptibilidade ao vírus, a partir de lagartas inoculadas no quarto ínstar (Tabela 34) indicando que pulverizações para o controle da lagarta a nível de campo devem levar em conta estes aspectos para maior eficiência. Esta constatação de que uma lagarta é menos susceptível ao seu vírus, com o avanço dos ínstaes e que a mortalidade aumenta com a concentração do patógeno utilizado, é corroborada pelos trabalhos de CARNER e TURNIPSEED (1977); BOUCIAS e NORDIN (1977 e 1979) e MOSCARDI e CORSO (1981).

Os valores da CL_{85} mostraram a mesma tendência da CL_{50} (Tabela 34).

4.3.3. Determinação do TL_{50}

O TL_{50} aumentou com o passar dos ínstaes de *P. includens*, para cada concentração do vírus. Para cada ínstar, como era de se esperar, diminuiu com o aumento da concentração do vírus (Tabela 35).

LIVINGSTON et alii (1980) encontraram valores similares para o TL_{50} do VPN de *P. includens*, porém não verificaram variações em função do ínstar. Mc LEOD et alii (1982) detectaram epizootias de VPN no campo, somente 12 a 13 dias, após a aplicação e atribuem esses resultados às baixas tempe

raturas durante o experimento, ou a baixa concentração do patógeno utilizada (247 LE/ha).

Não foram encontrados outros trabalhos visando a determinação do TL_{50} do VPN de *P. includens*, porém CARNER e TUNIPSEED (1977); BOUCIAS e NORDIN (1977 e 1979) e MOSCARDI e CORSO (1981), trabalhando com VPN de outros *Noc-tuidae*, registraram valores do TL_{50} análogos aos encontrados no presente trabalho.

4.4. Sintomas

O aparecimento de sintomas ocorreu a partir do terceiro dia de infecção das lagartas, sendo mais frequentemente encontrados a partir do quarto dia. Esta sintomatologia iniciou-se com um aspecto oleoso do tegumento, o qual torna-se mais brilhante. Um dia após, a lagarta começa a tornar-se mais clara, quase branca nas partes ventral e posterior do corpo; a seguir esta cor toma todo o corpo, não sendo mais possível observar-se o conteúdo do trato alimentar que era visível no início. Aproximadamente um ou dois dias antes de morrer, a lagarta reduz a sua alimentação e geralmente, sobe no topo do recipiente onde morre dependurada pelas falsas pernas. Poucas horas após (sempre menos de um dia)

Tabela 35 - Tempo letal 50 (TL₅₀) do VPN de *P. includens* para lagartas dos diferentes Ínstares infectadas com diferentes concentrações. Fotofase de 14 h.

Concentração em CIP/mm ²	TL ₅₀				
	I	II	Í N S T A R III	IV	V
3	7,32	-	-	-	-
9	5,86	-	-	-	-
27	5,56	7,91	7,13	-	-
81	5,43	7,43	5,99	8,40	9,36
243	5,69	7,02	5,88	6,57	8,89

a lagarta adquire coloração marrom claro pela ação bacteriana que decompõe o corpo, adquirindo a seguir, uma coloração marrom escura desmanchando-se com grande facilidade e liberando grande quantidade de fluido corporal quase inteiramente constituído de poliedros.

A rapidez com que a lagarta desmancha-se a p^{os} sua morte dificulta a coleta de material para a obtenção do patógeno; este aspecto deverá ser melhor estudado, pois dificultará com certeza, tanto a produção massal do vírus em laboratório, como o reaproveitamento de lagartas infectadas pelo vírus no campo. Desta forma, no caso de *P. includens*, as lagartas devem ser coletadas antes, ou imediatamente ap^{os} sua morte, fazendo-se uma inspeção mais freqüente em relação a outros Baculovirus, como o de *A. gemmatalis*, dos recipientes de criação, para coleta do material infectado. Uma possível explicação para o fato que *P. includens* desmancha-se mais rapidamente do que outras lagartas com VPN, é a maior velocidade de ataque do vírus ao tegumento desta espécie. Confirmações para esta hipótese foram proporcionadas pela descrição da histopatologia da infecção do VPN de *P. includens* feita por LIVINGSTON e YEARIAN (1972); estes autores, encontraram como locais primários de ação do vírus a matriz traqueal, os corpos gordurosos e a epiderme.

A sintomatologia externa descrita neste experimento, é essencialmente a mesma que a encontrada para outros Plusiinae, quando infectados pelos seus respectivos VPN

(HALL, 1957; DRAKE e Mc EWEN, 1959 e PASCHKE e SWEET, 1966).

4.5. Efeito da infecção por VPN no consumo de área foliar de *P. includens*

Os estudos do tempo de desenvolvimento e a quantidade de alimento consumido pelos diferentes instares de uma lagarta sadia e infectada são de grande valor para a determinação do tempo no qual o nível de dano pode ser atingido numa cultura. Assim, tendo-se conhecimento da estrutura etária da população da praga, pode-se determinar a viabilidade ou não, do uso de um agente (no caso, vírus) no seu controle (TATCHEL, 1981)

As lagartas de *P. includens* infectadas pelo seu VPN, reduziram o consumo de área foliar, quando comparado com o das lagartas sadias (Tabela 36). Essa redução variou desde 65 até quase 100% de acordo com o instar considerado, havendo uma maior redução no consumo quando mais cedo o inseto foi infectado na sua fase larval.

Até o quarto instar, o consumo foi desprezível aumentando consideravelmente a partir deste estágio (Ta-

Tabela 36 - Consumo médio total de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens*, sadias e infectadas pelo seu VPN nos diferentes instares. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.

Instar	C O N S U M O (cm^2) (*)		
	Lagartas sadias	Lagartas infectadas	Redução (%)
I	102,98 $\pm$ 5,80	0,28 $\pm$ 0,07	99,72
II	109,69 $\pm$ 7,35	1,26 $\pm$ 0,61	98,85
III	108,50 $\pm$ 5,62	1,72 $\pm$ 1,11	98,41
IV	102,81 $\pm$ 5,97	20,82 $\pm$ 3,02	79,75
V	104,22 $\pm$ 11,05	36,58 $\pm$ 13,04	64,90

(*) Para cada instar as médias foram estatisticamente diferentes entre si pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade.

bela 37 e Figura 9).

Estes resultados, mais o fato de ser este instar responsável pelo acentuado acréscimo na CL_{50} , levam à dedução, de que os melhores resultados, em campo, serão obtidos, quando a lagarta for infectada, no máximo, até o 3º instar, pois até esta fase o inseto não tem grande capacidade de causar danos e morrerá com menores concentrações de vírus.

A pouca diferença de consumo encontrado entre os três primeiros instares, é explicável pois as lagartas não consumiram totalmente a folha, deixando uma camada de epiderme intacta. Desta forma, ao "passar" o alimento rejeitado pelo integrador de área foliar, a luz não atravessou a camada de epiderme, e a área destruída não foi medida, sendo o consumo subestimado. A partir do quarto instar, a lagarta consumiu totalmente a folha, deixando somente as nervuras principais intactas, permitindo assim a medição exata da área consumida. Este fato pode explicar também, que o consumo nas diferentes testemunhas foi quase idêntico, embora tenha sido medido a partir de diferentes instares. Se a área destruída nos três primeiros instares, for avaliada com outros equipamentos mais precisos o consumo das testemunhas seria com certeza, maior quando medido desde os primeiros instares. Porém a bibliografia é vasta em resultados que mostram que o consumo das lagartas de *P. includens* e outros Noctuidae nos

Tabela 37 - Consumo médio diário e tempo de alimentação de lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPV nos diferentes instares. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; fotofase de 14h.

Instar	Tratamentos	Consumo médio diário (cm ²)																Consumo médio total (cm ²)	Tempo de alimentação (dias) ($\bar{x} \pm s$)
		Dias após a infecção																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
I	Testemunha	0,20	0,07	0,05	0,04	0,05	0,33	1,35	1,43	6,70	4,82	13,18	23,88	24,99	24,49	25,31	24,97	151,86	13,96 ± 1,05a
	Com vírus	0,05	0,17	0,03	0,02	0,01												0,28	3,70-0,94 b
II	Testemunha	0,11	0,20	0,10	0,34	2,00	2,05	8,56	5,62	16,82	27,89	27,93	25,57	18,98				136,17	12,70-0,74 b
	Com vírus	0,04	0,10	0,14	0,09	0,29	0,48											1,14	5,69-1,1 f
III	Testemunha	0,31	0,21	0,52	2,16	4,56	5,82	7,67	17,23	28,43	19,69	27,43	20,02					139,05	11,57-0,93 c
	Com vírus	0,11	0,48	0,18	0,53	1,19												2,49	4,34-1,19 b
IV	Testemunha	1,79	5,09	5,22	8,55	18,22	28,15	26,37	22,68	20,83								136,68	8,33-0,82 d
	Com vírus	1,90	5,10	6,06	5,21	1,74	1,69	0,13										21,83	5,80-0,79 f
V	Testemunha	3,28	4,56	9,85	8,96	22,49	30,49	27,31	19,65									126,59	6,96-0,92 e
	Com vírus	2,62	5,88	10,48	8,45	4,36	4,41											36,20	4,94-0,90 f

CV = 11,31% - Nível de Significância (F) % < 0,01.

CV = 11,31% - Nível de Significância (F) % < 0,01.

(*) Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste "t" ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 9 - Consumo médio total de área foliar de soja 'Paraná' e porcentagem de redução do consumo, por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas com seu VPN, nos diferentes instares. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; fotofase de 14 h.

três primeiros Ínstares do seu desenvolvimento larval é muito baixo. Assim, REID e GREENE (1973), KOGAN e COPE (1974), BOLDT et alii (1975) e PARRA e KOGAN (1981) determinaram que de 91 a 97% do consumo total de *P. includens* ocorreu e partir do quarto Ínstar.

Ainda, REID e GREENE (1973) determinaram um consumo de 0,29; 0,83 e 1,77 cm² para o primeiro, segundo e terceiro Ínstares de *P. includens* respectivamente, dados coincidentes com os obtidos na presente pesquisa (Tabelas 36 e 37).

O consumo total encontrado no presente experimento (138,07 cm²) é maior do que o relatado por REID e GREENE (1973) e BEACH et alii (1985), o qual foi de 82 e 69 cm², respectivamente. Se aproxima porém daqueles obtidos por BOLDT et alii (1975) (114 cm²) e ORR e BOETHEL (1985) (130 cm²). Já KOGAN e COPE (1974) encontraram um consumo muito maior (207 cm²) para este inseto, mas estes autores trabalharam com soja mantida em casa-de-vegetação.

Não foram encontrados na literatura trabalhos visando avaliar o efeito de patógenos no consumo de *P. includens*, existindo porém, vários outros, visando estudar o consumo e utilização do alimento por insetos afetados por diversos patógenos e em geral, estes resultados mostram comportamentos similares aos do presente experimento. Assim, vários Noctuidae pragas foram estudados, após serem infectados por

fungos, bactérias e vírus, mostrando que as lagartas doentes se alimentam da mesma forma que as sadias nos primeiros dias. Após três ou quatro dias da infecção decresce significativamente o consumo pelas lagartas doentes até a sua morte. Nas testemunhas, a alimentação continua e no final da avaliação é observada uma grande redução no consumo nas lagartas infectadas pelo patógeno (MOSCARDI e CORSO, 1980; TATCHEL, 1981; MOHAMED et alii, 1982; SAREEN et alii, 1983; THORVILSON et alii, 1985 e ZONTA, 1987).

4.6. Consumo médio diário e tempo de alimentação

Embora as lagartas infectadas continuassem a se alimentar por um período de tempo variável de 3,7 dias para o primeiro ínstar até 5,8 dias no segundo e quarto ínstares o seu consumo foi significativamente reduzido, quando comparado com as lagartas testemunhas (Tabela 37 e Figura 9).

Assim, pode-se afirmar que o vírus foi eficiente na redução do consumo total de área foliar, devido a uma menor alimentação da lagarta antes de morrer, mas fundamentalmente devido à morte das lagartas, se comparadas às testemunhas que continuaram a se alimentar.

Pelas figuras de 10 a 14 observa-se que o consumo das lagartas doentes e sadias foi similar até o tercei-

Figura 10.- Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no primeiro instar larval. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.

Figura 11 - Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no segundo instar larval. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.

Figura 12 - Consumo médio de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no terceiro instar larval. Temp. 25°C e fotofase de 14 h.

Figura 13 - Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no quarto 1^o instar larval. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.

Figura 14 - Consumo médio diário de área foliar de soja 'Paraná' por lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo seu VPN no quinto instar larval. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.

ro ou quarto dias após a infecção; posteriormente, as doentes reduziram seu consumo em até 99%, enquanto que as sadias continuaram a se alimentar até a pupação.

O fato da lagarta doente reduzir seu consumo a partir do terceiro dia da infecção, tem sido explicado por alguns autores, pelas mudanças sofridas no metabolismo do hospedeiro quando parasitado pelo patógeno. Dentre estes autores, citam-se MOHAMED et alii (1982) que trabalhando com o fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samsom, infectando lagartas de *Heliothis zea* (Boddie, 1850), explicaram os resultados obtidos pela colonização das lagartas pelo fungo (que deu-se de dois até quatro dias após o tratamento) coincidindo com a redução do consumo. Também TATCHEL (1981) relatou dados similares estudando o efeito do vírus de granulose sobre *Pieris rapae* (L.), encontrando redução no consumo após o quarto dia, quando o vírus disseminou-se desde o epitélio do mesêntero até os corpos gordurosos, hipoderme, matriz traqueal e tubos de Malpighi. Estas afirmações podem também ser corretas para *P. includens*, desde que LIVINGSTON e YEARIAN (1972) encontraram que é a partir do terceiro dia que os diversos tecidos da lagarta infectada começam a ser severamente atacados pelo vírus de poliedrose nuclear. Segundo estes autores os principais locais de ataque são os núcleos das células dos corpos gordurosos, matriz traqueal e epiderme e em menor grau as do mesêntero. No quinto dia, a in

fecção atinge o seu grau máximo, começando a ocorrer lise de núcleos celulares, liberando-se grande número de poliedros e finalmente no sexto dia as lagartas morreram.

4.7. Mortalidade total e diária das lagartas

Na instalação deste experimento, utilizou-se, de acordo com os resultados obtidos nos experimentos de CL_{50} , uma concentração de 81 poliedros/mm² de superfície de disco de folha, visando obter mortalidades próximas a 80%. Porém, constatou-se que à exceção do primeiro instar, as mortalidades obtidas foram inferiores aos resultados anteriormente obtidos (Tabela 38). O fato pode ser explicado pela diferente metodologia utilizada em ambos experimentos. Nos testes visando obter a CL_{50} , as lagartas foram individualizadas e permaneceram 48 h alimentando-se, com dieta contaminada com vírus; no experimento de consumo porém, elas foram alimentadas com discos de folha tratados com vírus somente por 24 h, utilizando-se mais de uma lagarta por disco. Estes dois fatos, possivelmente, determinaram um menor consumo total de poliedros no caso de lagartas alimentadas com discos de folha. Esta explicação é principalmente válida para lagartas até o quarto instar, pois as de quinto instar consumiram todo o disco de folha e estavam individualizadas. Nestas, a me

nor mortalidade poderia explicar-se por uma menor susceptibilidade ao patógeno neste ínstar, não registrada no experimento da CL₅₀ por problemas de metodologia, anteriormente discutidos no ítem 4.3.2..

Os picos de mortalidade ocorreram no quinto e sexto dias após a infecção para o primeiro e terceiro ínsta-res, no sétimo e oitavo dias para o segundo e quarto, e no sexto e sétimo dia para o quinto ínstar (Tabela 38). Não foi observado, como era de se esperar, um aumento de tempo para que ocorresse a morte em função de se trabalhar com ínsta-res mais avançados.

4.8. Viabilidade do uso do VPN no controle de *P. includens*

Com as concentrações de vírus utilizadas neste experimento, obtiveram-se mortalidades de até 100%, e as lagartas infectadas no 1º, 2º e 3º ínsta-res consumiram 0,3; 1,1 e 1,6% do total que ela normalmente consome. Desta forma, embora o vírus demore alguns dias para matar as lagartas de *P. includens*, os danos à soja ou outras culturas podem ser consideravelmente reduzidos se o vírus for aplicado antes delas atingirem o 4º ínstar.

Estes resultados preliminares mostram um potencial deste VPN para controlar *P. includens*, sugerindo-se

Tabela 38 - Mortalidade diária e total das lagartas de *P. includens* sadias e infectadas pelo VPN nos diferentes instares. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h.

Instar	Tratamentos	Número de lagartas mortas pelo vírus por dia ¹															Número total	% de Mortalidade ²
		Dias após a infecção																
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17			
I	Testemunha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Vírus	0	13	10	6	1	1									51	98,08	
II	Testemunha	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Vírus	0	0	3	19	6	1	1								30	50,00	
III	Testemunha	0	0	0	0	0	0	0	0							0	0	
	Vírus	0	12	14	3	1										39	65,00	
IV	Testemunha	0	0	0	0	0										0	0	
	Vírus	0	0	0	16	11	2	1								37	62,71	
V	Testemunha	0	0	0	0	0										0	0	
	Vírus	0	1	14	10	4	1									34	62,96	

1 - Para cada tratamento foram consideradas 30 lagartas na avaliação do consumo de área foliar.

2 - Mortalidade corrigida pela fórmula $\text{MC} = \frac{\text{MV}}{\text{Ni} - \text{NOC}}$

MV = nº lagartas mortas pelo vírus

Ni = nº inicial de lagartas

NOC = nº lagartas mortas por outras causas, que não o vírus.

no entanto, pesquisas a nível de campo, para se avaliar a sua eficiência nestas condições, bem como as dosagens a serem utilizadas.

5. CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos na presente pesquisa, pode-se concluir:

5.1. As dietas artificiais baseadas em BURTON (1969) e GREENE et alii (1976) podem substituir as dietas naturais (soja 'IAC 8' e girassol 'Uruguai') para criação massal de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857);

5.2. A dieta de BURTON (1969) à base de feijão, levedura e germe de trigo, permite a criação de *P. includens* por gerações sucessivas e apresenta uma taxa líquida de reprodução superior às dietas naturais, sendo de baixo custo e de fácil preparo;

5.3. As viabilidades totais obtidas nas dietas artificiais podem ser melhoradas com ajustes no preparo da dieta e com a manutenção dos recipientes de criação numa posição adequada durante o desenvolvimento larval;

5.4. O vírus da poliedrose nuclear (VPN) é eficiente para o controle de *P. includens* em laboratório, ma-

tando as lagartas e reduzindo o consumo de área foliar pelo inseto;

5.5. A concentração letal para 50% da população (CL_{50}) aumenta com o passar dos *Instares*;

5.6. O tempo letal para 50% da população (TL_{50}) aumenta com o passar dos *Instares* para cada concentração do vírus e diminui, para cada *Instar*, com o aumento da concentração;

5.7. Este vírus tem condições de ser utilizado em programas de Manejo de Pragas de soja, desde que aplicado em lagartas de *P. includens* que se encontrem, no máximo, no 3º *Instar*.

6. LITERATURA CITADA

AGUDELO, F. & FALCON, L.A. Some naturally occurring insect pathogens in Colombia. Turrialba, 27(4): 423-6, 1977.

ALFORD, A.R. & HAMMOND JUNIOR, A.M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with looplure-baited traps. Journal of Economic Entomology, College Park, 75(4): 647-50, 1982.

ALVES, S.B. Vírus entomopatogênicos. In: ALVES, S.B., coord. Controle Microbiano de Insetos. São Paulo, Manole, 1986. p. 171-87.

AL ZUBAIDI, F.S., & CAPINERA, J.L. Utilization of food and nitrogen by the Beet Armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae), in relation to food type and dietary nitrogen levels. Environmental Entomology, College Park, 13(6): 1604-8, 1984.

ANGULO, A. La sub-familia Phytometrinae en Chile (Lepidoptera:Noctuidae). Brenesia, San José, 14/15: 57-95, 1978.

BATAGLIA, O.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, A.M.C.; GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. Campinas, Instituto Agrônômico, 1978. 31p. (Circular 87).

BEACH, R.M. & TODD, J.W. Toxicity of Avermectin to larva and adult soybean looper (Lepidoptera:Noctuidae) and influence on larva feeding and adult fertility and fecundity. Journal of Economic Entomology, College Park, 78(5): 1125-8, 1985.

BEACH, R.M.; TODD, J.W.; BAKER, S.H. Antibiosis of four insect-resistant soybean genotypes to the Soybean Looper (Lepidoptera:Noctuidae). Environmental Entomology, College Park, 14(4): 531-4, 1985.

BOLDT, P.E.; BIEVER, K.D.; IGNOFFO, C.M. Lepidopteran pests of soybeans:consumption of soybean foliage and pods and development time. Journal of Economic Entomology, College Park, 68(4): 480-2, 1975.

BOUCIAS, D.G. & NORDIN, G.L. Interinstar susceptibility of the Fall Webworm, *Hyphantria cunea*, to its nucleopolyhedrosis and granulosis viruses. Journal of Invertebrate Pathology, San Diego, 30(1): 68-75, 1977.

BOUCIAS, D.G. & NORDIN, G.L. Susceptibility of *Hyphantria cunea* to a cytoplasmic polyhedrosis virus. Journal of Kansas Entomological Society, Lawrence, 52(4): 641-7, 1979.

BOUCIAS, D.G.; BRADFORD, D.L.; BARFIELD, C.S. Susceptibility of the Velvetbean Caterpillar and Soybean Looper (Lepidoptera:Noctuidae) to *Nomuraea rileyi*; effects of pathotype, dosage, temperature and host age. Journal of Economic Entomology, College Park, 77(1): 247-53, 1984.

BROWN, E.S. & DEWHURST, C.F. The genus Spodoptera (Lepidoptera:Noctuidae) in Africa and the near East. Bulletin of Entomological Research, London, 65(2): 199-216, 1975.

BROWN, D.W. & GOYER, R.A. Effects of a predator complex on Lepidoptera defoliators of Soybeans. Environmental Entomology, College Park, 11(2): 385-8, 1982.

BURLEIGH, J.G. Population dynamics and biotic control of the Soybean Looper in Louisiana. Environmental Entomology, College Park, 1(3): 290-4, 1972.

BURTON, R.L. Mass rearing the Corn Earworm in the laboratory, Washington, USDA/Agricultura Research Service, 1969. 8p. (ARS, 33-134).

- BUTT, B.A. & CANTU, E. Sex determination of lepidopterous pupae. Washington, USDA/Agricultura Research Service, 1962. 7p. (ARS, 33-75).
- CAMPOS, H. de. Estatística experimental não paramétrica. 4ª ed. Piracicaba, 1983. p. 210-10.
- CARNER, G.R.; HUDSON, J.S.; BARNET, O.W. The infectivity of a nuclear polyhedrosis virus of the Velvetbean Caterpillar for eight Noctuidae hosts. Journal of Invertebrate Pathology, San Diego, 33(2): 211-6, 1979.
- CARNER, G.R. & TURNIPSEED, S.G. Potential of a nuclear polyhedrosis virus for control of the Velvetbean Caterpillar in soybean. Journal of Economic Entomology, College Park, 70(5): 608-10, 1977.
- ✓ CANERDAY, T.D. & ARANT, F.S. The Looper Complex in Alabama (Lepidoptera, Plusiinae). Journal of Economic Entomology, College Park, 59(3): 742-3, 1966.
- CANERDAY, T.D. & ARANT, F.S. Biology of *Pseudoplusia includens*, and notes on biology of *Trichoplusia ni*, *Rachiplusia ou* and *Autographa biloba*. Journal of Economic Entomology, College Park, 60(3): 870-1, 1967.

- COMBE, I. & PEREZ, G. Biología del "Gusano Medidor" *Pseudoplusia includens* (Walk) (Lep., Noctuidae) en Col. Revista Peruana de Entomología, Lima, 21(1): 61-2, 1978.
- ✓CORREIA, B.S. Incidência de parasitas em lagartas da soja.
In: Seminário Nacional de Pesquisa de Soja, 1, Londrina, 1978, Anais. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1979. V.2.p.79-91.
- CRÖCOMO, W.B. & PARRA, J.R.P. Consumo e utilização de milho, trigo e sorgo por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae). Revista Brasileira de Entomologia de São Paulo, 29(2): 225-60, 1985.
- DRAKE, E.L. & McEWEN, F.L. Pathology of a nuclear polyhedrosis of the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni* (Hubner). Journal of Insect Pathology, New York, 1(3): 281-93, 1959.
- DYAR, H.G. The number of molts of lepidopterous larvae. Psyche, Cambridge, 5: 420-2, 1890.
- EDELSON, J.V. & HYCHE, L.L. Insects associated with injury to deciduous tree seedlings growing in forest tree nurseries in Alabama. Journal of Economic Entomology, College Park, 73(5): 698-701, 1980.

EICHLIN, T.D. Guide to the adult and larval Plusiinae of California (Lepidoptera:Noctuidae). California State Department of Food and Agriculture, 1975. 73p. (Occasional Paper in Entomology, 21).

EICHLIN, T.D. & CUNNINGHAM, H.B. The Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) of America North of Mexico, emphasizing genitalia and larval morphology. Technical Bulletin. USDA, Washington, (1567):1-122, 1978.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E.; BURMOOD, D.T.; PENNINGTON, J.S. Stage of Development description for soybeans, *Glycine max* (L.) Merril. Crop Science, Madison, 11(6): 929-31, 1971.

FUXA, J.R. Susceptibility of lepidopterus pests to two types of mortality caused by the microsporidium *Vairimorpha necatrix*. Journal of Economic Entomology, College Park, 74(1): 99-102, 1981.

FUXA, J.R. Dispersion and spread of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (Moniliales:Moniliaceae) in a soybean field. Environmental Entomology, College Park, 13(1): :252-8, 1984.

- GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. de; CORSO, I.C.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; VILLAS BÔAS, G.L.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R. Manejo de pragas da soja. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1981. 44p. (Circular Técnica, 5).
- GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean Caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. Journal of Economic Entomology, College Park, 69(4): 487-8, 1976.
- GRISDALE, D. Large volume preparation and processing of a synthetic, diet for insect rearing. Canadian Entomologist, Ottawa, 105(12): 1553-7, 1973.
- HALL, I.M. Use of a polyhedrosis virus to control the Cabbage Looper on lettuce in California. Journal of Economic Entomology, College Park, 50(5): 551-3, 1957.
- HARDING, J.A. Seasonal occurrence, hosts, parasitism and parasites of Cabbage and Soybean Loopers in the Lower Rio Grande Valley. Environmental Entomology, College Park, 5(4): 672-4, 1976.

- HARPER, J.D. Cross-infectivity of six Plusiinae nuclear polyhedrosis virus isolates to Plusiinae host. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 27(2): 275-6, 1976.
- HARPER, J.D.; HERBERT, D.A.; HOORE, R.E. Trapping patterns of *Entomophthora gammae* (Weiser) (Entomophthorales:Entomophthoraceae) conidia in a soybean field infested with the soybean looper *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera:Noctuidae). Environmental Entomology, College Park, 13(5): 1186-90, 1984.
- HENNEBERRY, T.J. & KISHABA, A.N. Pupal size and mortality, longevity and reproduction of Cabbage Loopers reared at several densities. Journal of Economic Entomology, College Park, 59(6): 1490-3, 1966.
- ✶ HENSLEY, S.D.; NEWSON, L.D.; CHAPIN, J. Observations on the looper complex of the noctuid subfamily Plusiinae. Journal of Economic Entomology, College Park, 57(6): 1006-7, 1964.
- HENSLEY, S.D. & HAMMOND, A.H. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. Journal of Economic Entomology, College Park, 61(6): 1742-3, 1968.

HERZOG, D.C. Sampling Soybean Looper on soybean. In: KOGAN, M. & HERZOG, D.C., ed. Sampling methods in soybean entomology. New York, Springer-verlag, 1980. p.140-68.

HOFFMANN, C.B.; FOERSTER, L.A.; NEWMAN, G.G. Incidência estacional de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson em *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Plusia* spp. relacionada com fatores climáticos. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1. Londrina, 1978. Anais. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1979, V. 2, p.11-5.

HOFFMANN - CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, E.B. de; MOSCARDI, F. Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*) Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1985. 20p. (Documento, 10).

HORTON, D.L.; CARNER, G.R.; TURNIPSEED, S.G. Pesticide inhibition of the entomogenous fungus *Nomuraea rileyi* in soybeans. Environmental Entomology, College Park, 9(3): :304-8, 1980.

HUTCHINS, S.H. & PITRE, H.N. Effects of soybean row spacing on spray penetration and efficacy of insecticides applied with aerial and ground equipment. Environmental Entomology, College Park, 13(4): 948-53, 1984.

- IGNOFFO, C.M. A successful technique for mass-rearing Cabbage Loopers on a semisynthetic diet. Annals of the Entomological Society of America, Maryland, 56(2): 178-82, 1963.
- IGNOFFO, C.M. & GARCIA, C. Susceptibility of larvae of the Black cutworm to species of entomopathogenic bacteria, fungi, protozoa and viruses. Journal of Economic Entomology, College Park, 72(5): 767-9, 1979.
- IGNOFFO, C.M.; HOSTETER, D.L.; PINNELL, R.E.; GARCIA, C. Relative susceptibility of six soybean caterpillars to a standard preparation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. Journal of Economic Entomology, College Park, 70(1): 60-3, 1977.
- JENSEN, R.L.; NEWSON, L.D.; GIBBENS, J. The Soybean Looper; effects of adult nutrition on oviposition, mating frequency and longevity. Journal of Economic Entomology, College Park, 67(4): 467-70, 1974.
- JONES, D.; JONES, G. HAMMOCK, B.D. Growth parameters associated with endocrine events in larval *Trichoplusia ni* (Hübner) and timing of these events with development markers. Journal of Insect Physiology, Oxford, 27(11): 779-88, 1981.

- KHALSA, M.S.; KOGAN, M. LUCKMANN, W.H. *Autographa precationis* in relation to soybean: Life history, and food intake and utilization under controlled conditions. Environmental Entomology, College Park, 8(1): 117-122. 1979.
- KING, E.W. Effects of interspecific competition and dietary stress on the Velvetbean Caterpillar and the Soybean Looper. Journal of the Georgia Entomological Society, Tifton, 18(2): 176-81, 1983.
- KOGAN, M. Dynamics of insect adaptations to soybean: impact of Integrated Pest Management. Environmental Entomology, College Park, 10(3): 363-71, 1981.
- × KOGAN, M. & COPE, D. Feeding and nutrition of insects associated with soybeans. 3. Food intake, utilization and growth in the Soybean Looper, *Pseudoplusia includens*. Annals of the Entomological Society of America, Maryland, 67(1): 66-72, 1974.
- × KOGAN, M. & TURNIPSEED, S.G. Ecology and management of soybean arthropods. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 32: 507-38, 1987.

X KOGAN, M.; TURNIPSEED, S.G.; SHEPARD, M.; OLIVEIRA, E.B. de;
BORGIO, A. Pilot Insect Pest Management Program for soybean
in southern Brazil. Journal of Economic Entomology, Col-
lege Park, 70(5): 659-63, 1977.

LAMBERT, L. & KILEN, T.C. Influence of three soybean plant
genotypes and their F₁ intercrossees on the development of
five insect species. Journal of Economic Entomology,
College Park, 77(3): 622-5, 1984.

LEWIS, L.C.; LYNCH, R.E.; JACKSON, J.J. Pathology of a *Bacu-*
lovirus of the Alfalfa Looper, *Autographa californica*, in
the European Corn Borer *Ostrinia nubilalis*. Environmental
Entomology, College Park, 6(4): 535-7, 1977.

LIMA, A. da C. Insetos do Brasil, Lepidopteros. Rio de Ja-
neiro, Escola Nacional de Agronomia, 1945. Tomo 5, 1ª
parte.

LIVINGSTON, J.M.; McLEOD, P.J.; YEARIAN, W.C.; YOUNG, S.Y.
Laboratory and field evaluation of a Nuclear Polyhedrosis
Virus of the soybean Looper *Pseudoplusia includens*.
Journal of the Georgia Entomological Society, Tifton,
15(2): 134-9, 1980.

- LIVINGSTON, J.M. & YEARIAN, W.C. A Nuclear Polyhedrosis Virus of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera:Noctuidae). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 19(1): 107-12, 1972.
- LIVINGSTON, J.M.; YEARIAN, W.C.; YOUNG, S.Y. Effect of insecticides, fungicides, and insecticide-fungicide combinations on development of lepidopterous larval populations in soybean. Environmental Entomology, College Park, 7(6): : 823-8, 1978.
- MARTIN, P.B.; LINGREN, P.D.; GREENE, G.L. Relative abundance and host preferences of Cabbage Looper, Soybean Looper, Tobacco Budworm and Corn Earworm on crops grown in northern Florida. Environmental Entomology, College Park, 5(5): : 878-82, 1976.
- MASON, L.J. & MACK, T.P. Influence of temperature on oviposition and adult female longevity for the Soybean Looper, *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera:Noctuidae). Environmental Entomology, College Park, 13(2): 379-83, 1984.

McCUTCHEON, G.S. & TURNIPSEED, S.G. Parasites of Lepidopterous larvae in insect resistant and susceptible soybeans in South Carolina. Environmental Entomology, College Park, 10(1): 69-74, 1981.

McEWEN, F.L. & HERVEY, G.E. Mass rearing the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni*, with notes on its biology in the laboratory. Annals of the Entomological Society of America, Maryland, 53(2): 229-34, 1960.

McLEOD, P.J.; YOUNG, S.Y.; YEARIAN, W.C. Application of a Baculovirus of *Pseudoplusia includens* to soybean; efficacy and seasonal persistence. Environmental Entomology, College Park, 11(2): 412-6, 1982.

McMORRAN, A.R. A synthetic diet for the Spruce Budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). Canadian Entomology, Ottawa, 97(1): 58.62, 1965.

MENDES, A.C. Métodos de criação de parasitos da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., Campinas, 1980. Anais. Campinas, Fundação Cargill, 1980. p.103-32.

MIHSFELDT, L.H. Comparação de dietas artificiais para criação de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera-Pyralidae). Piracicaba, 1985. 120p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

MITCHEL, E.R. Life history of *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera:Noctuidae). Journal of the Georgia Entomological Society, Tifton ,2(2): 53-7, 1967.

MOHAMED, A.K.A.; BREWER, F.W.; BELL, J.V.; HAMALLE, R.J. Effect of *Nomuraea rileyi* on consumption and utilization of food by *Heliothis zea* larvae. Journal of the Georgia Entomological Society, Tifton ,17(3): 351-6, 1982.

MOSCARDI, F. Utilização de *Baculovirus anticarsia* sobre a lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis*. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1983. 21p. (Comunicado Técnico, 23).

MOSCARDI, F. Utilização de vírus para o controle da lagarta-da-soja. In: ALVES, S.B., ed. Controle Microbiano de Insetos. São Paulo, Manole, 1986. p.188-202.

MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. Consumo de área foliar de soja por lagartas de *Anticarsia gemmatalis* infectadas com *Baculovirus anticarsia*. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa de soja 1979/80. Londrina, 1980. EMBRAPA/CNPSo, p.159-61.

MOSCARDI, F. & CORSO, I.C. Influência do estágio larval de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) na suscetibilidade ao seu vírus de poliedrose nuclear. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Resultados de pesquisa de soja 1980/81. Londrina, 1981. p.458-65.

MOSCARDI, F. & CORRÊA-FERREIRA, B.S. Biological control of soybean caterpillars. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 3., 1985; proceedings, edited by R. SHIBLES. Boulder, Westview Press, 1985. p-703-11.

MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, E.B. de; BOUCIAS, D.G. Ocorrência de entomopatôgenos em lepidópteros que atacam a cultura da soja no Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 9, Londrina, 1984. Anais. Londrina, Sociedade Entomológica do Brasil, 1984. p.143.

NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R.A. Entomologia Econômica. Piracicaba. Livroceres, 1981. 314p.

NEWMAN, G.G. & CARNER, G.R. Diel periodicity of *Entomophthora gammae* in the Soybean Looper. Environmental Entomology, College Park, 3(5): 888-90, 1974.

NEWMAN, G.G. & CARNER, G.R. Disease incidence in Soybean Loopers collected by two sampling methods. Environmental Entomology, College Park, 4(2): 231-2, 1975a.

NEWMAN, G.G. & CARNER, G.R. Environmental factors affecting conidial sporulation and germination of *Entomophthora gammae*. Environmental Entomology, College Park, 4(4): 615-8, 1975b.

ORR, D.B. & BOETHEL, D.J. Comparative development of *Copidosoma truncatellum* (Hymenoptera:Encyrtidae) and its host, *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera:Noctuidae), on resistant and susceptible soybean genotypes. Environmental Entomology, College Park, 14(5): 612-6, 1985.

PALUDZYSZYN, E.; AYRES, A.P.; FREITAS, M.V. Caracterização dos estádios de desenvolvimento do girassol e sua relação com alguns parâmetros climáticos. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1984. 6p. (Comunicado Técnico, 29).

PANIZZI, A.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; NEUMAIER, N.; QUEIROZ, E.F. de. Efeitos da época de semeadura e do espaçamento entre fileiras na população de artrópodos associados à soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., Londrina, 1978. Anais. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1979. V.2, p.113-25.

PARRA, J.R.P. Biologia dos insetos. Piracicaba, ESALQ/Departamento de Entomologia, 1979. 383p. (Mimeografado).

PARRA, J.R.P. & KOGAN, M. Comparative analysis of methods for measurements of food intake and utilization using the soybean Looper, *Pseudoplusia includens* and artificial media. Entomologia Experimentalis et Applicata, Amsterdam, 30(4): 45-57, 1981.

- PARRA, J.R.P. & CARVALHO, S.M. de. Biologia e nutrição quantitativa de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em meios artificiais compostos de diferentes variedades de feijão. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Porto Alegre, 13(2): 305-19, 1984.
- PARRA, J.R.P. & HADDAD, M.L. Determinação do número de instares de insetos. Piracicaba, ESALQ/Depto de Entomologia, 1983. 30p. (Mimeografado),
- PARRA, J.R.P.; ALMEIDA, L.C.; SILVA, W.; BOTELHO, P.S.M. Aspectos biológicos de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) em dietas artificiais contendo diferentes mutantes de milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10, Rio de Janeiro, 1986. Anais. Rio de Janeiro, Sociedade Entomológica do Brasil, 1986. p.30.
- PASCHKE, J.D. & SWEET, H.A. The pathology of a nuclear polyhedrosis of *Rachiplusia ou* (Guenée) (Lepidoptera:Noctuidae). Journal of Invertebrate Pathology, New York, 8(1): 1-7, 1966.
- PAVAN, O.H.O. & BOUCIAS, D.G. Vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* Hübner; métodos de inoculação e especificidade. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., Brasília, 1981. Anais. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1981. p.191-7,

POITOUT, S. & BUES, R. Élevage de plusieurs espèces de lepidopteres Noctuidae sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. Annales de Zoologia-Ecologie, Paris, 2(1): 79-81, 1970.

PRADO, P.C.N. do; CUNHA, H.F. da & SILVA, A.L. da. Ocorrência dos principais insetos pragas da soja e seus inimigos naturais em Santa Helena de Goiás, GO. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2, Brasília, 1981. Anais. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1981. V.2., p.111-39.

REED, T.; SHEPARD, M.; TURNIPSEED, S.G. Assessment of the impact of arthropod predators on noctuid larvae in cages in soybean fields. Environmental Entomology, College Park, 13(4): 954-61, 1984.

REID, J.C. & GREENE, G.L. The Soybean Looper; pupal weight, development time and consumption of soybean foliage. Florida Entomologist, Gainesville, 56(3): 203-6, 1973.

REYNOLDS, G.N.; SMITH, C.M.; KESTER, K.M. Reductions in consumption, utilization and growth rate of soybean Looper (Lepidoptera:Noctuidae) larvae fed foliage of soybean genotype PI 227687. Journal of Economic Entomology, College Park, 77(6): 1371-5, 1984.

- RICHMAN, D.B.; HEMENWAY, R.C.; WHITCOMB, W.H. Field cage evaluation of predators of the Soybean Looper, *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera:Noctuidae). Environmental Entomology, College Park, 9(3): 315-7, 1980.
- SALVADORI, J.R. & GOMEZ, S.A. Abundância estacional de insetos pragas de soja e seus inimigos naturais em Dourados, MS. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 2., Brasília, 1981. Anais. Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 1981. V.2, p.17-50.
- SAREEN, V.; RATHORE, Y.S.; BHATTACHARYA, A.K. Influence of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on the food utilization of *Spodoptera litura* (Fabricius). Zeitschrift fur Angewandte Entomologie, Berlin, 95(3): 253-8, 1983.
- SHEPARD, M.; CARNER, G.R.; TURNIPSEED, S.G. Colonization and resurgence of insect pests of soybean in response to insecticides and field isolation. Environmental Entomology, College Park, 6(4): 501-6, 1977.
- SHOREY, H.H. A simple artificial rearing medium for the Cabbage Looper. Journal of Economic Entomology, College Park, 56(4): 536-7, 1963.

- SHOREY, H.H. & HALE, R.L. Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. Journal of Economic Entomology, College Park, 58(3): 522-4, 1965.
- SHOREY, H.H.; ANDRES, L.A.; HALE, R.L. The biology of *Trichoplusia ni* (Lepidoptera:Noctuidae). I. Life history and behavior. Annals of the Entomological Society of America, Maryland, 55(5): 591-7, 1962.
- SHOUR, M.H. & SPARKS, T.C. Biology of the Soybean Looper, *Pseudoplusia includens*; Characterization of last-stage larvae. Annals of the Entomological Society of America, Maryland, 74(6): 531-5, 1981.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. Manual de Ecologia dos Insetos. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1976. 419p.
- SIMPSON, S.J. & ABISGOLD, J.D. Compensation by locusts for changes in dietary nutrients; behavioural mechanisms. Physiological Entomology, Oxford, 10(4): 443-52, 1985.
- SINGH, P. Artificial diets for insects, mites and spiders. New York, IFI/Plenum, 1977. 594p.

SINGH, P. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Insect Science and its Application, Elmsford, 4(4): 357-62, 1983.

SINGH, P. & MOORE, R.F. Handbook of Insect Rearing. Introduction. In: SINGH, P. & MOORE, R.F. Handbook of Insect Rearing. Amsterdam, Elsevier Science, 1985. p.7

SMITH, C.M. Expression, mechanisms and chemistry of resistance in soybean, *Glycine max* L. (Merr.), to the Soybean Looper, *Pseudoplusia includens* (Walker). Insect Science Application, London, 6(3): 243-8, 1985.

SMITH, C.M. & GILMAN, D.F. Comparative resistance of multiple insect-resistant soybean genotypes to the Soybean Looper. Journal of Economic Entomology, College Park, 74(4): 400-3, 1981.

SMITH, K.M. Insect Virology. New York, Academic Press, 1967. p.6.

SPRENKEL, R.K.; BROOKS, W.M.; VAN DUYN, J.W. DEITZ, L.L. The effects of three cultural variables on the incidence of *Nomuraea rileyi*, phytophagous Lepidoptera, and their predators on soybeans. Environmental Entomology, College Park, 8(2): 334-9, 1979.

TACHEL, G.M. The effects of a granulosis virus infection and temperature on the food consumption of *Pieris rapae* (Lep.:Pieridae). Entomophaga, Paris, 26(3): 291-9, 1981.

THORVILSON, H.G.; PEDIGO, L.P.; LEWIS, L.C. Soybean leaf consumption by *Nomuraea rileyi* (Fungi:Deuteromycotina). Infected *Plathypena scabra* (Lepidoptera:Noctuidae) larvae. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 46(3): 265-71, 1985.

VAIL, P.V.; HENNEBERRY, T.J.; KISHABA, A.N.; ARAKAWA, K.Y. Sodium hypochlorite and formalin as antiviral agents against nuclear polyhedrosis virus in larvae of the Cabbage Looper. Journal of Invertebrate Pathology, New York, 10(1): 84-93, 1968.

VAIL, P.V.; ANDEILSON, S.J.; JAY, D.L. New procedures for rearing cabbage loopers and other lepidopterous larvae for propagation of nuclear polyhedrosis viruses. Environmental Entomology, College Park, 2(3): 339-44, 1973.

VENDRAMIN, J.D.; SOUZA, A.R.R.; PARRA, J.R.P. Ciclo biológico de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas com diferentes tipos de celulose. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Jaboticabal, 11(1): 3-11, 1982.

YOUNG, S.Y. & YEARIAN, W.C. Soil application of *Pseudoplusia* NPV. Persistence and incidence of infection in Soybean Looper caged on soybean. Environmental Entomology, College Park, 8(5): 860-4, 1979.

YOUNG, S.Y. & YEARIAN, W.C. Nuclear polyhedrosis virus infection of *Pseudoplusia includens* (Lep.:Noctuidae) larvae effect on post larval stages and transmission. Entomophaga, Paris, 27(1): 61-6, 1982.

ZONTA, R.C.C. Consumo e utilização do alimento por larvas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera:Noctuidae), infectada com vírus de poliedrose nuclear (VPN) e *Nomuraea riley*. (Farlow) Samson. Curitiba, 1987. 125 p. (Mestrado Universidade Federal do Paraná).