

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE
AGROPECUÁRIA

Consumo alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Noctuidae) alimentada com folhas de soja, submetidas à herbivoria prévia

Autor: Ricardo Dias Peruca
Orientadora: Dra. Antonia Railda Roel



Campo Grande
Mato Grosso do Sul
Março de 2015

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA

Consumo alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Noctuidae) alimentada com folhas de soja, submetidas à herbivoria prévia

Autor: Ricardo Dias Peruca
Orientadora: Dra. Antonia Railda Roel

"Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SUSTENTABILIDADE AGROPECUÁRIA, no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária da Universidade Católica Dom Bosco - Área de concentração: Sustentabilidade Ambiental e Produtiva Aplicada ao Agronegócio e Produção Sustentável".

Campo Grande
Mato Grosso do Sul
Março-2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca da Universidade Católica Dom Bosco – UCDB, Campo Grande, MS, Brasil)

P471c Peruca, Ricardo Dias

Consumo alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith, 1797) (Noctuidae) alimentadas com folhas de soja, submetidas à herbívoría prévia / Ricardo Dias Peruca; orientação Antonia Railda Roel -- 2015.

106 f. + anexos

Dissertação (mestrado em ciências ambientais e sustentabilidade agropecuária) – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande,5.

1. *Spodoptera frugiperda* 2. Pragas – Controle biológico 3. Soja - Cultura 4. Plantas transgênicas 5. Biotecnologia I. Roel, Antonia Railda
II. Título

CDD –632.7



UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
Valorizando talentos

Consumo alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Noctuidae) alimentadas com folhas de soja, submetidas à herbivoria prévia.

Autor: Ricardo Dias Peruca

Orientadora: Profa. Dra. Antonia Railda Roel

Coorientadora: Profa. Dra. Glaucia Braz Alcântara

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária
Área de concentração: Sustentabilidade Ambiental e Produtiva

APROVADO em 06 de março de 2015.

Profa. Dra. Antonia Railda Roel - UCDB
(Orientadora)

Prof. Dr. Lucas Castro Torres - UCDB

Prof. Dr. Silvio Favero - UNIDERP

Prof. Dr. Artur Campos Dália Maia - UCDB

Aos meus pais, Arlindo e Judith pelo sacrifício, amor e dedicação durante toda minha vida.

A minhas irmãs Ana Cristina e Alessandra pela grande amizade e amor.

Ofereço

Com amor e carinho, à minha Esposa Daniela e minha filha Beatriz pelo incentivo, compreensão, paciência e companheirismo em todos os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A professora Dra Antonia Railda Roel pela oportunidade de me orientar, pelos ensinamentos, apoio, paciência e pelo bom exemplo de professora-pesquisadora que é para mim.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária, pela oportunidade de eu cursar um mestrado e a todos os meus professores, pelos ensinamentos e exemplos de profissionais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos Programa de Suporte à Pós-graduação de Instituições de Ensino Particulares (Prosup).

A Professora Karla R. A. Porto, pelas orientações, sugestões, conversas e ser um exemplo de professora e pesquisadora.

Aos membros da banca Dr. Silvio Favero, Dr. Artur Campos Dália Maia e Dr. Lucas Castro pelas contribuições para a melhoria do trabalho.

A Dra. Fabrícia Zimmermann Vilela Torres pela colaboração no trabalho com sugestões.

À Universidade Católica Dom Bosco e em especial ao laboratório de Entomologia, pelo apoio logístico, para a execução da pesquisa.

Aos meus colegas do laboratório de Entomologia (Jonathan, Mateus, Renato, Rafael, Luiz Ricardo, Alexandra, Suelen, Priscila, Larissa) pela contribuição na realização do trabalho, e por tornarem a minha rotina de laboratório mais agradável e feliz.

Aos funcionários do Instituto São Vicente pelo apoio e assistência na condução dos experimentos em especial a Digelson Pazeto Moraes

A todos os meus colegas da turma do Mestrado pela convivência durante as disciplinas, pela amizade e por me auxiliarem em vários momentos.

A todos que colaboraram na concretização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	13
INTRODUÇÃO	15
OBJETIVOS.....	17
Objetivos específicos.....	17
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
Importância de <i>Spodoptera frugiperda</i> no Brasil e mundo.....	18
Biologia de <i>S. frugiperda</i>	20
Consumo foliar e nutrição de <i>S. frugiperda</i>	22
Controle de <i>S. frugiperda</i>	24
Metabólitos secundários nas plantas.....	26
As fitoalexinas	27
Efeito de metabólitos secundários nos insetos.....	29
Referências citadas	32
CAPITULO I CONSUMO ALIMENTAR E BIOLOGIA DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (NOCTUIDAE) ALIMENTADA COM FOLHAS DE SOJAS SUBMETIDA À HERBIVORIA PRÉVIA.....	39
RESUMO	41
ABSTRACT	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAL E MÉTODOS	46
Criação de <i>S. frugiperda</i>	46
Em casa-de-vegetação.....	46

Consumo foliar	47
Avaliação da mortalidade, biologia e reprodução	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS CITADAS	56
CAPITULO II BIOLOGIA DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (NOCTUIDAE) ALIMENTADA COM FOLHAS DE SOJA TRANSGÊNICA Bt, DM 6563 RSF IPRO SUBMETIDA À HERBIVORIA PRÉVIA.....	60
RESUMO	62
ABSTRACT.....	63
INTRODUÇÃO.....	64
MATERIAL E MÉTODOS	66
Criação de <i>S. frugiperda</i>	66
Em casa-de-vegetação.....	66
Consumo foliar	67
Avaliação de mortalidade, biologia e reprodução	68
RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS CITADAS	76
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79
FIGURAS DO APÊNDICE	81
NORMAS DA REVISTA.....	83

LISTA DE TABELAS

Página

CAPITULO I

Tabela 1 Área foliar (cm²) ($X \pm EP$) consumida por lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de soja cultivar BRS 284 após injúria mecânica e herbivoria prévia, durante 24 horas a $25 \pm 2^{\circ}C$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....50

Tabela 2 Duração das fases larval, pupal e peso de pupas de *S. frugiperda* ($X \pm EP$) alimentadas com soja cultivar BRS 284 a $25 \pm 2^{\circ}C$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....52

Tabela 3 Número médio de ovos, número médio de ovos viáveis ($X \pm EP$), viabilidade de ovos e razão sexual de *S. frugiperda* alimentadas com soja cultivar BRS 284 a $25 \pm 2^{\circ}C$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....53

Tabela 4 Duração Viabilidade pupal e larval de *S. frugiperda* em tratamentos com injúria mecânica e herbivoria prévia em soja BRS 284 a $25 \pm 2^{\circ}C$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....54

CAPITULO II

Tabela 1 Área foliar (cm²) consumida ($X \pm EP$) por lagartas de *S. frugiperda* em tratamentos com injúria mecânica e herbivoria prévia em soja cultivar DM 6563 RSF IPRO a $25 \pm 2^{\circ}C$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....70

Tabela 2 Duração das fases larval, pupal e peso de pupas de *S. frugiperda* ($X \pm EP$) alimentadas com soja cultivar DM 6563 RSF IPRO, $25 \pm 2^{\circ}C$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....72

Tabela 3 Número médio de ovos, número médio de ovos viáveis ($X \pm EP$), viabilidade de ovos e razão sexual de *S. frugiperda* alimentadas com soja cultivar DM 6563 RSF IPRO a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.73

Tabela 4 Viabilidade pupal e larval de *S. frugiperda* em tratamentos com injúria mecânica e herbivoria prévia em soja cultivar DM 6563 RSF IPRO a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.....73

LISTA DE ABREVIATURAS

% - Porcentagem

°C – Graus Celsius

ANOVA – Análise de Variância

Bt - *Bacillus thuringiensis*

cm - Centímetros

cm²– Centímetros quadrado

CONAB –Companhia Nacional de Abastecimento

CTNBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança

CV % – Coeficiente de Variação

FAL - Fenilalanina amônia-liase

g– Gramas

mg – Miligrama

ml– Mililitros

mm - Milímetro

MS - Mato Grosso do Sul

n – Número

NUPESVI - Núcleo de Pesquisa São Vicente

p >– Probabilidade

PVC - Policloreto de polivinila

R5 - Início do enchimento das sementes

R6 - Pleno enchimento das vagens

S - Sul

SIARCS – Sistema Integrado para Análise de Raízes e Cobertura do Solo

spp - Várias espécies do gênero

UCDB – Universidade Católica Dom Bosco

UFMS – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul

W - Oeste

FIGURAS DO APÊNDICE

	Página
Figura 1 <i>S. frugiperda</i> sendo colocadas nas gaiolas no tratamento pós-herbivoria.....	81
Figura 2 Trifólio de soja sofrendo herbivoria de <i>S. frugiperda</i> em casa-de-vegetação	81
Figura 3 Folíolos de soja sendo fotografados para calculo da área foliar consumida	82
Figura 4 Gaiolas com casais de <i>S. frugiperda</i> para avaliação de reprodução .	82

RESUMO

Atualmente com o aumento do plantio de milho geneticamente modificado resistente à *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Noctuidae), as lavouras de soja têm sido atacadas por esta espécie. Provavelmente devido à intensa exposição dessa cultura à pressão populacional desse inseto. Objetivou-se, por meio desta pesquisa, verificar a influência da herbivoria prévia em planta de soja por meio de ensaios biológicos no desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentadas com folhas submetidas a herbivoria prévia da mesma espécie. Em casa-de-vegetação cultivares DM 6563 RSF IPRO e BRS 284 foram plantadas em vasos e utilizadas no estágio vegetativo V6 nos tratamentos: controle, injúria mecânica (folhas de plantas de soja submetidas a injúria mecânica) e pós-herbivoria (folhas de plantas de soja submetidas a herbivoria). Para a herbivoria em plantas de soja se utilizou lagartas do 3º/4º instar, obtidas da criação estoque. Em laboratório lagartas foram alimentadas com folíolos de soja, oriundas da casa de vegetação, em seis tratamentos: controle, após injúria mecânica e pós-herbivoria, das duas variedades plantadas, em 25 repetições nos tratamentos de avaliação de consumo foliar e 50 repetições por tratamento de avaliação do efeito biológico. Analisou-se assim o consumo foliar, mortalidade das fases de lagarta e pupa, duração larval e pupal, peso de pupa, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos. Concluiu-se que *S. frugiperda* alimentadas com folhas de soja DM 6563 RSF IPRO apresentam redução na viabilidade larval e pupal, aumento na duração larval e pupal, menor peso pupal e diminuição da viabilidade de ovos nos tratamentos pós-herbivoria. No entanto, na variedade BRS 284 observa-se maior redução na viabilidade larval, aumento de duração larval e diminuição do peso de pupa e consumo no tratamento após herbivoria prévia quando se compara ao controle, o que sugere maior capacidade de defesa da planta após o ataque da lagarta.

Palavras-chave: Insecta, lagarta-do-cartucho, soja transgênica Bt, resistência induzida.

ABSTRACT

With the increased planting of genetically modified maize resistant to *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Noctuidae), soybean crops have been currently attacked by this species – probably because of this culture's intense exposure to the pressure of the insect's population. This research aimed at checking, through biological testing, the influence of previous herbivory in soybean plants on the development of *S. frugiperda* fed on leaves subjected to previous herbivory of the same species. In a greenhouse, DM 6563 RSF IPRO and BRS 284 cultivars were planted in pots and used in the V6 vegetative stage in the following treatments: control, mechanical injury (soybean leaves subjected to mechanical injury), and post-herbivory injury (soybean leaves subjected to herbivory injury). For herbivory in soybean plants the study made use of 3rd / 4th-instar caterpillars from the rearing stock. In laboratory caterpillars were fed with soybean leaflets from the greenhouse in 6 treatments: control, post-mechanical injury and post-herbivory injury of both varieties planted, with 25 repetitions of the evaluation of leaf consumption and 50 repetitions of the evaluation of the biological effect. Thus, the study analyzed leaf consumption, mortality in caterpillar and pupal stages, larval and pupal lifetime, pupal weight, number of eggs per female, and egg viability. It was concluded that *S. frugiperda* fed with DM 6563 RSF IPRO soybean leaves displayed reduction in larval and pupal viability, increase in larval and pupal lifetimes, lower weight, and reduced egg viability in post-herbivory treatments. However, in the BRS 284 variety there was greater reduction in larval viability, increased larval lifetime, decreased pupal weight and consumption in the treatment after previous herbivory injury when compared to the control group, suggesting greater plant defense response after the caterpillars' attack.

Keywords: Insect, fall armyworm, Bt transgenic soybeans, induced resistance.

INTRODUÇÃO

No Brasil a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) apesar de ser uma praga preferencial do milho, encontra-se registrada em várias regiões produtoras de soja. A espécie destaca-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro, milho e soja (Pogue 2002, Capinera 2008). Sua ocorrência em soja vem aumentando principalmente em função da diversidade de hospedeiros e provavelmente pelo aumento de plantio de cultivares de milho transgênico.

O controle de *S. frugiperda* frequentemente é feito por meio de inseticidas químicos sintéticos. Este método de controle tem sido empregado na agricultura com frequência e relativo sucesso. No entanto, pode provocar contaminação ambiental, presença de resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre inimigos naturais e seleção de populações de insetos resistentes.

Outros métodos de controle têm sido investigados, como por meio de substâncias secundárias produzidas como defesa da própria planta. Produtos naturais liberados pelas plantas, as fitoalexinas, conferem defesa natural destas aos seus herbívoros. A síntese de fitoalexinas constitui uma das mais rápidas e dramáticas respostas metabólicas das plantas sendo amplamente estudada.

As fitoalexinas são definidas como compostos antimicrobianos de baixa massa molecular, sintetizadas e acumuladas nas plantas após estresses físicos, químicos ou biológicos, como o contato com microrganismos. Acredita-se que a maioria das plantas seja capaz de sintetizar fitoalexinas, mais algumas fazem de maneira muito lenta, permitindo que o microrganismo complete a infecção antes que haja acúmulo dessas substâncias em quantidades suficientes para inibi-lá.

A análise da produção dessas substâncias de defesa representa uma oportunidade única de estudar eventos metabólicos e novas rotas de biossíntese de produtos naturais e de compreender como os vegetais, que são organismos sésseis,

resistem ao ataque de microrganismos e pragas e sobrevivem num ambiente altamente competitivo.

Conhecer a resposta química e o efeito destes nos herbívoros é assim uma informação importante para o desenvolvimento de estratégias de resistência de plantas e controle de insetos pragas. Paralelamente aos estudos químicos, os estudos dos efeitos biológicos auxiliam e comprovam a presença destas após a herbivoria. Objetiva-se, assim, determinar a resposta das plantas de soja pós-herbivoria, no consumo, desenvolvimento, mortalidade e reprodução de *S. frugiperda*, em variedades transgênica Bt e não transgênica.

OBJETIVOS

Objetivou-se por meio desta pesquisa verificar a influência da herbivoria prévia em plantas de soja através de ensaios biológicos no desenvolvimento, fertilidade, mortalidade e consumo foliar de *S. frugiperda* alimentada com folhas submetidas à herbivoria prévia da mesma espécie, em variedade transgênica Bt e em convencional (não Bt).

Objetivos específicos

- Avaliar o índice de mortalidade das diferentes fases de desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentadas com folíolos de soja cultivar transgênica Bt e não transgênica submetidas à herbívora prévia.
- Avaliar o consumo foliar de *S. frugiperda* alimentada com folíolos de soja cultivar transgênica Bt e não transgênica submetidas à herbívora prévia.
- Avaliar o desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentada com folíolos de soja cultivar transgênica Bt e não transgênica submetidas à herbívora prévia.
- Avaliar o desenvolvimento reprodutivo com os parâmetros de fertilidade e viabilidade de ovos de *S. frugiperda* alimentada com folíolos de soja cultivar transgênica Bt e não transgênica submetidas à herbívora prévia.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Importância de *Spodoptera frugiperda* no Brasil e mundo

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é migratória e endêmica no Hemisfério Ocidental, sendo a cultura do milho o seu principal hospedeiro. O sucesso de *S. frugiperda* como praga é consequência da elevada capacidade de dispersão dos adultos ao longo da faixa de distribuição de suas plantas hospedeiras (Sparks 1979). De acordo com Moscardi et al. (2012) como desfolhadoras, as lagartas de *Spodoptera* spp. têm grande importância econômica devido à sua voracidade.

Recentemente, ataques severos de lagartas às vagens foram relatados em várias regiões do Brasil. Entre estas lagartas, espécies de *Spodoptera* assumem importância cada vez maior na cultura da soja (Bueno et al. 2010). Em algumas áreas de soja do sul do Brasil, foi verificada a ocorrência de grandes populações de lagartas-pretas (*Spodoptera* spp.) em estádios reprodutivos R5 e R6 de soja, com desfolha e em alguns casos ataques às vagens (Guedes et al. 2011).

Na região central do Brasil, observa-se importância crescente do complexo de lagartas que atacam as vagens da soja como *Spodoptera* spp. e *Heliothis virescens* (Fabricius 1777) (Noctuidae), que tradicionalmente ocorriam em cultivos de milho e algodão (Conte et al. 2014). Em condições de altas densidades populacionais, essas espécies podem causar perdas severas de 70% na produção. Essas perdas severas ocorrem principalmente quando a cultura é implantada em épocas favoráveis ao aparecimento deste inseto (Valicente et al. 2010).

Ataques de *Spodoptera* spp. podem ocorrer em plantas recém-germinadas, quando lagartas de ínstares mais avançados cortam as plantas rente ao solo. Elas

causam redução de estande semelhante ao ataque da lagarta-rosca *Agrotis ipsilon* (Hufnagel 1767) (Noctuidae) (Moscardi et al. 2012). O ataque às plântulas de soja no início do desenvolvimento é realizado principalmente por *S. frugiperda* (Sosa-Gómez et al. 1993).

O plantio em áreas próximas de diferentes culturas com fenologias distintas, como soja, milho e algodão, cultivados no verão, e de plantas de cobertura na entressafra, como o milheto, pode favorecer o movimento de *S. frugiperda* entre os cultivos (Nagoshi 2009). Esse fato pode ser a causa da ocorrência mais frequente da praga em culturas onde anteriormente era considerada praga esporádica ou secundária (Barros et al. 2010).

Lagartas do gênero *Spodoptera* eventualmente são encontradas na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) (Sosa-Gómez et al. 1993). Em soja os ataques de *S. frugiperda* são mais frequentes a plântulas devido à presença de lagartas na palhada. Os ataques mais intensos a cultura da soja têm ocorrido em áreas de cultivo no Cerrado, geralmente associados a períodos ou anos mais secos e/ou épocas de menor precipitação. Ademais, em soja a presença de gramíneas invasoras (ex. papuã (*Brachiaria* spp.) e milhã (*Digitaria* spp.) pode ocasionar o surgimento de elevadas populações de *S. frugiperda* (Bernardi 2012).

Seus surtos têm ocasionado perdas significativas em culturas como algodão, soja e solanáceas (Luginbill 1928, Latorre 1990, Capinera 2002, Bastos e Torres 2004), além de utilizar hospedeiros alternativos para se manter nos agroecossistemas.

De maneira geral, por reduzir a área foliar, as plantas de soja podem ter sua produtividade comprometida. A gravidade varia em função do percentual de desfolhamento, tempo de permanência da injúria ou ainda o estágio fenológico da planta (vegetativo ou reprodutivo). Quando não se manejam corretamente os insetos desfolhadores, estes podem causar níveis de desfolhamento além da capacidade de tolerância da planta e danos significativos à lavoura. Neste contexto, para que o manejo integrado dessas pragas seja realizado corretamente, é preciso primeiramente conhecê-las (Moscardi et al. 2012).

Para que as culturas não sofram com os ataques de pragas, é cada vez mais importante realizar o monitoramento, pois sem este, as perdas, em função da alimentação de *S. frugiperda* na soja, mesmo esta não sendo um hospedeiro preferencial (Silva 1998), podem ser irreparáveis, além do fato de que as lagartas

sobreviventes podem migrar para o milho, que é um dos componentes do sistema de produção em terras baixas, causando grande prejuízo, já que o milho é hospedeiro preferencial de *S. frugiperda*, independente do biótipo (Busato et al. 2004).

Biologia de *S. frugiperda*

Dew (1913) estudou o desenvolvimento biológico de *S. frugiperda* em folhas de milho e algodoeiro, à temperatura de 25°C. O autor observou que as posturas possuíam, em média, de 160 a 170 ovos. O período de incubação foi de três dias, a fase larval teve uma duração de 14 dias, a fase de pupa de dez dias, com ciclo total completado em 30 dias.

As larvas tipo eruciformes, ou lagartas, recém eclodidas medem cerca de 1,0 a 1,5 mm de comprimento, apresentam coloração branco-creme com cabeça e cerdas pretas e alimentam-se de maneira gregária (Leigh et al. 1996, Gondim et al. 1999). As lagartas mais novas consomem tecidos de folha de um só lado, deixando a epiderme oposta intacta. A lagarta passa por seis instares, sendo que a duração média do período larval é de 15 a 25 dias, dependendo da temperatura. Depois do segundo ou terceiro instar, as larvas começam a fazer buracos nas folhas, se alimentado em seguida do cartucho das plantas de milho, produzindo assim uma característica fileira de perfurações nas folhas. A densidade de larvas no cartucho é reduzida devido ao comportamento canibal deste inseto. Seu ciclo de vida é completado em 30 dias em condições de laboratório e o número de ovos pode variar de 100 a 200 por postura/fêmea, sendo que um total de 1.500 a 2.000 ovos pode ser colocado por uma única fêmea. A lagarta pode atingir mais de 2,5 cm de comprimento e a fase de pupa ocorre no solo (Valicente e Tuelher 2009).

Os ovos dessa espécie provenientes da criação de manutenção em dieta artificial apresentaram um período de incubação de dois dias (Giolo et al. 2002). Vendramin e Fancelli (1988) em experimentos visando verificar o efeito de diferentes genótipos de milho na biologia de *S. frugiperda*, observou um período de 2,6 a 3

dias. Em temperaturas menores que 22°C, este período pode variar de 4 a 5 dias, conforme mostraram as pesquisas de Revelo e Raun (1964).

Levantamentos efetuados em soja por Pansera-de-Araújo et al. (1999) mostraram que a distribuição de ovos para algumas espécies de Noctuidae diferem com relação à região da planta e espécie de inseto. *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818) (Noctuidae) e *Spodoptera latifascia* (Walker 1856) (Noctuidae) preferiram ovipositar na região média da planta, enquanto que *Rachiplusia nu* (Guenée 1852) (Noctuidae) preferiu a região superior e *Chrysodeixis includens* (Walker 1858) (Noctuidae) a região inferior.

A observação de oviposição em locais fora do hospedeiro bem como à alta mobilidade das lagartas suporta a hipótese de ausência de preferência hospedeira (Barros et al. 2010).

Larvas neonatas de *S. frugiperda* produzem um fio de seda pelo qual ficam penduradas para permitir sua dispersão para plantas vizinhas, reduzindo assim a futura competição e aumentando a exploração de recursos nas proximidades do local de oviposição. O fenômeno é conhecido como *silking*, quando apenas se deixam cair pelo fio, ou *balloning*, quando são levadas pelo vento (Zalucki et al. 2002, Moore e Hanks 2004).

O período pupal varia de 10 a 12 dias, terminando com a emergência do adulto. O adulto de *S. frugiperda* é uma mariposa com 25 mm de comprimento e cerca de 30 a 35 mm de envergadura. Os machos apresentam asas anteriores marrom-acinzentadas, orbiculares, cobertas por uma faixa branca larga e transversal, que alcança o meio da asa, além de uma mancha reniforme demarcada de branco e outra apical também branca, com faixa subterminal nítida. Nas fêmeas, as asas apresentam a mesma coloração dos machos, com as manchas orbiculares e reniformes, delineadas de branco. As asas posteriores são esbranquiçadas e hialinas nos dois sexos (Zucchi et al. 1993).

Ocorre dimorfismo sexual dos adultos, ou seja, as fêmeas são maiores, não possuem as pintas pretas nas asas, típicas dos machos e a cópula ocorre à noite (Pinto et al. 2004).

Consumo foliar e nutrição de *S. frugiperda*

Panizzi e Parra (2009) destacam a importância das características físicas e estruturais das folhas para definir as relações alimentares do inseto. A dureza da folhas dificulta a ingestão, impedindo a movimentação das mandíbulas (Lucas et al. 2000). O conteúdo alto de hemicelulose no milho explica parcialmente a resistência contra lagartas-do-cartucho recém eclodidas (Hedin et al. 1990).

A qualidade nutricional da folha geralmente muda com a idade, e o mais comum é que os conteúdos de água e nitrogênio diminuam, e que o conteúdo das fibras e dureza aumente conforme aumenta a idade da folha (Mattson 1980, Scriber e Slansky Junior 1981). Visto isso os insetos herbívoros crescem mais, sobrevivem em maior número e aumentam seu peso quando se alimentam de folhas mais jovens (Schewitzer 1979, Dodds et al. 1996).

O nitrogênio e o conteúdo de água são determinantes para a performance das lagartas especialmente para as recém-eclodidas (Mattson e Scriber 1987). Segundo Hedin et al. (1990) o conteúdo de aminoácidos é mais importante para a sobrevivência do primeiro instar de *S. frugiperda* do que a quantidade das toxinas presentes no milho. Porém, a importância dos compostos secundários das plantas para maior ou menor sucesso das lagartas em suas folhas é indiscutível. De acordo com Zaluck et al. (2002) as lagartas jovens são ainda mais sensíveis às defesas químicas das plantas.

Segundo Lordello et al. (1980) nem sempre plantas mais novas ou no estágio de *seedlings* são mais suscetíveis aos insetos do que plantas num estágio mais desenvolvido. Em muitos casos tem-se observado um comportamento inverso. Morrill Greene (1974) sugerem que a lagarta do cartucho do milho não se desenvolve bem em plantas de milho no início de desenvolvimento, ocorrendo baixa porcentagem de sobrevivência das lagartas quando criadas em plantas no estágio de três folhas com bainha visível, em relação a plantas com cinco ou seis folhas.

Barros et al. (2010) mostraram que o sucesso de colonização do algodoeiro por lagartas de *S. frugiperda* depende de sua habilidade em sobreviver inicialmente alimentando-se de folhas, dada a presença de compostos de defesa contra a herbivoria, como o gossipol. Esse composto está presente predominantemente nas estruturas verdes da planta e afeta o aproveitamento nutricional da planta pelo herbívoro (Montandon et al. 1987, Stipanovic et al. 2006). Adicionalmente, apesar de o conteúdo de gossipol ser menor nas maçãs do que nas folhas, a casca da maçã funciona como barreira física contra lagartas neonatas, limitando sua colonização (Barros et al. 2010).

Em trabalhos sobre competição (Wasti e Hartmann 1975, Amano 1983, Sigurjonsdottir 1984) autores de mostraram que há alguns problemas esperados em situações de falta de recursos, como o aumento da mortalidade, a diminuição do volume ou o tamanho pupal e a diminuição do tamanho do adulto. Porém existem outros efeitos variados, tais como o aumento do tempo de desenvolvimento, a sobrevivência sexual diferenciada ou mesmo a redução do tamanho mais evidente no macho ou fêmea, entre outros.

A infestação por microrganismos, algumas vezes também podem alterar a qualidade do hospedeiro para lagartas (Wilson et al. 2000). Podendo os patógenos ter mais efeito para as lagartas mais jovens. Lagartas do primeiro instar de *S. frugiperda* têm preferência por folhas intactas de *Festuca arundinacea* do que por folhas infestadas por fungos *Acremonium loliae* (Hardy et al. 1985).

Em alguns lepidópteros, como *S. frugiperda*, o canibalismo é um comportamento típico da espécie (Escalante 1974, Raffa 1987, Nalim 1991). Nalim (1991) estudando populações de *S. frugiperda* em duas dietas artificiais concluiu que ocorre canibalismo em lagartas criadas em dietas naturais e artificiais e o comportamento é inversamente correlacionado com a qualidade nutricional do alimento.

Uma função interessante do canibalismo é a diminuição do risco de ataque por predadores e parasitóides observado em imaturos de *S. frugiperda*. Esse comportamento canibal causa diminuição da densidade de imaturos e quanto menor o número de imaturos existentes, menor o risco de predação e de parasitismo (Chapman et al. 2000)

Avaliando o efeito de alguns substratos no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*, à temperatura de 25°C, Pitre e Hogg (1983) observaram que lagartas

alimentadas em folhas de algodoeiro e soja apresentaram desenvolvimento mais longo e as pupas apresentaram menor peso do que aquelas alimentadas em folhas de milho.

Embora seja possível manter ininterruptamente os insetos durante o ano todo em alimento natural, é exigida excessiva mão-de-obra para manipulação do material biológico e das espécies vegetais utilizadas na alimentação dos insetos. Uma alternativa é a utilização de dietas artificiais, que além de proporcionarem uma adequada nutrição dos insetos, permitam diminuir a mão-de-obra nas criações (Silva 2000).

Controle de *S. frugiperda*

As lagartas do gênero *Spodoptera*, quando atacam a soja na fase reprodutiva da lavoura, costumam se abrigar no interior das plantas, próximas à região das vagens e, com isso, ficam protegidas dos inseticidas. Essa dificuldade ocorre devido ao “efeito guarda-chuva”, causado pelas plantas bem desenvolvidas, cujas folhas formam uma barreira protetora de difícil penetração pelos produtos (Moscardi et al. 2012). Por serem polífitas, utilizam vários hospedeiros nos diferentes agroecossistemas, os quais contribuem para o aumento de sua densidade populacional em todas as épocas do ano (Waquil et al. 2002).

O controle deste inseto no campo tem sido realizado essencialmente com inseticidas químicos, sendo excepcionalmente realizadas de 10 a 14 aplicações na cultura do milho no Brasil. Entretanto, os produtos são caros e, em alguns casos, pouco eficazes e perigosos se usados de forma intensiva e incorreta.

A preferência do uso do controle químico deve-se à facilidade de adoção pelo agricultor, por ser um método efetivo e com resultados mais rápidos. Atualmente, devido a relatos de casos de resistência dos insetos aos inseticidas químicos, e impactos em organismos benéficos, falhas no controle de pragas têm sido constantes, o que compromete a produtividade e eleva os custos de produção (Valicente et al. 2010).

Nos sistemas agrícolas convencionais, os efeitos provocados pelas alterações na biodiversidade e no desequilíbrio entre os níveis tróficos tornam o controle da *S. frugiperda* cada vez mais difícil e oneroso. Segundo Boregas et al. (2013) para o manejo de *S. frugiperda* em milho, são recomendadas várias estratégias como o uso de plantas transgênicas Bt resistentes a insetos, associado com o manejo de pragas. Neste, o controle químico só deve ser feito quando atingir o nível de ação, o que contribui para a preservação dos inimigos naturais. Atualmente tem-se utilizado basicamente o milho Bt como único método de controle.

O desenvolvimento de populações de insetos com resistência a diferentes grupos de inseticidas químicos, a demanda da sociedade por alimentos saudáveis têm levado a busca de alternativas para o controle de pragas, como o controle biológico. A utilização correta de um agente de controle biológico natural pode trazer benefícios imediatos ao agronegócio, por agir diretamente sobre a praga, reduzindo sua densidade populacional, e ao ambiente, por propiciar redução na quantidade de agroquímicos aplicados (Figueiredo et al. 2006).

Valicente et al. (2010) comentam que a preocupação com a segurança alimentar e a contaminação do ambiente tem levado o consumidor a preferir alimentos cada vez mais seguros. Portanto, tem-se buscado alternativas de controle eficientes, de fácil adoção, compatíveis com outros métodos de controle, específicos para a praga-alvo, com menor risco de contaminação dos alimentos, de rios e nascentes, do aplicador e do ambiente.

Alguns avanços nos programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) na cultura do milho têm sido realizados, destacando-se a utilização de diversos metabólitos secundários presentes em raízes, folhas e sementes de algumas plantas, as quais são denominadas “plantas inseticidas” (Schmutterer 1990, Roel et al. 2000, Roel 2001).

Outra alternativa ao controle químico é o biológico, que vem se tornando uma das alternativas viáveis no que se refere à preocupação com a contaminação ambiental (Valicente e Tuelher 2009).

Valicente et al. (2010) identificaram diversos agentes de controle biológico pertencentes às ordens de insetos Diptera e Hymenoptera, bem como agentes entomopatogênicos. Dentre os agentes entomopatogênicos, o *Baculovirus* é um dos mais estudados. A infecção do inseto ocorre por ingestão dos poliedros virais e a penetração ocorre nas células epiteliais do intestino médio. Nos estágios finais da

infecção na lagarta, ocorre a ruptura das células, seguida da morte do inseto e liquefação dos tecidos.

Metabólitos secundários nas plantas

As plantas não possuem um sistema imune voltado para impedir a invasão de parasitas, ou a capacidade de construir uma memória prévia da sua interação com microrganismos patogênicos encontrados em seu habitat. Em vez disso as plantas desenvolveram características únicas para se protegerem contra a entrada de agentes patogênicos (Jones e Dangl 2006).

A cutícula (camada externa cerosa) e a periderme (tecido protetor secundário), reduzem a perda de água das plantas e estabelecem barreiras à entrada de fungos e bactérias. Além disso, grupos de compostos vegetais, conhecidos como metabólitos secundários são produzidos para a defesa das plantas contra seus agressores, herbívoros e microrganismos patogênicos (Taiz e Zeiger 2009).

Conforme Emery et al. (2011) os produtos gerados pelas reações biossintéticas são moléculas orgânicas, com funções e importância biológica diferentes, sendo chamados de metabólitos. Os metabólitos podem ser classificados em primários ou secundários, de acordo com a distribuição entre espécies e importância fisiológica.

Os metabólitos primários são distribuídos por todos os organismos vivos, sendo fundamentais para o bem-estar e a sobrevivência das espécies, são importantes para o metabolismo básico fotossintético ou respiratório. Os metabólitos secundários são aqueles cuja biossíntese é restrita a algumas espécies de organismos vivos. Nestes, a importância biológica não é diretamente relacionada aos mesmos processos metabólicos primários, mas que fazem parte da estrutura de defesa e comunicação entre as espécies. Os metabólitos secundários expressam a individualidade de uma determinada espécie em termos químicos e respondem por inúmeras funções na proteção, desenvolvimento e interação com meio-ambiente (Emery et al. 2011).

Taiz e Zeiger (2009) comentam as diferenças de metabólitos secundários de primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e acil lipídeos) por apresentarem

distribuição restrita no reino vegetal. Ou seja, metabólitos secundários específicos são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas, enquanto metabólitos primários são encontrados em todo o reino vegetal. Os metabólitos secundários vegetais podem ser divididos em três grupos principais quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados.

As plantas desenvolveram várias estratégias de defesa contra a herbivoria de insetos e podem ser divididas em duas categorias: respostas de defesa constitutivas e respostas de defesa induzidas.

A maioria dos metabólitos secundários está relacionado às respostas de defesa constitutivas, entretanto em alguns casos os mesmos compostos com ação inseticida estão envolvidos tanto nas respostas constitutivas quanto nas respostas induzidas. As respostas de defesa induzidas iniciam somente após a ocorrência de dano, as respostas de defesa constituídas incluem mecanismos de defesa que estão sempre presentes (Taiz e Zeiger 2009).

Alguns compostos ou substâncias secundárias não se encontram de forma natural nas plantas; elas podem ser produzidas após a planta ter sido injuriada pelo inseto, ou seja, no momento em que o inseto inicia sua alimentação (Lara 1991).

Segundo Taiz e Zeiger (2009) as respostas das plantas ao dano causado por insetos herbívoros envolvem tanto a resposta ao ferimento quanto o reconhecimento de certos compostos derivados dos insetos os aliciadores. Estes podem desencadear rotas de sinalização sistemicamente e iniciar as respostas de defesa em regiões distantes na planta em antecipação ao futuro dano.

As fitoalexinas

Dentre os compostos produzidos pelas plantas em resposta à ativação dos genes de defesa, destacam-se os metabólitos secundários de baixo peso molecular, os quais são sintetizados após o estresse, conhecidos como fitoalexinas. Essas substâncias, por sua vez, apresentam atividades biológicas contra uma diversidade de agentes patogênicos e são consideradas marcadores moleculares de resistência a doenças (Ahuja et al. 2012).

A produção de fitoalexina é observada não só após a infecção microbiana, mas podem ser induzidos por micróbios, insetos e nematóides e também por estresses abióticos, como o congelamento, o tratamento com sais de metais pesados ou luz ultravioleta (Darvill e Albersheim 1984). Os extratos livres de células de origem microbiana e vegetal, bem como substâncias orgânicas e inorgânicas podem desencadear a síntese de compostos antimicrobianos (fitoalexinas) nas plantas. As moléculas que induzem são referidas como eliciadores, sendo o termo geralmente utilizado para descrever moléculas capazes de estimular qualquer mecanismo de defesa da planta (Côté et al. 1995, Nürnberger 1999).

Todas as fitoalexinas podem ser classificadas como produtos do metabolismo secundário da planta e muitos deles são relacionados, tanto pela estrutura e via de biossíntese, quanto outros metabolitos secundários que se possa acumular constitutivamente na mesma planta (Weidemann et al. 1991).

A produção de compostos de defesa, como fitoalexinas, é uma estratégia bem conhecida usada pelas plantas para se defender de patógenos invasores. Como fitoalexinas servem uma função óbvia na defesa das plantas, eles são conhecidos como metabólitos especializados, substâncias com um papel biológico específico que funcionam durante circunstâncias específicas. Nas culturas de arroz, 15 fitoalexinas tipo diterpenoide e um fitoalexina tipo flavonóides foram identificados. (Miyamoto et al. 2014).

Depois de serem atacadas por herbívoros, as plantas rapidamente geram sinais específicos de herbivoria, estes sinais são convertidos em alterações bioquímicas e fisiológicas de grande escala, certos sinais também são encaminhados para diferentes partes das plantas onde eles ativam defesas "sistêmicas" (Greene Ryan 1972, Li et al. 2002, Wu e Baldwin 2009).

De acordo com Ebel (1986) soja (*Glycine max*) produz e acumula fitoalexinas isoflavonoides após a inoculação com patógeno de soja, o fungo *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*, ou tratamento com o eliciador 3-glucana, isolado a partir de célula fúngica.

No caso da soja a fitoalexina gliceolina (pterocarpanoide) mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos (Burden e Bailey 1975). Acredita-se que a maioria das plantas seja capaz de sintetizar fitoalexinas, mais algumas fazem de maneira muito lenta, permitindo que os microorganismos completem a

infecção antes que haja acúmulos dessas substâncias em quantidades suficientes para inibi-los.

Mais de 300 fitoalexinas já foram caracterizadas entre diferentes classes de compostos químicos como cumarina, diterpeno e flavonoide, entre outras, tendo sido identificadas em mais de 20 famílias de vegetais superiores (Smith 1996).

Segundo Cheng et al. (2007) uma melhor compreensão dos mecanismos de defesa das plantas será de grande benefício para a agricultura, com atenção aos compostos voláteis terpenóides e fitoalexinas que participam nas respostas de defesa da planta, e para o isolamento de novos metabólitos secundários que podem ser utilizados no controle de pragas, patógenos e plantas daninhas.

A análise da produção dessas substâncias de defesa representa uma oportunidade única de estudar eventos metabólicos e novas rotas de biossíntese de produtos naturais e de compreender como os vegetais, que são organismos sedentários, resistem aos ataques de microorganismos e pragas e sobrevivem num ambiente altamente competitivo.

Efeito de metabólitos secundários nos insetos

As estratégias utilizadas pelas plantas para se defender dos insetos herbívoros são diversas. Algumas espécies desenvolvem características que afetam a preferência do inseto, como a seleção de plantas hospedeiras e comportamento alimentar. Enquanto, outras, afetam seu desempenho, como taxa de crescimento e desenvolvimento. Essas especificidades incluem características morfológicas para a defesa física e a produção de compostos de defesa química (Fürstenberg-Hägg et al. 2013).

A produção de algumas substâncias pelas plantas diminui o ataque por herbívoros. Tem-se que os compostos, como os terpenos, podem agir de forma diversa, como o limoneno, um importante repelente encontrado nas árvores de *Pinus*. Dessa forma, besouros evitam pousar nessas espécies de plantas e predá-las. A capacidade repelente de terpenos menores (monoterpenos, por exemplo) é

bastante eficaz por ser muito volátil (Emery et al. 2011). Os terpenos ou terpenóides constituem a maior classe de produtos secundários (Taiz e Zeiger 2009).

Os terpenos são toxinas e inibidores do forrageio para muitos insetos e mamíferos herbívoros (Gershenzon e Croteau 1992). Cita-se como exemplo os ésteres de monoterpeneo, denominados piretróides encontrados nas folhas e flores de espécies de *Chrysanthemum*, com potente atividade inseticida. Os piretróides naturais e sintéticos são ingredientes populares nos inseticidas comerciais (Taiz e Zeiger 2009).

Segundo Schwan-Estrada et al. (2008) nos mecanismos de defesa da planta existem enzimas associadas ao metabolismo primário e secundário como a peroxidase e a fenilalanina amônia-liase (FAL). A enzima peroxidase é responsável pelas alterações metabólicas, é catalisadora da oxidação do álcool hidrocínâmico na presença do peróxido de hidrogênio, originando a lignina, que por sua vez, aumentando a resistência física da parede celular, dificultando a penetração do patógeno. A FAL é a enzima do metabolismo secundário importante nas reações dos compostos fenólicos, responsável pela desaminação da L-fenilalanina, transformando-a em ácido *trans*-cinâmico e amônia, cujo primeiro pode ser incorporado em diferentes compostos fenólicos. Os fatores que influenciam na FAL também influenciam na biossíntese dos compostos fenólicos (Schwan-Estrada et al. 2008).

A classe mais abundante de compostos fenólicos em plantas é derivada da fenilalanina, por meio da eliminação de uma molécula de amônia para formar o ácido cinâmico (Taiz e Zeiger 2009). A fenilalanina amônia-liase (FAL) (E. C. 4.3.1.5) é uma enzima muito estudada e está envolvida no metabolismo secundário em plantas. Na planta, os níveis desta enzima podem variar significativamente, em intervalos de tempo relativamente curtos em resposta a uma grande variedade de estímulos, pois é extremamente sensível ao estado fisiológico das plantas (Camm e Towers 1973).

A função dos compostos fenólicos está envolvida com a síntese das ligninas que são comuns a todas as plantas superiores, atrativos aos seres humanos devido ao odor, sabor e coloração agradáveis, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, esse grupo de compostos é importante para proteger as plantas contra os raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias (Croteau et al. 2000).

Uma grande variedade de metabólitos secundários possui nitrogênio na sua estrutura, incluem-se nessa categoria alguns compostos bem conhecidos na defesa das plantas contra herbivoria, como alcalóides e os glicosídeos cianogênicos (Taiz e Zeiger 2009). Acredita-se que a maior parte dos alcalóides funcione como defesa contra predadores, em especial mamíferos, devido à sua toxicidade geral e à capacidade de deterrência (Hartmann 1992).

Segundo Schoonhoven (1998) insetos herbívoros apresentam diferentes estratégias de alimentação que conduzem a diferentes quantidades e qualidades de danos mecânicos nos tecidos das plantas. Dois terços de todos os herbívoros conhecidos são besouros (Coleoptera) que se alimentam de folhas ou lagartas (Lepidoptera) que causam danos com a mastigação, cortando ou rasgando.

A indução e emissão de compostos orgânicos voláteis em resposta a danos causados por herbivoria por insetos é exemplo das funções ecológicas complexas dos metabólitos secundários na natureza, em resposta ao dano mecânico. Todas as plantas emitem derivados de lipídios, como os voláteis das folhas verdes. Frequentemente estes atraem inimigos naturais (predadores ou parasitoides) do inseto atacante que utilizam os voláteis como sinais para encontrar suas presas ou hospedeiros (Taiz e Zeiger 2009). Certos voláteis emitidos por plantas infestadas podem atuar como sinais para plantas vizinhas iniciarem a expressão de genes relacionados a defesa. Os voláteis de folhas verdes agem como sinais potentes nesse processo (Arimura et al. 2000).

Belande Hatchett (1976) sugeriram que a inadequação alimentar, além de prolongar o ciclo e causar outros distúrbios fisiológicos, expõe os insetos a seus inimigos naturais por mais tempo e geralmente, sob condições de estresse e com suscetibilidade mais elevada.

Os trabalhos a seguir foram elaborados segundo as normas do *Journal of Economic Entomology* e *Environmental Entomology*.

Referências citadas

- Ahuja, I., R. Kissen, e A. M. Boné. 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends in Plant Sci.* 17: 73-90.
- Amano, K. 1983. Studies on the intraspecific competition in dung-breeding flies. I. Effects of larval density on the yellow dungfly. *Jpn. J. Sanit. Zool.* 34: 165–175.
- Arimura, G. I., R. Ozawa, T. Shimoda, T. Nishioka, W. Boland, e J. Takabayashi. 2000. Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature.* 406: 512-515.
- Barros, E. M., J. B. Torres, e A. F. Bueno. 2010. Oviposition, development, and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. *Neotrop. Entomol.* 39: 996-1001.
- Bastos, C. S., e J. B. Torres. 2004. Os perigos às escondidas. *Rev. Cultivar* 60: 10-13.
- Beland, G. L., e J. H. Hatchett. 1976. Expression of antibiosis to the bollworm in two soybean genotypes. *J. Econ. Entomol.* 69: 557-560.
- Bernardi, O. 2012. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 × MON 89788 no Brasil. 2012, 116p. Tese. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.
- Boregas, K. G. B., S. M. Mendes, J. M. Waquil, e G. W. Fernandes. 2013. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. *Bragantia.* 72: 61-70.
- Bueno, A. F., M. J. Batistela, F. Moscardi, R. C. O. F. Bueno, M. Nishikawa, G. Hidalgo, L. Silva, A. Garcia, E. Corbo, e R. B. Silva. 2010. Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade. C. T. 79. EMBRAPA-CNPSO, Londrina, Bras.
- Burden, R. J., e J. A. Bailey. 1975. Structure of the phytoalexin from soybean. *Phytochemistry.* 14: 1389-1390.

- Busato, G. R., A. D. Grutzmacher, A. C. Oliveira, E. A. Vieira, P. D. Zimmer, M. M. Kopp, J. M. Bandeira, e T. R. Magalhães. 2004. Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. *Neotrop. Entomol.* 33: 709-716.
- Camm, E. L., e G. H. N. Towers. 1973. Phenylalanine ammonia lyase. *Phytochemistry.* 12: 961-973.
- Capinera, J. L. 2002. Handbook of vegetable pests. Academic Press. San Diego, CA.
- Chapman, J. W., A. M. Martínez, J. Cisnero, P. Caballero, R. D. Cave, D. Goulson. 2000. Does cannibalism in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) reduce the risk of predation ? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 48: 321-327.
- Cheng, A. X, Y. G. Lou, Y. B. Mao, S. Lu, L. J. Wang, e X. Y. Chen. 2007. Plant terpenoids: Biosynthesis and ecological functions. *J. Integr. Plant Biol.* 49: 179-186.
- Conte, O, F. T. Oliveira, N. Harger, B. S. Corrêa-Ferreira. 2014. Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na Safra 2013/14 no Paraná. 356, Embrapa Soja, Londrina, PR.
- Côté, F., J. Cheong, R. Alba, e M. G. Hahn. 1995. Characterization of binding proteins that recognize oligoglucoside elicitors of phytoalexin synthesis in soybean. *Physiol. Plant.* 93: 401-410.
- Croteau, R, T. M. Kutchan, N. G. Lewis. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites) pp. 1250-1318. In: Buchanan B., W. Gruissem, e R. Jones (Eds.) *Biochemistry e Molecular Biology of Plants.* Am. Soc. Plant Physiol. Rockville, USA.
- Darvill, A. G., e P. Albersheim. 1984. P. Phytoalexins and their elicitors – a defense against microbial infection in plants. *Ann. Rev. of Plant Physiol.* 35: 243-275.
- Dew, J. A. 1913. Fall armyworm *Laphygma frugiperda* (S. e A.). *J. Econ. Entomol.* 6: 361-366.
- Dodds, K. A., K. M. Clancy, K. J. Leyva, D. Greenberg, e P. W. Price. 1996. W. Effects of Douglas-fir foliage age class on western spruce budworm oviposition choice and larval performance. *Great Basin Nat. Provo.* 56: 135-141.
- Ebel, J. 1986. Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24: 235-264.

- Emery, F. S., G. Bianchi, e R. C. Bianchi. 2011. Química no Cotidiano. 1. ed. SBQ. Rio de Janeiro, RJ.
- Escalante, J. A. G. 1974. Contribución al conocimiento de labiología de *Heliothis zea* y *Spodoptera frugiperda*, em el Cusco. Rev. Per. Entomol. 17: 121-122.
- Figueiredo, M. L. C., A. M. P. Martins-Dias, e I. Cruz. 2006. Associação entre inimigos naturais e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. Rev. Bras. Milho e Sorgo. 5: 340-350.
- Fürstenberg-Hägg, J., M. Zagrobelny, e S. Bak. 2013. Plant defense against insect herbivores. Int. J. mol. Sci. 14: 10242-10297.
- Gershenzon, J., R. Croteau. 1992. Terpenoids. pp.165-209. In: Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites. Vol. I: The Chemical Participants, 2nd ed. G. A. Rosenthal, M. R. Bernbaum, (eds). Academic Press, San Diego, CA.
- Giolo, F., A. Grutzmacher, M. Garcia, e G. Busato. 2002. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. R. bras. Agrociência. 8: 219-224.
- Gondim, D. M. C., J. L. Belot, P. Silvie, N. Petit. 1999. Manual de identificação das pragas, doenças, deficiências minerais e injúrias do algodoeiro no Brasil. B.T. 333. ed. COODETEC, Cascavel, PR.
- Green T. R., e C. A. Ryan. 1972. Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. Science. 175: 776–777.
- Guedes, J. C., C. S. Stecca, R. B. Rodrigues, e M. Bigolin. 2011. Estratégias de manejo contra as lagartas desfolhadoras em soja. N 139. Rev. Cultiv. Pelotas, RS.
- Hardy, T. N., K. Clay, e A. M. Hammond. 1985. Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (Lepidoptera: Noctuidae): A laboratory bioassay and larval preference study for the fungal endophyte of perennial ryegrass. J. Econ. Entomol. 78: 571-575.
- Hartmann, T. 1992. Alkaloides, pp. 79-121. In: Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites. Vol. I: The Chemical Participants, 2nd ed. G A Rosenthal, G. A., e M. R. Bernbaum, (eds). Academic Press. San Diego, CA.
- Hedin, P. A., W. P. Williams, F. M. Davis, e P. M. Buckley. 1990. Roles of amino acids, protein, and fiber in leaf-feeding resistance of corn to the fall armyworm. J. Chem. Ecol. 16: 1977-1995.

- Jones, J. D, e J. L. Dangl. 2006. The plant immune system. *Nature*. 444: 323–329.
- Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. 2 ed. Ícone, São Paulo, SP.
- Latorre, B. A. 1990. Plagas de las hortalizas. FAO. Santiago, Chile.
- Leigh, T. F., S. H. Roach, e T. F. Watson. 1996. Biology and ecology of important insect and mite pests of cotton. In: King, E. G., J. R. Phillips, R. J. Coleman. Cotton insects and mites: characterization and management. The Cotton Foundation, Memphis, Tennessee.
- Li L., C. Li ,G. L. Lee., e G. A. Howe. 2002. Distinct roles for jasmonate synthesis and action in the systemic wound response of tomato. *Proceedings of the National Acad. Sci. U. S. A.* 99: 6416–6421.
- Lordello, A. L. L., F. M. Lara, e J. R. P. Parra. 1980. Preferência para alimentação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em sorgo, em condições de laboratório. *An. Soc. Entomol. Bras.* 9: 219-241.
- Lucas, P. W., I. M. Turner, N. J. Dominy, e N. Yamashita. 2000. N. Mechanical defences to herbivory. *Ann.of Botany.* 86: 913-920.
- Luginbill, P. 1928. The fall armyworm. *Tech Bull US Depart Agric.* 34: 1-91.
- Mattson, W. J. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 11: 119–161.
- Mattson, W. J., e J. M. Scriber. 1987. Nutritional ecology of insect folivores of woody plants: nitrogen, water, fiber, and mineral considerations. pp. 105-146. *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates.* J. Wiley, New York, NY.
- Miyamoto, K., T. Shimizu, e K. Okada. 2014. Transcriptional regulation of the biosynthesis of phytoalexin: a lesson from specialized metabolites in rice. https://www.jstage.jst.go.jp/article/plantbiotechnology/advpub/0/advpub_14.0730a/_pdf. DOI: 10.5511/plantbiotechnology.14.0730a.
- Montandon, R., R. D. Stipanovic, H. J. Williams, W. L. Sterling, e S. B. Vinson. 1987. Nutritional indices and excretion of gossypol by *Alabama argillacea* (Hubner) and *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) fed glanded and glandless cotyledonary cotton leaves. *J. Econ. Entomol.* 80: 32-36.
- Moore R. G., e L. M. Hanks. 2004. Aerial dispersal and host plant selection by neonate *Thyridoptery x ephemeraeformis* (Lepidoptera: Psychidae). *Ecol. Entomol.* 29: 327-335.

- Morril, W. L., e G. L. Greene. 1974. Survival of fall armyworm larval and yields of field corn after artificial infestation. *J. Econ. Entomol.* 67: 119-123.
- Moscardi, F., A. F. Bueno, D. R. Sosa-Gómez, S. Roggia, C. B. Hoffmann-Campo, A. F. Pomari, I. C. Corso, S. A. Cavaguchi, e S. A. C. Yano. 2012. Artrópodes que atacam as folhas da soja. pp. 213-309. In: Hoffman-Campo, C. B.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Moscardi, F. Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. EMBRAPA, Brasília, Bras.
- Nagoshi, R. N. 2009. Can the amount of corn acreage predict fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation levels in nearby cotton ? *J. Econ. Entomol.* 102: 210-218.
- Nalim, D. M. 1991. Biologia, nutrição quantitativa e controle de qualidade de populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba, Bras.
- Nürnbergger, T. 1999. Signal perception in plant pathogen defense. *Cell. Mol. Life Sci.* 55: 167-182.
- Panizzi, A. R., e J. R. P. Parra. 2009. Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Brasil.
- Pansera-de-Araújo, M. C. G., I. B. M. Cruz, M. Cavalheiro, e A. K. Oliveira. 1999. A. K. de. Placement of Noctuidae eggs (Lepidoptera) on soybean plants. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 92: 702-706.
- Pinto, A. S., J. R. P. Parra, e H. N. Oliveira. 2004. Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo. A. S. Pinto, Ribeirão Preto, Bras.
- Pitre, H. N., e D. B. Hogg. 1983. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. *J. Ga. Entomol. Soc.* 18: 182-187.
- Pogue, G. M. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Mem Am. Entomol. Soc.* 43: 1-202.
- Raffa, K. F. 1987. Effect of host plant on cannibalism rates by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Environ. Entomol.* 16: 672-675.
- Revelo, M. A., e E. S. Raun. 1964. Rearing the fall armyworm under greenhouse conditions. *J. Econ. Entomol.* 57: 1000.
- Roel, A. R, J. D. Vendramim, T. S. Frighetto, e N. Frighetto. 2000. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *An. Soc. Entomol. Bras.* 29: 799-808.

- Roel, A. R. 2001. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Rev. Intern. Desenv. Local. 1: 43-50.
- Schwan-Estrada, K. R. F., J. R. Stangarlin, e S. F. Pascholatl. 2008. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. pp. 227-248. In: Pascholatl, S. F.; Leite, B.; Stangarlin, J. R.; CIA, P. (Ed.). Interação Planta Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular. FEALQ, Piracicaba, Bras.
- Schoonhoven, L. M., T. Jermy, e J. J. A. Van Loon. 1998. Insect Plant-biology: From Physiology to Evolution. Chapman and Hall, London, UK.
- Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Ann. review Entomol. 35: 271-297.
- Schweitzer, D. F. 1979. Effects of Foliage Age on Body Weight and Survival in Larvae of the Tribe *Lithophanini* (Lepidoptera: Noctuidae). Oikos. 32: 403-408.
- Scriber, J. M., e F. Slansky JR. 1981. The nutritional ecology of immature insects. Ann. Rev. entomol. 26: 183-211.
- Sigurjonsdottir, H. 1984. Food competition among *Scatophagastercoraria* larval with emphasis on its effects on reproductive success. Ecol. Entomol. 9: 81-90.
- Silva, M. T. B. 1998. Insetos-pragas: aspectos ecológicos, danos e controle. pp. 95-123. In: B. C. de Campos (Coord.). A cultura do milho no plantio direto. FUNDACEP/SENAR, Cruz Alta, Bras.
- Silva, M. T. B. 2000. Manejo de insetos nas culturas de milho e soja. pp.169-200. In: Guedes, J. C., I. D de Costa, E. Castiglioni (eds.) Bases e técnicas do manejo de insetos. UFSM/CCR/DFS, Santa Maria, Bras.
- Smith, C. J. 1996. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. New Phytol. 132: 1-45.
- Sosa-Gómez, D. R., L. D. Gazzoni, B. Corrêa-Ferreira, e F. Moscardi. 1993. Pragas da soja e seu controle, pp. 299-331. In N. P. Arantes & P. I. M. Souza (eds.), Cultura da soja nos cerrados. Potafos, Piracicaba, Bras.
- Sparks, A. N. 1979. A review of the biology of the fall armyworm. Fla. Entomolog. 62: 82-87.
- Stipanovic, R. D., JR. J. D. Lopez, M. K. Dowd, L. S. Puckhaber, e S. E. Duke. 2006. Effect of racemic and (+) and (-) gossypol on the survival and development of *Helicoverpa zea* larvae. J. Chem. Ecol. 32: 959-968.
- Taiz, L., e E. Zeiger. 2009. Fisiologia vegetal. 4. ed. Artmed, Porto Alegre, Bras.

- Valicente, F. H., e E. S. Tuelher. 2009. Controle biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* com *Baculovirus*. C. T. 114. EMBRAPA/CNPMS, Sete Lagoas, Bras.
- Valicente, F. H., E. S. Tuelher, e E. C. Barros. 2010. Processo de Produção Comercial de Baculovírus em Grande Escala. C.T.157. EMBRAPA/CNPMS, Sete Lagoas, Bras.
- Vendramin, J. D., e M. Fancelli. 1988. Efeito de genótipos de milho na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). An. Soc. Entomol. Brasil. 17: 141-150.
- Waquil, J. M., F. M. F. Villela, e J. E. Foster. 2002. Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Bras. Milho e Sorgo. 1: 2-11.
- Wasti, S. S., e G. C. Hartmann. 1975. Experimental parasitization of larvae of the gypsymoth, *Porthetria dispar* (L.), with the entomogenous fungus, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. Parasitology. 70: 341-346.
- Weidemann, C., R. Tenhaken, U. Hoehl, e W. Barz. 1991. Medicarpin and maackiain 3-C)-giucoside-6 -O-malonaie conjugates are constitutive compounds in chickpea (*Cicer arietinum* L.) cell cultures. Plant Celt Rep. 10: 371-374
- Wilson, P. A., P. M. Room, M. P. Zalucki, e S. Chakraborty. 2000. Interaction between *Helicoverpa armigera* and *Colletotrichum gloeosporioides* on the tropical pasture legume *Stylosanthes scabra*. Aust. J. Agric. Res. 51: 107-112.
- Wu, Jianqiang, e Ian T. Baldwin. 2009. "Herbivory induced signalling in plants: perception and action". Plant, cell environ. 32: 1161-1174.
- Zalucki, M. P., A. R. Clarke, e S. B. Malcom. 2002. Ecology and behavior of first instar larval lepidoptera. Ann. Rev. Entomol. 47: 361-393.
- Zucchi, R. A., S. S. Silveira Neto, e O. Nakano. 1993. O. Guia de identificação de pragas agrícolas. FEALQ, Piracicaba, SP.

**CAPITULO I CONSUMO ALIMENTAR E BIOLOGIA DE
Spodoptera frugiperda (NOCTUIDAE) ALIMENTADA COM FOLHAS
DE SOJAS SUBMETIDA À HERBIVORIA PRÉVIA**

Peruca et al.: Influência da herbivoria
prévia em planta de soja na biologia de
Spodoptera frugiperda.

R. D. Peruca
Rua Melissa, Nº 135
Bairro Carandá Bosque
CEP 79032-181
Campo Grande, MS, Brasil
Phone 00556733068056
E-mail ricardoperuca@yahoo.com.br

Journal of Economic Entomology

Resistência de Plantas

**Consumo alimentar e biologia de *Spodoptera frugiperda*
(Noctuidae) alimentada com folhas de soja submetida à herbivoria
prévia**

R. D. Peruca¹, R. G. Coelho², A. R. Roel¹, G. B. Alcantara², H. Pistori¹, D. S. Sarath³
G. G. Silva¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Sustentabilidade
Agropecuária, Universidade Católica Dom Bosco, Av. Tamandaré, 6000, Jardim
Seminário, CEP 79117-900, Campo Grande, MS, Brasil

²Instituto de Química, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande,
MS, Brasil

³Departamento de Engenharia da Computação, Universidade Católica Dom Bosco -
UCDB, Campo Grande, MS, Brasil

RESUMO

Atualmente com o aumento do plantio de milho geneticamente modificado, resistente à *Spodoptera frugiperda*, as lavouras de soja têm sido atacadas por esta espécie, devido à intensa exposição dessa cultura à pressão populacional desse inseto. Objetivou-se, verificar a influência da herbivoria prévia em planta de soja, no desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentadas com folhas submetidas a herbivoria prévia da mesma espécie. Em casa-de-vegetação a soja da cultivar BRS 284 foi plantada em vasos e utilizadas no estágio vegetativo V6 nos tratamentos: controle, injúria mecânica e pós-herbivoria. Para a herbivoria em plantas de soja utilizou-se lagartas do 3º/4º instar, obtidas da criação estoque. Lagartas foram alimentadas com folíolos de soja, oriundas da casa de vegetação, em 3 tratamentos: controle, após injúria mecânica e pós-herbivoria, em 25 repetições no tratamentos de avaliação de consumo foliar e 50 repetições por tratamento de avaliação do efeito biológico. Analisou-se assim o consumo foliar, mortalidade das fases de lagarta e pupa, duração larval e pupal, peso de pupa, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos. Observou-se, aumento de duração larval e diminuição do peso de pupa e consumo no tratamento após herbivoria prévia quando se compara ao controle e injúria mecânica, maior redução na viabilidade larval após herbivoria prévia se comparada ao controle, o que sugere maior resposta metabólica da planta para sua defesa após o ataque da lagarta.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max*, Insecta, lagarta-do-cartucho, resistência induzida.

ABSTRACT

With the increased planting of genetically modified maize resistant to *Spodoptera frugiperda*, soybean crops have been currently attacked by this species – probably because of this culture's intense exposure to the pressure of the insect's population. The aimed at checking, the influence of previous herbivory in soybean plants on the development of *S. frugiperda* fed on leaves subjected to previous herbivory of the same species. In a greenhouse, BRS 284 soybean cultivar was planted in pots and used in the V6 vegetative stage in the following treatments: control, mechanical injury, and post-herbivory injury. For herbivory in soybean plants the study made use of 3rd / 4th-instar caterpillars from the rearing stock. Caterpillars were fed with soybean leaflets from the greenhouse in 3 treatments: control, post-mechanical injury and post-herbivory injury, with 25 repetitions of the evaluation of leaf consumption and 50 repetitions of the evaluation of the biological effect. Thus, the study analyzed leaf consumption, mortality in caterpillar and pupal stages, larval and pupal lifetimes, pupal weight, number of eggs per female, and egg viability. There was an increase of larval lifetime, decreased pupal weight and consumption in the treatment after previous herbivory injury when compared to the control group and the mechanical injury group, greater reduction in larval viability after previous herbivory injury when compared to the control group, suggesting increased metabolic plant defense response after the caterpillars' attack.

Keywords: *Glycine max*, Insect, fall armyworm, induced resistance.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de soja com uma produção na safra 2013/1014 conforme CONAB 2014 de 86,27 milhões de toneladas, sendo superado apenas pelos Estados Unidos com produção esperada para a safra 2014/15 que deve ultrapassar aos 103 milhões de toneladas.

Dentre as pragas de grande importância agrícola no Brasil, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Noctuidae) ocupa lugar de destaque, pois ataca algodão, alfafa, amendoim, arroz, aveia, batata, batata doce, cana-de-açúcar, hortaliças, milho, soja e trigo, sendo mais comum em gramíneas (Polanczyk e Alves 2005).

Os dados disponíveis na literatura referentes à biologia e à ecologia da lagarta-do-cartucho sugerem uma dinâmica populacional com altas taxas de sobreposição de gerações e grande efeito da variação espaço-temporal sobre a abundância de insetos no agroecossistema, principalmente nas regiões tropicais (Waquil et al. 2008).

No Brasil, um dos fatores que pode estar contribuindo para a dificuldade do manejo de *S. frugiperda* é a grande oferta de hospedeiros ao longo do ano, seja com sucessão de culturas, como milho ou soja no verão, ou milho ou sorgo na “safrinha” (Barros et al. 2010).

Os danos ocasionados pela lagarta-do-cartucho no milho, *S. frugiperda* têm variado em torno de 18% (Cruz et al. 1996) até 38,7%, dependendo da planta e de seu desenvolvimento fenológico (Cruz e Turpin, 1982, Williams e Davis, 1990, Willink et al. 1991). Em soja, lagartas de *S. frugiperda* alimentam-se inicialmente das folhas, passando depois a consumir também vagens na fase inicial de formação (Barros et al. 2010).

De acordo com Ribeiro e Fernandes (2000) há uma pressão seletiva exercida pelos herbívoros, particularmente pelos especialistas sobre suas plantas

hospedeiras. Para se especializar em uma determinada planta hospedeira, uma espécie de inseto precisa superar fisiológica e comportamentalmente, barreiras tóxicas produzidas por aquela espécie.

Segundo Bortoli et al. (2011) na soja existem citações de resistência constitutiva e induzida, sendo que para a resistência induzida, o valor da informação emitida pela planta depende, por exemplo, do grau de infestação do herbívoro. A resistência induzida devido à injúria provocada pela alimentação de lagartas de *Chrysodeixis includens* (Walker 1858) (Noctuidae) em plantas de soja ocorre e tem o pico próximo ao 10^o dia após a injúria.

Em soja, Lin e Fischer (1990) compararam os efeitos da injúria mecânica, da alimentação por *C. includens* e da aplicação de regurgitado dessa lagarta em superfície injuriada mecanicamente sobre a preferência para alimentação de besouro do feijão mexicano *Epilachna varivestis* (Mulsant 1850) (Coccinellidae). Observaram que a injúria causada pelo inseto, é melhor condutor de resistência de que a mecânica e que o nível de indução provavelmente depende do número total de células afetadas em contato com células sadias e não da porcentagem de tecido perdido. Todavia, nesses trabalhos em que se estudaram os fatores indutivos, as observações não foram estendidas por longo tempo e os resultados obtidos foram homogêneos, indicando apenas aumento de resistência quando as plantas são injuriadas.

Dentro dos mecanismos de defesa das plantas contra seus agressores, herbívoros e microrganismos patogênicos, há grupos de compostos vegetais conhecidos como metabólitos secundários (Taiz e Zeiger 2009).

Os metabólitos secundários são aqueles cuja biossíntese é restrita a algumas espécies de organismos vivos, expressam a individualidade de uma determinada espécie em termos químicos e respondem por inúmeras funções na proteção, desenvolvimento e interação com meio-ambiente (Emery et al. 2011).

Dentre os compostos produzidos pelas plantas em resposta à ativação dos genes de defesa, destacam-se os metabólitos secundários de baixo peso molecular, os quais são sintetizados após o estresse, conhecidos como fitoalexinas. Essas substâncias, por sua vez, apresentam atividades biológicas contra uma diversidade de agentes patogênicos e são consideradas marcadores moleculares de resistência a doenças (Ahuja et al. 2012).

A produção de fitoalexina é observada não só após a infecção microbiana, mas pode ser induzida por micróbios, insetos, nematóides e também por estresses abióticos (Darvill e Albersheim 1984).

A denominação antixenose foi proposta por Kogan e Ortman (1978) para substituição ao termo não-preferência, considerando, num sentido mais amplo, tanto a influência dos metabólitos secundários das plantas que atuam nas respostas dos insetos na seleção de hospedeiros, como as defesas morfológicas.

O arsenal químico produzido pelas plantas como mecanismo de defesa em resposta a estresses bióticos pode ter grande importância no desenvolvimento de métodos alternativos, tais como a aplicação agrícola de substâncias menos nocivas, (Coehn 2002) ou o desenho de plantas geneticamente modificadas mais resistentes através da superprodução destes compostos de defesa (Hain et al. 1990, Yun et al. 1992).

Por metabólitos secundários entendem-se os flavonóides, alcalóides, acetogeninas, glicosídeos, isoprenóides e lignina (Hoffmann-Campo 1993).

A indução de resistência é também conhecida como indução de proteção ou imunidade adquirida e envolve a ativação dos mecanismos latentes de resistência em uma planta através de tratamentos com agentes externos que podem ser bióticos (microrganismos viáveis ou inativados) ou abióticos (metais pesados ou acibenzolar-S-metil), sem alteração do genoma da mesma (Benhamou e Belanger 1998, Romeiro 2000, Cavalcanti et al. 2005).

Objetivou-se, portanto, por meio desta pesquisa verificar a influência da herbivoria prévia em planta de soja através de ensaios biológicos no desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentadas com folhas submetidas a herbivoria prévia da mesma espécie e com injúria mecânica, na mortalidade das fases de lagarta e pupa, e no consumo foliar e reprodução.

MATERIAL E MÉTODOS

Criação de *S. frugiperda*

As Lagartas utilizadas no experimento foram provenientes de criação estoque do laboratório de Entomologia da Universidade Católica Dom Bosco–UCDB em Campo Grande, MS, Brasil. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Burton e Perkins 1972) e os adultos com solução aquosa de mel a 10%, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Para a montagem dos bioensaios, foram utilizadas lagartas provenientes da geração F1 de laboratório de idade entre 3^o/4^o instar.

Em casa-de-vegetação

As plantas utilizadas no ensaio foram produzidas em casa-de-vegetação no Instituto São Vicente em Campo Grande, MS, Brasil, latitude $20^\circ 23' 15.04''\text{S}$, longitude $54^\circ 36' 24,87''\text{W}$, e altitude 646 m, durante o período de janeiro a fevereiro de 2014.

Os tratamentos na casa-de-vegetação foram: plantas pós-herbivoria de *S. frugiperda*, com injúria mecânica e controle (sem herbivoria ou injúria mecânica). Para cada tratamento utilizou-se 80 repetições em vasos.

Foi escolhido a cultivar BRS 284 por ser de ciclo precoce e alta produtividade (Pitol et al. 2013), sendo o plantio realizado em vasos de 3 litros em solo com adubação química. A adubação foi realizada conforme a recomendação para cultura (Broch e Ranno 2012, Roscoe e Gitti 2014), após análise de solo, com sulfato de amônio, super fosfato simples, cloreto de potássio e corrigida com calcário dolomítico. Os vasos com solo foram levados para casa-de-vegetação, onde ocorreu o plantio da soja BRS 284 em 10 de janeiro de 2014. Na semeadura foram utilizadas três sementes por vaso e quinze dias após a germinação, realizou-se o desbaste, deixando-se duas plantas em cada vaso. A irrigação por microaspersão foi realizada

diariamente suprindo suas necessidades hídricas, com seis regas de dois minutos por dia.

Quando as plantas estavam em estágio vegetativo V6 (Fehr e Caviness 1977), gaiolas foram colocadas, uma por planta no terceiro trifólio a partir do pecíolo. As gaiolas foram confeccionadas com tecido tipo filó (22 cm de comprimento e 16 cm de largura) com a abertura fechada com velcro para fixação no pecíolo. Lagartas do 3^o/4^o instar foram colocadas uma por gaiola no tratamento pós-herbivoria.

Foram utilizadas lagartas de *S. frugiperda* oriundas da criação estoque, após 20 horas em jejum. A infestação iniciou-se às 7 horas e a injúria mecânica com 3 cm foi realizada com auxílio de uma pinça cirúrgica a cada 1 hora na extremidade dos folíolos, durante 12 horas. *S. frugiperda* alimentaram-se das folhas durante todo experimento, foram coletados diariamente trifólios de acordo com a progressão do ensaio das plantas que sofreram herbivoria prévia, com injúria mecânica e controle. Os trifólios coletados foram colocados em sacos plásticos previamente identificados e levados ao laboratório para o desenvolvimento do ensaio biológico.

Para avaliar os efeitos da herbivoria prévia e injúria mecânica foram realizados testes de consumo 25 repetições e efeito biológico 50 repetições. Utilizou-se folíolos de soja na fase de pré-florecimento, com os tratamentos: controle (folíolos de plantas de soja sem injúria mecânica ou herbivoria), injúria mecânica (folíolos de plantas de soja submetidas a injúria mecânica) e pós herbivoria (folíolos de plantas de soja submetidas a herbivoria).

Consumo foliar

Para a avaliação do consumo foliar de soja foram utilizadas lagartas do 3^o/4^o instar obtidas da criação estoque. Cada repetição foi constituída de uma placa de Petri com papel de filtro e um folíolo de soja por cada tratamento.

Para a leitura de área foliar consumida, todas as placas foram fotografadas e numeradas. Após 24 horas as lagartas foram retiradas e os folíolos novamente fotografados. Para a captura das imagens foi utilizada a câmera Sony Alpha DSLR-A350, utilizando a resolução máxima, de 14.2-Megapixel, e sem flash, que estava apoiada com um tripé comum e posicionada para baixo de forma que o foco ficasse em 90^o para baixo a uma distancia média de 30 centímetros da mesa.

Na mesa, foi fixada uma folha de papel A4 branco que continha uma moldura impressa pontilhada para onde o foco da câmera estava ajustado, onde as folhas de soja eram posicionadas. Acima da moldura, foi impresso um retângulo com 3 centímetros de largura e 0,5 centímetro de altura, que foi utilizado no processamento para estabelecer uma escala de conversão entre pixel e centímetros.

Para a leitura de consumo foi criado um sistema desenvolvido em Java, utilizando a biblioteca ImageJ, para a análise e medição de área foliar.

Avaliação da mortalidade, biologia e reprodução

Os parâmetros biológicos avaliados foram: duração e mortalidade das diferentes fases de desenvolvimento, peso de pupas, duração das fases larval e pupal, número de ovos por fêmea e viabilidade de ovos.

S. frugiperda de 10 dias de idade foram individualizada utilizando-se caixa tipo Gerbox onde se colocou papel filtro, de mesma dimensão na parte interna inferior do recipiente. Na lateral da caixa junto da base da folha, inseriu-se uma porção de algodão umedecido em água com a finalidade de evitar perda de água e redução da qualidade das folhas como alimento. Os folíolos abertos e em perfeito estado foram distribuídos nas caixas ao acaso dentro de cada tratamento, posteriormente colocou-se uma lagarta de *S. frugiperda* por recipiente, sobre o folíolo de soja, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas em sala climatizada. Diariamente as folhas foram trocadas e os excrementos eliminados, evitando-se eventuais contaminações e diminuição na qualidade do alimento. Quando as lagartas pararam de se alimentar, indicando o início da fase pré-pupal, a alimentação foi suspensa e as caixas Gerbox permaneceram fechadas até a pupação.

As lagartas de cada tratamento, posteriormente ao período larval, foram pesadas em balança eletrônica de precisão e sexadas após 24 horas da transformação em pupas. A razão sexual foi calculada com a divisão do número de fêmeas pelo total de indivíduos (machos + fêmeas) (Silveira-Neto et al. 1976).

Para cada tratamento, os adultos emergidos, separados em 10 casais, foram colocados em gaiolas de PVC, forradas nas laterais com papel filtro, tampadas na parte superior com tecido tipo organza, preso por liga de borracha, e a parte inferior apoiada em prato plástico forrado com papel filtro. Os casais foram alimentados com

solução de mel a 10%. Para não haver problemas de fermentação e contaminação com microrganismos, o alimento foi renovado a cada dois dias, fornecida em vidros com 4,5 cm de altura e 2,0 cm de diâmetro, com filete de algodão no interior, onde a solução translocava por capilaridade.

As massas de ovos foram recortadas diariamente do papel filtro, identificadas e colocadas em placas de Petri com 1,8 cm de altura e 6,0 cm de diâmetro. Para contagem total dos ovos utilizou-se um microscópio estereoscópico. Diariamente contou-se o número de lagartas eclodidas visando determinar a viabilidade de ovos por tratamento.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado. Os dados de número médio de ovos viáveis foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ e assim com os demais dados relativos aos parâmetros avaliados, foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando o programa estatístico Assistat® (Silva e Azevedo 2002, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas durante 24 horas com folíolo de soja sem injúria (Tabela 1) consumiram em média 7,88 cm² (25,56% da área foliar) estatisticamente iguais aos valores obtidos de consumo das alimentadas com folíolos após injúria mecânica 6,99 cm² (23,60%). Enquanto as lagartas que foram alimentadas com folhas de soja pós-herbivoria consumiram 3,82 cm² (15,40% de área foliar) diferente dos valores obtidos no tratamento controle.

Lagartas que foram alimentadas com folhas pós-herbivoria consumiram 10,16% menos que as do tratamento controle, e, 8,20% menos em relação ao tratamento injúria mecânica. Essa redução no consumo indica obstáculos na alimentação, provavelmente pela produção de mecanismos químicos de defesa da planta. O consumo foliar varia de acordo com o alimento oferecido devido a propriedades físicas e químicas (Santos et al. 2005).

Em outro trabalho análise química em folíolos de soja por meio de CDC (Cromatografia de Camada Delgada Comparativa), RMN (Ressonância Magnética Nuclear) e HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) indicou que a desfolha por meio da herbivoria por *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818) (Noctuidae) altera a fisiologia das plantas, modificando a composição química das folhas, com incremento destacando-se na concentração de isoflavonóides, fato este devido, provavelmente, à resposta induzida relacionada a mecanismos de defesa (Bortoli et al. 2012).

Tabela 1 Área foliar (cm²) ($X \pm EP$) consumida por lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de soja cultivar BRS 284 após injúria mecânica e herbivoria previa, durante 24 horas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Área foliar (cm ²)	Área foliar Pós-herbivoria (cm ²)	Consumo foliar (%)
Controle	31,42 \pm 1,22 a [25]	23,54 \pm 1,43 a [25]	25,56 \pm 3,13 a [25]
Injúria mecânica	30,98 \pm 1,47 a [25]	23,99 \pm 1,55 a [25]	23,60 \pm 2,56 ab [25]
Pós-herbivoria	25,39 \pm 1,07 b [25]	21,57 \pm 1,10 a [25]	15,40 \pm 2,25 b [25]
CV%	21,56	29,85	62,14

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

Valores entre colchetes expressam o número de observações [n].

Lagartas do cartucho do 3^o/4^o instar, alimentadas com folíolos de soja cultivar BRS 284 tiveram duração da fase larval no tratamento controle com média de 19,36 dias, igual ao tratamento com injúria mecânica com 19,69 dias, divergindo daquelas alimentadas com folíolos de plantas de soja pós-herbivoria da mesma espécie (21,34 dias) (Tabela 2). Deste modo este prolongamento da fase larval indica que folhas de soja submetidas a herbivoria prévia, proporcionaram desenvolvimento menos favorável para a espécie.

A alongamento da duração da fase larval se verifica em geral pela reduzida ingestão de alimentos em razão da existência de um inibidor ou de vários nos alimento, ou uma inadequação nutricional do substrato alimentar (Martinez e Van Emden 2001).

A duração da fase larval de *A. gemmatalis* quando se analisou dois genótipos com e sem injúria houve alongamento do período em 'BR 37' de cerca de um dia e meio na planta com injúria, enquanto que para 'Embrapa 4' este valor cai para menos de um dia (Bortoli et al. 2012).

Waquil et al. (2008) observou pequena variação entre as médias do período larval de *S. frugiperda* alimentadas com os diferentes hospedeiros, sendo na dieta artificial 23,4 dias, no capim-braquiária 21,9 dias, no sorgo granífero 21,8 dias, na soja 21,7 dias e no milho 21 dias.

Para a fase pupal não foi observada diferença na duração, que variou de 10,28 dias no tratamento pós-herbivoria, 10,18 dias no tratamento controle e 9,74 dias no tratamento injúria mecânica respectivamente (Tabela 2). Bortoli et al. (2012) não encontrou alteração no período pré-pupal e pupal de *A. gemmatalis*, alimentadas com planta de soja com injúria oferecido no período larval, tendo uma tendência para redução da viabilidade nos insetos que se alimentaram com as plantas de soja que receberam injúria prévia.

Pupas de tratamento pós-herbivoria apresentaram menor média de peso 161,95 mg, com média de peso de pupas significativamente menor do que a das pupas de larvas alimentadas com folhas após injúria mecânica 180,26 mg e controle 191,33 mg (Tabela 2). Segundo Bortoli et al. (2012) o peso pupal foi diminuído em pupas oriundas de lagartas alimentadas com dois genótipos de plantas de soja que receberam injúria prévia, indicando efeito negativo no desenvolvimento de *A. gemmatalis*, efeito este também destacado por Piubelli et al. (2005).

Segundo Hoffmann-Campo et al. (2006) o peso pupal de *A. gemmatalis* diminuiu com o aumento da concentração do flavonóide rutina na dieta artificial em relação ao controle, a rutina afeta negativamente *A. gemmatalis* causando efeitos pré e pós-ingestivo. Sete glicosídeos flavonóides foram identificados em folhas de soja PI 227687 (Hoffmann-Campo 1995), a rutina é um destes flavonoides.

O menor peso de pupa observado está provavelmente relacionado à não-preferência das lagartas pelo alimento ou à ingestão de substâncias presentes nas folhas que prejudicaram o seu desenvolvimento (antibiose), ou ainda, à ocorrência de ambos os fatores (Santos e Boiça Jr. 2001). O prolongamento da fase de pré-pupa pode ser consequência da resistência do tipo antibiose apresentada pelas plantas (Lara 1991).

Tabela 2 Duração das fases larval, pupal e peso de pupas de *S. frugiperda* ($X \pm EP$) alimentadas com soja cultivar BRS 284 a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Duração fase larval (dias)	Duração fase pupal (dias)	Peso pupal (mg)
Controle	$19,36 \pm 0,19$ b [45]	$10,18 \pm 0,12$ a [44]	$191,33 \pm 4,32$ a [44]
Injúria mecânica	$19,69 \pm 0,24$ b [39]	$9,74 \pm 0,18$ a [39]	$180,26 \pm 3,36$ a [39]
Pós-herbivoria	$21,34 \pm 0,33$ a [41]	$10,28 \pm 0,24$ a [41]	$161,95 \pm 4,25$ b [41]
CV%	8,25	11,72	14,76

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

Valores entre colchetes expressam o número de observações [n].

O número médio de ovos de *S. frugiperda* por fêmea foi de 279,60, 245,30 e 151,50 ovos, respectivamente para controle, injúria mecânica e pós-herbivoria, não havendo diferença entre médias pelo teste de Tukey. A viabilidade dos ovos de *S. frugiperda* foi de 70, 62 e 42% (Tabela 3), a variável biológica mensurada pode indicar a ocorrência de mecanismo defensivo da planta, com diminuição da porcentagem de viabilidade de ovos no tratamento pós-herbivoria. A razão sexual variou de 0,51 para o tratamento injúria mecânica a 0,41 no tratamento pós-herbivoria (Tabela 3).

Segundo Bortoli et al. 2012 quanto ao período médio de incubação e a viabilidade de ovos verifica-se os maiores valores para incubação de ovos quando as lagartas foram alimentadas com plantas com injúria, nos dois genótipos, sendo 3,60 dias e 3,40 dias, 75% e 80%, respectivamente, para o período de incubação e viabilidade dos ovos nos genótipo 'Embrapa 4' e 'BR 37'.

Tabela 3 Número médio de ovos, número médio de ovos viáveis ($X \pm EP$), viabilidade de ovos e razão sexual de *S. frugiperda* alimentadas com soja cultivar BRS 284 a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Numero médio de ovos*	Numero médio de ovos viáveis*	Viabilidade (%)	Razão sexual
Controle	399,40 \pm 74,52 a	279,60 \pm 65,47 a	70	0,47
Injúria mecânica	397,90 \pm 47,69 a	245,30 \pm 47,14 a	62	0,51
Pós-herbivoria	361,00 \pm 63,27 a	151,50 \pm 56,42 a	42	0,41
CV%	31,20	58,95		

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

*Dados foram transformados em $\sqrt{X + 0,5}$ para submeter à análise estatística.

Quanto a viabilidade larval, observou-se 90%, 78% e 82%, respectivamente para os tratamentos controle, injúria mecânica e pós-herbivoria e viabilidade pupal foi de 98%, 100% e 98% (Tabela 4). Silveira et al. (1997) testou 11 genótipos de milho e os valores registrados para as viabilidades pupais de *S. frugiperda*, não foi afetada significativamente pelos materiais utilizados. De modo geral, a viabilidade foi alta (94,7%, média dos 11 genótipos), com variações de 89,1 a 100,0%.

Evidentemente, os mecanismos de resistência de plantas a insetos interferem na adaptação das espécies em seus respectivos hospedeiros. Assim, tanto a sobrevivência como o período larval e o peso de pupas, são variáveis afetadas, basicamente, pela qualidade alimentar da planta para o inseto ou pela presença de substâncias secundárias, com propriedades defensivas para a planta (Painter 1951).

Compostos isoflavonóides nos herbívoros podem ter efeitos pré e pós-ingestivos, prejudicando o desenvolvimento dos insetos, como observado por Piubelli et al. (2005) em alguns genótipos de soja, onde os efeitos mais marcantes foram alta mortalidade, redução dos pesos de lagartas e de pupas, além de um alongamento no ciclo, sendo que neste trabalho, efeitos negativos claros na biologia de *A. gemmatilis* foram encontrados com os genótipos injuriados.

Tabela 4 Duração Viabilidade pupal e larval de *S. frugiperda* em tratamentos com injúria mecânica e herbivoria prévia em soja BRS 284 a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Viabilidade fase larval (%)	Viabilidade fase pupal (%)
Controle	90 [50]	98 [50]
Injúria mecânica	78 [50]	100 [50]
Pós-herbivoria	82 [50]	98 [50]

Valores entre colchetes expressam o número de observações [n].

Análises químicas quantitativas e qualitativas das substâncias produzidas pelas plantas pós-herbivoria podem comprovar os efeitos observados nos parâmetros biológicos redução de consumo foliar, duração da fase larval, peso de pupas e viabilidade dos ovos. Estes efeitos não foram observados na plantas submetidas a injúria mecânica, o que indica que é necessária a presença de lagartas para acionar esse mecanismo de resistência.

CONCLUSÃO

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folíolos de soja de plantas que sofreram herbivoria, resultaram em aumento de duração larval e diminuição de peso de pupa, diminuição do consumo e viabilidade larval no tratamento após herbivoria prévia quando se compara ao controle podendo indicar maior resposta metabólica da planta para sua defesa após o ataque da lagarta.

REFERÊNCIAS CITADAS

- Ahuja, I., R. Kissen, A. M. Boné. 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends in Plant Sci.* 17: 73-90.
- Adami, M., F. A. Hastenreiter, D. L. Flumignan, e R. T. Faria. 2008. Estimativa de área de folíolos de soja usando imagens digitais e dimensões foliares. *Bragantia.* 67: 1053-1058.
- Barros, E. M., J. B. Torres, e A. F. Bueno. 2010. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. *Neotrop. Entomol.* 39: 996-1001.
- Benhamou, N., e R. R. Belanger. 1998. Induction of systemic resistance to Pythium damping off in cucumber plants by benzothiadiazole: ultrastructure and cytochemistry of the host response. *Plant J.* 14: 13-21.
- Bortoli, S. A., A. T. Murata, C. P. Bortoli, G. O. Magalhães, e W. Dibelli. 2011. Aspectos nutricionais e preferência da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de soja com e sem injúria. *Comun. Sci.* 2: 149-155.
- Bortoli, S. A., A. T. Murata, A. M. Vacari, C. P. Bortoli, e D. G. Ramalho. 2012. Herbivoria em soja: efeito na composição química das folhas e na biologia da lagarta da soja e do percevejo verde pequeno. *Comun. Sci.* 3: 192-198.
- Broch, D. L., e S. K. Ranno. 2012. Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura da soja, pp 3-39 In: *Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/2012.* Fundação MS, Maracajú, MS.
- Burton, R. L., e W. D. Perkins. 1972. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 65: 385-386.
- Cavalcanti, L. S., K. R. Brunelli, e J. R. Stangarlin. 2005. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida, pp. 81-124. In: Cavalcanti, L. S., R. M. Di Piero, P. CIA, S. F. Pascholati, M. L. V. Resende, e R. S. Romeiro. (Ed.).

- Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. FEALQ, Piracicaba, SP.
- Cohen, Y. R. 2002. β -Aminobutyric acid-induced resistance against plant pathogens plant disease. *Plant Dis.* 86: 448–457.
- (CONAB) Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, Safra 2013/14, Décimo levantamento. CONAB, Brasília, Bras.
- Cruz, I., e F. T. Turpin. 1982. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de crescimento da cultura de milho. *Pesq. Agropec. Bras.* 17: 355-359.
- Cruz, I., L. J. Oliveira, A. C. Oliveira, e C. Vasconcelos. 1996. C. Efeito do nível de saturação de alumínio em solo ácido sobre os danos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em milho. *An. Soc. Entomol. Bras.* 25: 293-297.
- Darvill, A. G., e P. Albersheim. 1984. Phytoalexins and their elicitors – a defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35: 243-275.
- Emery, F. S., G. Bianchi, e R. C. Bianchi. 2011. Química no Cotidiano. 1. ed. SBQ. Rio de Janeiro, RJ.
- Fehr, W. R. e C. E. Caviness. 1977. Stages of soybean development. *Spec.* 80: 1-12. Cooperative Extension Service, Agriculture and Home Economics Experiment Station. Iowa State Univ, Ames, USA.
- Hain, R., B. Bieseler, H. Kindl, G. Schröder, R. Stöcker. 1990. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. *Plant Mol. Biol.* 15: 325-335.
- Hoffmann-Campo, C. B. 1993. Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean plants to *Heliothis virescens*. Reading: University of Reading. Department of Botany, 60p. First year report submitted to School of Plant Sciences.
- Hoffmann-Campo, C. B. 1995. Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). 165p. Dissertation (Ph.D.) - The University of Reading, Reading.
- Hoffmann-Campo, C. B., J. A. Ramos Neto, M. C. N. D. Oliveira e L. J. Oliveira. 2006. Detrimental effect of rutin on *Anticarsia gemmatalis*. *Pesq. Agrop. Bras.* 41: 1453-1459.

- Kogan, M, e E. F. Ortman. 1978. Antixenosis. A new term proposed to define Painter's "Non preference" modality of resistance. Bull. Entomol. Soc. Am. 24: 175-76.
- Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas aos insetos. Ícone, São Paulo, SP.
- Lin, H. M., e D. Fischer. 1990. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisions of inducing fators. Environ. Entomol. 19: 1852-1857.
- Martinez, S. S., e Van Emden, H. F. 2001. Redução do crescimento, deformidades e mortalidade de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) causadas por azadiractina. Neotr. Entomol. 30: 113-125.
- Painter, R. 1951 Insect resistance in crop plants. Macmillan, New York, NY.
- Pitol C, E. J. Erbes, e T. S. Romeiro. 2013. Produtividade e Caracterização de Cultivares de Soja na Região Centro Sul de Mato Grosso do Sul, Safra 2012/2013. Fund. MS. 3: 1-11.
- Piubelli, G. C., C. B. Hoffmann-Campo, F. Moscardi, S. H. Miyakubo, M. C. N. Oliveira. 2005. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatilis*? J. Chem. Ecol. 31: 1509-1525.
- Polanczyk, R. A., e S. B. Alves. 2005. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. Manejo Integ. Plagas y Agroec. 74: 24-33.
- Roscoe, R., e D. C. Gitti. 2014. Tecnologia e produção: Soja 2013/2014, pp 16-44 In: Tecnologia e produção de soja 2013/2014. Fundação MS, Maracajú, MS.
- Ribeiro, S. P., e G. W. Fernandes. 2000. Interações entre insetos e plantas no cerrado: teoria e hipóteses de trabalho. pp. 299-320. In Martins, R. P., T. M. Lewinsohn, e M. S. Barbeitos (eds). Ecologia e comportamento de insetos. Série O ecologica Brasiliensis, vol. VIII. PPGE-UFRJ. Rio de Janeiro, Bras.
- Romeiro, R. S. 2000. PGPR e indução de resistência sistêmica em plantas a patógenos. Summa Phytopatol. Botucatu. 26: 177-184.
- Santos, K. B. D., A. M. Meneguim, e P. M. O. J. Neves. 2005. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. Neotrop. Entomol. 34: 903-910.

- Santos, T. M., e A. L. Boiça Junior. 2001. Resistência de genótipos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) a *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. 30: 297-303.
- Siloto, R. C. 2002. Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. Dissertação. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- Silva, F. A. S., e C. A. V Azevedo. 2002. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. Rer. bras. Prod. Agroindustriais. 4: 71-78.
- Silva, F. A. S. e C. A. V Azevedo. 2009. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: World Congress on Computers in Agriculture, 7, Reno-NV-USA, ASABE.
- Silveira, L. C. P., J. D. Vendramim, e C. J. Rossetto. 1997. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). An. Soc. Entomol. Bras. 26: 291-298.
- Silveira-Neto, S, O. Nakano, D. Barbin, e N. A. Villa-Nova. 1976. Manual de ecologia dos insetos, Agronômica Ceres, Piracicaba, Bras.
- Taiz, L., e E. Zeiger. 2009. Fisiologia vegetal. 4 ed. Artmed, Porto Alegre, RS.
- Waquil, J. M., K. G. B. Boregas, e S. M. Mendes. 2008. Viabilidade do uso de hospedeiros alternativos como área de refúgio para o manejo da resistência da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do milho Bt. C. T. 160, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.
- Williams, W. P., e F. M. Davis. 1990. Response of corn to artificial infestation with fall armyworm and southwstem corn borer larvae. Southwest. Entomol.15: 163-166.
- Yun, D. J., T. Hashimoto, e Y. Yamada. 1992. Metabolic engineering of medicinal plants: Transgenic *Atropa belladonna* with an improved alkaloid composition. Proc. Nati. Acad. Sci. 89: 11799-11803.
- Willink, E., V. M. Osoreo, M. A. Costilla. 1991. El gusano cogollero del maiz. Avance Agroindustrial, San Miguel de Tucumau.12: 3-7.

**CAPITULO II BIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda*
(NOCTUIDAE) ALIMENTADA COM FOLHAS DE SOJA
TRANSGÊNICA Bt, DM 6563 RSF IPRO SUBMETIDA À HERBIVORIA
PRÉVIA**

Peruca et al.:Influência da herbivoria
prévia em soja sobre *S. frugiperda*.

R. D. Peruca
Rua Melissa, Nº 135
Bairro Carandá Bosque
CEP 79032-181
Campo Grande, MS, Brasil
Phone 00556733068056
E-mail ricardoperuca@yahoo.com.br

Environmental Entomology

Resistência de Plantas

Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae) alimentada com folhas de soja transgênica Bt, cultivar DM 6563 RSF IPRO submetida à herbivoria prévia

R. D. Peruca¹, A. R. Roel¹, G. B. Alcantara², J. S. Cerqueira³, A. C. D. Maia¹, R. G.
Coelho²

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Sustentabilidade
Agropecuária, Universidade Católica Dom Bosco, Av. Tamandaré, 6000, Jardim
Seminário, CEP 79117-900, Campo Grande, MS, Brasil.

²Departamento de Química, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

³Curso de Agronomia, Universidade Católica Dom Bosco.

RESUMO

Objetivou-se por meio desta pesquisa verificar a influência da herbivoria previa em planta de soja transgênica Bt através de ensaios biológicos no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Noctuidae) alimentadas com folhas submetidas a herbivoria previa da mesma espécie na mortalidade das fases de lagarta e pupa, no consumo foliar, no desenvolvimento e reprodução. Foram utilizadas lagartas provenientes da geração F1 de laboratório de idade entre 3^o/4^o instar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com os tratamentos: controle, injúria mecânica e pós-herbivoria (folhas de plantas de soja submetidas a herbivoria). Os experimentos foram conduzido em casa-de-vegetação e laboratório, em 25 repetições no tratamentos de avaliação de consumo e 50 repetições por tratamento de avaliação do efeito biológico. Analisou-se assim o consumo foliar, mortalidade das fases de lagarta e pupa, duração larval e pupal, peso de pupa, número de ovos por fêmea e viabilidade dos ovos. Concluiu-se que *S. frugiperda* alimentadas com folhas de soja DM 6563 RSF IPRO apresentam pequena redução na viabilidade larval e pupal, aumento na duração larval e pupal, menor peso pupal e diminuição da viabilidade de ovos nos tratamentos pós-herbivoria, indicando efeito de resposta metabólica da planta para sua defesa.

Palavras-chave: Insecta, soja transgênica Bt, resistência induzida, lagarta-do-cartucho.

ABSTRACT

This research aimed at checking, through biological testing, the influence of previous herbivory in Bt transgenic soybean plants on the development of *S. frugiperda* fed on leaves subjected to previous herbivory of the same species. The study used lab F1 generation caterpillars with ages between the 3rd and 4th instars. The treatments' experimental design was completely randomized: control, mechanical injury and post-herbivory injury (soybean leaves subjected to herbivory injury). The experiments were conducted in a greenhouse and a laboratory, with 25 repetitions of the evaluation of leaf consumption and 50 repetitions per evaluation of the biological effect. Thus, the study analyzed leaf consumption, mortality in caterpillar and pupal stages, larval and pupal lifetimes, pupal weight, number of eggs per female, and egg viability. It was concluded that *S. frugiperda* fed on DM 6563 RSF IPRO soybean leaves show small reduction in larval and pupal viability, increase in larval and pupal lifetimes, lower pupal weight, and decreased egg viability in the post-herbivory treatments, suggesting metabolic plant defense response.

Keywords: Insect, Bt transgenic soybean, induced resistance, fall armyworm.

INTRODUÇÃO

No Brasil a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Noctuidae) é praga chave da cultura do milho, mas encontra-se registrada em várias regiões produtoras de soja. A espécie destaca-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro, milho e soja (Pogue 2002, Capinera 2008). Sua ocorrência em soja vem aumentando principalmente em função da diversidade de hospedeiros e provavelmente pelo aumento de plantio de cultivares de milho transgênico Bt.

A soja como demais plantas, é atacada por vários insetos-praga, e desenvolveu, por meio de processos co-evolutivos, mecanismos de defesas advindos de variações morfológicas e fisiológicas, que ocorreram ao longo do tempo. Como por exemplo, a produção de substâncias do metabolismo secundário que, em muitos casos, atuam protegendo-as dos herbívoros (Bortoli et al. 2012).

Alguns compostos ou substâncias secundárias, não se encontram de forma natural nas plantas; elas podem ser produzidas após a planta ter sido injuriada pelo inseto, ou seja, no momento em que o inseto inicia sua alimentação (Lara 1991).

No Brasil, somente em 2005, a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) aprovou a liberação comercial da primeira planta Bt para o controle de insetos, o algodão *Gossypium hirsutum* L. que expressa a proteína Cry1Ac de Bt (Bollgard®). Em 2007, houve a liberação para plantio de milho *Zea mays* L. resistente a insetos, que expressa a proteína Cry1Ab de Bt (Yieldgard®). Por sua vez, em 2010 foi liberado o primeiro evento de soja resistente a insetos, a soja *Glycine max* (L.) Merrill MON 87701 × MON 89788 (Bt/RR2), que possui genes que codificam a expressão da proteína Cry1Ac de Bt e a proteína 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) de *Agrobacterium* sp. que confere tolerância ao herbicida glifosato (Bernardi 2012).

A partir da safra 2014/2015, a soja Bt é a planta transgênica que vai expressar um aumento significativo em sua área cultivada, devendo ocupar ao redor de 25% da área cultivada com esta oleaginosa no Brasil (Silva 2014).

Sosa-Gómez (2014) destaca que as espécies mais sensíveis à toxina na soja Bt são a *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818) (Noctuidae) e *Heliothis virescens* (Fabricius 1781) (Noctuidae). As lagartas Noctuidae *Chrysodeixis includens* (Walker 1858) e *Trichoplusia ni* (Hübner 1803) possuem menor suscetibilidade à tecnologia Bt e a espécie *S. frugiperda* (J. E. Smith 1797) apresenta resistência a ela. A *Spodoptera cosmioides* (Walker 1858) não é afetada pela soja Bt, por este motivo sempre deve haver o atento monitoramento da área, seja soja convencional ou Bt.

De acordo com Sosa-Gómez e Omoto (2012) a determinação dos padrões de suscetibilidade das espécies-praga da soja aos diferentes grupos de inseticidas/toxinas utilizados ou com potencial de utilização são fundamentais para os programas de manejo da resistência.

Assim, os programas de melhoramento visando resistência a insetos são longos. Estima-se que para cada dólar investido em programas de resistência, exista retorno aproximado de 300 dólares, justificando a continuidade de pesquisas em busca de fontes de resistência (Wiseman e Davis 1990). As substâncias químicas produzidas pelas plantas como mecanismo de defesa em resposta a estresses bióticos podem ter importância no desenvolvimento de métodos de controle de pragas agrícolas (Coehn 2002) ou no desenho de plantas geneticamente modificadas mais resistentes que contenham estes compostos de defesa (Hain et al. 1990, Yun et al. 1992).

Objetivou-se, por meio desta pesquisa, verificar a influência da herbivoria prévia em plantas de soja cultivar transgênica DM 6563 RSF IPRO através de ensaios biológicos no desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentadas com folhas submetidas à herbivoria prévia da mesma espécie, comparada as submetidas à injúria mecânica, na mortalidade das fases de lagarta e pupa, no consumo foliar, no desenvolvimento e na reprodução.

MATERIAL E MÉTODOS

Criação de *S. frugiperda*

As Lagartas utilizadas no experimento foram provenientes de criação estoque do laboratório de Entomologia da Universidade Católica Dom Bosco–UCDB em Campo Grande, MS, Brasil. As lagartas alimentadas com dieta artificial conforme (Burton e Perkins 1972) e os adultos com solução aquosa de mel a 10%, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas em sala climatizada. Para a montagem dos bioensaios, foram utilizadas lagartas provenientes da geração F1 de laboratório de idade entre 3^o/4^o instar.

Em casa-de-vegetação

Os experimentos foram conduzidos primeiramente em casa-de-vegetação e posteriormente em laboratório. As plantas utilizadas no ensaio foram produzidas em casa-de-vegetação no Instituto São Vicente em Campo Grande, MS, Brasil, latitude $20^\circ 23' 15.04''\text{S}$, longitude $54^\circ 36' 24,87''\text{W}$, e altitude 646 m, durante o período de janeiro a fevereiro de 2014.

Os tratamentos na casa-de-vegetação foram: plantas pós-herbivoria de *S. frugiperda*, com injúria mecânica e controle (sem herbivoria ou injúria mecânica). Para cada tratamento utilizou-se 80 repetições em vasos.

Utilizou-se a cultivar DM 6563 RSF IPRO por ser de ciclo precoce e alta produtividade, sendo o plantio realizado em vasos de três litros em solo com adubação química. A adubação foi realizada conforme a recomendação para cultura (Broch e Ranno 2012, Roscoe e Gitti 2014), após análise de solo, com sulfato de amônio, super fosfato simples, cloreto de potássio e corrigida com calcário dolomítico.

Os vasos com solo foram levados para casa-de-vegetação, onde ocorreu o plantio da soja DM 6563 RSF IPRO em 10 de janeiro de 2014. Na semeadura foram utilizadas três sementes por vaso e quinze dias após a germinação, realizou-se o desbaste, deixando-se duas plantas em cada vaso. A irrigação por micro-aspersão foi realizada diariamente suprimindo suas necessidades hídricas, com seis regas de dois minutos por dia.

Quando as plantas estavam em estágio vegetativo V6 (Fehr e Caviness 1977), gaiolas foram colocadas, uma por planta no terceiro trifólio a partir do pecíolo. As gaiolas foram confeccionadas com tecido tipo filó (22 cm de comprimento e 16 cm de largura), com a abertura fechada com velcro para fixação no pecíolo. Lagartas do 3º/4º instar, foram colocadas uma por gaiola no tratamento pós-herbivoria.

As lagartas de *S. frugiperda* oriundas da criação estoque permaneceram por 20 horas em jejum antes do início do experimento. A infestação iniciou-se às 7 horas e a injúria mecânica com 3 cm comprimento foi realizada com auxílio de uma pinça cirúrgica a cada 1 hora na extremidade dos folíolos, durante 12 horas. *S. frugiperda* alimentaram-se das folhas durante todo experimento, foram coletados diariamente trifólios de acordo com a progressão do ensaio das plantas que sofreram herbivoria prévia, com injúria mecânica e controle. Os trifólios coletados foram colocados em sacos plásticos previamente identificados e levados ao laboratório para o desenvolvimento do ensaio biológico.

Para avaliar os efeitos da herbivoria prévia e injúria mecânica foram realizados testes de consumo com 25 repetições e efeito biológico com 50 repetições. Utilizou-se folíolos de soja na fase de pré-florescimento, com os tratamentos: controle (folíolos de plantas de soja sem injúria mecânica ou herbivoria), injúria mecânica (folíolos de plantas de soja submetidas a injúria mecânica) e pós herbivoria (folíolos de plantas de soja submetidas a herbivoria).

Consumo foliar

Para a avaliação do consumo foliar de soja foram utilizadas lagartas de idade do 3º/4º instar, obtidas da criação estoque. Cada repetição foi constituída de uma placa de Petri com papel de filtro e um folíolo de soja por cada tratamento.

Para a leitura de área foliar consumida, todas as placas foram fotografadas e numeradas. Após 24 horas as lagartas foram retiradas e os folíolos novamente fotografados. Para a captura das imagens foi utilizada a câmera Sony Alpha DSLR-A350, utilizando a resolução máxima, de 14.2-megapixel, e sem flash, que estava apoiada com um tripé comum e posicionada para baixo de forma que o foco ficasse em 90° para baixo a uma distância média de 30 centímetros da mesa.

Na mesa, foi fixada uma folha de papel A4 branco que continha uma moldura impressa pontilhada para onde o foco da câmera estava ajustado, onde as folhas de soja eram posicionadas. Acima da moldura, foi impresso um retângulo com 3 centímetros de largura e 0,5 centímetro de altura, que foi utilizado no processamento para estabelecer uma escala de conversão entre pixel e centímetros.

Para a leitura de consumo foi criado um sistema desenvolvido em Java, utilizando a biblioteca ImageJ, para a análise e medição de área foliar.

Avaliação de mortalidade, biologia e reprodução

Os parâmetros biológicos avaliados foram: duração e mortalidade das diferentes fases de desenvolvimento, peso de pupas, duração das fases larval e pupal, número de ovos por fêmea e viabilidade de ovos.

Cada lagarta com 10 dias de idade foi individualizada utilizando-se caixa tipo Gerbox onde se colocou papel filtro, de mesma dimensão na parte interna inferior do recipiente. Na lateral da caixa junto da base da folha, inseriu-se uma porção de algodão umedecido em água com a finalidade de evitar perda de água e redução da qualidade das folhas como alimento. Os folíolos abertos e em perfeito estado foram distribuídos nas caixas ao acaso dentro de cada tratamento, posteriormente colocou-se uma lagarta de *S. frugiperda* por recipiente, sobre o folíolo de soja, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas em sala climatizada.

Diariamente os folíolos foram trocados e os excrementos eliminados, evitando-se eventuais contaminações e diminuição na qualidade do alimento. Quando as lagartas pararam de se alimentar, indicando o início da fase pré-pupal, a alimentação foi suspensa e as caixas Gerbox permaneceram fechadas até a pupação.

As lagartas de cada tratamento, posteriormente ao período larval, foram pesadas em balança eletrônica de precisão e sexadas após 24 horas da transformação em pupas. A razão sexual foi calculada com a divisão do número de fêmeas pelo total de indivíduos (machos + fêmeas) (Silveira-Neto et al. 1976).

Para cada tratamento, os adultos emergidos, separados em 10 casais, foram colocados em gaiolas de PVC, forradas nas laterais com papel filtro, tampadas na parte superior com tecido tipo organza, preso por liga de borracha, e a parte inferior apoiada em prato plástico forrado com papel filtro. Os casais foram alimentados com solução de mel a 10%. Para não haver problemas de fermentação e contaminação com microrganismos, o alimento foi renovado a cada dois dias, fornecido em vidros com 4,5 cm de altura e 2,0 cm de diâmetro, com filete de algodão no interior, onde a solução translocava por capilaridade.

As massas de ovos foram recortadas diariamente do papel filtro, identificadas e colocadas em placas de Petri com 1,8 cm de altura e 6,0 cm de diâmetro. Para contagem total dos ovos utilizou-se um microscópio estereoscópico. Diariamente contou-se o número de lagartas eclodidas visando determinar a viabilidade de ovos por tratamento.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado. Os dados de número médio de ovos viáveis foram transformados em $\sqrt{X + 0,5}$ e assim com os demais dados relativos aos parâmetros avaliados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Assistat® (Silva e Azevedo 2002, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas durante 24 horas com folíolos de soja cultivar transgênica DM 6563 RSF IPRO sem injúria consumiram em média 6,11 cm² (22,29% da área foliar), estatisticamente iguais aos valores obtidos de consumo das alimentadas com folhas após injúria mecânica 5,25 cm² (19,98%). Enquanto as que

foram alimentadas com folhas de soja pós-herbivoria consumiram 3,86 cm (18,93% de área foliar) não diferente significativamente dos valores obtidos pelo consumo do tratamento após injúria mecânica e do controle (Tabela 1).

Tabela 1 Área foliar (cm²) consumida ($X \pm EP$) por lagartas de *S. frugiperda* em tratamentos com injúria mecânica e herbivoria prévia em soja cultivar DM 6563 RSF IPRO a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Área foliar (cm ²)	Área foliar pós-herbivoria (cm ²)	Consumo foliar %
Controle	28,58 \pm 1,21 a [25]	22,47 \pm 1,48 a [25]	22,29 \pm 3,12 a [25]
Injúria mecânica	26,56 \pm 0,25 a [25]	21,31 \pm 0,94 a [25]	19,98 \pm 2,31 a [25]
Pós-herbivoria	20,77 \pm 0,90 b [25]	16,91 \pm 1,05 b [25]	18,93 \pm 3,31 a [25]
CV%	19,74	29,16	72,22

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

Valores entre colchetes expressam o número de observações [n].

Esperk et al. (2007) demonstraram que em algumas espécies de noctuídeos, como *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818), *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858), *S. frugiperda* e *Spodoptera litura* (Fabricius 1775), a qualidade do alimento é referida como um dos possíveis fatores que afetam o acréscimo de instares, ou a duração larval.

Lagartas do cartucho alimentadas com folhas de soja cultivar DM 6563 RSF IPRO tiveram duração da fase larval média de 19,38 dias, igual a duração das alimentadas com folhas após injúria mecânica (20,19 dias), mas com diferença significativa das alimentadas com folhas de plantas de soja com pós-herbivoria da mesma espécie 21,14 dias, ou seja prolongando a fase larval (Tabela 2).

A duração da fase larval de *A. gemmatalis*, de acordo com Werckmeister e Vendramim (1995) foi afetada significativamente com cultivares de sojas utilizadas como substrato alimentar nos tratamentos simulando herbivoria prévia (17,48 dias) em comparação a testemunha (16,80 dias).

Veloso (2010) detectou diferenças significativas entre as médias relativas à duração da fase larval de *S. frugiperda*, em cultivares de soja, com período de duração significativamente maior nos cultivares MG/BR 46 (16,50 dias) e M-SOY

8400 (15,52 dias), indicando que estas cultivares afetaram o desenvolvimento deste inseto, com menor período da fase de lagarta observado nos cultivares FMT-Tucunaré (14,57 dias) e BRSMT (14,62 dias).

De acordo com Esperk et al. (2007) a ocorrência de instares adicionais atua como um mecanismo compensatório em condições adversas, onde a temperatura, fotoperíodo, qualidade e quantidade do alimento, densidade de criação e umidade são os fatores mais comuns que afetam o número de instares. Sendo, portanto, o alongamento da fase larval um indicativo de menor adequação ao substrato alimentar, em consequência, provavelmente, da presença de algum nível de resistência (Silveira et al. 1997).

Geralmente, quanto mais curto o período de desenvolvimento larval, sem redução de biomassa, pode-se inferir que mais adequado e melhor é o hospedeiro para o desenvolvimento do inseto (Boregas et al. 2013).

Para a fase pupal foi observada diferença na duração, que variou de 10,13 no tratamento pós-herbivoria, 9,59 controle e 10,07 dias após injúria mecânica, respectivamente, com diferença significativa entre controle e tratamento com herbivoria prévia (Tabela 2). A duração da fase pupal relatada por (Werckmeister e Vendramim (1995) foi menor nos tratamentos com herbivoria simulada (9,32 dias) de *A. gemmatalis* quando comparado à testemunha (10,18 dias).

Pupas do tratamento pós-herbivoria apresentaram menor média de peso 145,83 mg, com diferença significativa entre os tratamentos, sendo a maior média de peso de pupas no tratamento controle com 186,41 mg e pupas originárias de larvas alimentadas com folhas após injúria mecânica 173,72 mg (Tabela 2).

Werckmeister e Vendramim (1995) identificaram maior peso de pupa no tratamento testemunha em relação aos tratamentos com herbivoria de *A. gemmatalis*. É provável que os efeitos dos tratamentos com herbivoria que tornaram as cultivares de soja menos adequadas ao desenvolvimento de *A. gemmatalis*, sejam devidos à produção de fitoalexinas após as injúrias causadas nas folhas, de acordo com os autores.

Tabela 2 Duração das fases larval, pupal e peso de pupas de *S. frugiperda* ($X \pm EP$) alimentadas com soja cultivar DM 6563 RSF IPRO, $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Duração fase larval (dias)	Duração fase pupal (dias)	Peso pupal (mg)
Controle	$19,38 \pm 0,25$ b [39]	$9,59 \pm 0,14$ b [37]	$186,41 \pm 3,27$ a [37]
Injúria mecânica	$20,19 \pm 0,19$ b [43]	$10,07 \pm 0,14$ ab [41]	$173,72 \pm 3,28$ b [41]
Pós-herbivoria	$21,14 \pm 0,32$ a [36]	$10,13 \pm 0,18$ a [31]	$145,83 \pm 3,77$ c [31]
CV%	7,80	9,14	12,38

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Valores entre colchetes expressam o número de observações [n].

Segundo Santos e Boiça Jr. (2001) o menor peso de pupa observado está provavelmente relacionado à não-preferência das lagartas pelo alimento ou à ingestão de substâncias presentes nas folhas que prejudicaram o seu desenvolvimento (antibiose), ou ainda, à ocorrência de ambos os fatores. Pupas menores originarão adultos menores, que podem refletir na cópula e número de ovos por fêmea.

O número médio de ovos de *S. frugiperda* por fêmea foi 327,90, 228,30 e 154,40 ovos respectivamente para controle, injúria mecânica e pós-herbivoria havendo diferença nas médias entre controle e pós-herbivoria. A viabilidade dos ovos de *S. frugiperda* 73, 59 e 66%, as variáveis biológicas mensuradas também indicaram a ocorrência de mecanismo defensivo da planta, com redução da viabilidade de ovos no tratamento com herbivoria prévia (tabela 3).

Moura et al. (2012) coletaram média de 154,25 ovos em tratamento controle de *S. frugiperda* criados em dieta artificial, conforme metodologia de Bowling (1967) (UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas).

A razão sexual foi 0,45 para controle, 0,48 injúria mecânica e de 0,55 pós-herbivoria. *S. frugiperda* com maiores pesos, período larval e pupal menores e maiores viabilidades pupal e larval apresentaram razão sexual abaixo da média (0,5), o inverso ocorreu com razão sexual com tratamento acima da média.

Tabela 3 Número médio de ovos, número médio de ovos viáveis ($X \pm EP$), viabilidade de ovos e razão sexual de *S. frugiperda* alimentadas com soja cultivar DM 6563 RSF IPRO a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Número médio de ovos*	Número médio de ovos viáveis*	Viabilidade (%)	Razão sexual
Controle	399,40 \pm 54,39 a	327,90 \pm 55,08 a	73	0,45
Injúria mecânica	397,90 \pm 90,80 a	228,30 \pm 81,38 ab	59	0,48
Pós-herbivoria	361,00 \pm 74,03 a	154,40 \pm 75,72 b	66	0,55
CV%	43,15	72,27		

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

*Dados foram transformados em $\sqrt{X + 0,5}$ para submeter à análise estatística.

Observou-se viabilidade larval de 78%, 86% e 72% respectivamente e pupal de 96%, 96% e 90% quando as lagartas foram alimentadas com folhas de soja DM 6563 RSF IPRO sem herbivoria prévia, após injúria mecânica e após herbivoria.

Tabela 4 Viabilidade pupal e larval de *S. frugiperda* em tratamentos com injúria mecânica e herbivoria prévia em soja cultivar DM 6563 RSF IPRO a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Viabilidade fase larval (%)	Viabilidade fase pupal (%)
Controle	78 [50]	96 [50]
Injúria mecânica	86 [50]	96 [50]
Pós-herbivoria	72 [50]	90 [50]

Valores entre colchetes expressam o número de observações [n].

Bernardi (2012) observou que lagartas neonatas das três espécies de *Spodoptera* foram pouco suscetíveis à proteína Cry1Ac expressa nas folhas de soja MON 87701 \times MON89788. Aos 5 dias após a infestação dos discos de folha, a

mortalidade de *Spodoptera cosmioides* (Walker 1858) (Noctuidae) e *Spodoptera eridania* (Cramer 1782) (Noctuidae) em soja MON 87701 x MON 89788 foi < 10% e não diferiu significativamente daquela observada em soja isolinha não-Bt. Por outro lado *S. frugiperda* apresentou maior suscetibilidade a Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788. A mortalidade de *S. frugiperda* foi significativamente maior em soja MON 87701 x MON 89788, variando de 41 a 47% e 32 a 35%.

As análises químicas quantitativas e qualitativas dos metabólitos de folhas de origem de todos os tratamentos podem comprovar os efeitos observados nos parâmetros biológicos. Entretanto, nota-se que lagartas alimentadas com plantas de variedade transgênica Bt pós-herbivoria podem comprovar os efeitos observados nos parâmetros biológicos como redução de duração da fase larval, peso de pupas e número de ovos e viabilidade dos ovos o que indica que é necessária a presença de lagartas para acionar mecanismo de resistência. Entretanto, com exceção dos parâmetros viabilidade de ovos e duração pupal, estes efeitos não foram observados nas plantas submetidas a injúria mecânica.

CONCLUSÃO

Soja cultivar DM 6563 RSF IPRO submetida a herbivoria mostrou-se desfavorável ao desenvolvimento de *S. frugiperda* quando comparado aos tratamento controle e com injúria mecânica indicando efeito de resposta metabólica da planta para sua defesa.

REFERÊNCIAS CITADAS

- Bernardi, O. 2012. Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 × MON 89788 no Brasil. Tese. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.
- Boregas, K. G. B., S. M. Mendes, J. M. Waquil, e G. W. Fernandes. 2013. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. *Bragantia*. 72: 61-70.
- Bortoli, S. A., A. T. Murata, A. M. Vacari, C. P. Bortoli, e D. G. Ramalho. 2012. Herbivoria em soja: efeito na composição química das folhas e na biologia da lagarta da soja e do percevejo verde pequeno. *Comun. Sci.* 3: 192-198.
- Broch, D. L., e S. K. Ranno. 2012. Fertilidade do solo, adubação e nutrição da cultura da soja, pp 3-39 In: *Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/2012*. Fundação MS, Maracajú, MS.
- Bowling, C. C. 1967. Rearing of two lepidopterous pests of rice on a common artificial diet. *Ann. Entomol. Soc. America*. 60: 1215- 1216.
- Burton, R. L., e W. D. Perkins. 1972. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 65: 385-386.
- Capinera, J. L. 2008. *Encyclopedia of entomology*. 2nd ed., v. 1-4. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Cohen, Y. R. 2002. β -Aminobutyric acid-induced resistance against plant pathogens plant disease. *Plant Dis.* 86: 448–457.
- Esperk T, T. Tammaru, e S. Nylin. 2007. Intraspecific Variability in Number of Larval instars in Insects. *J. Econ. Entomol.* 100: 627-645.
- Fehr, W. R. e C. E. Caviness. 1977. Stages of soybean development. *Spec.* 80: 1-12. Cooperative Extension Service, Agriculture and Home Economics Experiment Station. Iowa State Univ, Ames, USA.

- Hain, R., B. Bieseler, H. Kindl, G. Schröder, R. Stöcker. 1990. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. *Plant Mol. Biol.* 15: 325-335.
- Izidro, R., R. P Almeida, e J. O. V. Pereira. 1997. Consumo foliar de *Spodoptera frugiperda* em amendoim cultivares Tatue CNPA BR-1. *Rev. Bras. Oleag. Fibros.* 1: 37-42.
- James, C. 2010. Global status of commercialized biotech/GM crops. Ithaca: ISAAA Briefs, 275.
- Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas aos insetos. Ícone, São Paulo, SP.
- Moura, J. Z., L. E. D. M. Pádua, P. R. Ramalho, A. A. Silva, e K. Maggioni. 2012. Extrato de folhas de *Anadenanthera macrocarpa* sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda* criada em dieta artificial. *Comum. Sci.* 3: 249-254.
- Pogue, G. M. 2002. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Mem Am. Entomol. Soc.* 43: 1-202.
- Roscoe, R., e D. C. Gitti. 2014. Tecnologia e produção: Soja 2013/2014, pp 16-44 In: Tecnologia e produção de soja 2013/2014. Fundação MS, Maracajú, MS.
- Santos, T. M., e A. L. Boiça Junior. 2001. Resistência de genótipos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) a *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 297-303.
- Silva, M. T. B. 2014. O novo ambiente de pragas. *Rev. Atual. Cotripal.* 132: 20-21.
- Silva, F. A. S., e C. A. V. Azevedo. 2002. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. *Rev. bras. Prod. Agroindustriais.* 4: 71-78.
- Silva, F. A. S. e C. A. V. Azevedo. 2009. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA, ASABE.
- Silveira-Neto, S, O. Nakano, D. Barbin, e N. A. Villa-Nova. 1976. Manual de ecologia dos insetos, Agronômica Ceres, Piracicaba, Bras.
- Silveira, L. C. P., J. D. Vendramim, C. J. Rossetto. 1997. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *An. Soc. Entomol. Brasil, Londrina,* 26: 291-298.
- Sosa-Gómez, D. R. e C. Omoto. 2012. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. pp 673-724 In: C. B.

- Hoffmann-Campo, B. S. Corrêa-Ferreira e F. Moscardi. (Org.). Soja: Manejo Integrado de Insetos e outros Ártropodes-praga. Embrapa. 1: 673-724.
- Sosa-Gómez, D. R. 2014. Elas são intactas mesmo? Revista Agrícola. 16:41.
- Veloso, E. S. 2010. Resistência de cultivares de soja a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Dissertação. Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.
- Veloso, E. S. 2010. Resistência de cultivares de soja a *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). Dissertação. Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira.
- Werckmeister, A. P. B., e J. D. Vendramim. 1995. Efeito da herbivoria prévia simulada sobre o desenvolvimento de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas cultivares de soja. An. Soc. Entomol. Bras., Londrina, 24: 299-304.
- Wiseman, B. R., e F. M. Davis. 1990. Plant resistance to insects attacking corn and grain sorghum. Fla. Entomol. 73: 446-458.
- Yun, D. J., T. Hashimoto, e Y. Yamada. 1992. Metabolic engineering of medicinal plants: Transgenic *Atropa belladonna* with an improved alkaloid composition. Proc. Nati. Acad. Sci. 89: 11799-11803.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho segue de uma necessidade de averiguação biológica para complementar as análises metabólica de *Glycine max* sob a ação de *S. frugiperda* que esta sendo realizada por pesquisadores do Departamento de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

Os resultados apresentados nesta dissertação trazem contribuições científicas sobre a indicação de que processos de reação das plantas que sofreram herbivoria influenciam no desenvolvimento biológico de *S. frugiperda*. Apesar de que se observou uma tendência de efeitos menos pronunciados na variedade transgênica.

Atrelado ao experimento biológico foi feita a avaliação química dos extratos brutos metanólicos das folhas de soja (*Glycine max*) por técnica espectroscópica de ultravioleta, por cromatografia líquida utilizando detector fotodiodo e por quimiometria. Resultados preliminares mostraram que existe diferença metabólica entre as amostras obtidas pelo ataque de *S. frugiperda* e por injúria mecânica em diferentes horas do dia (5h, 10h, 24h e recuperação, após 48h) quando comparadas ao controle (0h). Os resultados obtidos estão sendo analisados e serão publicados em revista especializada.

Foi realizada também com o extrato metanólico a avaliação fitoquímica com a separação e identificação de 3 flavonóides e 1 saponina que ainda estão sendo identificadas por RMN (Ressonância Magnética Nuclear) de ^1H , ^{13}C e experimentos bidimensionais.

Finalmente, os resultados obtidos nos dois trabalhos biológicos mostram que ocorreram modificações com alongamentos de fases larval e pupal, diminuição de viabilidade larval, pupal, consumo, peso pupal e viabilidade de ovos nos tratamentos pós-herbivoria, indicando efeito de resposta metabólica da planta para sua defesa. Análises químicas quantitativas e qualitativas dos metabólitos de folhas de origem

de todos os tratamentos podem comprovar os efeitos observados nos parâmetros biológicos. O que é a proposta de continuidade desse trabalho no doutorado.

Os mecanismos de defesa podem ser de grande importância na busca de meios de controle menos agressivos desta praga, bem como para o desenho de plantas mais resistentes e ainda contribuindo para pesquisas em Biotecnologia.

FIGURAS DO APÊNDICE



Figura 1 *S. frugiperda* sendo colocadas nas gaiolas no tratamento pós-herbivoria



Figura 2 Trifólio de soja sofrendo herbivoria de *S. frugiperda* em casa-de-vegetação



Figura 3 Folíolos de soja sendo fotografados para cálculo de área foliar consumida



Figura 4 Gaiolas com casais de *S. frugiperda* para avaliação da reprodução

NORMAS DA REVISTA

ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA - ESA STYLE GUIDE

Find everything you need to know about writing and formatting your manuscript for *Annals of the ESA*, *Environmental Entomology*, *Journal of Economic Entomology*, *Journal of Insect Science*, *Journal of Medical Entomology*, and *American Entomologist*.

Table of Contents

[Order of Elements](#)

[Title Page](#)

[Abstract and Key Words](#)

[Methods and Results](#)

[Heading Levels](#)

[In-Text Citation](#)

[Manufacturers](#)

[Reporting Requirements for Statistical Tests](#)

[Model Analysis](#)

[Modeling Guidelines](#)

[Equations](#)

[Validation or Testing of Model Results](#)

[Structure of Computer Code](#)

[Gene Sequencing](#)

[Reporting Taxonomy](#)

[Voucher Specimens](#)

[Acknowledgments](#)

[Human and Animal Use in Research and Testing](#)

Disclosure of Potential Conflicts of Interest

References Cited

Tables

Figures

Supplemental Material

Notes on Terminology

Scientific Names

Common Names

Use of Stadium/Instar

Notes on Formatting

Capitalization

Abbreviations

Numbers

Footnotes to the Text

Order of Elements

Order of elements are as follows: title page; Abstract and key words; introduction (no heading); Materials and Methods; Results; and Discussion (or Results and Discussion); Acknowledgments; References Cited; footnotes; tables; figure legends; and figures.

The introduction should clearly state the basis of your study along with the background of the problem and a statement of purpose. The Materials and Methods section should include a clear and concise description of the study design, experimental execution, materials, and method of statistical analysis. Results should be clearly differentiated from the interpretation of your findings in the Results section or within the Results and Discussion. Cite tables and figures in numerical order as they should appear in the text. Include suggestions for direction of future studies, if appropriate.

Title Page

The title page should include the name, complete address, phone number, fax number, and e-mail address of corresponding author.

Include a running head of <65 characters, including author names. *Example* Smith and Jones: Biological Control of *C. capitata* (no period). For more than two authors, use the senior author's name followed by et al. *Example:* Smith et al.: Biological Control of *C. capitata* (no period).

Include the section of the journal.

The title should be concise and informative. Include either the ESA approved common name or the scientific name, but not both of the subject. Common names used in the title must be listed in the ESA Common Names of Insects & Related Organisms. Do not include authors of scientific names in the title. Do not capitalize the following words in the title or subheadings: a, an, and, as, at, be, by, for, in, of, on, per, to, the. Insert (Order: Family) immediately after the name of the organism.

Affiliation line includes a complete address. If appropriate, designate current addresses for all authors by numbered footnotes (superscripted numbers) placed at the bottom of the title page. *Example:*

1 Department of Entomology, University of Colorado, 345 East 7th Street, Denver, CO 78095.

Include all authors' names below the title. Footnote numbers are placed outside commas in multi-authored articles.

Sample journal manuscript title page

Running Head	Lance and Gates: Trapping systems For Detecting <i>Ceratitis capitana</i>	D. R. Lance USDA-APHIS-PPQ Hawaii Methods Dev. Station 4150 Ahiki St. Waimanalo, HI 96795 Phone: 234 555-1212 Fax: 234-555-1213 E-mail: author@mail.net	Corresponding Author and address
Journal and Section	Journal of Economic Entomology Forum		
Title	Sensitivity of Detection trapping Systems for Mediterranean Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) in Southern California		
Authors	D. R. Lance and D. B. Gates		
Affiliation	USDA-APHIS-PPQ, Hawaii Methods Development Station, 4150 Ahiki St, Waimanalo, HI 96795		

Abstract and Key Words

Abstract. On a separate page, provide an abstract of fewer than 250 words. Give scientific name and authority at first mention of the subject organism. Do not cite references, figures, tables, probability levels, or results. Refer to results only in the general sense.

Keywords. Place three to five key words, separated by commas, on a line below the abstract. Use only singular words/noun. Spell out scientific names (e.g., spell out *Aedes albopictus* instead of *Ae. albopictus*). Do not combine different subjects as one key word (e.g., "pesticides and grass," should be two separate keywords, "pesticide, grass." Do not use scientific names and common name at the

same time as one key word [e.g., use "coffee, *Coffea Arabica*" (as 2 key words) instead of coffee (*Coffea Arabica*).

Optional foreign language abstract: All articles will have an English abstract. However, to encourage international communication, authors may include a second abstract in a language other than English. (Spanish, French, German, Russian, Portuguese, Chinese, or Japanese are accepted.) It is the author's responsibility to provide an accurate, and grammatically correct non-English version. Do not repeat the keywords.

Methods and Results

Heading Levels

First-level headings are centered and boldfaced on their own line. Initial capital letters. Used to divide the manuscript into major sections (e.g., Materials and Methods, Results).

Second-level headings are flush left, boldface, and are also on their own line with initial capital letters. Second-level headings are rarely used except in taxonomic articles where multilevels of headings may be necessary.)

Third-level headings are boldfaced, paragraph indented, have initial capital letters, and are followed by a period. Third-level headings are used to divide first-level sections into smaller sections.

Fourth-level headings are italicized (but not boldfaced), paragraph indented, have initial capital letters, follow immediately after a third-level heading or start a new paragraph, and are followed by a period. Fourth-level headings are used to divide third-level sections into smaller sections.

In-text Citation

Single Author

(Smith 1993)

Two Authors

(Smith and Jones 1993)

Multiple Citations

(Smith 1996, Smith et al. 1997, Jones 1998)

Multiple Publications by Same Author(s)

(Smith et al. 1995a, 1995b, 1997; Jones 1996)

Personal Communications

(Jones 1988; L. J. Smith, personal communication). Obtain and forward (at submission) a letter of permission to use citations to personal communications (from those other than authors).

Unpublished Data

(L.J.S., unpublished data) for one author or (unpublished data) for all authors. Obtain and forward (at submission) a letter of permission to use citations to unpublished data (from those other than authors).

In Press

(Smith 1997) for in press, cite projected year of publication.

Software

(PROC GLM, SAS Institute 1999) for software user's manual.

Manufacturers

In parentheses, provide manufacturer's name and location (city, state) and model number of relevant materials and equipment. Example: (Model 3000, LI-COR, Lincoln, NE). Use generic names when possible (e.g., self-sealing plastic bags).

Reporting Requirements for Statistical Tests

All data reported (except for descriptive biology) must be subjected to statistical analysis. Descriptive biology should include information such as sample sizes and number of replications. Authors are responsible for the statistical method selected and for the accuracy of their data. Authors should be able to justify the use of a particular statistical test when requested by an editor. Results of statistical tests may be presented in the text, in tables, and in figures. Statistical methods should be described in Materials and Methods with appropriate references. Experimental designs should also be described fully in Materials and Methods. Descriptions should include information such as sample sizes and number of replications. See specific section in this style guide for suggestions on formatting statistical results. Only *t*-tests

and analyses of variance require no citation. Cite the computer program user's manual in the References Cited.

Probit/logit

When presenting results of probit/logit analysis, these columns should be included in tables (in this order, left to right); n , slope + SE, LD (or LC) (95% CL), and chi-square. When a ratio of one LD versus another is given, it should be given with its 95% CI.

Statistical tests to show what model best fits data intended to estimate the 99.9986% level of effectiveness should be presented to justify use of any model, including the probit model. Thus, we do not recommend use of the Probit 9 without tests to show that the probit model fits the data.

Analysis of Variance or t -test

When presenting the results of analysis of variance or a t -test, specify F (or t) values, degrees of freedom, and P values. This information may be placed in parentheses in the text. Example: ($F= 9.26$; $df = 4, 26$; $P < 0.001$). If readability of the text is affected by the presence of repeated parenthetical statistical statements, place them in a table.

Regression

In regressions, specify the model, define all variables, and provide estimates of variances for parameters and the residual mean-square error. Italicize variables in equations and text.

Variance and sample size

Include an estimate of the variance and sample size for each mean regardless of the method chosen for unplanned multiple comparisons. The use of Duncan's Multiple Range Test (DMRT) is not acceptable as a *mean separation test* as it is no longer commonly accepted as a method for *post hoc* mean separation analysis.

Model Analysis

At the beginning of the manuscript, authors should state clearly the goals of their model construction and analysis. Evaluation by reviewers depends upon these goals and the type of model. Authors should attempt to describe the main conclusions, limitations, and sensitivity of results to assumptions. For stochastic models, describe the variability in the results.

Modeling Guidelines

The following guidelines pertain to any mathematical model calculated for purposes other than statistical analysis. Authors must adequately describe both model structure and model analysis. Authors must explain and justify original equations and computer programs or justify the selection of a published software package used in the computation of models. Model structure and steps in the analysis must be described in the Materials and Methods section. Without presenting extensive computer code, the text must permit an understanding of the model that would allow most mathematically inclined scientists to duplicate the work. Present all equations that represent the biology of the system being modeled. Unless their derivation is self-evident, show how the equations were derived and mention the underlying assumptions. Express how the equations are solved over time and space. Provide references for standard techniques (e.g., matrix manipulation, integration). Define all variables and parameters in each equation and describe their units (e.g., time, space, and mass). In the Materials and Methods or Results section, present the range of parameter values included in the model, and describe the uncertainty in or range of validity of these values.

Equations

Consult *Mathematics into Type* for correct formatting of equations and mathematical variables. Italicize all mathematical variables. Center more complex equations on a separate line.

$$R = A \text{ barrtype} + \text{Blog } 10 (f) \\ (2)$$

Validation or the Testing of Model Results

Authors must state why the model did not require testing (e.g., theoretical study), why it cannot be tested (e.g., lack of data), or how it was tested. Data used for testing must be independent of data used to build or calibrate the model. Describe the data and procedures in Materials and Methods. Authors should be aware that the testing of models is an important step that should be a part of most studies.

Structure of Computer Code

For models solved or simulated by computers, mention the programming language and computer used. Describe the important numerical methods used in calculating the model (e.g., integration and random number generation). Mention how the program's logic and algorithms were tested and verified. When published software is computed, provide a reference and state which procedures were used. Discuss in any section of the manuscript the limitations of the published software. Original computer programs should be made available at the request of reviewers and readers.

Gene Sequencing

Inclusion of a GenBank/EMBL accession number for primary nucleotide and amino acid sequence data is a criterion for the acceptance of a manuscript for publication. Sequences from new species and new genes must indicate the proportion of the gene sequenced and should include data from both strands. The accession number may be included in the original manuscript or the sequence may be provided for review and an accession number provided when the manuscript is revised. A manuscript will not be accepted for publication until the accession number is provided.

GenBank may be contacted at their website

at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/submit.html>. The EMBL Data Library may be contacted at their website at <http://www.ebi.ac.uk/embl/Submission/index.html>.

Reporting Taxonomy

Follow the *International Code of Zoological Nomenclature*, 4th ed., for taxonomic style. Center the heading that indicates the name of the taxon in bold type. Center figure numbers in parentheses under the main heading; do not use bold type. Start all synonymies at the left margin with runovers indented. Include authors and date. References must appear in References Cited section. Use telegraphic style throughout descriptions.

For *Journal of Medical Entomology* Authors only: Please refer to the journal's Policy on Names of Aedine Mosquito Genera and Subgenera if writing about these insects.

Taxonomy Headings

Use only acceptable 3rd-level subheadings such as:

- Male
- Female
- Material Examined
- Type Material
- Distribution
- Etymology
- Biology
- Discussion

Avoid using Description as a subheading.

Dates

Use Roman numerals I through XII to designate month of collection. Use arabic numerals 00 through 99 to designate collection years in the 20th century. Do not abbreviate other years, including the 21st century. Express data in this format: day-month (use a Roman numeral)-year. Example: 2-V-97.

Locality Other than Principal Types

Start with the largest area followed by successively smaller areas separated by colons. Capitalize countries. Arrange data for each locality in the following order: count of specimens and sex or stage (as applicable), city or vicinity, date, collector, and depository. Example: MEXICO: Tamaulipas: 1 male, 1 female, Ciudad Mante, 15-III-97, K. Haack; 5 females, Ciudad Victoria, 3-VII-99, C. Hughes, MCZ. Arrange localities alphabetically. Use a semicolon to separate data for different localities. Define depositories in the Materials and Methods.

Type Material

Start description with the principal type in capital letters. Follow this immediately with count and sex of specimens (use male and female symbols if possible), then place additional data in the order of locality, date, additional data, and collector. Separate these items with commas. Example: HOLOTYPE: 1 male, Locust Grove, VA, 22-X-98, on *Cercis canadensis*, R. H. Foote. PARATYPES: 2 males, same data.

Voucher Specimens

Voucher specimens of arthropods serve as future reference for published names used in scientific publications. Although the deposition of voucher specimens is not required as a condition for publication, authors are encouraged to deposit specimens in an established, permanent collection and to note in the published article that the expected deposition has been made and its location. Authors should contact the curator of a voucher repository before deposition concerning the procedures required for curation to ensure that the collection will accept the voucher

materials. The designation and proper labeling of voucher specimens is the author's responsibility. When available, at least three specimens should be deposited. Each specimen should have the following information provided at the time of deposition:

- Standard label data that are required for the specimens collection (i.e., locality, date of collection, collector, host, ecological data, whether the specimen is from a laboratory collection, etc.).
- An identification label that includes the identifier and date of identification.
- A label that designates the specimen as "voucher."

Acknowledgments

Place the acknowledgments after the text. Organize acknowledgments in paragraph form in the following order: persons (omit all professional titles and degrees), groups, granting institutions, grant numbers, and serial publication number.

Human and Animal Use in Research and Testing

For research articles that involved the use of humans or animals, the Entomological Society of America requires that the following types of notification, as applicable, be included in the acknowledgement section of the article.

Humans. All human subjects work should reference approved Internal Review Board protocols or compliance with Health Insurance Portability and Accountability Act information policies for their organization, if the protocols are not available.

Animals. All studies should reference an approved Institutional Animal Care and Use Committee protocol or similar documents from their institutions. For trapping/collecting wild animals/birds, reference to collecting permits at the national or state level should be referenced.

Pathogens. Reference should be made to Biological Use Authorization approved by an institutional Environmental Health and Safety committee or similar body.

Sample notification: The collection and infection of wild birds with encephalitis viruses was done under Protocol 11184 approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the University of California, Davis, California Resident Scientific Collection Permit 801049-02 by the State of California Department of Fish

and Game, and Federal Fish and Wildlife Permit No. MB082812-0. Use of arboviruses was approved under Biological Use Authorization #0554 by Environmental Health and Safety of the University of California, Davis, and USDA Permit #47901.

Disclosure of Potential Conflicts of Interest

Potential conflicts of interest include any relationships of a financial or personal nature between an author or coauthor and individuals or organizations within three years of submission which, in theory, could affect or bias an author's scientific judgment, or limit an author's freedom to publish, analyze, discuss, or interpret relevant data. Sources of financial support originating outside the coauthors' home institution(s) for any aspect of a study must be indicated in the Acknowledgments section of the paper. Financial support includes not only funding, but gratis provision of materials, services, or equipment. Any additional potential conflicts of interest, not covered in the acknowledgments of financial support, must be revealed to the editor at submission, and disclosed in a statement immediately following the Acknowledgments. If an author or coauthor has entered into an agreement with any entity outside that authors' home institution, including the home institution of another coauthor, giving that entity veto power over publication of the study or over presentation, analysis, discussion, or interpretation of any results of the study, whether or not such veto power was exercised, this information must be disclosed in a statement immediately following the Acknowledgments. As a suggestion, such a statement could take the following form: "This manuscript is published with the concurrence of [*Institution / Company / Individual / etc. X*]." If no potential conflicts of interest exist, this must be stated in the cover letter to the editor at submission.

In the case of submissions to *Arthropod Management Tests*, in lieu of the above, authors must include, when applicable, the statement, "This research was supported by industry gift(s) of [*pesticide and/or research funding*]."

References Cited

Cite only those articles published or formally accepted for publication (in press). Include all references mentioned in text. Include enough information to allow reader

to obtain cited material (e.g., book and proceedings citations must include name and location [city and state or country] of publisher).

Abbreviate journal titles according to the most recent issue of BIOSIS Serial Sources. For non-English titled journals that are cited in the references, the title of the journal should be spelled out, and not abbreviated. Systematics-related articles may specify that all serial titles be spelled out for final publication. Citations and References should not be numbered.

References Cited: Alphabetical order(chronological for one author or more than two authors, and alphabetical order [by surname of second author] for two authors)

Journal Articles

Evans, M. A. 2000.Article title: subtitle (begin with lowercase after colon or dash unless first word is a proper noun). J. Abbr. 00:000–000.

Evans, M. A. 2001a.Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A. 2001b.Article title.J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., and R. Burns. 2001.Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., and A. Tyler. 2001.Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., A. Tyler, and H. H. Munro. 2000.Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

Evans, M. A., R. Burns, and A. A. Dunn. 2001.Article title. J. Abbr. 00: 000–000.

In Press

Evans, M. A. 2002.Article title. J. Econ. Entomol. (in press).

Books

Burns, R. 2001.Title (initial cap only): subtitle (no initial cap after colon). Publisher, city, state abbreviation or country.

Evans, M. A. 2001.Colorado potato beetle, 2nd ed. Publisher, city, state abbreviation or country.

Tyler, A. 2001.Western corn rootworm, vol. 2. Publisher, city, state abbreviation or country.

Article/Chapter in Book

Tyler, A. 2001.Article or chapter title, pp. 000–000.*In*T.A.J. Royer and R. B. Burns (eds.), Book title. Publisher, city, state abbreviation or country.

Tyler, A., R.S.T. Smith, and H. Brown. 2001. Onion thrips control, pp. 178–195.*In*R. S. Green and P. W. White (eds.), Book title, vol. 13. Entomological Society of America, Lanham, MD.

No Author Given

(USDA) U.S. Department of Agriculture. 2001. Title. USDA, Beltsville, MD.

(IRRI) International Rice Research Institute. 2001.Title. IRRI, City, State or Country.

Patents

Harred, J. F., A. R. Knight, and J. S. McIntyre, inventors; Dow Chemical Company, assignee.1972 Apr 4.Epoxidation process. U.S. patent 3,654,317.

Proceedings

Martin, P. D., J. Kuhlman, and S. Moore. 2001.Yield effects of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) feeding, pp. 345–356.*In*Proceedings, 19th Illinois Cooperative Extension Service Spray School, 24–27 June 1985, Chicago, IL. Publisher, City, State.

Rossignol, P. A. 2001.Parasite modification of mosquito probing behavior, pp. 25–28.*In*T. W. Scott and J. Grumstrup-Scott (eds.), Proceedings, Symposium: the Role of Vector-Host Interactions in Disease Transmission. National Conference of the Entomological Society of America,10 December 1985, Hollywood, FL. Miscellaneous Publication 68. Entomological Society of America, Lanham, MD.

Theses/Dissertations

James, H. 2001. Thesis or dissertation title. M. S. thesis or Ph.D. dissertation, University of Pennsylvania, Philadelphia.

Software

SAS Institute. 2001. PROC user's manual, version 6th ed. SAS Institute, Cary, NC.

Online Citations

Reisen, W. 2001.Title. Complete URL (protocol://host.name/path/file.name) and/or DOI (Digital Object Identifier)

Tables

Place tables after the References Cited section. Double-space and number all tables. Boldface table title. Do not repeat data already presented in text. If a table continues on more than one page, repeat column headings on subsequent page(s).

Sample Journal Table

Table 1. Mean adult pea leaf weevil densities (\pm SE) per 300 cm² of soil in conventional-tillage (CT) and no-tillage (NT) pea during the 2005, 2006 and 2007 growing seasons

Date	Treatment	Mean (SE)
24 May 2005 ^a	CT	1.3 (0.1)
	NT	1.1 (0.1)
10 May 2006	CT	0.7 (0.08)*
	NT	0.3 (0.07)
29 May 2006	CT	1.5 (.06)
	NT	1.4 (.04)
10 May 2007	CT	1.9 (0.1)*
	NT	0.2 (0.1)
29 May 2007	CT	2.3 (0.1)
	NT	2.1 (0.1)

Data were log-transformed to meet normality assumptions. An asterisk indicates significant differences ($P < 0.05$) between tillage treatment means.

^a Only one sample was collected in 2005.

Title

Title should be short and descriptive. Boldface table number and title only. Include "means + SEM" in title if applicable. Do not footnote title; use the unlettered first footnote to include general information necessary to understand the table (e.g., define terms, abbreviations, and statistical tests).

Lines

Use horizontal lines to separate title from column headings, column headings from data field, and data field from footnotes. Do not use vertical lines to separate columns. All columns must have headings.

Abbreviations

Use approved abbreviations. Use abbreviations already defined in the text and define others in the general footnote. Use the following abbreviations in the body or column headings of tables only: amt (amount), avg (average), concn (concentration), diam (diameter), exp (experiment), ht (height), max (maximum), min. (minimum), no. (number), prepn (preparation), temp (temperature), vs (versus), vol (volume), wt (weight). Use the following abbreviations for months: Jan., Feb., Mar., April, May, June, July, Aug., Sept., Oct., Nov., and Dec.

Operational Signs

Repeat operational signs throughout data field. Insert a space on either side of sign (1.42 ± 1.36).

Spacing

Leave no space between lowercase letters and their preceding values (e.g., 731.2ab).

Footnotes to Tables

Use footnotes to define or clarify column headings or specific datum within the data field. Do not footnote the title; use the unlettered first footnote to include general information necessary to understand the table (e.g., define terms, abbreviations, and statistical tests). The use of asterisks is reserved for statistical significance only.

Example:

Means within a column followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$; Student *t*-test [Abbott 1925]). *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; NS, not significant).

Use lowercase italicized superscripted letters to indicate footnotes. Footnote letters should appear in the table in consecutive order, from left to right across the table then down the page.

Figures

Figures may be embedded in the manuscript text file for the initial Version 1 submission, but for accepted manuscripts of Version 2 or higher, figures must be attached as separate TIFF, EPS, or PowerPoint files.

For more information on preparing digital figures see the section on [Digital Art Preparation](#).

For review purposes, it is acceptable to include figures, whether in black and white or color, as part of the manuscript file, with each figure on a separate page. Figures should be inserted in the manuscript file in one of the following formats: TIFF, EPS, WMF, or JPEG. GIF formats, such as from websites, are not acceptable and produce poor quality printouts because of low resolution, even for peer review purposes. Charts from Excel and SigmaPlot should not be inserted unless they are in one of the above formats.

Figure Preparation

Although figures of any size can be submitted, figures that fit exactly the width of 1 column (72 mm) or 2 columns (148 mm) expedite the publication process. Figures should be no longer than 195 mm from top to bottom. Separate parts of the

same figure must be grouped together and arranged to use space efficiently. Wherever possible, it is best to avoid using a full page for a set of illustrations. That is, authors should attempt to have each figure appear separately from the others and should consider numbering illustrations as separate figures rather than as multiple parts of the same figure.

When choosing a font size, remember that it should be large enough so that reduction to fit the journal page will not make lettering difficult to read. Final lettering size should be 8 or 9 point using the fonts Arial or Helvetica or Times New Roman or Times Roman. Letter locants on figures composed of more than one element should match those in the text (either upper- or lowercase). Use a scale bar in lieu of magnification, and define scale in the figure caption. Figures will not be relettered nor will flaws be corrected.

Authors are urged to refer to our Digital Art Preparation section for detailed information and specifications for on preparing digital art. Or, contact the publications office at 301-731-4535, ext. 3020 or orpubs@entsoc.org with questions concerning the preparation of artwork.

Photographs

See the Digital Art Preparation section on how to submit photographs. Remember to scan black and white photos as grayscale and not color. For color photos, use the CMYK color mode, not RGB. Save photos in the TIFF format.

Abbreviations and Symbols

Abbreviations and symbols in figures should match those in the text or be defined in legends.

Figure Captions

Type all captions double-spaced on a separate page. All captions should be in paragraph form as shown by the example below.

Fig. 1. Relationship between percentage of defoliation of oak trees and gypsy moth population density. (A) Defoliation and egg mass density. (B) Defoliation of egg density.

Letter locants on figures composed of more than one element should match those in the text (either upper- or lowercase). Do not use equal signs to define abbreviations; use commas (e.g., Ap, barometric pressure).

Supplemental Material

Supplemental Material may be submitted in the form of one or more (8 maximum) files to accompany the online version of an article. Such material often consists of large tables, data sets, or videos which normally are not possible or convenient to present in print media. Supplemental Material represents substantive information to be posted on the ESA journal website that enhances and enriches the information presented in the main body of a paper. However, the paper must stand on its own without the need for the reader to access the supplemental information to understand and judge the merits of the paper. Any files containing Supplemental Material must be provided at the time of manuscript submission, and will be distributed to reviewers as part of the normal peer-review process. Authors should alert the editor to the presence of Supplementary Material in their cover letter at submission. Once a paper is published, the content of accompanying Supplemental Material files cannot be altered. Although the content of any submitted Supplementary Material is subject to normal peer-review and any changes required by the editor, no copy editing will be performed by the journal's production staff. Therefore, the authors are responsible for suitable format and final appearance of Supplemental Material after acceptance of the paper.

Supplemental Material should be referenced in the body of the main paper (e.g., Supp. Table S1; Supp. Video S1), where a link will take the online reader to the file. Each supplemental file must be labeled with an appropriate title and prefaced by a short (50 words maximum) summary description of the contents. Within each file, any tables, figures, videos, or other material must be accompanied by an appropriate caption. Citations for any literature referenced within a Supplemental Material file should be listed in a References Cited section at the end of the file, even when a citation is duplicated in the main body of the paper. Videos should be brief (< 5 min) and kept to a reasonable size to facilitate downloading by readers.

Notes on Terminology

Scientific Names

Scientific names and authorities must be spelled out (except for Fabricius and Linnaeus, which are abbreviated as F. and L., respectively) the first time a species is mentioned in the abstract and again in the main body of text.

Common Names

Use only those common names cited in the current *ESA Common Names of Insects & Related Organisms* online database, or those names approved by the ESA Common Names Committee. Do not use any other common name. Do not abbreviate common names (e.g., CPB for Colorado potato beetle).

Give scientific name and authority at first mention of each organism (including plants) in the abstract and again in the text.

Use of "Stadium," "Stage," and "Instar"

Manuscripts received for publication in ESA periodicals refer to arthropods and the periods of time in their development in various ways. These designations should be used consistently.

Stadium (Plural: Stadia): The period of time between two successive molts.

Stage: One of the successive principal divisions in the life cycle of an arthropod (e.g., egg, nymph, larva, prepupa, pupa, subimago, and adult).

Instar: The arthropod itself between two successive molts. For the purposes of the definition, hatching is considered a molt.

Examples of Usage:

Nymphs feed on the underside of leaves during the first stadium.

Larvae of some dermestids go through an indefinite number of stadia (or have an indefinite number of instars).

The nymphs were reared through the fifth stadium. Immature stages (e.g., eggs, larvae, and pupae; eggs and nymphs) are illustrated.

First instar of cerambycids make galleries in wood.

Some 200 first-instar spiderlings were collected. The predators fed readily on early instars of the face fly.

Notes on Formatting

Capitalization

Do not capitalize the following words in titles or subheadings: a, an, and, as, at, be, by, for, in, of, on, per, to, the.

Abbreviations

Use standard abbreviations as listed in the Council of Biology Editors' *Scientific Style and Format, The CBE Manual for Authors, Editors, and Publishers*, 6th ed., or those listed in this guide. Avoid nonstandard abbreviations.

Abbreviations for Time

Use the following abbreviations for time: h (hour), min (minute), s (second), yr (year), mo (month), wk (week), d (day). Do not add "s" to create plurals (e.g., wks).

Fig./Figs.

Use "Fig." if singular and "Figs." if plural (e.g., Fig. 1; Figs. 2 and 3).

Dates

When citing dates in the text (not in tables or taxonomic reports), do not abbreviate month, and use this format: 26 January 1997.

Metric Units

Use metric units. English units may follow within parentheses only if they are of direct practical purpose.

Liter

Do not abbreviate "liter" by itself or when accompanied by a numeral.

% versus percentage

Use "%" only with numerals and in tables and figures. Close up space to numerals (e.g., 50%). Otherwise, use the word percentage (e.g., percentage of defoliation).

Per versus slash

Use "per" rather than a slash unless reporting measurements in unit to unit (e.g., insects per branch, not insects/branch; but g/cm², not g per cm²).

Numbers

Spell out numbers at the beginning of a sentence. Spell out the numbers one through nine (10 and up are always used as numerals), unless they are used as units of measure (e.g., eight children, three dogs, 8 g, 3 ft, 0600 hours; NOT 8 children, 3 dogs, eight grams, three feet, or six o'clock am). This includes spelling out the ordinals first through ninth, along with twofold, one-way ANOVA, and one-half. Ordinals from 10 and higher are numerals, such as 10th or 51st. In some cases, such as where there is a long list of items (e.g., 8 flies, 6 mosquitoes, 4 butterflies, and 10 bees), exceptions can be made if the editor concurs. The editorial staff will have flexibility in interpreting the rule.

Zeros with P values

All numbers <1 must be preceded by a zero (e.g., $P < 0.05$).

Commas

When a number is >1,000, use a comma to separate hundreds from thousands.

Semicolon

Use a semicolon to separate different types of citations (Fig. 4; Table 2).

Repeating symbols

It is not necessary to repeat symbols or units of measure in a series (e.g., 30, 40, and 60%, respectively).

Footnotes to the Text

Avoid footnotes in the text. Use unnumbered footnotes only for disclaimers and animal use information. Place all footnotes on a separate page after References Cited. Examples of footnotes are:

This article reports the results of research only. Mention of a proprietary product does not constitute an endorsement or a recommendation by the USDA for its use.

In conducting the research described in this report, the investigators adhered to the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals," as promulgated by the Committee on Care and Use of Laboratory Animals of the Institute of Laboratory Animal Resources, National Research Council. The facilities are fully accredited by the American Association of Laboratory Animal Care.

Publications

© 1995–2014 Entomological Society of America

3 Park Place, Suite 307

Annapolis, MD 21401-3722

tel: 301-731-4535; fax: 301-731-4538

esa@entsoc.org

[Social Media Guidelines](#)

[Disclaimer](#) | [Privacy Statement](#)

If you know of changes that need to be made to this site, please contact the [Webmaster](#)

<http://www.entsoc.org/pubs/publish/style>