

AValiação de inseticidas sobre a biologia e embriologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E O EFEITO EM *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE), PARASITÓIDE DE OVOS

por

ALICELY ARAÚJO CORREIA

(Sob Orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira)

RESUMO

Na busca de alternativas eficientes e de baixo impacto ambiental para controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), principal praga do milho, o uso de inseticidas botânicos e reguladores de crescimento associados ou não ao controle biológico vêm se destacando. Assim, a presente pesquisa testou diferentes concentrações dos inseticidas lufenurom (Match[®]), metoxifenozone (Intrepid[®]), azadiractina (AzaMax[®]), espinosade (Tracer[®]) e deltametrina (Decis[®]), visando avaliar os efeitos sobre a biologia e embriologia de *S. frugiperda* e no parasitóide de ovos, *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Todos os inseticidas apresentaram-se promissores no controle de *S. frugiperda*. Uma vez que, em geral, ocasionaram mortalidade; redução no período larval, período pupal, peso das pupas, longevidade, fecundidade e fertilidade. Além disso, as lagartas de *S. frugiperda* apresentaram deformidades e anormalidades morfológicas, como retenção dos caracteres morfológicos larvais e constrictões dos segmentos abdominais. Azadiractina, lufenurom e deltametrina, mesmo em baixas concentrações, apresentaram efeito sobre o desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda* e no parasitóide de ovos *T. pretiosum*. Eles reduziram a quantidade de ovos de *S. frugiperda* parasitados, porcentagem de parasitismo, emergência e longevidade dos parasitóides. Porém, a

duração do ciclo ovo-adulto e a razão sexual de *T. pretiosum* não foram afetadas. A avaliação em microscopia de luz e eletrônica de varredura mostrou ovos de *S. frugiperda* com formato esférico, ligeiramente achatado nos polos, com córion, vitelo, membrana vitelínica e formação do embrião. No entanto, em ambas as análises microscópicas, após tratamento com azadiractina, lufenurom e deltametrina, os ovos apresentaram-se deformados e inviáveis, impedindo a formação do embrião. Azadiractina, lufenurom, metoxifenoze e espinosade, mesmo em concentrações abaixo do recomendado, podem ser alternativas ao uso dos piretróides, no controle de *S. frugiperda*. Todavia, azadiractina e lufenurom não são seletivos ao parasitóide *T. pretiosum*.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, milho, parasitismo, inseticidas, embriologia.

EVALUATION OF INSECTICIDES ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) BIOLOGY AND EMBRYOLOGY AND THE EFFECT IN
Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE), EGG
PARASITOID

by

ALICELY ARAÚJO CORREIA

(Under the direction of Professor Valéria Wanderley Teixeira)

ABSTRACT

In search for efficient and low environmental impact alternatives for control of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), major corn insect pest, the use of botanical insecticides and insect growth regulators combined or not with biological control have been standing out. Therefore, this study tested different concentrations of the insecticides lufenuron (Match[®]), methoxyfenozide (Intrepid[®]), azadirachtin (AzaMax[®]), spinosad (Tracer[®]) and deltamethrin (Decis[®]), in order to evaluate the effects on *S. frugiperda* biology and embryology and on the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). All insecticides were promising for controlling *S. frugiperda*. Since, in general, caused mortality; reduction in larval period, pupal period, pupal weight, longevity, fecundity and fertility. In addition, *S. frugiperda* larvae have presented deformities and morphological abnormalities, such as retention of larval morphological characters and constrictions of abdominal segments. Azadirachtin, lufenuron and deltamethrin, even at low concentrations, showed effect on embryo development of *S. frugiperda* and on egg parasitoid *T. pretiosum*. They have reduced the number of *S. frugiperda* parasited eggs, parasitism percentage and parasitoid emergence and longevity.

But, the period of development from egg to adult and sex ratio of *T. pretiosum* were not affected. The light and scanning electron microscopy evaluation showed *S. frugiperda* eggs spherically shaped, slightly flattened at the poles, with chorion, yolk, vitelline membrane and embryo formation. Nevertheless, in both the microscopic analysis, after treatment with azadirachtin, lufenuron and deltamethrin, the eggs showed up deformed and unviable, preventing embryo formation. Azadirachtin, lufenuron, methoxyfenozide and spinosad at concentrations below the recommended may be alternative to the use of pyrethroids in the control of *S. frugiperda*. However, azadirachtin and lufenuron are not selective to the parasitoid *T. pretiosum*.

KEY WORDS: Fall armyworm, corn, parasitism, insecticides, embryology.

AVALIAÇÃO DE INSETICIDAS SOBRE A BIOLOGIA E EMBRIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E O EFEITO EM *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE), PARASITÓIDE DE OVOS

por

ALICELY ARAÚJO CORREIA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro - 2012

AVALIAÇÃO DE INSETICIDAS SOBRE A BIOLOGIA E EMBRIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E O EFEITO EM *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE), PARASITÓIDE DE OVOS

por

ALICELY ARAÚJO CORREIA

Comitê de Orientação:

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE

José Vargas de Oliveira – UFRPE

AVALIAÇÃO DE INSETICIDAS SOBRE A BIOLOGIA E EMBRIOLOGIA DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E O EFEITO EM *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE), PARASITÓIDE DE OVOS

por

ALICELY ARAÚJO CORREIA

Orientador:

Valéria Wanderley Teixeira - UFRPE

Examinadores :

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira - UFRPE

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Luiz Carlos Alves - CpqAM-FIOCRUZ-UPE

Christian Sherley Araújo da Silva-Torres -UFRPE

DEDICATÓRIA

Com todo amor e gratidão,

Dedico e Ofereço

Aos meus amados pais,

Aluízio José Felix Correia (*in memoriam*) e

Cely Araújo Correia,

Ao meu querido e dedicado esposo,

Josenilton Oliveira da Cunha,

Ao meu filho amado, benção de Deus,

Miguel Correia da Cunha,

Aos meus irmãos,

Olga Araújo Correia

Aluízio Araújo Correia

Hélio Lúcio Martins Ribeiro de Araújo

→ EU AMO AMAR VOCÊS ←

AGRADECIMENTOS

Expresso meus agradecimentos a todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

DEUS, expressão suprema de amor. “Pois Ele falou e tudo se fez... Ele mandou e logo tudo apareceu... Eis que os olhos do Senhor estão sobre os que o temem... A nossa alma espera no Senhor... Ele é o nosso auxílio e o nosso escudo”. Salmo 33: 9, 18, 20.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade dada à minha formação profissional, ajudando-me a trilhar novas etapas na vida acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo que tornou viável a realização deste trabalho.

À minha orientadora, Prof^ª. Valéria Wanderley Teixeira, pela acolhida como estagiária, orientação durante mestrado e doutorado e, principalmente, pela amizade, confiança e aprendizagem.

Ao meu co-orientador, Prof. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira, pela amizade, sugestões e críticas que muito contribuíram para a elaboração deste trabalho e de muitos outros.

Ao meu co-orientador Prof. José Vargas de Oliveira, pela amizade, ajuda e exemplo de dedicação profissional.

Aos Profs. Drs. Luiz Alves, Fábio Brayner e Marília Cavalcanti, pela inestimável ajuda. Sou muita grata a Deus por ter conhecido vocês, pessoas que admiro muito.

Ao Prof. Dirceu Pratissoli, ao doutorando Vando Rondelli e aluna Débora Melo, pela ajuda e doação dos parasitóides.

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola - PPGEA da UFRPE, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários do PPGEA pela amizade e auxílio nos trabalhos.

Ao meu querido esposo Josenilton Oliveira da Cunha, que sempre me ajuda, me apoia e me incentiva a seguir, vibrando com cada vitória alcançada. Agradeço pela paciência e todo amor dedicado.

A minha bênção, meu presente de Deus, meu filho amado, herança do Senhor, Miguel Correia da Cunha, por trazer mais luz à minha vida. Mamãe te ama.

Aos meus pais, Aluizio José Felix Correia (*in memoriam*) e Cely Araújo Correia, por toda educação, incentivo e apoio durante toda minha vida, principalmente minha mãe, mulher virtuosa, que sempre se esforça para oferecer o melhor.

Aos meus irmãos, Olga Araújo Correia, Aluizio Araújo Correia e Hélio Lúcio Martins Ribeiro de Araújo. Obrigada pela amizade, união e ajuda nos momentos imprescindíveis.

Aos meus queridos sobrinhos, Alann Wagner Correia de Paula e Rayssa Laine Leite de Araújo, verdadeiras bênçãos de Deus, trazem alegria à minha vida.

A família do meu esposo (sogra, cunhados e sobrinhos), pela ajuda nas horas essenciais.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia Agrícola pelo companheirismo, ajuda e convívio harmonioso. Vocês sempre terão um lugar especial no meu coração.

Aos amigos do Laboratório de Histologia pelo convívio, auxílio prestado e respeito.

A todos que fazem parte do Departamento de Biologia Celular e Ultraestrutura, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (FIOCRUZ) e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), principalmente ao Técnico Rafael Padilha e ao estagiário Gabriel Gazzoni, pela ajuda e amizade.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	08
2 BIOATIVIDADE DE INSETICIDAS SOBRE A BIOLOGIA E REPRODUÇÃO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	22
CONCLUSÕES.....	26
AGRADECIMENTOS.....	26
LITERATURA CITADA.....	26
3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE AZADIRACTINA, LUFENUROM E DELTAMETRINA SOBRE OVOS DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E NO PARASITISMO DE <i>Trichogramma</i> <i>pretiosum</i> RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE).....	40
RESUMO	41
ABSTRACT	42
INTRODUÇÃO	43

MATERIAL E MÉTODOS	44
RESULTADOS.....	46
DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÕES.....	49
AGRADECIMENTOS.....	50
LITERATURA CITADA.....	50
4 ANÁLISE MICROSCÓPICA DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ANTES E APÓS TRATAMENTO COM AZADIRACTINA, LUFENUROM E DELTAMETRINA.....	56
RESUMO	57
ABSTRACT	58
INTRODUÇÃO	59
MATERIAL E MÉTODOS	60
RESULTADOS.....	62
DISCUSSÃO.....	65
CONCLUSÕES.....	69
AGRADECIMENTOS.....	69
LITERATURA CITADA.....	69

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O aumento da produção agrícola brasileira para atender à crescente demanda por alimentos, exportação de grãos e seus subprodutos têm impactos diretos sobre o agroecossistema. Este fato está ligado ao uso intenso de insumos visando diminuir as perdas, causadas por fatores bióticos e abióticos, durante o processo produtivo. Entre estes fatores, destacam-se os insetos que constituem um dos grupos mais bem sucedidos na natureza. Desenvolvem-se em quase todos os ambientes e, desde tempos mais remotos, o homem luta contra os insetos-praga que infestam vegetais, especialmente aqueles destinados à alimentação humana e animal (Negreiro *et al.* 2004).

Dentre as diversas culturas atacadas por insetos, o milho (*Zea mays* L.) vem se destacando no cenário agrícola nacional devido à grande demanda agrícola e industrial. Trata-se de uma cultura comercial de grande importância econômica e social, sendo cultivada em diversos países. No Brasil, a produção de grãos para a safra 2010/2011 foi estimada em 56.337,4 mil toneladas (CONAB 2011).

O agroecossistema do milho inclui uma ampla variedade de artrópodes, com destaque para a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A fêmea adulta coloca seus ovos nas folhas do milho. As lagartas de primeiro instar geralmente iniciam sua alimentação nos tecidos verdes de um lado da folha, deixando a epiderme membranosa do outro lado intacta, causando o sintoma conhecido como “folhas raspadas”. Lagartas maiores começam a fazer furos na folha e, sem controle, destroem completamente as plantas. Podem também se alimentar do colmo, causando sua quebra, ou seccionando a planta na base. Muias vezes, especialmente quando o milho é muito precoce e/ou as infestações ocorrem mais tarde, a lagarta

já bem desenvolvida dirige-se para a região da espiga, atacando o pedúnculo e impedindo a formação dos grãos. Ainda podem penetrar nas espigas através da sua porção basal e danificar diretamente os grãos ou alimentar-se da ponta da espiga. As perdas na produção de grãos variam de acordo com o estágio fenológico, com o tipo de cultivar, local de plantio e práticas agronômicas adotadas (Cruz 1995, Valicente & Tuelher 2009).

Esta praga encontra-se distribuída nas Américas, estendendo-se em direção ao leste para o Caribe, em direção ao sul para o Nordeste da Argentina e Nordeste do Chile, e em direção ao norte, através da América Central, México, Estados Unidos e Sudeste do Canadá. Devido à alimentação diversificada e disponível o ano todo, e das condições climáticas favoráveis, distribui-se, praticamente, em todas as regiões do território brasileiro. Tem o milho como hospedeiro preferencial, mas outras plantas também são infestadas, como o algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), pastagens, entre outras (Cruz 1995, Sá *et al.* 2009, Barros *et al.* 2010).

O desenvolvimento de *S. frugiperda* a partir de populações coletadas na cultura do milho em Santa Rosa e Pelotas, RS, e mantidas em laboratório a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 15\%$ e fotofase de 14h, em dieta artificial, foi de dois dias para a fase de ovo; fase larval de 16,45 e 14,10 dias; duração da fase pupal de 10,65 e 12,72 dias e ciclo total de 31,94 e 31,56 dias, respectivamente (Giolo *et al.* 2002). Criadas na temperatura de 28°C , umidade relativa de $70\pm 15\%$ e fotofase 14 h, em dieta artificial, as lagartas obtiveram uma maior eficiência de conversão do alimento ingerido e digerido e custo metabólico; conseqüentemente consumiram uma menor quantidade de alimento, e apresentaram redução da duração da fase larval (Busato *et al.* 2004).

Visando obter alta produtividade do milho, é preciso controlar *S. frugiperda* de forma eficiente e, dentre as táticas utilizadas no Brasil, ainda predomina o uso de inseticidas sintéticos,

aplicados via de regra, sem muito critério, principalmente sem levar em conta os princípios do Manejo Integrado/Ecológico de Pragas (Diéz-Rodríguez & Omoto 2001). Como resultado do uso intensivo desses inseticidas, uma série de impactos negativos pode ocorrer no meio ambiente, tais como: contaminar os agroecossistemas, afetar os organismos não-alvo (Roel 2001), aumentar os custos de produção, selecionar populações resistentes (Diéz-Rodríguez & Omoto 2001) e contaminar os grãos de milho com resíduos tóxicos. Assim, a adoção de alternativas eficientes e de baixo impacto ambiental é fundamental para o sucesso do controle de pragas (Parra *et al.* 1987, Basedow 2002).

Entre essas alternativas, tem-se cogitado o uso de inseticidas botânicos, biológicos e os reguladores de crescimento, que geralmente são eficientes, menos prejudiciais ao ambiente e, de um modo geral, apresentam baixa toxicidade para os vertebrados (Roel *et al.* 2000, Roel 2001, Batista Neto *et al.* 2011). Porém, a escolha de um produto deve ser baseada na sua eficiência, economicidade e no impacto ambiental (Roel *et al.* 2000, Roel 2001). É também importante o uso do controle biológico, com parasitóides, predadores e entomopatógenos (Parra *et al.* 1987, Parra 2006, Desneux *et al.* 2007).

Inseticidas botânicos derivados da árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss), são capazes de exercer diversos efeitos sobre os insetos, agindo como anti-ecdisteróides ao bloquearem os sítios de ligação para ecdisteróides nos receptores protéicos (Gullan & Cranston 2007). Lagartas de *S. frugiperda* com 10 dias de idade, alimentadas com folhas de milho, submergidas nas emulsões da formulação comercial de nim (Neemseto[®]) nas concentrações 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mL/L apresentaram aumento da mortalidade, redução do peso larval e pupal e menor emergência de adultos, em função da concentração (Lima *et al.* 2010). Esta mesma formulação nas porcentagens de 0,5 e 1,0% proporcionou alterações na imunidade celular e no intestino médio de lagartas desta praga (Correia *et al.* 2008, 2009). Em dieta, contendo 10mg i.a. L⁻¹ de produtos derivados do pó e

do óleo de sementes de nim, as lagartas de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) apresentaram parada na alimentação, alongamento do período de ecdise, mortalidade larval e pupal e esterilização de adultos (Viñuela *et al.* 2000).

Os hormônios ecdisteroides, hormônios juvenis e neuropeptídeos são indispensáveis para o desenvolvimento de insetos, estando também envolvidos em outros processos importantes, como espermatogênese, oogênese, vitelogênese e comportamento sexual. Análogos ou antagonistas desses hormônios, como os inseticidas reguladores de crescimento de insetos – IGRs, podem interferir no processo de desenvolvimento dos insetos (Schneider *et al.* 2008). O principal efeito desses inseticidas é alterar o desenvolvimento e metamorfose dos insetos e sua ação é, portanto, muito mais lenta do que a de inseticidas convencionais, cujos efeitos letais e subletais geralmente são considerados altamente nocivos para espécies benéficas (Ruberson *et al.* 1998).

Os IGRs são derivados das benzoilfeniluréias, diacilhidrazinas, thiodiazinas e triazinas, e caracterizam-se como produtos de baixa toxicidade para mamíferos. Dividem-se em categorias, de acordo com o seu modo de ação, podendo atuar como inibidores da síntese de quitina (lufenurom), juvenóides (piriproxifen), anti-jjuvenóides (Allatostatina) e agonistas de ecdisteróides (metoxifenoazide) (Silva & Mendes 2002). Os inibidores da síntese de quitina impedem a formação de quitina, que é um componente essencial da cutícula dos insetos ou interferem na deposição da cutícula durante a ecdise. Os juvenóides são mímicos do hormônio juvenil que fazem com que os insetos permaneçam na fase larval, embora já tenham atingido maturidade para passarem para a fase adulta. Anti-jjuvenóides, conhecido como precocenos, atuam de maneira contrária ao hormônio juvenil, fazendo com que o inseto passe para a fase adulta precocemente. Os agonistas de ecdisteróides provocam uma aceleração no processo da ecdise ou troca de pele dos insetos, resultando em insetos deformados (Silva & Mendes 2002, Gullan & Cranston 2007).

Entre os inseticidas biológicos, espinosade trata-se de um biopesticida composto por duas lactonas macrocíclicas, espinosina A e D, que são metabólitos secundários produzidos durante a fermentação do actinomiceto do solo *Sacharopolyspora spinosa* Mertz & Yao (Thompson *et al.* 2000). Este inseticida tem um efeito sinérgico sobre a atividade da acetilcolina atuando em um sítio diferente dos receptores pos-sinápticos deste neurotransmissor. O espinosade também pode afetar os receptores do ácido aminobutírico - GABA (Watson 2001). Este inseticida é tóxico por ingestão e contato, apresentando-se efetivo contra pragas das ordens Lepidoptera, Thysanoptera, Isoptera e Diptera (Thompson *et al.* 2000).

Para *S. frugiperda* em milho, os inseticidas clorfluazurom e diflubezurom apresentaram eficiência de controle de 75,2 a 97,6% aos 3, 9 e 12 dias após aplicação, enquanto que para deltametrina foi superior a 85% em todas as avaliações (Bellettini *et al.* 1992). Assim como, os inseticidas lufenurom (300 mL p.c./ha), novalurom (150 mL p.c./ha), espinosade (50 mL p.c./ha), clorpirifós (500 mL p.c./ha) e lambda-cialotrina (150 mL p.c./ha) sobre *S. frugiperda* nas culturas do milho e sorgo, aplicados em diferentes volumes de calda, também apresentaram-se eficientes no controle dessa praga e independente do volume de aplicação (Costa *et al.* 2005).

O desenvolvimento de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) foi afetado pela ação dos inseticidas metoxifenoze (3,98mg i.a./Kg dieta) e espinosade (2,11mg i.a./Kg dieta). Em relação a ovos da mesma idade, os inseticidas mostraram uma resposta concentração-dependente. Além disso, evidenciou-se aumento da mortalidade larval e pupal, efeitos na emergência dos adultos, e a prevalência de adultos deformados após aplicação tópica em pupas jovens. A mortalidade pupal e deformidades dos adultos foram observadas apenas no tratamento com metoxifenoze (Pineda *et al.* 2004).

Concentrações subletais de bisacilhidrazina RH-5849 (0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 5,0 ppm) e tebufenoze (0,5; 1,0; 2,0 e 5,0 ppm) afetaram adversamente o sucesso de cópula de *Spodoptera*

litura (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), além de diminuir a longevidade de machos tratados e de fêmeas não tratadas, quando cruzadas com machos tratados (Seth *et al.* 2004). Lufenurom e novalurom (4,0 g i.a. 100L⁻¹) e metoxifenozone e tebufenozone (9,6 g i.a. 100L⁻¹) aplicados sobre ovos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) com diferentes idades (24, 48 e 72 horas) demonstrou variações na mortalidade em função do inseticida e tempo de desenvolvimento embrionário. O tratamento de maçãs com estes inseticidas causou mortalidade significativa das lagartas, mas não apresentou diferenças estatísticas entre os mesmos para lagartas pequenas e as de 3^o-4^o instar, com eficiências de 42,7 e 45,3%, respectivamente. A ingestão dos inseticidas por adultos de *G. molesta* reduziu a fecundidade e a fertilidade, porém a longevidade dos adultos somente foi afetada negativamente pela ingestão de metoxifenozone e tebufenozone (Batista Neto *et al.* 2011).

Os inseticidas lufenurom, metoxifenozone, azadiractina, deltametrina e espinosade atuam, principalmente, nas lagartas por ingestão (Tunaz & Uygun 2004). No entanto, para algumas espécies, também tem sido observado efeito sobre o desenvolvimento embrionário quando aplicados diretamente sobre os ovos, e/ou através da ingestão pelos adultos, reduzindo a fecundidade, a fertilidade e a longevidade (Charmillot *et al.* 2001, Irigaray *et al.* 2005, Sáenz-de-Cabezón *et al.* 2006, Batista Neto *et al.* 2011). No caso de *S. frugiperda*, como as posturas são realizadas sobre as folhas, o contato dos ovos com inseticidas amplia o potencial de controle da praga, porém são necessários estudos morfo-fisiológicos que caracterizem o efeito destes inseticidas sobre o desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda*.

Dentre os inimigos naturais de pragas, os parasitóides de ovos, em especial várias espécies do gênero *Trichogramma* têm sido utilizados como agentes de controle biológico, porque são facilmente criados em hospedeiro alternativo (Haji *et al.* 1998), além de serem eficientes parasitóides, principalmente em ovos de Lepidoptera (Parra *et al.* 1987). Liberações inundativas

tem sido realizadas principalmente para controlar pragas em culturas como milho, cana-de-açúcar (*Saccharum hybridas* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), arroz, algodão, beterraba (*Beta vulgaris* L.), maçã (*Malus domestica* Borkh.), ameixa (*Prunus domestica* L.), hortaliças e essências florestais (Parra *et al.* 1987).

O ciclo de vida de *Trichogramma* (ovo-adulto) dura aproximadamente 10 dias a 25°C. O processo de desenvolvimento passa pela fase de ovo, larva, pré-pupa e pupa. Podem ocorrer inúmeras gerações anuais no campo desde que existam hospedeiros alternativos e fontes de alimento (Cônoli *et al.* 1999). O parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), além de ser a espécie mais amplamente distribuída, é considerada a mais polífaga. No Brasil, *T. pretiosum* está associado a diversos hospedeiros e destaca-se como parasitóide de maior frequência. É comumente encontrado parasitando ovos de *Heliothis virescens* (Fabr.) (Lepidoptera: Noctuidae) (Zucchi *et al.* 1989) e *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro (Almeida 2000); *S. frugiperda* em milho (Bueno *et al.* 2010); *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho (Pereira *et al.* 2004) e *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro (Pratissoli *et al.* 2005).

O desenvolvimento e o parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* foram mais favoráveis a temperatura de 28°C, umidade relativa de 70±10% e fotoperíodo de 14/10h (L:E). Nesta temperatura foi obtida uma média de 30,10±0,95 ovos de *S. frugiperda* parasitados/fêmea do parasitóide (Bueno *et al.* 2010).

Os inseticidas lufenurum, metoxifenoze, azadiractina, deltametrina e espinosade tem potencial para controle de lagartas de *S. frugiperda* (Bellettini *et al.* 1992, Pratissoli *et al.* 2004, Costa *et al.* 2005, Lima *et al.* 2010). No entanto, efeitos desses inseticidas sobre parâmetros biológicos e reprodutivos não têm sido especificamente analisados; além disso, estudos prévios têm mostrado efeitos adversos dos inseticidas sobre o parasitóide de ovos *T. pretiosum* (Pratissoli

et al. 2003, 2004, Hohmann *et al.* 2010). Assim, estudos adicionais (morfológicos, fisiológicos e embriológicos) são necessários para conhecer o efeito dos compostos lufenurum, metoxifenoze, azadiractina, deltametrina e espinosade, quando aplicados em pequenas concentrações sobre ovos e lagartas de *S. frugiperda* e no parasitóide *T. pretiosum*, o que auxiliaria na definição da melhor estratégia de emprego destes compostos, ampliando a eficácia no controle desta praga.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivos: testar diferentes concentrações dos inseticidas lufenurum, metoxifenoze, azadiractina, deltametrina e espinosade, visando avaliar os seus efeitos sobre a biologia e embriologia de *S. frugiperda*; e, investigar os efeitos destes inseticidas sobre o parasitóide de ovos, *T. pretiosum*.

Literatura Citada

- Almeida, R.P. 2000.** Distribution of parasitism by *Trichogramma pretiosum* on the cotton leafworm. Proc. Sect. Exp. Appl. Entomol. 11: 27-31.
- Barros, E.M., J.B. Torres & 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.
- Basedow, T. 2002.** Uso de insecticidas en agricultura de algunos países del mundo, métodos para reducir su uso y realizar una protección del cultivos más favorable para el ambiente. Natura 10: 50-58.
- Batista Neto, O.A., M.B. Silva, M.S. Garcia & A. Silva. 2011.** Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre ovos, lagartas e adultos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lep.: Tortricidae). Rev. Bras. Frutic. 33:420-428.
- Bellettini, S., N.M.T. Bellettini, L.T. Hiral, E.M. Moreira, M.C. Zanardo & W.M. Koba. 1992.** Utilização de produtos fisiológicos no controle da “lagarta-do-cartucho-do-milho”, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). An. Soc. Entomol. Brasil 21: 261-266.
- Bueno, R.C.O.F., A.F. Bueno, J.R.P. Parra, S.S. Vieira & L.J. Oliveira. 2010.** Biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 54: 322-327.

- Busato, G.R., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia, F.P. Giolo & S.D. Nörnberg. 2004.** Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. Cienc. Agrotec. 28: 1278-1283.
- Charmillot, P.J., A. Gourmelon, A.L. Fabre & D. Pasquier. 2001.** Ovicidal and larvicidal effectiveness of several insect growth inhibitors and regulators on the codling moth *Cydia pomonella* L. (Lep., Tortricidae). J. Appl. Entomol. 125: 147-153.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2011.** Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_08_09_11_44_03_boletim_agosto-2011.pdf>. Acesso: 24/ago. /2011.
- Cônsoli, F.L., E.W. Kitajima & J.R.P. Parra. 1999.** Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 28:211-229.
- Correia, A. A., W. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira & J.B. Torres. 2008.** Dinâmica hemocitária em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas nim (*Azadirachta indica* A. Juss). Bol. Sanid. Veg. Plagas 3: 357-365.
- Correia, A. A.; W. Wanderley-Teixeira; A.A.C. Teixeira; J.V. Oliveira & J. B. Torres. 2009.** Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. Neotrop. Entomol. 38: 83-91.
- Costa, M.A.G., J.F.S. Martins, E.C. Costa, G. Storch & G.J. Stefanello Júnior. 2005.** Efficacy of different insecticides and suspension volumes to control *Spodoptera frugiperda* in corn and sorghum in low land areas. Cienc. Rural 35: 1234-1242.
- Cruz, I. 1995.** A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 45p. (Circular Técnica, no. 21).
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.
- Diéz-Rodríguez, G.I. & C. Omoto. 2001.** Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. Neotrop. Entomol. 30: 311-316.
- Giolo, F.P., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia & G.R. Busato. 2002.** Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. Rev. Bras. Agrocienc. 8: 219-224.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2007.** Os insetos: um resumo de entomologia. 3a. ed., São Paulo: Roca, 440p.
- Haji, F.N.P., J. Velasquez, E. Bleicher, J.A. Alencar, A.T. Haji & R.S. Diniz. 1998.** Tecnologia de produção massal de *Trichogramma* spp. Petrolina, Embrapa-CPATSA, 24p.

- Hohmann, C.L., F.A.C. Silva & T.G. Novaes. 2010.** Selectivity of neem to *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 39: 985-990.
- Irigaray, F.J.S.C., V. Marco, F.G. Zalom & I.P. Moreno. 2005.** Effects of methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den & Schiff (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval and adult stages. Pest Manag. Sci. 61: 1133-1137.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr., E.J. Marques & A.A. Correia. 2010.** Bioatividade de formulações de nim (*Azadirachta indica* A. Juss, 1797) e de *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Cienc. Agrotec. 34: 1381-1389.
- Negreiro, M.C.C., F.G. Andrade & A.M.F. Falleiros. 2004.** Sistema imunológico de defesa em insetos: uma abordagem em lagartas da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), resistentes ao AgMNPV. Semina: Cienc. Agr. 25: 293-308.
- Parra, J.R.P. 2006.** A prática do controle biológico de pragas no Brasil, p. 11-24. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (eds.). Controle biológico de pragas na prática. Piracicaba, ESALQ/USP, 287p.
- Parra, J.R.P., R.A. Zucchi & S. Silveira Neto. 1987.** Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 82: 153-160.
- Pereira, F.F., R. Barros & D. Pratissoli. 2004.** Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto e Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Cienc. Rural 34: 1669-1674.
- Pineda, S., F. Budia, M.I. Schneider, A. Gobbi, E. Viñuela, J. Valle & P.D. Estal. 2004.** Effects of two biorational insecticides, spinosad and methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Nocuidae) under laboratory conditions. J. Econ. Entomol. 97: 1906-1911.
- Pratissoli, D., F.F. Pereira, H.N. Oliveira & R.T. Thuler. 2003.** Ação de tebufenozide em *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) e no parasitóide *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae). Rev. Bras. Milho Sorgo 2: 120-124.
- Pratissoli, D., R.T. Thuler, F.F. Pereira, E.F. dos Reis & A.T. Ferreira. 2004.** Ação transovariana de lufenurum (50 g/L) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Cienc. Agrotec. 28: 9-14.
- Pratissoli, D., R.T. Thuler, G.S. Andrade, L.C.M. Zanotti & A.F. Silva. 2005.** Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. Pesqu. Agropecu. Bras. 40: 715-718.

- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Int. Desenv. Local* 1: 43-50.
- Roel, A.R., J.D. Vendramim, R.T.S. Frighetto & N. Frighetto. 2000.** Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. *Bragantia* 59: 53-58.
- Ruberson, J.R., H. Remoto & Y. Hirose. 1998.** Pesticides and conservation of natural enemies in pest management, p. 207-220. In P. Barbosa (ed.), *Conservation biological control*. New York, Academic Press, 396p.
- Sá, V.G.M., B.V.C. Fonseca, K.G.B. Boregas & J.M. Waquil. 2009.** Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. *Neotrop. Entomol.* 38: 108-115.
- Sáenz-de-Cabezón, J.F., Z.F.G. Pérez-Moreno & V. Marco. 2006.** Effects of lufenuron on *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval, and adult stages. *J. Econ. Entomol.* 99: 427-431.
- Schneider, M., G. Smagghe, S. Pineda & E. Viñuela. 2008.** The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): Pharmac. Approach. *Ecotoxicol.* 17: 181-188.
- Seth, R.K., J.J. Kaur, D.K. Rao & S.E. Reynolds. 2004.** Effects of larval exposure to sublethal concentrations of the ecdysteroid agonists RH-5849 and tebufenozide (RH-5992) on male reproductive physiology in *Spodoptera litura*. *J. Insect Physiol.* 50: 505-517.
- Silva, J.J. & J. Mendes. 2002.** Effect of diflubenzuron on stages of *Hematobia irritans* (L.) (Diptera, Muscidae) in Uberlândia, State of Minas Gerais, Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 97: 679-682.
- Thompson, G.D., R. Dutton & T.C. Sparks. 2000.** Spinosad-a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag. Sci.* 56: 696-702.
- Tunaz, H. & N. Uygun. 2004.** Insect growth regulators for insect pest control. *Turkish J. Agricult. For.* 28: 377-387.
- Valicente, F.H. & E.S. Tuelher. 2009.** Controle biológico da lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 14p.
- Viñuela, E., A. Adán, G. Smagghe, M. González, M.P. Medina, F. Budia, H. Vogt & P. Estal. 2000.** Laboratory effects of ingestion of azadirachtin by two pests (*Ceratitidis capitata* and *Spodoptera exigua*) and three natural enemies (*Chrysoperla carnea*, *Opius concolor* and *Podisus maculiventris*). *Biocontrol Sci. Technol.* 10: 165-177.

Watson, G.B. 2001. Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid receptors from small-diameter cockroach neurons. *Pestic. Biochem. Physiol.* 71: 20-28.

Zucchi, O.L.A.D., J.R.P. Parra, S. Silveira Neto & R.A. Zucchi. 1989. Desenvolvimento de um modelo determinístico compartimental para simular o controle de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) através de *Trichogramma* spp. *An. Soc. Entomol. Brasil* 2: 357-365.

CAPÍTULO 2

BIOATIVIDADE DE INSETICIDAS SOBRE A BIOLOGIA E REPRODUÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ALICELY A. CORREIA¹, JOSÉ V. OLIVEIRA¹, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA², GLAUCILANE S. CRUZ¹ E ÁLVARO A. C. TEIXEIRA²

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – Histologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

¹Correia, A.A., J.V. Oliveira, V. Wanderley-Teixeira, G.S. Cruz & A.A.C. Teixeira. Bioatividade de inseticidas sobre a biologia e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido.

RESUMO – *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma importante praga do milho, que causa danos severos podendo chegar até 60% de redução no rendimento dos grãos. Seu controle normalmente é realizado com aplicação de inseticidas convencionais, porém para diminuir o impacto ambiental buscam-se alternativas como o uso de inseticidas reguladores de crescimento, botânicos e biológicos. O estudo investigou efeitos de diferentes concentrações de azadiractina, lufenurom, metoxifenoze, espinosade e deltametrina (inseticidas AzaMax[®], Match[®], Intrepid[®], Tracer[®] e Decis[®], respectivamente) sobre parâmetros biológicos e reprodução de *S. frugiperda*. Lagartas de terceiro instar foram alimentadas, durante 24h, com pedaços de folhas de milho tratados por imersão. As pupas foram sexadas e os casais de adultos, transferidos para gaiolas de tubos de PVC. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% e seus ovos coletados diariamente. As menores concentrações apresentaram efeitos tão nocivos quanto às concentrações comerciais dos inseticidas, ocasionando mortalidade larval, deformidades e anormalidades morfológicas. Metoxifenoze e espinosade proporcionaram mortalidade larval tão acentuada (100%) que não houve insetos para avaliação de todos parâmetros biológicos. Azadiractina, lufenurom e deltametrina, mesmo nas menores concentrações, reduziram: período larval, período e peso pupal, longevidade, fecundidade e fertilidade. Na avaliação da reprodução, a fecundidade e a fertilidade foram reduzidas. Assim, para um uso ecologicamente correto no MIP, maior atenção deve ser dada na escolha das concentrações desses inseticidas, minimizando o uso de piretróides.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, milho, inseticidas, reprodução

BIOACTIVITY OF INSECTICIDES ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) BIOLOGY AND REPRODUCTION

ABSTRACT – *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) is an important corn pest, which causes severe damage and may even reach 60% reduction in grain yield. Its control is usually performed with conventional insecticide application, however to reduce environmental impact, alternatives have been sought as the use of insect growth regulators, botanical and biological insecticides. The study investigated the effects of different concentrations of azadirachtin, lufenuron, methoxyfenozide, spinosad and deltamethrin (insecticides AzaMax[®], Match[®], Intrepid[®], Tracer[®] e Decis[®], respectively) on biological parameters and reproduction of *S. frugiperda*. Third instars larvae were fed, for 24h, with pieces of corn leaves treated by immersion. The pupae were sexed and adult couples, transferred to cages of PVC pipes. The adult were fed with honey solution at 10% and their eggs were collected daily. The lowest concentrations showed effects as harmful as commercial concentrations, causing larval mortality, deformities and morphological abnormalities. Methoxyfenozide and spinosad provided an accentuated larval mortality (100%) and there were no insects for evaluation of all biological parameters. Azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin, even at lower concentrations, reduced: larval period, pupal period and weight, longevity, fecundity and fertility. In the assessment of reproduction, fecundity and fertility were reduced. Thus, to use an ecologically correct in MIP, more attention should be given the choice of the concentrations of these insecticides, minimizing the use of pyrethroids.

KEY WORDS: Fall armyworm, corn, insecticides, reproduction

Introdução

No Brasil, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), destaca-se como praga-chave na cultura do milho, que é considerada uma cultura de importância social e econômica, cultivada do Norte ao Sul do País (Cruz 1995). O controle químico dessa praga com inseticidas convencionais, como deltametrina, é ainda o mais utilizado, porém, em algumas regiões já existem evidências da seleção de populações resistentes à maioria dos inseticidas utilizados, fato que dificulta seu controle. Além disso, a tendência do controle de insetos-praga é a diminuição do uso de inseticidas convencionais para minimizar os danos ao meio ambiente. Desta forma, a utilização dos inseticidas pertencentes à classe dos reguladores de crescimento e inseticidas botânicos, como os derivados do nim (*Azadiracta indica* A. Juss), tem aumentado, por serem eficientes e menos prejudiciais ao ambiente (Soares & Araújo 2001, Waquil *et al.* 2002, Pineda *et al.* 2006).

Concentrações comerciais destes inseticidas têm sido bastante avaliadas no controle de lepidópteros, causando diversos efeitos sobre os insetos, como inibição alimentar, inibição da síntese do ecdisona, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e adultos, redução da fecundidade e longevidade de adultos, alterações na capacidade de atração de feromônios, esterilização e inibição de oviposição, diminuição da transmissão de vírus, mortalidade e repelência (Viñuela *et al.* 2000, Schneider *et al.* 2008, Correia *et al.* 2009, Lima *et al.* 2010, Batista Neto *et al.* 2011).

Sabe-se, no entanto, que por um longo tempo, o método convencional para avaliar os efeitos de inseticidas em artrópodes foi a estimativa da dose letal (DL_{50}) ou concentração letal (CL_{50}). Em uma segunda etapa, os efeitos dos inseticidas sobre os inimigos naturais são determinados através de testes de seletividade, visando identificar compostos com menor atividade sobre organismos não-alvo. No entanto, os efeitos secundários dos inseticidas sobre artrópodes ainda

ocorrem, devido à falta de atenção para o estudo com doses subletais. Os efeitos subletais são definidos como alterações fisiológicas ou comportamentais que ocorrem nos indivíduos que sobrevivem à exposição de um determinado inseticida. A dose/concentração subletal é definida como àquela que induz baixa mortalidade na população experimental (Desneux *et al.* 2007).

Zarate *et al.* (2011) obtiveram mortalidade progressiva de lagartas de quinto ínstar de *S. frugiperda*, após alimentação em dieta contendo 0,24mg (CL₁₀) e 0,35mg (CL₂₅) de metoxifenoze/kg dieta. Os autores observaram ainda que os sobreviventes mostraram uma grande variedade de efeitos subletais, como aumento do período larval, menor peso pupal, maior mortalidade pupal e deformidades de pupas e adultos. Isso é indicativo de que a combinação de efeitos letais e subletais tem implicações importantes na dinâmica populacional da lagarta do cartucho, contribuindo para reforçar o seu controle.

Assim, este trabalho objetivou determinar a bioatividade de diferentes concentrações do inseticida botânico azadiractina (AzaMax[®]); reguladores de crescimento: inibidor da síntese da quitina - lufenurum (Match[®]) e agonista de ecdisteróide - metoxifenoze (Intrepid[®]); inseticida biológico espinosade (Tracer[®]) e como testemunha positiva o inseticida piretróide deltametrina (Decis[®]), sobre aspectos biológicos e reprodução de *S. frugiperda*, em laboratório.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Obtenção e Criação dos Insetos. Lagartas de *S. frugiperda* foram obtidas da criação estoque do Laboratório de Entomologia Agrícola, mantidas à temperatura de $29,9 \pm 0,89$ °C, umidade relativa de $57 \pm 1,28\%$ e fotofase de 12h, e alimentadas com folhas de milho híbrido duplo AG 1051. As

plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação, contendo duas plantas/vaso de 5L com solo + húmus de minhoca na proporção 2:1 + 12,13g de N-P-K (formulação 4-14-8).

Instalação dos Bioensaios. Quando as plantas atingiram 25 a 30 dias de idade, retirou-se pedaços de folha de 6,0 x 4,5 cm, os quais foram imersos nas emulsões dos seguintes tratamentos e concentrações: inseticida botânico azadiractina (AzaMax[®]) 2,0; 1,5; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,063; 0,031; 0,015 e 0,008 mL/L; regulador de crescimento lufenurom (Match[®]) 1,0; 0,75; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625; 0,031; 0,015; 0,008 e 0,004 mL/L; regulador de crescimento metoxifenoazida (Intrepid[®]) 0,82; 0,61; 0,41; 0,205; 0,102; 0,051; 0,025; 0,012; 0,006 e 0,003 mL/L; inseticida biológico espinosade (Tracer[®]) 0,33; 0,24; 0,16; 0,08; 0,04; 0,02; 0,01; 0,005; 0,002 e 0,001 mL/L e inseticida piretróide deltametrina (Decis[®]) 0,67; 0,502; 0,335; 0,167; 0,083; 0,042; 0,021; 0,01; 0,005 e 0,002 mL/L. Estas concentrações foram definidas numa escala de percentagem decrescente a partir da concentração comercial de cada inseticida. Na testemunha, os pedaços de folha foram imersos em água destilada. Após a secagem, por cerca de 30 min à temperatura ambiente, as folhas foram oferecidas às lagartas de *S. frugiperda* com 10 dias de idade (terceiro ínstar), individualizadas em tubos de vidro de fundo chato (8,5 x 2,5 cm), fechados com tampão de algodão hidrofóbico. As lagartas se alimentaram das folhas tratadas durante 24h, depois receberam alimento sem tratamento, que foi substituído diariamente, até as lagartas atingirem a fase de pupa, as quais foram sexadas, de acordo com Butt & Cantu (1962). Após emergência, um casal de adultos foi transferido para gaiola de tubo de PVC (20 cm de altura x 15 cm de diâmetro), forrada internamente com papel sulfite branco, que servia como substrato para oviposição. As gaiolas foram vedadas na parte superior com filme de PVC transparente e na inferior com uma tampa plástica. No fundo de cada gaiola colocou-se um pequeno recipiente, contendo um chumaço de algodão embebido em solução de mel a 10%, para alimentação dos adultos. Os insetos foram examinados diariamente até a morte natural da fêmea. Os ovos foram coletados

diariamente e transferidos para placas de Petri, contendo papel de filtro umedecido, com água destilada, para incubação e eclosão das lagartas. Foram avaliados os seguintes parâmetros: períodos larval e pupal; mortalidade (a partir de 24 h após a instalação do bioensaio); deformidades e alterações morfológicas; peso das pupas, com 24 horas após a formação; longevidade dos adultos; fecundidade e fertilidade.

A partir dos dados obtidos, foram selecionadas as duas menores concentrações de azadiractina e deltametrina, para realização de cruzamentos com a finalidade de investigar o efeito das inseticidas na reprodução de *S. frugiperda*. Os demais tratamentos não foram utilizados em virtude dos insetos não conseguirem atingir a fase adulta. Foram testados os seguintes cruzamentos:

- (1) Fêmea não-tratada x macho não-tratado;
- (2) Fêmea tratada x macho tratado;
- (3) Fêmea tratada x macho não-tratado;
- (4) Fêmea não-tratada x macho tratado;

Análises Estatísticas. Os bioensaios para a avaliação dos parâmetros biológicos constaram de 11 tratamentos (concentrações dos inseticidas + testemunha), e para reprodução 13 tratamentos. Cada tratamento, em ambos bioensaios, constou de cinco repetições, contendo 50 lagartas. Todos os experimentos foram feitos em triplicatas. Os dados referentes aos parâmetros biológicos e comportamento reprodutivo foram testados, em relação à normalidade e homogeneidade, e transformados em raiz quadrada ($x + 0,5$) ou $\log(x + 1)$, quando necessário. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), com correções de Bonfferonni para o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 0,05/n$, onde n representa o número de médias em comparação, para manter o nível de erro igual ou inferior a 0,05) (Abdi 2007). Os resultados da mortalidade foram submetidos à análise de variância e, no caso de

resposta significativa, à análise de regressão, sendo selecionadas as equações com base na sua significância e maior coeficiente de determinação (R^2). Todas as análises foram efetuadas pelo Programa Estatístico SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

A mortalidade das lagartas de *S. frugiperda* tratadas com lufenurum e deltametrina variou diretamente com o aumento da concentração, na avaliação de 24 h (Figs. 1A e 1C), onde somente após o quinto dia do início do tratamento atingiu 100% de mortalidade, a partir da concentração de 0,0625 mL/L, para lufenurum, e nas duas maiores concentrações para deltametrina (Fig. 2A). Para metoxifenoze e azadiractina, as mortalidades foram inferiores a 30% em todas as concentrações com 24 h (Figs. 1B e 1E), chegando também a 100%, após cinco dias, em todas as concentrações para metoxifenoze, e nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mL/L para azadiractina (Fig. 2B). Já em espinosade, foi observada 40% de mortalidade na menor concentração e só atingiu 100% nas três maiores, após 24 h (Fig. 1D), e nas demais, após cinco dias. A mortalidade na testemunha foi baixa para todos os inseticidas testados.

Azadiractina a 0,008; 0,015; 0,031; 0,063; 1,5 e 2,0 mL/L proporcionou redução significativa no período larval. Com exceção das concentrações 0,125 e 0,25 mL/L que alongaram o período larval, mas a de 0,125 mL/L não diferiu da testemunha. Já as concentrações 0,5 e 1,0 mL/L, embora tenham também reduzido o período larval não diferiram da testemunha. Com relação ao período pupal, peso pupal e longevidade não houve diferenças estatísticas para as concentrações 0,008; 0,015; 0,031; 0,063 e 0,125 mL/L, em relação à testemunha. Porém, a concentração 0,25 mL/L apresentou menor média para esses parâmetros. Nas concentrações 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mL/L, devido alta mortalidade larval, não foram obtidos insetos suficientes para avaliação dos parâmetros biológicos (Tabela 1).

As concentrações de 0,083; 0,167; 0,335; 0,502 e 0,67 mL/L de deltametrina reduziram, significativamente, o período larval, e as menores concentrações tiveram o mesmo desempenho da testemunha. Entretanto, na concentração 0,042 mL/L, houve alongamento do período larval. As maiores médias para o período pupal e as menores para o peso pupal foram obtidas nas concentrações 0,083; 0,167 e 0,335 mL/L. Evidenciou-se, ainda, que nestas concentrações e nas duas maiores, os insetos não atingiram a fase adulta (Tabela 2).

Lufenurum causou redução significativa no período larval em todas as concentrações testadas, porém a 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 mL/L não houve insetos para avaliação dos demais parâmetros. Nas concentrações 0,004; 0,008; 0,015 e 0,031 mL/L houve redução do período pupal. O peso pupal foi significativamente reduzido na concentração 0,031 mL/L, diferindo da testemunha. Nesta mesma concentração, não houve emergência de insetos. Com relação à longevidade, as concentrações 0,004; 0,008 e 0,015 mL/L apresentaram as menores médias, em relação a testemunha (Tabela 3).

No tratamento com metoxifenozeide houve uma acentuada redução na duração do período larval, em todas as concentrações testadas. Os demais parâmetros não puderam ser avaliados em decorrência da ausência de insetos (Tabela 4). Espinosade apresentou comportamento semelhante ao metoxifenozeide, porém com maior redução na duração do período larval (Tabela 5).

Alta fecundidade ($923,5 \pm 77,81$; $786,5 \pm 68,73$) e fertilidade (98,8 e 98,6%) de ovos foram observadas para o tratamento testemunha, em relação aos experimentos com azadiractina e deltametrina. A fecundidade foi significativamente menor nas fêmeas originadas de lagartas dos tratamentos nas concentrações 0,031; 0,063 e 0,25 mL/L de azadiractina e 0,042; 0,083; 0,167 e 0,335 mL/L de deltametrina, em relação à testemunha. Assim como, também foi observada uma redução na fertilidade dos ovos de fêmeas tratadas, que variou de 60,2 a 95,4% para tratamentos com azadiractina e 90,2 a 95,6% para tratamentos com deltametrina, diferindo da testemunha

(Tabela 6). Além disso, foi constatada uma alta mortalidade das lagartas após eclosão, proporcional ao aumento das concentrações em ambos os inseticidas (dados não mostrados).

Não houve diferenças estatísticas na fecundidade entre os cruzamentos de adultos provenientes dos tratamentos testemunha, azadiractina e deltametrina. Apesar da alta porcentagem de fertilidade, todos os tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha, com exceção do cruzamento entre fêmea não-tratada e macho tratado com azadiractina 0,008 mL/L (Tabela 7). Vale salientar que embora nos cruzamentos em que um dos insetos foi oriundo do tratamento com um dos inseticidas, verificou-se também grande mortalidade das lagartas após a eclosão (dados não mostrados).

Algumas mudanças morfológicas no processo de transformação foram observadas em todas as concentrações dos inseticidas testados. Evidenciou-se parada na alimentação, alterações e deformidades morfológicas, ecdise incompleta ou ausência. Muitas lagartas morreram durante o processo de muda, sem conseguir desprender totalmente a exúvia, que geralmente ficava presa na parte posterior do abdome. As lagartas provenientes do tratamento com lufenuron apresentaram retenção da velha cutícula, formação de bolha próxima à região cefálica e deposição de cutículas velhas no corpo (Fig. 3A). O metoxifenoazide proporcionou retenção de caracteres larvais, destruição do aparelho bucal e não-desprendimento da exúvia do corpo do inseto (Fig. 3B). As lagartas provenientes dos tratamentos com deltametrina e espinosade apresentaram corpo murcho e de tamanho reduzido, e escurecimento do tegumento (Figs. 3C e D). Azadiractina ocasionou constrictões dos segmentos abdominais das lagartas, retenção dos caracteres morfológicos larvais e corpo mole, com frágil cutícula que se feriu facilmente (Fig. 3E).

Discussão

Os inseticidas lufenurom, metoxifenoze, espinosade, deltametrina e azadiractina em diferentes concentrações, proporcionaram alta mortalidade larval de *S. frugiperda*, bem como alterações nos parâmetros biológicos estudados (duração dos períodos larval e pupal; peso das pupas; longevidade; fecundidade e fertilidade). Busato *et al.* (2006) avaliaram, em condições de laboratório, a susceptibilidade de lagartas de 3º instar dos biótipos de *S. frugiperda* milho e arroz, coletados no agroecossistema de várzea subtropical, município de Pelotas, RS, a lufenurom (Match® CE, 0,006 g i.a. L⁻¹), metoxifenoze (Intrepid® 240 SC, 0,158 g i.a. L⁻¹) e espinosade (Tracer®, 0,960 g i.a. L⁻¹). De um modo geral, a eficiência do controle foi superior a 80% para os dois biótipos testados. Pineda *et al.* (2007) afirmaram que os compostos agonistas de ecdisona, como o metoxifenoze, podem causar mortalidade larval progressiva em ínstaes subsequentes dos insetos tratados. Fato observado nos nossos resultados e também comprovado por Zarate *et al.* (2011), que estudando os efeitos letais e subletais deste inseticida sobre *S. frugiperda* constataram mortalidade larval progressiva de 12% para a CL₁₀ e 60% para a CL₂₅. Além disso, os agonistas causam parada na alimentação de lagartas, conduzindo à redução no seu peso (Pineda *et al.* 2006, Eizaguirre *et al.* 2007).

As informações aqui obtidas com azadiractina são esperadas porque suas propriedades envolvem alterações no comportamento e fisiologia dos insetos. Outros estudos obtiveram resultados semelhantes aos nossos como Lima *et al.* (2010), que trabalhando com lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com os inseticidas Neemseto® e Natuneem® (à base de azadiractina) nas concentrações 2,5; 5,0; 7,5; 10 mL/L, verificaram elevada mortalidade, alongamento do período larval e redução no peso larval. Greenberg *et al.* (2005), também, comprovam o efeito dos inseticidas a base de nim (Ecozin®, Agroneem® e Neemix®) sobre lagartas de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de algodoeiro, obtendo

redução em até 61% na sobrevivência. Mordue (Luntz) & Nisbet (2000) registram os seguintes efeitos: aumento da mortalidade, ocorrência de ecdise anormal e incompleta, repelência, interferência na metamorfose, esterilidade e anormalidades anatômicas, bem como redução na alimentação e crescimento (Martinez & Van Emden 2001).

Com deltametrina (Decis[®] 25 CE) na dosagem de 7,5 g i.a./ha, Bellettini *et al.* (1992) observaram eficiência no controle de *S. frugiperda* na cultura do milho superior a 85%, fato comprovado com as diferentes concentrações utilizadas no nosso trabalho. Storch *et al.* (2007) observaram redução na fecundidade de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), quando lagartas de 3º instar foram expostas aos inseticidas lufenurom e espinosade, a 2,5% da dosagem recomendada. Os efeitos do nim no desenvolvimento e na reprodução de diversos insetos, também, foram evidenciados por outros autores, em concentrações letais e subletais (Schumutterer 1990, Roel 2001, Martinez & Van Emden 2001, Isman 2006).

Os dados obtidos para os cruzamentos entre adultos oriundos do tratamento testemunha e com os compostos azadiractina e deltametrina assemelham-se aos obtidos por Perveen (2006), que avaliou os efeitos de doses subletais de chlorfluazuron em larvas de *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae), caracterizados pela redução no número de ovos postos e eclosão das lagartas. Adel & Sehnal (2000), Sáenz-de-Cabezón *et al.* (2005, 2006) e Pineda *et al.* (2009), também, observaram reduções significativas nos parâmetros reprodutivos, quando adultos de *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Lobesia botrana* Den & Schiff (Lepidoptera: Tortricidae) ingeriram os compostos azadiractina, lufenurom e metoxifenoze, em concentrações letais e subletais.

Muitos aspectos relacionados aos efeitos do nim sobre a reprodução dos insetos ainda necessitam ser esclarecidos. O composto parece afetar importantes processos relacionados à maturação reprodutiva tanto de machos como de fêmeas, retardando o início do acasalamento e o

período de postura. Tais efeitos nas fêmeas podem estar relacionados ao aumento do tempo necessário para o desenvolvimento dos oócitos. Além disso, o número de ovos por fêmea pode ser reduzido, em decorrência dos efeitos da azadiractina na síntese de vitelogenina e pela redução na retirada de proteínas do corpo gorduroso pelos oócitos, prejudicando seu desenvolvimento e maturação. A azadiractina afeta a reprodução de várias espécies de insetos, tratados com diferentes concentrações, tanto na fase adulta, como durante o estágio larval (Martinez & Van Endem 1999).

Alterações morfológicas e deformidades foram observadas nos nossos resultados, após tratamento com todos os inseticidas testados. Para azadiractina, efeitos como o não-desprendimento da exúvia, foram observados também por Mordue (Luntz) & Blackwell (1993). Esses autores mencionam a ocorrência de sintomas semelhantes em insetos submetidos a diferentes concentrações de azadiractina, e atribuíram essas alterações à redução na concentração do ecdisona ou atraso na sua liberação na hemolinfa. Também mencionaram que a ordem Lepidoptera representa o grupo de insetos mais sensível ao efeito de reguladores de crescimento (efeitos morfogenéticos) dos derivados do nim.

Os insetos intoxicados pelos reguladores de crescimento não conseguem sintetizar, normalmente, a quitina durante o processo da ecdise, fato também observado nos nossos resultados. Assim, não apresentam rigidez suficiente no corpo formado pela nova cutícula, para se livrar da velha exúvia, ocorrendo o rompimento da parede do mesmo durante o processo de muda, levando o inseto à morte (Tateishi *et al.* 1993). Storch *et al.* (2007) observaram defeitos em pré-pupas de *A. gemmatilis*, com retenção dos caracteres morfológicos larvais, proporcionados pelos inseticidas lufenurom, metoxifenoazide e espinosade a 2,5% da dosagem recomendada. Espinosade apresenta ação neurotóxica, provocando paralisia nos insetos intoxicados, bem como, reduz a alimentação e o seu crescimento (Watson 2001).

Os efeitos subletais observados nos insetos sobreviventes dos tratamentos, como redução do peso e malformação, provocam impacto negativo sobre a população da praga (Pineda *et al.* 2004). Além disso, as anormalidades morfológicas ocorrem porque a indução rápida da ecdise não ocorre em tempo hábil para a completa transformação larva-pupa. Assim, os insetos mudam para formas não viáveis entre os estágios de vida (Tateishi *et al.* 1993).

Conclusões

Baixas concentrações dos inseticidas lufenurom, metoxifenozone, espinosade e azadiractina, apresentam efeitos tão nocivos, quanto às concentrações comerciais, sobre parâmetros biológicos e reprodução de *S. frugiperda*. Além disso, os inseticidas proporcionam alterações e deformidades morfológicas. Assim, para um uso ecologicamente correto no MIP, maior atenção deve ser dada na escolha das concentrações desses inseticidas, minimizando o uso de piretróides.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro e quarto autores. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão de bolsas de pesquisa aos demais autores.

Literatura Citada

- Abdi, H. 2007.** The Bonferroni and Sidák corrections for multiple comparisons, p. 540-542. In S. Neil (ed.), Encyclopedia of measurement and statistics. 2a. ed. Thousand Oaks, Sage Publications, 1416p.
- Adel M.M. & F. Sehnal. 2000.** Azadirachtin potentiates the action of ecdysteroid agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis*. J. Insect Physiol. 46: 267-274.

- Batista Neto, O.A., M.B. Silva, M.S. Garcia & A. Silva. 2011.** Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre ovos, lagartas e adultos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lep.: Tortricidae). Rev. Bras. Frutic. 33: 420-428.
- Bellettini, S., N.M.T. Bellettini, L.T. Hiral, E.M. Moreira, M.C. Zanardo & W.M. Koba. 1992.** Utilização de produtos fisiológicos no controle da “lagarta-do-cartucho-do-milho”, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). An. Soc. Entomol. Brasil 21: 261-266.
- Busato, G.R., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia, M.J. Zotti, S.D. Nörnberg, T.R. Magalhães & J.B. Magalhães. 2006.** Susceptibilidade de lagartas de biótipos milho e arroz de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) a inseticidas com diferentes modos de ação. Ciênc. Rural 36: 15-20.
- Butt, B.A. & E. Cantu. 1962.** Sex determination of lepidopterous pupae. Washington DC, USDA-ARS, 7p.
- Correia, A. A., W. Wanderley-Teixeira, A. A. C. Teixeira, J. V. de Oliveira & J. B. Torres. 2009.** Morphology of the alimentary canal of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) larvae (Lepidoptera: Noctuidae) fed on neem-treated leaves. Neotrop. Entomol. 38: 83–91.
- Cruz, I. 1995.** A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 45p. (Circular Técnica, no. 21).
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.
- Eizaguirre, M., C. López, Ch. Schafellner & F. Sehnal. 2007.** Effects of ecdysteroid agonist RH-2485 reveal interactions between ecdysteroids and juvenile hormones in the development of *Sesamia nonagrioides*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 65: 74-84.
- Greenberg, S.M., A.T. Showler & T.X. Liu. 2005.** Effects of neem-based insecticides on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Sci. 12: 17-23.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51: 45-66.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Júnior, E.J. Marques & A.A. Correia. 2010.** Bioatividade de formulações de nim (*Azadirachta indica* A. Juss, 1797) e de *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Cienc. Agrotec. 34: 1381-1389.
- Martinez, S.S. & H.F. Van Endem. 1999.** Sublethal concentrations of azadirachtin affect food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Bul. Entomol. Res. 89: 65-71.

- Martinez, S.S. & H.F. Van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* caused by azadirachtin. *Neotrop. Entomol.* 30: 113–125.
- Mordue (Luntz), A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* 39: 903-924.
- Mordue (Luntz), A. J. & A. Nisbet. 2000.** Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *An. Soc. Entomol. Brasil* 29: 615–632.
- Perveen, F. 2006.** Reduction in egg hatch after a sublethal dose of chlorfluazuron to larvae of the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Physiol. Entomol.* 31: 39-45.
- Pineda, S., F. Budia, M.I. Schneider, A. Gobbi, E. Viñuela, J. Valle & P. Del Estal. 2004.** Effects of two biorational insecticides, spinosad and methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Nocuidae) under laboratory conditions. *J. Econ. Entomol.* 97: 1906-1911.
- Pineda, S., G. Smagghe, M.I. Schneider, P. Del Estal, E. Viñuela, A.M. Martínez & F. Budia. 2006.** Toxicity and pharmacokinetics of spinosad and methoxyfenozide to *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Nocuidae). *Environ. Entomol.* 35: 856-864.
- Pineda, S., M.I. Schneider, G. Smagghe, A.M. Martínez, P. Del Estal, E. Viñuela, J. Valle & F. Budia. 2007.** Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide and spinosad on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Nocuidae). *J. Econ. Entomol.* 100: 773-780.
- Pineda, S., A.M. Martínez, J.I. Figueroa, M.I. Schneider, P. Del Estal, E. Viñuela, B. Gómex, G. Smagghe & F. Budia. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 102: 1490-1496.
- Roel, A. R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Int. Desenv. Local* 1: 43-50.
- Sáenz-de-Cabezón, I.F.J., V. Marco, F.G. Salmo & I. Perez-Moreno. 2005.** Effects of methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den & Schiff (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval and adult stages. *Pest Manag. Sci.* 11: 1133-1137.
- Sáenz-de-Cabezón, I. Perez-Moreno, F.G. Zalom & V. Marco. 2006.** Effects of lufenuron on *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval, and adult stages. *J. Econ. Entomol.* 99: 427-431.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schneider, M., G. Smagghe, S. Pineda & E. Viñuela. 2008.** The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hym., Ichneumonidae): Pharmac. Approach. *Ecotoxicol.* 17: 181-188.

- Schumutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- Soares, J.J. & L.H.A. Araújo. 2001.** Guerra à lagarta militar. *Rev. Cultivar* 3: 6-8.
- Storch, G., A.E. Loeck, R.S. Borba, D.A. Magano, C.L. Moraes & A.D. Grützmacher. 2007.** Efeito de inseticidas aplicados em doses subletais sobre a dieta artificial e em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Bras. Agrocienc.* 13: 175-179.
- Tateishi K., M. Kiuchi & S. Takeda. 1993.** New cuticle formation and moult inhibition by RH-5849 in the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl. Entomol. Zool.* 28: 177-184.
- Viñuela, E., A. Adán, G. Smagghe, M. González, M.P. Medina, F. Budia, H. Vogt & P. Estal. 2000.** Laboratory effects of ingestion of azadirachtin by two pests (*Ceratitis capitata* and *Spodoptera exigua*) and three natural enemies (*Chrysoperla carnea*, *Opius concolor* and *Podisus maculiventris*). *Biocontrol Sci. Technol.* 10: 165-177.
- Waquil, J.M.; F.M.F. Villela & J.E. Foster. 2002.** Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico (Bt) à Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Bras. Milho Sorgo* 1: 1-11.
- Watson, G.B. 2001.** Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid receptors from small-diameter cockroach neurones. *Pestic. Biochem. Physiol.* 71: 20-28.
- Zarate, N., O. Díaz, A.M. Martínez, J.I. Figueroa, M.I. Schneider, G. Smagghe, E. Viñuela, F. Budia & S. Pineda. 2011.** Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide on the development, survival and reproduction of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop. Entomol.* 40: 129-137.

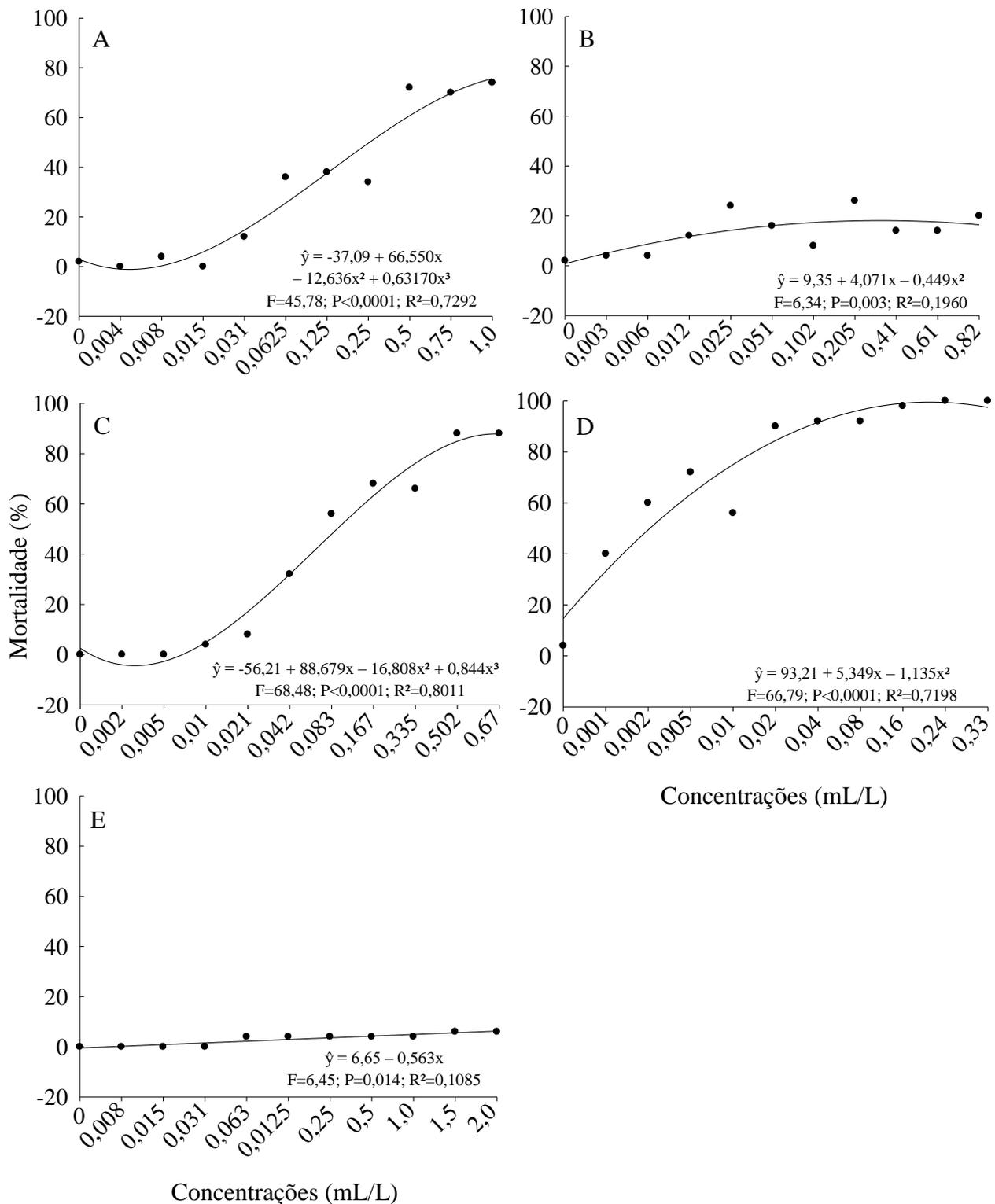


Figura 1. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* após 24h de alimentação em folhas de milho tratadas com: (A) Lufenurom (Match[®]); (B) Metoxifenoziide (Intrepid[®]); (C) Deltametrina (Decis[®]); (D) Espinosade (Tracer[®]) e (E) Azadiractina (AzaMax[®]). Concentração 0 = testemunha. Temp.: 29,9 ± 0,89 °C, UR de 57 ± 1,28% e fotofase de 12h.

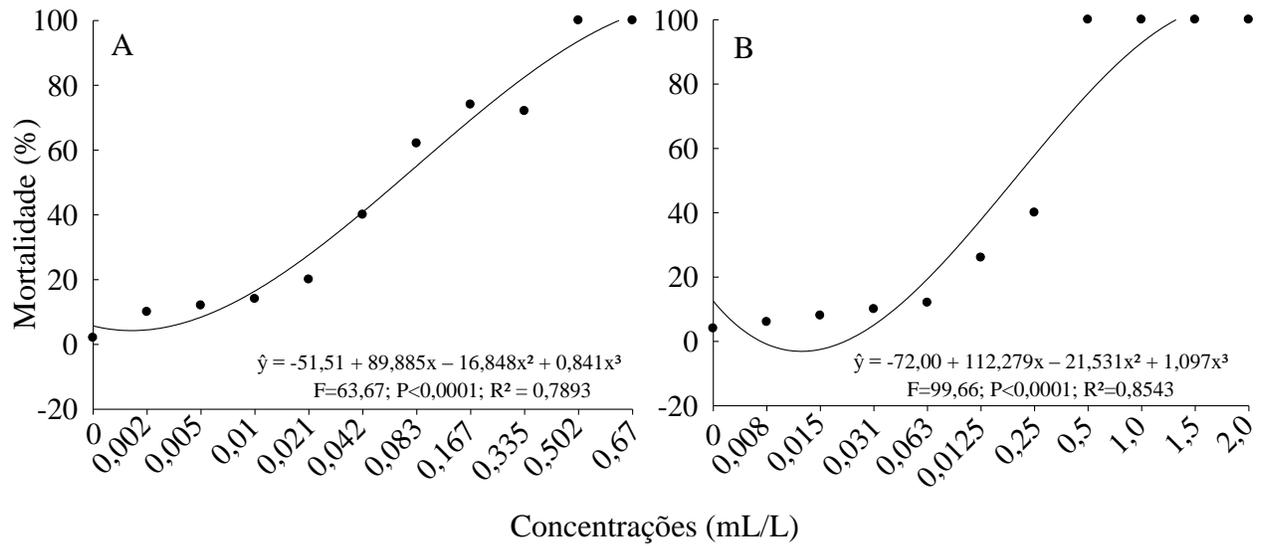


Figura 2. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* após cinco dias do início do tratamento com: (A) Deltametrina (Decis[®]) e (B) Azadiractina (AzaMax[®]). Concentração 0 = testemunha. Temp.: 29,9 ± 0,89 °C, UR de 57 ± 1,28% e fotofase de 12h.

Tabela 1. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda*, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas com azadiractina (AzaMax[®]). Temp.: 29,9 ± 0,89 °C, UR de 57 ± 1,28% e fotofase de 12h.

Tratamento	Período larval (dias) ^{1,2}	Período pupal (dias) ¹	Peso pupal (g) ¹	Longevidade (dias) ¹
Testemunha	11,9 ± 0,64 bc	7,7 ± 0,30 ab	0,120 ± 0,003 a	6,2 ± 0,84 a
0,008 mL/L	5,9 ± 0,32 e	9,0 ± 0,39 a	0,129 ± 0,006 a	6,3 ± 0,81 a
0,015 mL/L	7,1 ± 0,24 de	9,5 ± 0,20 a	0,144 ± 0,004 a	6,3 ± 0,81 a
0,031 mL/L	6,8 ± 0,32 de	9,0 ± 0,20 a	0,135 ± 0,008 a	6,2 ± 0,79 a
0,063 mL/L	6,9 ± 0,64 de	9,4 ± 0,18 a	0,137 ± 0,009 a	6,3 ± 0,81 a
0,125 mL/L	14,0 ± 0,35 ab	6,2 ± 0,49 b	0,120 ± 0,006 a	6,4 ± 0,81 a
0,25 mL/L	15,6 ± 0,37 a	3,6 ± 0,48 c	0,072 ± 0,010 b	2,9 ± 0,91 b
0,5 mL/L	10,8 ± 0,62 c	-	-	-
1,0 mL/L	9,1 ± 0,53 cd	-	-	-
1,5 mL/L	7,4 ± 0,52 de	-	-	-
2,0 mL/L	7,2 ± 0,34 de	-	-	-
F ^P	49,63 ^{<0,0001}	238,05 ^{<0,0001}	128,85 ^{<0,0001}	28,24 ^{<0,0001}

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²À partir do terceiro ínstar.

Tabela 2. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda*, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas com deltametrina (Decis®). Temp.: $29,9 \pm 0,89$ °C, UR de $57 \pm 1,28\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Período larval (dias) ^{1,2}	Período pupal (dias) ¹	Peso pupal (g) ¹	Longevidade (dias) ¹
Testemunha	$7,9 \pm 0,19$ b	$8,6 \pm 0,53$ b	$0,133 \pm 0,006$ a	$6,6 \pm 0,76$ a
0,002 mL/L	$5,5 \pm 0,32$ bc	$10,6 \pm 0,18$ b	$0,126 \pm 0,009$ a	$8,0 \pm 1,29$ a
0,005 mL/L	$5,3 \pm 0,66$ bc	$10,1 \pm 0,43$ b	$0,124 \pm 0,003$ a	$8,1 \pm 1,19$ a
0,010 mL/L	$6,9 \pm 0,59$ b	$10,6 \pm 0,34$ b	$0,126 \pm 0,002$ a	$8,0 \pm 1,15$ a
0,021 mL/L	$6,4 \pm 0,25$ b	$10,3 \pm 0,14$ b	$0,125 \pm 0,007$ a	$6,0 \pm 0,96$ a
0,042 mL/L	$11,2 \pm 0,52$ a	$9,4 \pm 0,25$ b	$0,128 \pm 0,004$ a	$5,5 \pm 1,23$ a
0,083 mL/L	$2,2 \pm 0,48$ d	$20,2 \pm 0,37$ a	$0,023 \pm 0,004$ b	-
0,167 mL/L	$2,5 \pm 0,76$ cd	$20,5 \pm 0,39$ a	$0,030 \pm 0,009$ b	-
0,335 mL/L	$2,1 \pm 0,68$ d	$19,9 \pm 0,41$ a	$0,027 \pm 0,006$ b	-
0,502 mL/L	$0,8 \pm 0,26$ d	-	-	-
0,67 mL/L	$0,6 \pm 0,48$ d	-	-	-
F ^P	$42,69^{<0,0001}$	$167,85^{<0,0001}$	$81,77^{<0,0001}$	$31,42^{<0,0001}$

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²À partir do terceiro ínstar.

Tabela 3. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda*, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas com lufenurom (Match®). Temp.: $29,9 \pm 0,89$ °C, UR de $57 \pm 1,28\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Período larval (dias) ^{1,2}	Período pupal (dias) ¹	Peso pupal (g) ¹	Longevidade (dias) ¹
Testemunha	$9,7 \pm 0,54$ a	$8,8 \pm 0,27$ a	$0,137 \pm 0,005$ a	$11,9 \pm 0,73$ a
0,004 mL/L	$5,2 \pm 0,43$ b	$4,3 \pm 2,63$ b	$0,104 \pm 0,026$ a	$0,4 \pm 0,30$ b
0,008 mL/L	$4,5 \pm 0,24$ b	$4,0 \pm 2,44$ b	$0,082 \pm 0,033$ ab	$0,5 \pm 0,50$ b
0,015 mL/L	$4,8 \pm 0,14$ b	$6,2 \pm 2,53$ ab	$0,112 \pm 0,028$ a	$0,5 \pm 0,22$ b
0,031 mL/L	$3,8 \pm 0,47$ bc	$2,4 \pm 2,40$ b	$0,028 \pm 0,028$ b	-
0,0625 mL/L	$3,9 \pm 0,19$ bc	-	-	-
0,125 mL/L	$3,5 \pm 0,10$ bc	-	-	-
0,25 mL/L	$3,5 \pm 0,15$ bc	-	-	-
0,5 mL/L	$2,6 \pm 0,07$ c	-	-	-
0,75 mL/L	$2,6 \pm 0,09$ c	-	-	-
1,0 mL/L	$2,6 \pm 0,23$ c	-	-	-
F ^P	$48,42^{<0,0001}$	$4,20^{0,0004}$	$9,33^{<0,0001}$	$148,19^{<0,0001}$

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²À partir do terceiro ínstar.

Tabela 4. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda*, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas com o metoxifenoze (Intrepid®). Temp.: $29,9 \pm 0,89$ °C, UR de $57 \pm 1,28\%$ e fotofase de 12h

Tratamento	Período larval (dias) ^{1,2}	Período pupal (dias) ¹	Peso pupal (g) ¹	Longevidade (dias) ¹
Testemunha	$7,9 \pm 0,15$ a	$8,6 \pm 0,05$	$0,144 \pm 0,001$	$9,1 \pm 1,15$
0,003 mL/L	$2,4 \pm 0,18$ cd	-	-	-
0,006 mL/L	$2,7 \pm 0,27$ bcd	-	-	-
0,012 mL/L	$2,5 \pm 0,37$ bcd	-	-	-
0,025 mL/L	$1,8 \pm 0,28$ d	-	-	-
0,051 mL/L	$3,8 \pm 0,24$ b	-	-	-
0,102 mL/L	$3,6 \pm 0,28$ bc	-	-	-
0,205 mL/L	$3,3 \pm 0,17$ bc	-	-	-
0,41 mL/L	$3,3 \pm 0,11$ bc	-	-	-
0,61 mL/L	$3,2 \pm 0,07$ bc	-	-	-
0,82 mL/L	$3,4 \pm 0,14$ bc	-	-	-
F ^P	$50,02^{<0,0001}$	$33789^{<0,0001}$	$8476,16^{<0,0001}$	$62,26^{<0,0001}$

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²À partir do terceiro ínstar.

Tabela 5. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda*, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas com espinosade (Tracer[®]). Temp.: $29,9 \pm 0,89$ °C, UR de $57 \pm 1,28\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Período larval (dias) ^{1,2}	Período pupal (dias) ¹	Peso pupal (g) ¹	Longevidade (dias) ¹
Testemunha	$8,2 \pm 0,16$ a	$8,9 \pm 0,18$	$0,137 \pm 0,001$	$6,4 \pm 0,74$
0,001 mL/L	$1,3 \pm 0,14$ bc	-	-	-
0,002 mL/L	$1,4 \pm 0,07$ bc	-	-	-
0,005 mL/L	$1,7 \pm 0,18$ b	-	-	-
0,01 mL/L	$1,4 \pm 0,11$ bc	-	-	-
0,02 mL/L	$1,1 \pm 0,03$ bc	-	-	-
0,04 mL/L	$1,1 \pm 0,02$ bc	-	-	-
0,08 mL/L	$1,1 \pm 0,11$ bc	-	-	-
0,16 mL/L	$1,0 \pm 0,02$ c	-	-	-
0,24 mL/L	$1,0 \pm 0,00$ c	-	-	-
0,33 mL/L	$1,0 \pm 0,00$ c	-	-	-
F ^P	$428,18^{<0,0001}$	$2255,10^{<0,0001}$	$6472,28^{<0,0001}$	$52,31^{<0,0001}$

¹Médias (\pm EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²À partir do terceiro ínstar.

Tabela 6. Fecundidade e fertilidade de *Spodoptera frugiperda*, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas com azadiractina (AzaMax[®]) e deltametrina (Decis[®]). Temp.: 29,9 ± 0,89 °C, UR de 57 ± 1,28% e fotofase de 12h.

Tratamento	Fecundidade ¹	Fertilidade (%) ¹
Azadiractina		
Testemunha	923,5 ± 77,81 a	98,8 ± 0,20 a
0,008 mL/L	708,6 ± 78,41 ab	95,4 ± 0,24 b
0,015 mL/L	876,0 ± 20,14 a	92,2 ± 0,66 c
0,031 mL/L	362,5 ± 122,76 bc	90,6 ± 0,24 c
0,063 mL/L	361,0 ± 228,31 bc	70,4 ± 0,24 d
0,125 mL/L	628,3 ± 26,74 ab	65,8 ± 0,37 e
0,25 mL/L	130,0 ± 82,21 c	60,2 ± 0,20 f
F ^P	6,98 ^{<0,0001}	2099,98 ^{<0,0001}
Deltametrina		
Testemunha	786,5 ± 68,73 a	98,6 ± 0,24 a
0,002 mL/L	729,0 ± 65,32 ab	95,4 ± 0,24 b
0,005 mL/L	683,1 ± 41,96 ab	95,6 ± 0,24 b
0,01 mL/L	668,1 ± 46,65 ab	92,2 ± 0,66 c
0,021 mL/L	544,1 ± 27,98 abc	90,6 ± 0,24 cd
0,042 mL/L	438,6 ± 40,37 bcd	90,2 ± 0,20 d
F ^P	10,18 ^{<0,0001}	1631,40 ^{<0,0001}

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 7. Efeito de azadiractina (AzaMax[®]) e deltametrina (Decis[®]) na fecundidade e fertilidade de *Spodoptera frugiperda*, a partir dos cruzamentos entre machos e fêmeas, cujas lagartas foram alimentadas em folhas de milho tratadas e não-tratadas com azadiractina (AzaMax[®]) e deltametrina (Decis[®]). Temp.: 29,9 ± 0,89 °C, UR de 57 ± 1,28% e fotofase de 12h.

Cruzamentos	Fecundidade ¹	Fertilidade (%) ¹
Azadiractina (A) x Testemunha (T)		
♀ T x ♂ T	923,5 ± 77,81 a	98,8 ± 0,20 a
♀ A 0,008 mL/L x ♂ A 0,008 mL/L	708,6 ± 78,41 a	95,4 ± 0,24 b
♀ A 0,015 mL/L x ♂ A 0,015 mL/L	876,0 ± 20,14 a	92,2 ± 0,66 c
♀ T x ♂ A 0,008 mL/L	906,3 ± 60,56 a	97,8 ± 0,37 a
♀ A 0,008 mL/L x ♂ T	682,5 ± 164,16 a	72,6 ± 0,24 f
♀ T x ♂ A 0,015 mL/L	896,3 ± 60,65 a	75,0 e
♀ A 0,015 mL/L x ♂ T	659,0 ± 43,74 a	79,0 d
F^P	1,99^{0,0937}	1211,41^{<0,0001}
Deltametrina (D) x Testemunha (T)		
♀ T x ♂ T	786,5 ± 68,73 a	98,6 ± 0,24 a
♀ D 0,002 mL/L x ♂ D 0,002 mL/L	729,0 ± 65,32 a	95,4 ± 0,24 b
♀ D 0,005 mL/L x ♂ D 0,005 mL/L	683,1 ± 41,96 a	95,6 ± 0,24 b
♀ T x ♂ D 0,002 mL/L	672,5 ± 70,70 a	91,0 c
♀ D 0,002 mL/L x ♂ T	602,5 ± 63,33 a	89,0 d
♀ T x ♂ D 0,005 mL/L	672,5 ± 70,70 a	71,4 ± 0,24 e
♀ D 0,005 mL/L x ♂ T	679,6 ± 44,12 a	70,6 ± 0,24 e
F^P	0,49^{0,8137}	3151,69^{<0,0001}

¹Médias (± EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

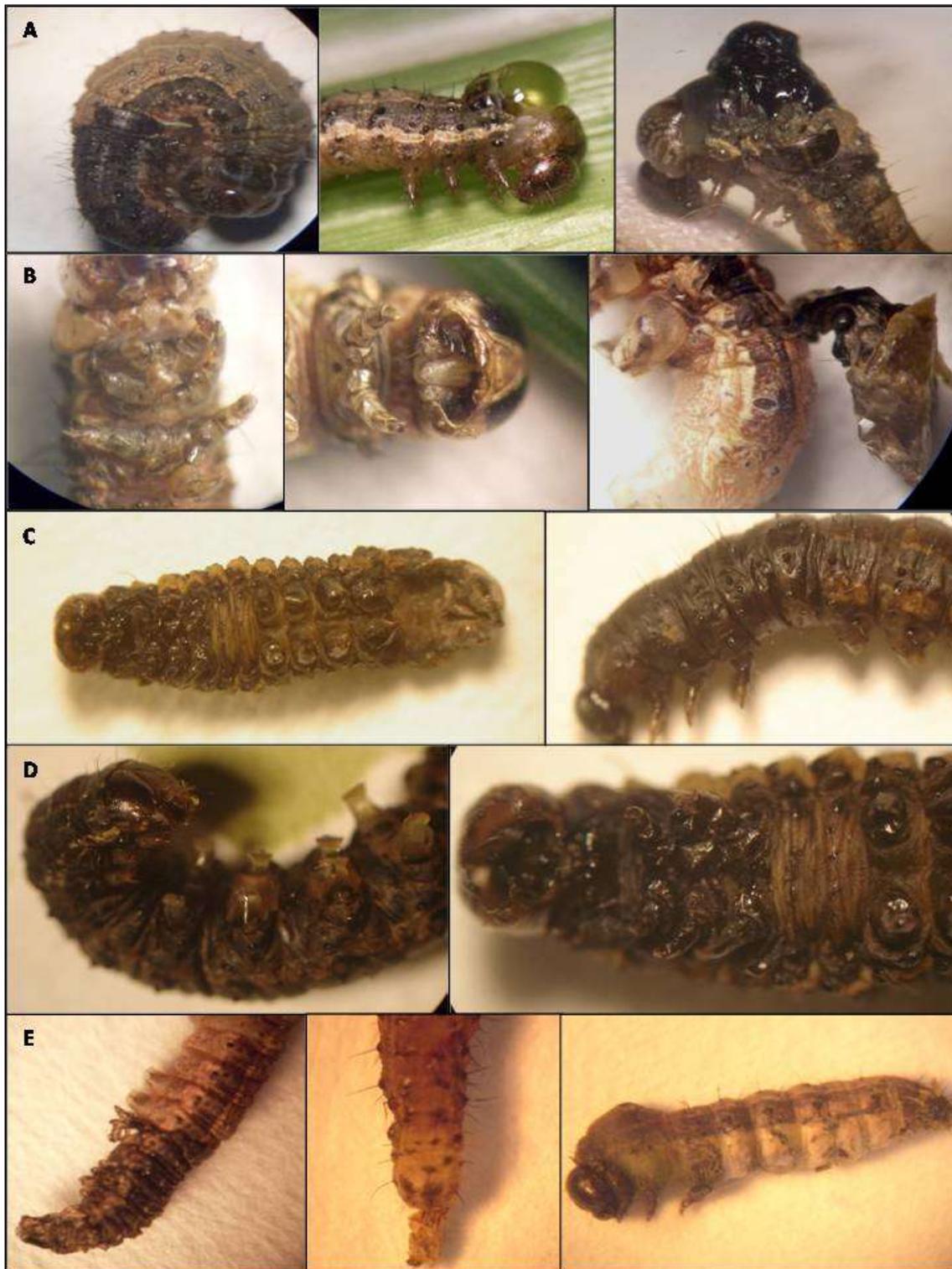


Figura 3. Alterações morfológicas e deformidades observadas em lagartas de *Spodoptera frugiperda*, após 24h de alimentação em folhas de milho tratadas com: (A) Lufenurom (Match[®]); (B) Metoxifenozeide (Intrepid[®]); (C) Deltametrina (Decis[®]); (D) espinosade (Tracer[®]); (E) Azadiractina (AzaMax[®]).

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE AZADIRACTINA, LUFENUROM E DELTAMETRINA
SOBRE OVOS DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E
NO PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE)

ALICELY A. CORREIA¹, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA², ÁLVARO A. C. TEIXEIRA²,
GLAUCILANE S. CRUZ¹ E JOSÉ V. OLIVEIRA¹

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois
Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – Histologia, Av. Dom Manoel de
Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

Correia, A.A., V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, G.S. Cruz & J.V. Oliveira. Avaliação do efeito de azadiractina, lufenurom e deltametrina sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). A ser submetido.

RESUMO – O Manejo Integrado de Pragas busca alternativas menos prejudiciais ao homem e ao ambiente, para o sucesso no controle das pragas. Entre essas alternativas está o uso de inseticidas botânicos e reguladores de crescimento. Porém, a escolha de um produto deve ser baseada na preocupação em relação aos inimigos naturais e na eficiência, economicidade e impacto ambiental, pois a associação entre inseticidas e inimigos naturais constitui uma alternativa viável para o controle das pragas. Assim, o presente estudo analisou os efeitos de diferentes concentrações de lufenurom (Match[®]), azadiractina (AzaMax[®]) e deltametrina – testemunha positiva (Decis[®]) sobre ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), bem como a influência dos mesmos no parasitismo e características biológicas do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley. No bioensaio da viabilidade de ovos, posturas de *S. frugiperda* foram tratadas por imersão e colocadas em placa de Petri até a eclosão das lagartas. Para bioensaios com *T. pretiosum*, 30 ovos de *S. frugiperda*, previamente tratados, foram colados em cartolina e colocados em tubos de vidro contendo duas fêmeas do parasitóide, cada. Todos os tratamentos reduziram a viabilidade dos ovos. Os compostos azadiractina, lufenurom e deltametrina, nas concentrações testadas, reduziram a quantidade de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, emergência e longevidade de *T. pretiosum*. Contudo, a duração do ciclo ovo-adulto e a razão sexual não foram afetadas, em comparação a testemunha. Assim, azadiractina e lufenurom, mesmo em baixas concentrações afeta a viabilidade dos ovos de *S. frugiperda*, porém não são seletivos ao parasitóide *T. pretiosum*.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, milho, parasitismo, inseticidas

EVALUATION OF THE EFFECT OF AZADIRACHTIN, LUFENURON AND
DELTAMETHRIN IN EGGS FROM *Spodoptera frugiperda* (JE SMITH) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) AND PARASITISM OF *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE)

ABSTRACT – The Integrated Pest Management seeks alternatives less harmful to humans and environment, for success in pest control. Among these alternatives are the use of botanical insecticides and growth regulators. However, the choice of a product should be based on concern over natural enemies and efficiency, economy and environmental impacts, since the association between pesticides and natural enemies represents a feasible alternative for pest control. Thus, this study evaluated the effects of different concentrations of lufenuron (Match[®]), azadirachtin (AzaMax[®]) and deltamethrin - a positive control (Decis[®]) on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) eggs, as well as their influence on parasitism and biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* Riley. For the egg viability bioassay, *S. frugiperda* postures were treated by immersion and placed in a Petri dish until the hatching of caterpillars. For bioassay with *T. pretiosum*, 30 *S. frugiperda* eggs, previously treated, were glued on cardboard and placed in glass tubes containing two parasitoid females each. All treatments reduced the viability of the eggs. The compounds azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin, at tested concentrations, reduced the number of parasitised eggs, parasitism rate, emergence and longevity of *T. pretiosum*. However, the period of development from egg to adult and sex ratio of parasitoids were not affected, compared to control. Thus, azadirachtin and lufenuron, even at low concentrations affect the viability of eggs of *S. frugiperda*, but are not selective to the parasitoid *T. pretiosum*.

KEY WORDS: Fall armyworm, corn, parasitism, insecticides

Introdução

Para maximizar a produção agrícola, o controle de pragas deve ter uma visão interdisciplinar, integrando diferentes táticas de controle que sejam menos prejudiciais ao homem e ao ambiente, dentro da fisiologia do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Entre as táticas utilizadas, liberações de inimigos naturais têm mostrado bons resultados no controle biológico de pragas da ordem Lepidoptera (Parra *et al.* 1987, Parra 2006).

Trichogramma spp. são parasitóides pequenos que apresentam tamanho entre 0,5 a 1,5 mm de comprimento, sendo utilizados em diversas culturas a nível mundial. Vários trabalhos (Figueiredo *et al.* 1999, Ferrer 2001, Beserra & Parra 2004, Figueiredo *et al.* 2006, Bueno *et al.* 2010, Goulart *et al.* 2011) têm mostrado o alto número de espécies de parasitóides, entre eles *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae), presentes em diferentes regiões de milho e também evidenciado a importância destes inimigos naturais para manter *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) abaixo do nível de dano econômico.

Um dos principais parasitóides utilizados no controle biológico de *S. frugiperda* é *T. pretiosum* que também pode ser utilizado em associação com outros métodos. A facilidade de criação em laboratório é uma característica vantajosa para a sua utilização em programas de controle biológico aplicado, pois podem ser produzidos em ovos de hospedeiros alternativos, com custo de produção viável. Além disso, é importante ressaltar que, ao parasitar ovos, o parasitóide promove o controle da população das pragas antes que elas atinjam o nível de dano econômico (Pratissoli *et al.* 2004a).

Principal praga da cultura do milho, *S. frugiperda* é capaz de causar perdas de 34% na produção de grãos (Cruz *et al.* 1997). Seu controle ainda é realizado, principalmente, com

inseticidas sintéticos. Para a seleção de um produto químico adequado, este deve ter os seguintes atributos: eficiência, economicidade, segurança do ponto de vista ambiental e seletividade aos inimigos naturais; uma vez que, os efeitos podem variar de acordo com a origem, formulação, concentração e inimigo natural, entre outros fatores (Cruz 1995). Assim, é importante investigar os possíveis efeitos de inseticidas não somente sobre as pragas, mais também sobre os inimigos naturais.

Tendo em vista que estudos com inseticidas botânicos e reguladores de crescimento sobre os inimigos naturais têm aumentado nos últimos anos mostrando resultados promissores (Pratissoli *et al.* 2003, 2004b, Gonçalves-Gervásio & Vendramin 2004, Silva & Martinez 2004), e considerando que a associação dos controles químico e biológico pode se constituir numa alternativa viável para o controle de pragas, o presente estudo visa avaliar os efeitos de diferentes concentrações dos compostos lufenurom, azadiractina e deltametrina sobre ovos de *S. frugiperda*, bem como a influência dos mesmos no parasitismo e características biológicas de *T. pretiosum*.

Material e Métodos

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), à temperatura de $27,0 \pm 0,4^\circ\text{C}$, umidade relativa de $67 \pm 1,0\%$ e fotofase de 12 horas.

Criação de *Spodoptera frugiperda*. Os ovos desta praga foram obtidos da criação estoque do Laboratório de Entomologia Agrícola. As lagartas foram alimentadas com pedaços de folhas de milho híbrido duplo AG 1051, produzidos em casa-de-vegetação, e apresentavam-se individualizadas em tubos de vidro de 2,5 x 8,5cm. Os adultos foram colocados em gaiolas de tubos de PVC de 20 cm de altura x 15 cm de diâmetro, forradas internamente com papel sulfite branco para efetuarem a postura. As gaiolas foram vedadas na parte superior com filme de PVC

transparente, e na inferior com uma tampa plástica. No fundo de cada gaiola colocou-se um pequeno recipiente, contendo um chumaço de algodão embebido em solução de mel a 10%, para alimentação dos adultos.

Obtenção e Criação de *Trichogramma pretiosum*. A linhagem de *T. pretiosum*, denominada L1, foi obtida da criação massal do Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), localizado na cidade de Alegre. No Laboratório de Entomologia Agrícola - UFRPE, a criação de *T. pretiosum* foi estabelecida, em sala climatizada com temperatura de $27,0 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $67 \pm 1,0\%$ e fotofase de 12 horas. Os parasitóides foram mantidos em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm), tampados com filme de PVC transparente e multiplicados sobre ovos inférteis do hospedeiro alternativo, *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Os ovos do hospedeiro foram obtidos junto ao Laboratório de Controle Biológico de Insetos do Departamento de Agronomia da UFRPE. Os ovos foram colados em cartelas confeccionadas com cartolina azul (1,5 x 7,0 cm), mediante uma solução aquosa de goma arábica a 10% e submetidos ao parasitismo em tubos de vidro. Após o parasitismo, as cartelas foram transferidas para novos tubos até a emergência dos adultos de *T. pretiosum*. Como alimento para os adultos foi utilizado uma gota de mel puro, depositada na parede interna de cada tubo de criação.

Bioensaios. Posturas com cem ovos de *S. frugiperda* com 0-24 h de idade foram imersas, por 10 segundos, em emulsões dos inseticidas nas concentrações comerciais e numa menor concentração (representando 0,39% da comercial e foi obtida a partir de experimentos prévios): inseticida botânico azadiractina (AzaMax[®] nas concentrações 2,0 mL/L e 0,008 mL/L), regulador de crescimento lufenurom (Match[®] nas concentrações 1,0 mL/L e 0,004 mL/L), inseticida piretróide deltametrina – testemunha positiva (Decis[®] nas concentrações 0,67 mL/L e 0,002 mL/L) e em água destilada (testemunha negativa). Posteriormente, os ovos foram colocados em placas de Petri

e, diariamente, observou-se a eclosão das lagartas. Estas foram contadas e retiradas do recipiente, para evitar a destruição dos ovos restantes. Esse processo foi repetido durante cinco dias, sendo avaliado o número de ovos viáveis, não afetados pelos tratamentos. No bioensaio com parasitóides, os ovos após serem imersos nas emulsões descritas foram coletados e colados com goma arábica, na proporção de trinta por cartela de 1,5 x 7,0 cm. Estas foram inseridas em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm), contendo duas fêmeas do parasitóide (0-12 h de idade), permitindo o parasitismo por um período de 24 horas. As fêmeas foram descartadas, e as cartelas mantidas nos tubos até a emergência dos parasitóides. Avaliou-se: a porcentagem de parasitismo, a porcentagem de emergência, a razão sexual, a duração do período ovo-adulto e a longevidade de *T. pretiosum*. Todos os bioensaios foram realizados em triplicata.

Análises Estatísticas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (para ambos bioensaios), com sete tratamentos e 10 repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($P = 0,05$), com correções de Bonfferonni para o nível de significância de 0,05 ($\alpha = 0,05/n$, onde n representa o número de médias em comparação para manter o nível de erro igual ou inferior a 0,05) (Abdi 2007). Todas as análises foram realizadas pelo Programa Estatístico SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

A viabilidade dos ovos de *S. frugiperda* foi reduzida pelos tratamentos com azadiractina, lufenurom e deltametrina, apresentando diferença estatística ($F_{6, 63} = 638,20$; $P < 0,0001$), em relação à testemunha (Fig. 1). Apenas no tratamento com azadiractina na concentração 0,008 mL/L, a viabilidade dos ovos foi acima de 50%, sendo superada pela testemunha, com viabilidade média de 98,9%. De um modo geral, mesmo com concentrações baixas, os inseticidas reduziram a viabilidade dos ovos de *S. frugiperda*.

O parasitismo de *T. pretiosum* foi afetado pelos inseticidas azadiractina, lufenurom e deltametrina ($F_{6, 63} = 57,62$; $P < 0,0001$), com variação de 5,5 – 12,8 e diferindo da testemunha (16,7) (Fig. 2). Quanto à porcentagem de parasitismo, houve diferenças significativas entre os tratamentos. Os inseticidas reduziram a porcentagem de parasitismo de *T. pretiosum* sobre ovos de *S. frugiperda* em relação ao tratamento testemunha (55,6%) (Tabela 1). O menor número de ovos parasitados e porcentagem de parasitismo foram observados no tratamento com deltametrina (concentração comercial 0,67 mL/L).

A porcentagem de adultos emergidos de *T. pretiosum* foi negativamente afetada pelos tratamentos sendo inferior à testemunha, que atingiu o percentual de 85,2%. Observou-se, ainda, que o tratamento com deltametrina (concentração comercial 0,67 mL/L) provocou a menor porcentagem de emergência. Contudo, os tratamentos com os inseticidas não alteraram a razão sexual e a duração do período ovo-adulto, sendo semelhantes à testemunha. Com exceção do tratamento com azadiractina (concentração 0,008 mL/L), todos os outros tratamentos apresentaram redução significativa na longevidade do parasitóide, quando comparados com a testemunha. As concentrações de deltametrina diminuíram, principalmente, a longevidade do parasitóide, dificultando a sua atividade de parasitismo (Tabela 1).

Discussão

O efeito de inseticidas sobre a viabilidade de ovos é de grande importância no Manejo Integrado de Pragas, pois permite que as pragas sejam controladas antes de atingirem o nível de dano econômico, razão pela qual, tem sido objeto de alguns estudos. Em nossos resultados evidenciamos a diminuição na viabilidade dos ovos de *S. frugiperda*, após tratamento com azadiractina, lufenurom e deltametrina. Fato também observado por Pratisoli *et al.* (2004b) onde o inseticida lufenurom (Match[®] CE) proporcionou considerável redução na viabilidade dos ovos de

S. frugiperda, provenientes de adultos tratados com as concentrações de 12,5; 15,0 e 17,0g i.a./L. Este produto, também, foi efetivo sobre a mortalidade de embriões de *Lobesia botrana* (Denis; Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae) (de 0,14g de i.a. 100L⁻¹) e *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) (4,0g de i.a. 100 L⁻¹), respectivamente, de acordo com Sáenz-de-Cabezón *et al.* (2006) e Batista Neto *et al.* (2011). A ingestão de azadiractina (100 mg de i.a./L) por adultos de *S. littoralis* proporcionou 80% de viabilidade dos ovos diferindo da testemunha cuja viabilidade foi de 92% (Pineda *et al.* 2009).

Houve uma redução no número de ovos de *S. frugiperda* parasitados, após o tratamento com os inseticidas, e nos parâmetros biológicos de *T. pretiosum*, em relação à testemunha, de forma que estes produtos se mostram não seletivos para o parasitóide *T. pretiosum*. Nossos resultados concordam com alguns autores, por exemplo, Pratisoli *et al.* (2004b) que observaram redução do parasitismo, emergência e aumento da razão sexual de *T. pretiosum*, quando ovos de *S. frugiperda* foram tratados com lufenurom (12,5; 15,0 e 17,0 g i.a./L), e Hohmann *et al.* (2010) testando a seletividade do extrato aquoso de semente de nim (1,5; 3,0 e 15,0%) e deltametrina (0,0075%) sobre o parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *A. kueniella* constataram redução no número de ovos parasitados e na porcentagem de emergência.

Resultados semelhantes também foram encontrados quando ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) parasitados *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram tratados por imersão em concentrações comerciais de methoxifenoazide e tebufenoazide (Suh *et al.* 2000). Por outro lado, Pratisoli *et al.* (2003) verificaram que o inseticida tebufenoazide (64, 72 e 84 g i.a. há⁻¹) não afetou o percentual de parasitismo, a viabilidade e a razão sexual de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*.

A adequação dos ovos de *S. frugiperda* para o desenvolvimento de *T. pretiosum* foi comprovada pela duração do período de ovo-adulto, semelhantes às médias observadas por Beserra

& Parra (2004) e Bueno *et al.* (2010) de 9,66 dias à temperatura de 25,0°C e 8,0 dias a 30,0°C, respectivamente. Assim como, a razão sexual que se encontra dentro do padrão para a espécie que é igual ou superior a 0,5 (Bueno *et al.* 2010).

Os inseticidas azadiractina, lufenurom e deltametrina também proporcionaram deformações (bastante observadas) afetando a qualidade do ovo de *S. frugiperda*. Através do contato com as antenas ou mesmo com o próprio ovipositor e caminhar durante a avaliação, os parasitóides do gênero *Trichogramma* podem aceitar ou rejeitar um hospedeiro em potencial antes ou durante o ataque; e, algumas características do hospedeiro podem impedir a oviposição ou inibir, subsequentemente, o desenvolvimento do parasitóide (Moreira *et al.* 2009).

Os inseticidas estudados são eficientes para o controle de *S. frugiperda*, mas afetaram negativamente o parasitóide *T. pretiosum*. Porém, azadiractina foi o que menos afetou a capacidade de parasitismo e as características biológicas de *T. pretiosum*, concordando com Hohmann *et al.* (2010), que afirmam que os efeitos do nim sobre os parâmetros biológicos de parasitóides variam de acordo com a espécie, formulação do produto, concentrações e tempo de aplicação.

Efeitos de inseticidas no desenvolvimento de inimigos naturais ocorrem em vários níveis. Por exemplo, podem exercer um impacto sobre a comunidade de insetos, uma vez que interagem com numerosas características da história de vida, envolvidas na reprodução de artrópodes benéficos. Inseticidas tendem a diminuir a abundância de parasitóides e seus hospedeiros, podendo levar ao desaparecimento de espécies escassas (Desneux *et al.* 2007).

Conclusões

Os inseticidas azadiractina, lufenurom e deltametrina, independentes da concentração testada, reduziram a viabilidade dos ovos de *S. frugiperda*. Além disso, esses inseticidas reduzem a quantidade de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, emergência e longevidade de *T.*

pretiosum. Porém, a duração do período ovo-adulto e a razão sexual dos parasitóides não são afetadas, em comparação à testemunha. Assim, azadiractina e lufenurom, mesmo em baixas concentrações, são prejudiciais ou não são seletivos ao parasitóide *T. pretiosum*.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudo; ao Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), localizado na cidade de Alegre, ES, em especial a Dirceu Pratissoli, Vando Rondelli e Débora Melo, pelo fornecimento dos parasitóides e ao Laboratório de Controle Biológico de Insetos do Departamento de Agronomia – UFRPE, pelo fornecimento dos hospedeiros *A. kuehniella*.

Literatura Citada

- Abdi, H. 2007.** The Bonferroni and Sidák corrections for multiple comparisons, p. 540-542. In S. Neil (ed.), Encyclopedia of measurement and statistics. 2a. ed. Thousand Oaks, Sage Publications, 1416p.
- Batista Neto, O.A., M.B. Silva, M.S. Garcia & A. Silva. 2011.** Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre ovos, lagartas e adultos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lep.: Tortricidae). Rev. Bras. Frutic. 33: 420-428.
- Beserra, E.B. & J.R.P. Parra. 2004.** Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 48: 119-126.
- Bueno, R.C.O.F., A.F. Bueno, J.R.P. Parra, S.S. Vieira & L.J. Oliveira. 2010.** Biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 54: 322-327.
- Cruz, I. 1995.** A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 45p. (Circular Técnica, no. 21).

- Cruz, I., M.L.C. Figueiredo, E.P. Gonçalves, D.A.N. Lima & E.E. Diniz. 1997.** Efeito de idade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) no desempenho do parasitóide, *Campoletis flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e consumo foliar por lagartas parasitadas e não parasitadas. An. Soc. Entomol. Brasil 26: 145-152.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.
- Ferrer, F. 2001.** Biological control of agricultural insect pest in Venezuela: advances, achievements, and future perspectives. Biocont. News Inf. 22: 67-74.
- Figueiredo, M.L.C., I. Cruz & T.M.C. Della Lucia. 1999.** Controle integrado de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbott) utilizando-se o parasitóide *Telenomus remus* Nixon. Pesqu. Agropecu. Bras. 34: 1975-1982.
- Figueiredo, M.L.C., A.M.P. Martins-Dias & I. Cruz. 2006.** Associação entre inimigos naturais e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. Rev. Bras. Milho Sorgo 5: 340-350.
- Gonçalves-Gervásio, R.C. & J.D. Vendramin. 2004.** Efeito de extratos de meliáceas sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 33: 607-612.
- Goulart, M.M.P., A.F. Bueno, R.C.O.F. Bueno & S.S. Vieira. 2011.** Interaction between *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* in the management of *Spodoptera* spp. Rev. Bras. Entomol. 55: 121-124.
- Hohmann, C.L., F.A.C. Silva & T.G. Novaes. 2010.** Selectivity of neem to *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 39: 985-990.
- Moreira, M.D., S.C.F. Maria, E.B. Beserra, J.B. Torres & R.P. Almeida. 2009.** Parasitismo e superparasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. 38: 237-242.
- Parra, J.R.P. 2006.** A prática do controle biológico de pragas no Brasil, p. 11-24. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi & D.T. Malerbo-Souza (eds.). Controle biológico de pragas na prática. Piracicaba, ESALQ/USP, 287p.
- Parra, J.R.P., R.A. Zucchi & S. Silveira Neto. 1987.** Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 82: 153-160.

- Pineda, S., A.M. Martínez, J.I. Figueroa, M.I. Schneider, P. Del Estal, E. Viñuela, B. Gómez, G. Smaghe & F. Budia. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 102: 1490-1496.
- Pratissoli, D., F.F. Pereira, H.N. Oliveira & R.T. Thuler. 2003.** Ação de tebufenozide em *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) e no parasitóide *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae). *Rev. Bras. Milho Sorgo* 2: 120-124.
- Pratissoli, D., A.M. Holtz, J.R. Gonçalves, R.C. Oliveira, U.R. Vianna. 2004a.** Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum*, criados em ovos de *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*. *Hortic. Bras.* 22: 562-565.
- Pratissoli, D., R.T. Thuler, F.F. Pereira, E.F. dos Reis & A.T. Ferreira. 2004b.** Ação transovariana de lufenurum (50 g/L) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Cienc. Agrotec.* 28: 9-14.
- Sáenz-de-Cabezón, J.F., Z.F.G. Pérez-Moreno & V. Marco. 2006.** Effects of lufenuron on *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval, and adult stages. *J. Econ. Entomol.* 99: 427-431.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Silva, F.A.C. & S.S. Martínez. 2004.** Effect of neem seed oil aqueous solution on survival and development of the predator *Cycloneda sanguine* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *Neotrop. Entomol.* 33: 371-375.
- Suh, C.P.C., D.B. Orr & J.W. van Duyn. 2000.** Effect of insecticides on *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) preimaginal development and adult survival. *J. Econ. Entomol.* 93: 577-583.

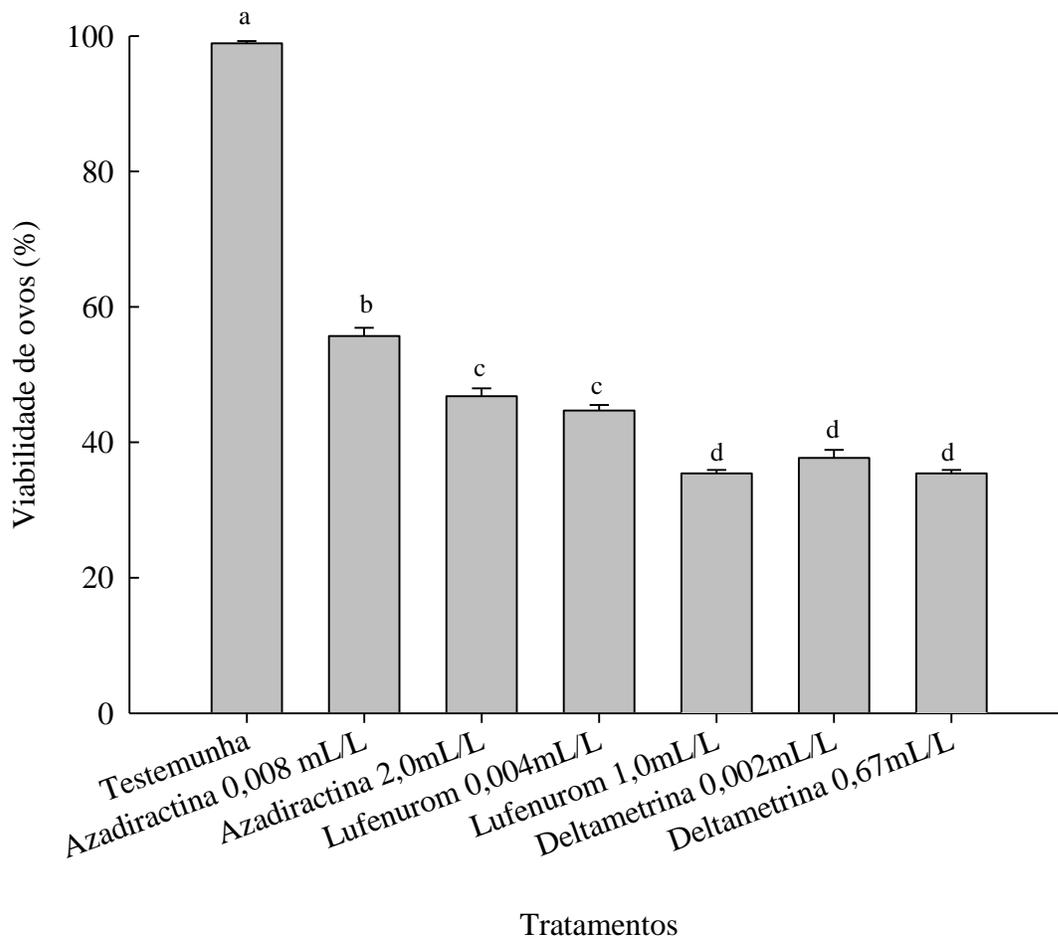


Figura 1. Viabilidade (média \pm EP) de ovos de *Spodoptera frugiperda*, oriundos dos tratamentos com azadiractina, lufenurom, deltametrina e testemunha. Temperatura $27,0 \pm 0,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 1,0\%$ e fotofase de 12 horas.

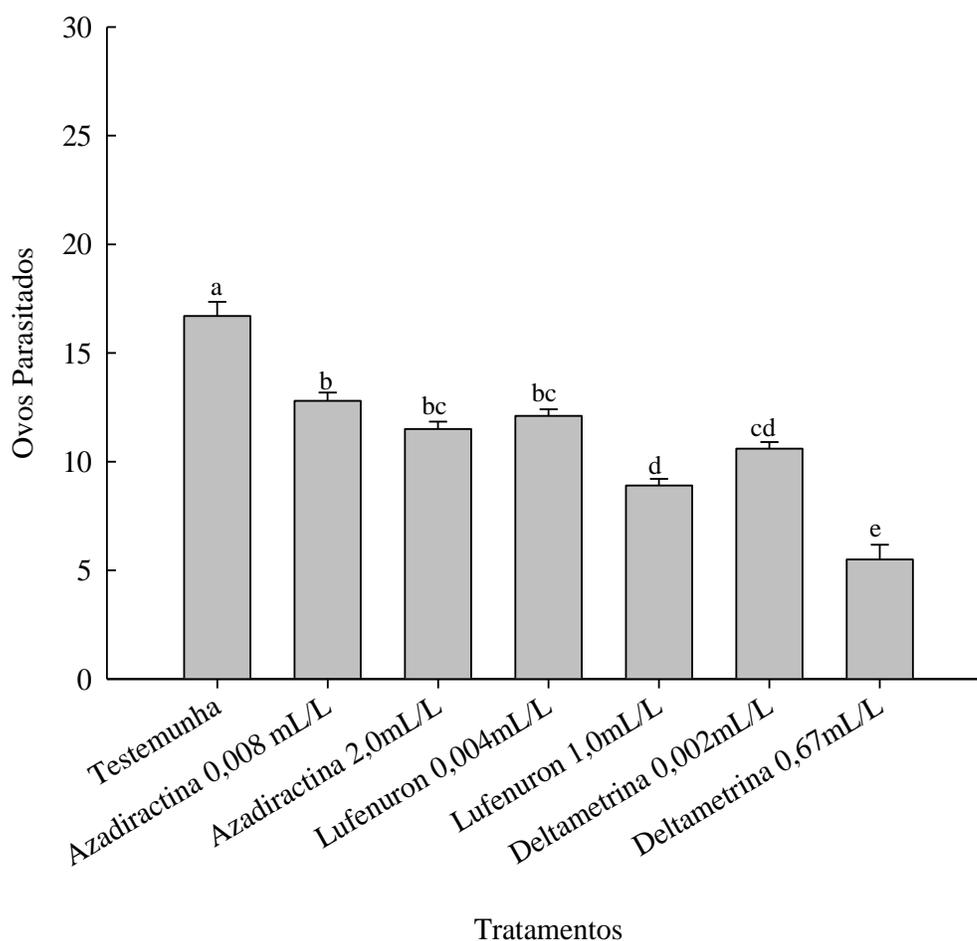


Figura 2. Quantidade de ovos (média \pm EP) de *Spodoptera frugiperda*, oriundos dos tratamentos com azadiractina, lufenuron, deltametrina e testemunha, parasitados por *Trichogramma pretiosum*, por um período de 24h. Temperatura $27,0 \pm 0,4$ °C, umidade relativa de $67 \pm 1,0\%$ e fotofase de 12 horas.

Tabela 1. Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, tratados com diferentes concentrações de azadiractina, lufenurom, deltametrina e testemunha. Temperatura 27,0±0,4 °C, umidade relativa de 67±1,0% e fotofase de 12 horas.

Tratamento	Parasitismo (%) ¹	Emergência (%) ¹	Razão Sexual ¹	Duração período ovo-adulto (dias) ¹	Longevidade (dias) ¹
Testemunha	55,6 ± 2,16 a	85,2 ± 1,36 a	0,9 ± 0,03 a	8,2 ± 0,29 ab	7,1 ± 0,23 a
Inseticida botânico azadiractina					
(AzaMax [®] 0,008mL/L)	42,6 ± 1,29 b	54,8 ± 0,90 b	0,8 ± 0,04 a	8,4 ± 0,30 ab	6,1 ± 0,23 ab
(AzaMax [®] 2,0mL/L)	38,3 ± 1,13 b	45,0 ± 0,91 c	0,8 ± 0,05 a	9,5 ± 0,40 ab	4,2 ± 0,32 cd
Regulador de crescimento lufenurom					
(Match [®] 0,004mL/L)	40,3 ± 1,05 b	41,9 ± 0,52 c	0,8 ± 0,05 a	8,0 ± 0,33 ab	5,0 ± 0,33 bc
(Match [®] 1,0 mL/L)	29,6 ± 1,04 c	32,1 ± 0,52 de	0,8 ± 0,03 a	7,5 ± 0,34 b	3,5 ± 0,34 d
Inseticida piretróide deltametrina					
(Decis [®] 0,002mL/L)	35,3 ± 1,02 cb	34,6 ± 0,84 d	0,8 ± 0,03 a	8,3 ± 0,36 ab	2,8 ± 0,24 d
(Decis [®] 0,67 mL/L)	18,3 ± 2,28 d	29,6 ± 0,84 e	0,9 ± 0,02 a	10,1 ± 0,79 a	1,2 ± 0,13 e
F ¹²	57,66 ^{<0,0001}	470,96 ^{<0,0001}	1,45 ^{0,2102}	4,30 ^{0,0011}	53,67 ^{<0,0001}

¹Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

CAPÍTULO 4

ANÁLISE MICROSCÓPICA DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ANTES E APÓS TRATAMENTO COM AZADIRACTINA, LUFENUROM E DELTAMETRINA

ALICELY A. CORREIA¹, VALÉRIA WANDERLEY-TEIXEIRA², ÁLVARO A. C. TEIXEIRA², JOSÉ V. OLIVEIRA¹, GABRIEL G. A. GONÇALVES³, MARÍLIA G. S. CAVALCANTI³, FÁBIO A. BRAYNER³ E LUIZ C. ALVES^{3,4}

¹Departamento de Agronomia – Entomologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

²Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – Histologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Biologia Celular e Ultraestrutura, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (FIOCRUZ) e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Av. Moraes Rego s/n, Campus da Universidade Federal de Pernambuco, 50670-420, Recife, PE, Brasil.

⁴Universidade de Pernambuco, Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, 50100-010, Recife, PE, Brasil

¹Correia, A.A., V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira, G.G.A. Gonçalves, M.G.S. Cavalcanti, F.A. Brayner & L.C. Alves. Análise microscópica do desenvolvimento embrionário de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) antes e após tratamento com azadiractina, lufenurom e deltametrina. A ser submetido.

RESUMO – Os inseticidas botânicos, reguladores de crescimento e piretróides apresentam efeito sobre a biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). No entanto, nenhum enfoque tem sido dado ao efeito desses inseticidas sobre o desenvolvimento embrionário dos insetos, á nível histológico. Assim, a presente pesquisa teve como objetivos examinar, através da microscopia de luz e eletrônica de varredura, os ovos de *S. frugiperda* e descrever o desenvolvimento embrionário, antes e após tratamento por imersão, utilizando-se concentrações comerciais e inferiores a estas, dos compostos lufenurom (Match[®]), azadiractina (AzaMax[®]) e deltametrina (Decis[®]- testemunha positiva). Para microscopia de luz foram usados cortes semifinos dos ovos, e para eletrônica de varredura, imagens da superfície dos ovos, tratados e não-tratados com os inseticidas. As características morfológicas dos ovos de *S. frugiperda*, de modo geral, foram semelhantes às descritas na literatura para a maioria dos insetos da Ordem Lepidoptera. Ovos apresentaram-se esféricos, ligeiramente achatados nos pólos, com córion, vitelo, membrana vitelínica e formação do embrião. Em ambas as análises de microscopia se observaram que os inseticidas atuaram de forma imediata e independente da concentração. Assim, concluímos que os compostos azadiractina e lufenurom interferem no desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda*.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, ovo, inseticidas, embriologia, morfologia

MICROSCOPIC ANALYSIS OF *Spodoptera frugiperda* (JE SMITH) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) EMBRYONIC DEVELOPMENT BEFORE AND AFTER TREATMENT WITH
AZADIRACHTIN, LUFENURON AND DELTAMETHRIN

ABSTRACT – The botanical insecticides, growth regulators and pyrethroids have an effect on the biology of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). However, no emphasis has been given to the effect of these insecticides on embryonic development of insects, to histological level. Thus, this research aimed to examined by light and scanning electron microscopy *S. frugiperda* eggs and to describe the embryonic development, before and after immersion treatment, using commercial concentrations and lower concentrations than commercial ones, of compounds lufenuron (Match[®]), azadirachtin (AzaMax[®]) and deltamethrin (Decis[®]-positive control). For light microscopy were used semi-thin cuts of eggs, and for scanning electron microscopy, images of the surface of eggs, treated and not treated with insecticides. The morphological characteristics of *S. frugiperda* eggs, in general, were similar to those described in the literature for most of the insects of the Order Lepidoptera. Eggs spherical, slightly flattened at the poles, with chorion, yolk, vitelline membrane and formation of the embryo. In both microscopic analysis was observed that insecticides acted immediately and independent of concentration. Thus, we conclude that the compounds lufenuron and azadirachtin interfere on the embryonic development of *S. frugiperda*.

KEY WORDS: Fall armyworm, egg, insecticides, embryology, morphology

Introdução

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), também conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma espécie polífaga, alimentando-se de plantas nativas e cultivadas, tendo o milho como hospedeiro preferencial (Santos *et al.* 2004). Seus ovos são colocados em camadas sobrepostas, na parte superior das folhas, nas porções inferior e mediana da planta (Beserra *et al.* 2002). Eles apresentam formato esférico (454,9µm de comprimento e 390,2µm de largura), com um volume de cerca de 0,036 mm³, e micrópila rodeada por nove células primárias de forma irregular (Cônsoi *et al.* 1999). Os ovos dessa espécie podem apresentar diversas cores que vão do cinza-azulado a esverdeado nos ovos recém-colocados ao castanho-avermelhado a cor verde no final do desenvolvimento embrionário (Cônsoi *et al.* 1999).

Devido seu status de praga no Brasil, o controle de *S. frugiperda* é essencial para o bom desenvolvimento da cultura do milho, pois de acordo com Santos *et al.* (2004) foram observados nos genótipos de milho ELISA, BR 400 e BR PAMPA um número médio de 1.372,56; 1.141,44; 1.106,82 ovos/fêmea, respectivamente. Esses ovos apresentaram um período de incubação de 2-3 dias a temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12 horas.

Dentre os métodos alternativos de controle para essa espécie, utiliza-se plantas com propriedades inseticidas, como o nim (*Azadirachta indica* A. Juss), inseticidas reguladores de crescimento, plantas geneticamente modificadas resistentes e o controle biológico (Fernandes *et al.* 2003, Pratisoli *et al.* 2004, Dequech *et al.* 2007, Correia *et al.* 2009). Azadiractina, composto ativo do nim, pode agir como um anti-ecdisteróide ao boquear os sítios de ligação para ecdisteróides nos receptores protéicos, provocando nos insetos inibição de crescimento, má-formação corporal, diminuição na reprodução e mortalidade (Mordue (Luntz) & Blackwell 1993, Correia *et al.* 2009). Os inseticidas reguladores de crescimento atuam em ovos por contato,

inibindo a eclosão das larvas. Além disso, apresentam efeito sobre a embriogênese e no adulto, efeito esterilizante afetando a reprodução (De Bortoli *et al.* 2006).

A morfologia da superfície dos ovos e o desenvolvimento embrionário de lepidópteros têm sido estudados por meio da microscopia eletrônica de transmissão e varredura em *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae) (Lamer & Dorn 2001), *Bicyclus anynana* (Butler) (Lepidoptera: Nymphalidae) (Masci & Monteiro 2005), *Samia ricini* (Donovan) (Lepidoptera: Saturniidae) (Kumar *et al.* 2007), *Utetheisa ornatrix* (L.) (Lepidoptera: Arctiidae) (Wolf *et al.* 2000) e *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Skudlik *et al.* 2005). Com relação a *S. frugiperda* diversos trabalhos já foram publicados considerando seus aspectos biológicos (Giolo *et al.* 2002, Santos *et al.* 2004, Busato *et al.* 2004, Lopes *et al.* 2008, Barros *et al.* 2010), todavia, nenhum enfoque tem sido dado ao estudo ultraestrutural do desenvolvimento embrionário dessa espécie, principalmente após tratamento com inseticidas botânicos e reguladores de crescimento, em baixas concentrações.

Desta forma, considerando a importância desta espécie, a presente pesquisa objetivou examinar histologicamente, através da microscopia de luz e eletrônica de varredura, os ovos de *S. frugiperda* e descrever o desenvolvimento embrionário antes e após tratamento com diferentes concentrações dos compostos lufenurom, azadiractina e deltametrina.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco (LIKA-UFPE), bem como no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – CPqAM – FIOCRUZ – Recife, PE.

Obtenção dos Insetos. Ovos de *S. frugiperda* foram obtidos da criação estoque do Laboratório de Entomologia Agrícola, mantida à temperatura de $27,7 \pm 0,69^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $67 \pm 1,02\%$ e fotofase de 12h. As lagartas individualizadas em tubos de vidro (2,5 x 8,5 cm) foram alimentadas com pedaços de folhas de milho híbrido duplo AG 1051, cultivado em casa-de-vegetação. Os adultos foram colocados em gaiolas de tubos de PVC de 20 cm de altura x 15 cm de diâmetro, forradas internamente com papel sulfite branco para efetuarem a postura. As gaiolas foram vedadas na parte superior com filme de PVC transparente e na parte inferior com uma tampa plástica. No fundo de cada gaiola colocou-se um pequeno recipiente contendo um chumaço de algodão embebido em solução de mel a 10%, para alimentação dos adultos.

Bioensaios. Posturas de *S. frugiperda* de 0-12 h de idade foram imersas, aproximadamente por 10 segundos, em emulsões dos inseticidas na concentração comercial e numa menor concentração que representou 0,78% da comercial, obtida a partir de experimentos prévios. Os bioensaios constaram dos seguintes tratamentos: inseticida botânico azadiractina (AzaMax[®] 2,0 mL/L e 0,015 mL/L), regulador de crescimento lufenurom (Match[®] 1,0 mL/L e 0,008 mL/L), inseticida piretróide deltametrina (Decis[®] 0,67 mL/L e 0,005 mL/L – testemunha positiva) e em água destilada (testemunha negativa).

Análise em Microscopia de Luz. Nos intervalos de tempo 0, 24, 48 e 72 h após tratamentos, as posturas foram pré-fixadas em solução de glutaraldeído a 0,5%, PFA 4% e tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 por 1h à temperatura ambiente e, posteriormente, transferidas para solução fixadora de glutaraldeído a 2,5%, PFA 4% e tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 por 24h e depois colocadas à temperatura de 2-8°C por 24 h. Em seguida, foram lavadas três vezes em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 e pós-fixadas em tetróxido de ósmio (OsO_4) a 2%, por 1h, na ausência de luz. Após esses procedimentos, realizou-se mais três lavagens em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 e duas lavagens

em água destilada por 10 min cada, à temperatura ambiente. As amostras foram contrastadas em bloco com acetato de uranila (*overnight*). Posteriormente, os ovos foram minuciosamente separados da postura e submetidos à desidratação em séries crescentes de acetona (10, 30, 50, 70, 90 e 2x de 100%) por 15 min cada. A infiltração foi realizada em resina EPON-EMBED812/Araldite (Electron Microscopy Sciences, Fort Washington, PA) e acetona. O material foi embocado em moldes flexíveis e posto para polimerizar a 70°C por 72 h. Os cortes semifinos foram obtidos em ultramicrotomo (Reichert Ultracut), corados com azul de toluidina e analisados em microscópio de luz.

Análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Nos mesmos intervalos de tempo já citados, posturas tratadas com azadiractina, lufenurum e deltametrina foram pré-fixadas em solução de glutaraldeído a 0,5%, PFA 4% e tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 por 1h à temperatura ambiente, e posteriormente transferidas para solução fixadora de glutaraldeído a 2,5%, PFA 4% e tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 por 24h. Depois, foram colocadas à temperatura de 2-8°C por 24h. Em sequência, as amostras foram lavadas três vezes em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2. A pós-fixação foi realizada em tetróxido de ósmio (OsO_4) a 2% por 1h na ausência de luz. Em seguida, fez-se a lavagem e a desidratação em séries crescentes de etanol por 15 min cada. As amostras foram submetidas à secagem pelo método do ponto crítico, usando CO_2 líquido, metalizadas com ouro durante 1 min e levadas para análise em microscópio JEOL-5600LV.

Resultados

Cortes semifinos revelaram que os ovos de *S. frugiperda*, no intervalo de 0 h, apresentaram-se delimitados por uma casca formada pelo córion, que é espesso e, em determinados pontos apresenta elevações, caracterizadas como pontes. Observou-se, também, abaixo do córion a

blastoderme, camada de células que dará origem ao futuro embrião. O vitelo se distribuiu homogeneamente por todo o citoplasma, apresentando dois tipos de grânulos: as proteínas e os lipídios. Estes grânulos se concentravam, formando esférulas, denominadas vitelófagos (Fig. 1A).

Após 24 h de oviposição, observou-se o desenvolvimento do embrião que se alongou e se diferenciou, ocupando todo o volume do ovo e mostrando cápsula cefálica e cutícula, com uma segmentação bem definida. Notou-se, também, a completa formação dos apêndices e o desenvolvimento de órgãos, como as pernas e o intestino médio. Uma pequena quantidade de vitelo foi visualizada ainda dentro do intestino médio e também no interior do ovo. Verificou-se, também, invaginação da membrana vitelínica em determinada região, circundando todo o embrião (Fig. 1B). Num corte transversal, após 48h de oviposição, observou-se o epitélio do intestino médio e o corpo gorduroso. Os grânulos de vitelo ainda estavam presentes nas bordas do ovo e dentro do intestino médio, uma vez que são utilizados como alimento pelo embrião (Fig. 1C). Após 72h de oviposição, a larva encontrava-se totalmente desenvolvida e bastante comprimida ocupando todo o volume do ovo, pronta para a eclosão. Nessa fase foi possível observar a cápsula cefálica com apêndices visuais e antenais característicos, além de uma completa formação dos apêndices e sistemas (Fig. 1D).

Comparados com os ovos não tratados (Figs. 2A-B), no intervalo de tempo de 24h, os ovos do tratamento com azadiractina na concentração 0,015 mL/L, não originaram o embrião e apresentaram grânulos de vitelo muito dispersos, sem formação dos vitelófagos (Fig. 2C). Na concentração 2,0 mL/L, evidenciou-se apenas lipídios e vitelófagos distribuídos de forma heterogênea dentro do ovo, mas sem formação do embrião. Notou-se também a desintegração do córion que, em algumas regiões não apresentava elevações (pontes), estando totalmente desestruturado (Fig. 2D).

Após 24 h de tratamento com lufenurom na concentração 0,008 mL/L, os ovos apresentaram desorganização da blastoderme, com a presença de vacúolo e região de vitelo com células amorfas; além de vitelófagos dissociados, liberando grânulos de vitelo entre as células embrionárias necróticas (Fig. 2E). Na concentração 1,0 mL/L, observou-se a presença de lipídios, circundando o ovo e no centro várias células e músculos, que provavelmente originariam o futuro embrião. Foi possível, também, observar grânulos de vitelo próximos à borda do ovo (Fig. 2F).

Os ovos tratados com deltametrina na concentração 0,005 mL/L, após 24 h, apresentaram grânulos de vitelo muito dispersos, sem formação dos vitelófagos e do embrião, e todo o conteúdo interno do ovo desprendido do córion (Fig. 2G). Na concentração 0,67 mL/L, os ovos mostraram uma grande quantidade de lipídios distribuídos no centro, formando aglomerados, sendo circundados por células, além da formação de alguns apêndices totalmente descaracterizados. Todo o material interno do ovo apresentou-se afastado do córion, que também estava alterado, com áreas sem pontes e outras com pontes muito próximas, e até sobrepostas (Fig. 2H).

No intervalo de 72h, comparando com os ovos não tratados (Fig. 3A-B), observa-se que os ovos tratados com azadiractina (0,015 mL/L) não apresentavam ou apresentavam embrião com desenvolvimento incompleto; formação do intestino médio, porém com camada celular desestruturada; células rompidas; vacúolo; uma pequena quantidade de lipídios; órgãos e apêndices deformados e vitelo distribuído nas bordas (Fig. 3C). Na concentração comercial de azadiractina (2,0 mL/L), os ovos apresentavam lipídios, músculos e células deformadas distribuídos de forma heterogênea, sem formação e desenvolvimento do embrião, além da desintegração do córion e afastamento de toda estrutura interna (Fig. 3D).

Os ovos tratados com lufenurom (0,008 mL/L e 1,0 mL/L) apresentavam uma grande quantidade de vitelo com células alteradas e enormes vacúolos distribuídos dentro dos mesmos (Figs. 3E-F). Deltametrina na concentração 0,005 mL/L proporcionou nos ovos, após 72 h de

tratamento, alteração nos grânulos de vitelo que se apresentaram muito dispersos, com células sem núcleo e conseqüentemente, sem a formação do embrião. Além disso, todo o material interno do ovo estava afastado e solto do córion, que se apresentava bastante fino e rompido (Fig. 3G). Na concentração 0,67 mL/L, houve formação de células, porém de forma totalmente alterada, deformadas, e conseqüentemente, com órgãos e apêndices descaracterizados (Fig. 3H).

Com relação á análise em Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV, observou-se que os ovos da testemunha e tratados com os inseticidas apresentavam-se com características semelhantes, nos intervalos de tempo avaliados, razão pela qual, serão apresentadas as análises com 72 h. As posturas do tratamento testemunha apresentaram ovos bem definidos e cobertos por uma densa camada de escamas (Fig. 4A). Os ovos apresentavam formato esférico, ligeiramente achatado nos polos e superfície esculpura, formando sulcos e pontes interligadas (Fig. 4B). Contudo, 72 h após tratamento com o azadiractina, lufenurom e deltametrina, em todas as concentrações estudadas, os ovos apresentavam-se deformados, “murchos”, com as paredes colabadas e desidratados, sendo possível observar a não formação e/ou formação incompleta do embrião, corroborando com os resultados observados em microscopia de luz. Além disso, os ovos mostravam uma superfície totalmente alterada, com regiões sem esculturas e córion rompido (Figs. 4C-H).

Discussão

Os resultados mostraram que os compostos azadiractina, lufenurom e deltametrina, nas concentrações estudadas, afetaram o desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda*, em comparação com a testemunha negativa, cujos ovos apresentavam completo desenvolvimento embrionário, sendo possível a visualização do embrião já a partir de 24h após a oviposição. Jarjees & Merritt (2004), estudando a estrutura interna e o desenvolvimento embrionário de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), após 4, 12, 24, 36 e 48 h de oviposição a 29 ± 1 °C,

observaram grânulos de vitelo distribuídos homogeneamente dentro do ovo e a formação do embrião, a partir de 24 h de oviposição, similar ao observado nos ovos de *S. frugiperda* do nosso tratamento testemunha no mesmo tempo de estudo.

As estruturas, que formam o ovo, identificadas neste estudo estão de acordo com as descrições da literatura (Chapman 1998, Cònsoli *et al.* 1999, Jarjees & Merritt 2004, Hakim *et al.* 2010). O córion é uma estrutura complexa produzida totalmente pelas células foliculares (Chapman 1998). Apresenta duas camadas: o exocóron, coberta por uma camada mucosa, descontínua e o endocóron, camada mais interna, extremamente fina e que contém carboidratos (Cònsoli *et al.* 1999). A blastoderme consiste de uma camada de células formada no período de ativação da célula-ovo do inseto e geralmente dá origem a todas as células do corpo larval; e a parte central do ovo, repleta de vitelo, fornece a nutrição para o embrião em desenvolvimento, sendo usada até o momento da eclosão da larva (Takesue *et al.* 1980, Tojo & Machida 1998). Por outro lado, a membrana vitelínica presente internamente no ovo, circundando todo o embrião, é consequência da substituição de uma membrana muito grossa por uma fina camada homogênea durante o desenvolvimento embrionário (Cònsoli *et al.* 1999).

Em nossos resultados, também se observou a presença de vitelo, grânulos e vitelófagos em ovos de *S. frugiperda* tratados com inseticidas e não-tratados. Fato também observado por Jarjees & Merritt (2004) que evidenciaram que o vitelo dos ovos de *H. armigera* apresenta dois tipos de grânulos, as proteínas e os lipídios, e se concentram formando esférulas, chamadas vitelófagos. Os vitelófagos apresentam uma grande variedade de funções, sendo responsáveis pela repartição do vitelo, envolvendo-o em vacúolos. Quando o vitelo encontra-se no interior do intestino médio do embrião, os vitelófagos podem formar parte do epitélio, e também estão envolvidos na formação do citoplasma (Chapman 1998).

Neste estudo observou-se que os ovos a partir de 24 h de idade apresentavam o embrião quase todo completo, com os órgãos e apêndices característicos para o funcionamento dos sistemas, destacando-se o intestino médio e o corpo gorduroso. O corpo gorduroso nos insetos representa o principal órgão de metabolismo intermediário, formado principalmente por células chamadas trofócitos ou adipócitos, sendo responsável pela síntese da maioria das proteínas da hemolinfa e pelo armazenamento de proteínas, lipídios e carboidratos (Chapman 1998). O intestino médio ou mesêntero é o segundo maior órgão do corpo do inseto, formado, principalmente, por células colunares, calciformes e regenerativas, e tendo a função primordial de absorção de nutrientes (Hakim *et al.* 2010).

Em nossos resultados, observamos que os inseticidas lufenurum, azadiractina e deltametrina afetaram a formação e desenvolvimento do embrião, tornando o ovo inviável, em todas as concentrações estudadas. Dados coincidentes com os resultados de Ávila & Nakano (1999) que verificaram que lufenurum afetou os ovos de *Diabrotica speciosa* (Germar), reduzindo a eclosão das larvas, apesar de ter sido observado o desenvolvimento embrionário e De Bortoli *et al.* (2006) que estudaram o efeito de lufenurum (Match[®] CE a 0,5; 0,6 e 0,7 mL/L) e nim (0,1; 0,5 e 1,0%) sobre ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), observando que não houve influência sobre a ovulogênese, porém lufenurum apresentou ação transovariana. Dessa forma, houve a permanência dos ovos com embrião formado, porém inviáveis.

Azadiractina promove alterações morfológicas e conseqüentemente afeta a eficiência de absorção de nutrientes (Medina *et al.* 2004, Pineda *et al.* 2009). Fato este que contribui para análise dos nossos resultados, onde não houve formação do embrião. Este composto é um limonóide, presente nas folhas, frutos e sementes de nim, cuja atividade sobre alguns insetos é comparável à dos melhores inseticidas sintéticos encontrados no mercado (Schmutterer 1990, Roel 2001). Exerce vários efeitos sobre os insetos, como inibição alimentar, inibição da síntese do

ecdisona, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e adultos, redução da fecundidade e longevidade de adultos, alterações na capacidade de atração de feromônios, esterilização, inibição de oviposição, redução da transmissão de vírus, mortalidade e repelência (Mordue (Luntz) & Blackwell 1993, Roel 2001). Os inseticidas estudados (deltametrina, lufenurom e azadiractina) apresentaram efeito sobre os ovos, caracterizado pela interrupção do desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda*, que foi confirmado através de análise histológica dos ovos, após tratamento, mesmo com baixas concentrações.

A forma esférica e a superfície escultural dos ovos, além da presença de escamas cobrindo as posturas de *S. frugiperda*, observadas nesse estudo a partir das análises em MEV, são características peculiares para a espécie, e concordam com os estudos de Cònsoli *et al.* (1999). Esses autores afirmaram que os ovos têm o formato esférico e volume de cerca de 0,036 mm³, mostrando micrópilas circundadas por nove células primárias de forma irregular. O córion é bem escultural e as escamas presentes estão envolvidas na proteção dos ovos, servindo como uma barreira física. Ainda, segundo os autores, algumas características morfológicas podem refletir uma adaptação da espécie ao seu habitat.

Comparando as análises, através de microscopia de luz e eletrônica de varredura, é possível observar que a ação dos inseticidas se confirma e se completa. A microscopia de luz identificou alterações externas e internas através da análise das imagens de cortes semifinos dos ovos de *S. frugiperda* tratados com azadiractina, lufenurom e deltametrina, e a microscopia eletrônica de varredura confirmou as alterações externas, através da coleta e análise de imagens da superfície dos ovos, após o tratamento com os inseticidas, em comparação ao tratamento testemunha negativa. Em ambas análises, os efeitos da ação dos inseticidas ocorreram de forma imediata e independente, ou seja, já a partir das menores concentrações.

Sabe-se que os ovos de *S. frugiperda* são depositados em camadas, contudo, mesmo aqueles contidos na última camada (próximo ao substrato) foram afetados pelos inseticidas, nas concentrações estudadas. Apesar de alguns ovos apresentarem formação celular, não foram viáveis, e conseqüentemente, não possibilitaram o desenvolvimento das larvas. Este estudo tem importância pois mostrou o desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda* e comprovou o efeito dos inseticidas sobre os ovos, através de análises histológicas.

Conclusões

Em geral, as características morfológicas e ultraestruturais dos ovos de *S. frugiperda* são similares às descritas na literatura. Em ambas as análises, microscopia de luz e eletrônica de varredura, observaram-se que os inseticidas estudados atuaram de forma imediata e independente da concentração, proporcionando alterações no desenvolvimento embrionário de *S. frugiperda*.

Agradecimentos

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo e ao Departamento de Biologia Celular e Ultraestrutura, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (FIOCRUZ) e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) da Universidade Federal de Pernambuco,.

Literatura Citada

- Ávila, C.J. & O. Nakano. 1999.** Efeito do regulador de crescimento lufenuron na reprodução de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). An. Soc. Entomol. Brasil 28: 293-299.
- Barros, E.M., J.B. Torres, J.R. Ruberson & M.D. Oliveira. 2010.** Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. Entomol. Exp. Appl. 137: 237-245.

- Beserra, E.B., C.T.S. Dias & J.R.P. Parra. 2002.** Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. Fl. Entomol. 85: 588-593.
- Busato, G.R., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia, F.P. Giolo & S.D. Nörnberg. 2004.** Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. Cienc. Agrotecnol. 28: 1278-1283.
- Chapman, R.F. 1998.** The insects: structure and function. 4a. ed., Cambridge, Cambridge University Press, 770p.
- Cônsoli, F.L., E.W. Kitajima & J.R.P. Parra. 1999.** Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 28: 211-229.
- Correia, A.A., V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira & J.B. Torres. 2009.** Morphology of the alimentary canal of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) larvae (Lepidoptera: Noctuidae) fed on neem-treated leaves. Neotrop. Entomol. 38: 83-91.
- De Bortoli, S.A., R.T. Thuler & B.S. Lopes. 2006.** Efeito de lufenuron e azadiractina sobre adultos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Científica 34: 53-58.
- Dequech, S.T.B., L.M. Fiuza, R.F.P. Silva & R.C. Zumba. 2007.** Histopatologia de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae) infectadas por *Bacillus thuringiensis aizawai* e com ovos de *Campoletis flavicincta* (Hym., Ichneumonidae). Cienc. Rural 37: 273-276.
- Fernandes, O.D., J.R.P. Parra, A.F. Neto, R. Pícoli, A.F. Borgatto & C.G.B. Demétrio. 2003.** Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Bras. Milho Sorgo 2: 25-35.
- Giolo, F.P., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia & G.R. Busato. 2002.** Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. Rev. Bras. Agrocienç. 8: 219-224.
- Hakim, R.S., K. Baldwin & G. Smagghe. 2010.** Regulation of midgut growth, development, and metamorphosis. Annu. Rev. Entomol. 55: 593-608.
- Jarjees, E.A. & D.J. Merritt. 2004.** The effect of parasitization by *Trichogramma australicum* on *Helicoverpa armigera* host eggs and embryos. J. Invertebr. Pathol. 85: 1-8.
- Kumar, V., B.K. Kariappa, A.M. Badu & S.B. Dandin. 2007.** Surface ultrastructure of the egg chorion of eri silkworm, *Samia ricini* (Donovan) (Lepidoptera: Saturniidae). J. Entomol. 4: 68-81.
- Lamer, A. & A. Dorn. 2001.** The serosa of *Manduca sexta* (Insecta, Lepidoptera): ontogeny, secretory activity, structural changes, and functional considerations. Tissue & Cell 33: 580-595.

- Lopes, G.S., R.N.S. Lemos, K.K.G. Machado, A.A.S. Maciel & A.L.R. Ottati. 2008.** Biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). *Caatinga* 21: 134-140.
- Masci, J. & A. Monteiro. 2005.** Visualization of early embryos of the butterfly *Bicyclus anynana*. *Zygote* 13: 139-144.
- Medina, P., F. Budia, P. Del Estal & E. Viñuela. 2004.** Influence of azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. *J. Econ. Entomol.* 97: 43-50.
- Mordue (Luntz), A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* 39: 903-924.
- Pineda, S., A.M. Martínez, J.I. Figueroa, M.I. Schneider, P. Del Estal, E. Viñuela, B. Gómez, G. Smagghe & F. Budia. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 102: 1490-1496.
- Pratissoli, D., R.T. Thuler, F.F. Pereira, E.F. Reis & A.T. Ferreira. 2004.** Ação transovariana de lufenurom (50 g/L) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Cienc. Agrotec.* 28: 9-14.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Int. Desenv. Local* 1: 43-50.
- Santos, L.M., L.R. Redaelli, L.M.G. Diefenbach & C.F.S. Efrom. 2004.** Fertilidade e longevidade de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. *Ciênc. Rural* 34: 345-350.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- Skudlik, J., I. Poprawa & M.M. Rost. 2005.** The egg capsule of *Spodoptera exigua* Hübner, 1808 (Insecta, Lepidoptera, Noctuidae): morphology and ultrastructure. *Zoolog. Polon.* 50: 25-31.
- Takesue, S., H. Keino & K. Onitake. 1980.** Blastoderm formation in the silkworm egg (*Bombyx mori* L.). *J. Embryol. Exp. Morphol.* 69: 117-125.
- Tojo, K. & R. Machida. 1998.** Early embryonic development of the mayfly *Ephemera japonica* McLachlan (Insecta: Ephemeroptera, Ephemeridae). *J. Morphol.* 238: 327-335.
- Wolf, K.W., C. Murphy, W. Reid & E. Garraway. 2000.** Fine structure of the eggshell in *Utetheisa ornatrix* (Lepidoptera: Arctiidae). *Invert. Reprod. Develop.* 38: 85-94.

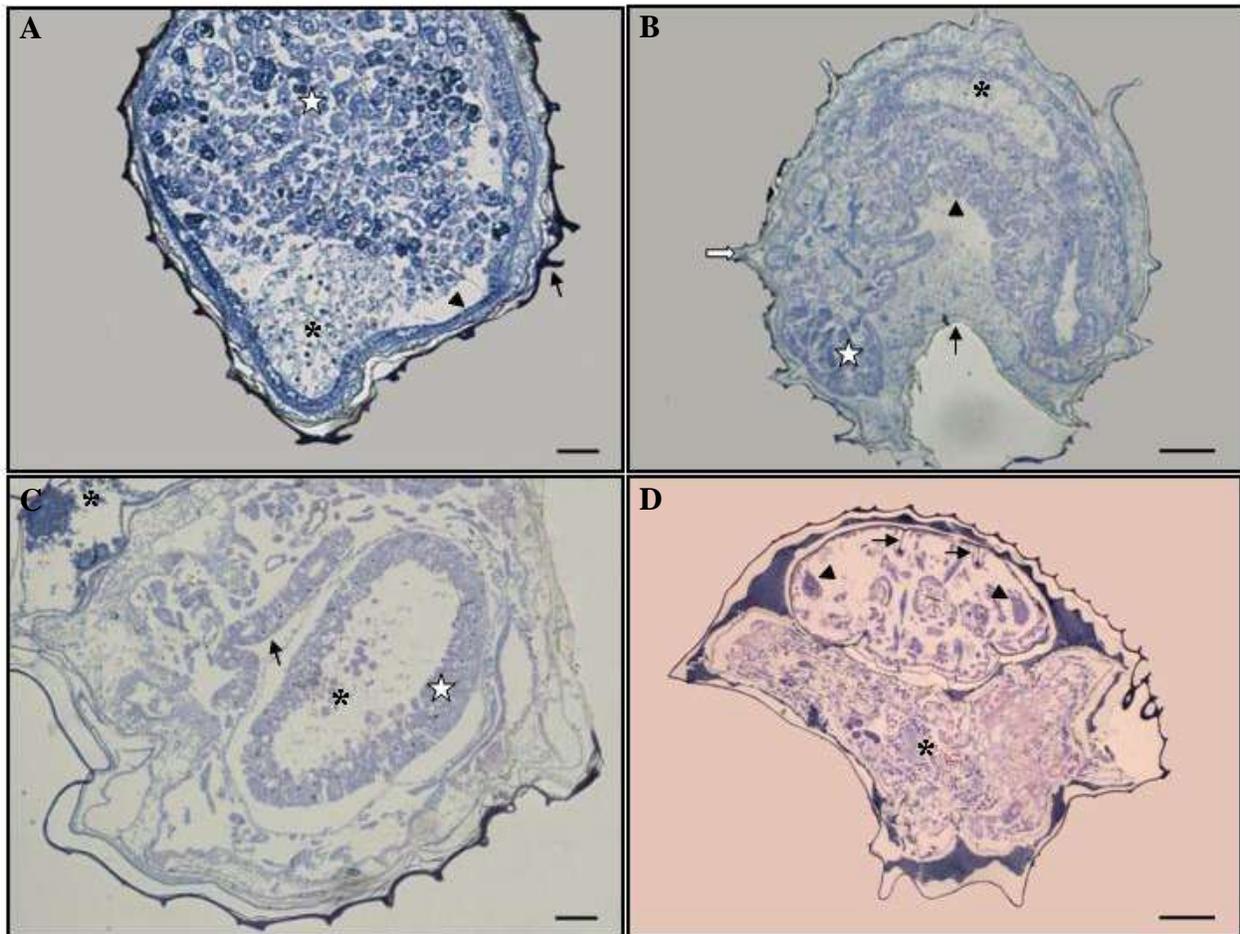


Figura 1. Ovos de *Spodoptera frugiperda* nos intervalos de tempo de 0, 24, 48 e 72 horas. (A) Ovo recém colocado mostrando vitelo distribuído homogeneamente e composto por vitelófagos (estrela) e lipídios (asterisco), observar também córion com pontes (seta) e blastoderme (cabeça de seta). (B) Embrião desenvolvido, após 24 h de oviposição, ocupando todo o ovo, mostrando pernas (cabeça de seta), intestino médio com vitelo no seu interior (asterisco) e cápsula cefálica (estrela), observar ainda cutícula do embrião com segmentação bem definida (seta aberta) e membrana vitelínica (seta) apresentando uma invaginação e circundando todo o embrião. (C) Corte transversal do ovo contendo o embrião, após 48 h de oviposição, mostrando epitélio do intestino médio (estrela) e grânulos de vitelo (asterisco) dentro do intestino médio e nas bordas do ovo e periferia do intestino médio, observar também corpo gorduroso (seta). (D) Larva totalmente desenvolvida e comprimida dentro do ovo após 72 h de oviposição, observar corpo (asterisco) e cápsula cefálica com apêndices visuais (cabeça de seta) e antenais (seta) característicos. Barra: 50 μ m.

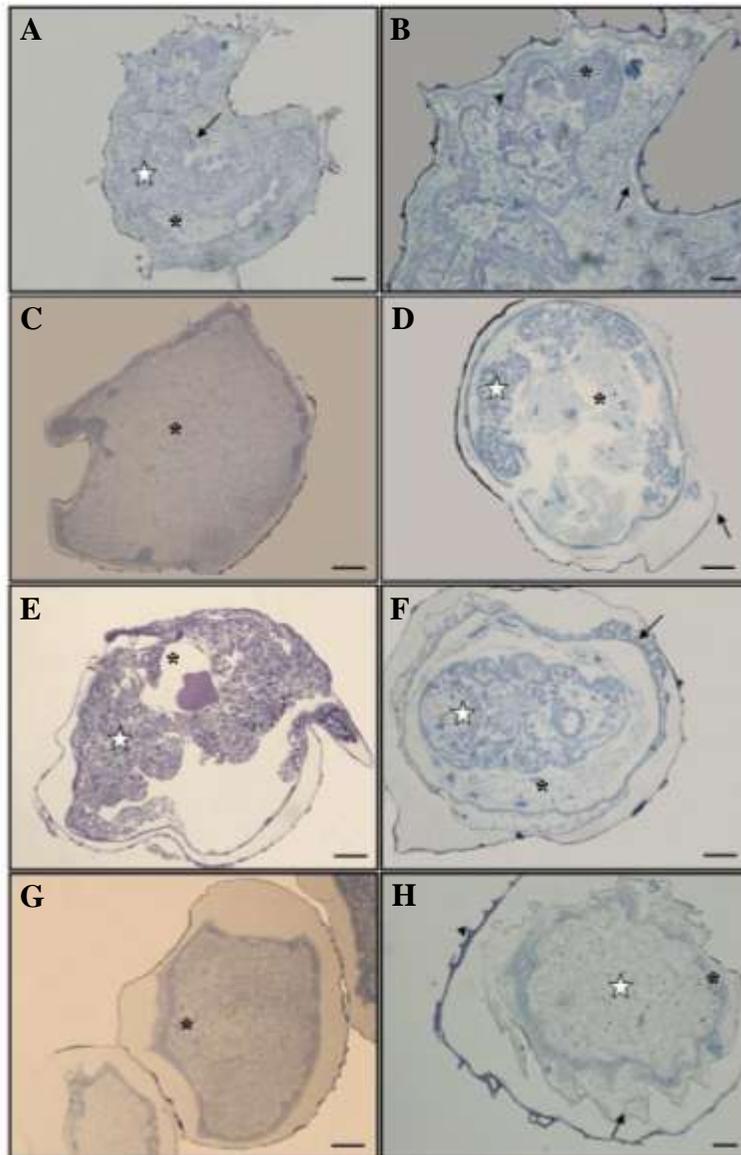


Figura 2. Ovos de *Spodoptera frugiperda* no intervalo de tempo de 24 horas após tratamento. (A) Ovos do tratamento testemunha com embrião desenvolvido (estrela) mostrando pernas (seta) e intestino médio (asterisco). (B) Ovos da testemunha mostrando cabeça (asterisco) e cutícula do embrião (cabeça de seta), além da membrana vitelínica recobrando o embrião (seta). (C) Ovo tratado com azadiractina (AzaMax[®] 0,015 mL/L) apresentando grânulos de vitelo bastante dispersos preenchendo todo o ovo e ausência de embrião. (D) Ovo após tratamento com azadiractina (AzaMax[®] 2,0 mL/L), observar lipídios (asterisco), vitelófagos (estrela) e córion sem pontes e rompido (seta). (E) Ovo tratado com lufenurom (Match[®] 0,008 mL/L) mostrando desorganização da blastoderme com presença de vacúolo (asterisco) e região de vitelo com células amorfas (estrela). (F) Ovo tratado com lufenurom (Match[®] 1,0 mL/L), observar lipídios (asterisco) e formação celular com músculos (estrela), além de vitelo nas bordas do ovo (seta). (G) Ovo após tratamento com deltametrina (Decis[®] 0,005 mL/L) mostrando vitelo disperso dentro do ovo. (H) Ovo tratado com deltametrina (Decis[®] 0,67 mL/L) apresentando muitos lipídios (estrela), fina camada de células deformadas (asterisco), apêndices não identificáveis (seta) e córion modificado (cabeça de seta). Barra: 50 μ m.

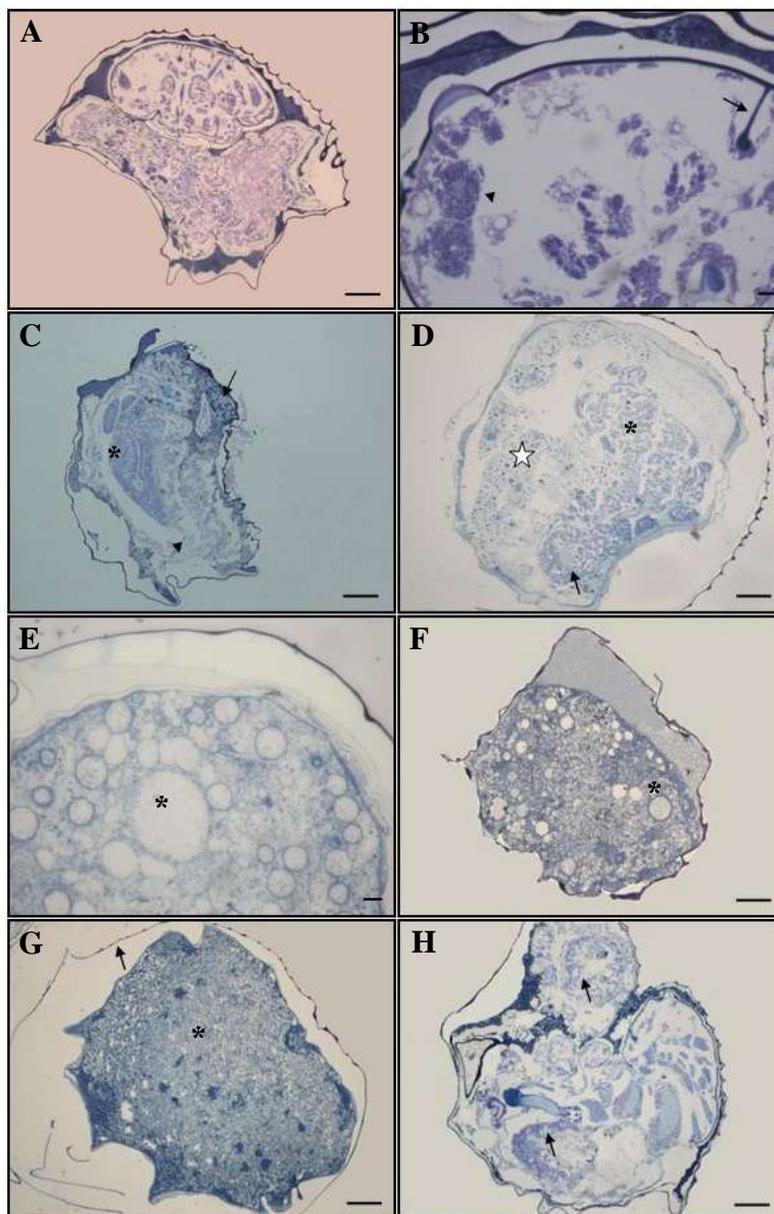


Figura 3. Ovos de *Spodoptera frugiperda* no intervalo de tempo de 72 horas após tratamento. (A) Ovos do tratamento testemunha com embrião desenvolvido e comprimido dentro do ovo. (B) Detalhe da cápsula cefálica do embrião dentro do ovo, observar apêndice antenal (seta) e visual (cabeça de seta). (C) Ovo tratado com azadiractina (AzaMax[®] 0,015 mL/L) apresentando vitelo (seta), intestino médio com células deformadas (asterisco) e pouco lipídio (cabeça de seta). (D) Ovo após tratamento com azadiractina (AzaMax[®] 2,0 mL/L), observar lipídios (estrela), células deformadas (seta), músculos (asterisco) e córion desintegrado. (E-F) Ovo tratado com lufenurom (Match[®] 0,008 mL/L e 1,0 mL/L), respectivamente, observar grande quantidade de vacúolos (asterisco). (G) Ovo após tratamento com deltametrina (Decis[®] 0,005 mL/L) mostrando vitelo disperso dentro do ovo, com células sem núcleo (asterisco) e destacado do fino córion (seta). (H) Ovo tratado com deltametrina (Decis[®] 0,67 mL/L) apresentando células deformadas (setas), não sendo possível a identificação dos órgãos e apêndices. Barra: 50 μ m.

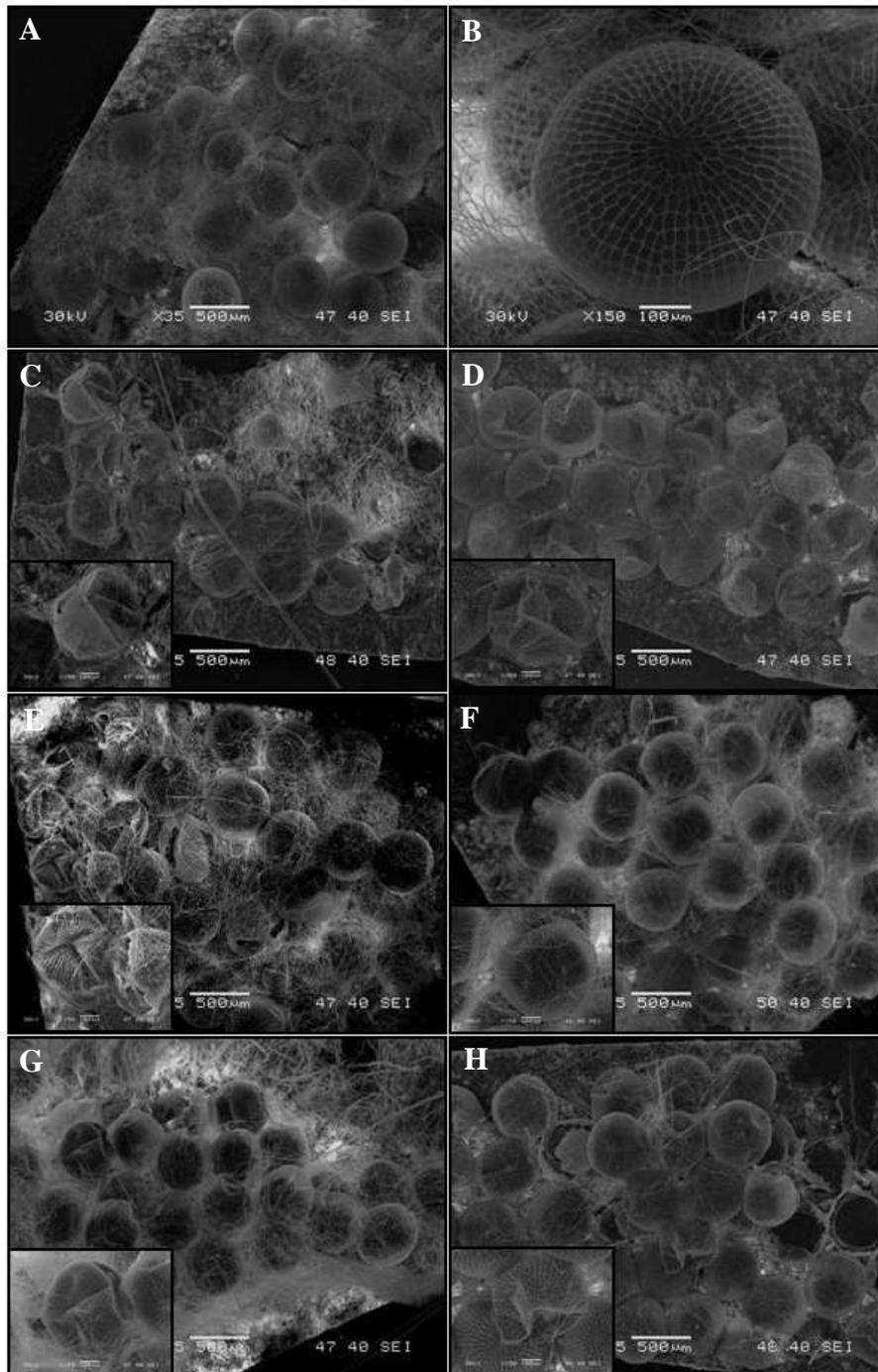


Figura 4. Imagens de MEV das posturas e ovos de *Spodoptera frugiperda* no intervalo de tempo de 72 horas após oviposição e tratamento. (A) Postura mostrando ovos do tratamento testemunha bem definidos e cobertos por uma densa camada de escamas. (B) Ovo esférico da testemunha. Observar postura e ovos (detalhe), bastante danificados e deformados após tratamento com: (C) Azadiractina (AzaMax[®] 0,015 mL/L); (D) Azadiractina (AzaMax[®] 2,0 mL/L); (E) Lufenurom (Match[®] 0,008 mL/L); (F) Lufenurom (Match[®] 1,0 mL/L); (G) Deltametrina (Decis[®] 0,005 mL/L); (H) Deltametrina (Decis[®] 0,67 mL/L).