

FLÁVIA DE ALBUQUERQUE SERÓDIO FERREIRA CORRÊA

**CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE *Condylorrhiza vestigialis*
(GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) COM
DIFERENTES DIETAS ARTIFICIAIS.**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Nilton José Sousa

CURITIBA – PR
2006




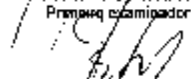
Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias - Centro de Ciências Florestais e da Madeira
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal

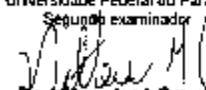
PARECER

Defesa nº. 671


A banca examinadora, instituída pelo colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, após arguir o(a) mestrando(a) *Flávia de Albuquerque Seródio Ferreira Corrêa* em relação ao seu trabalho de dissertação intitulado "*Criação em laboratório de *Condytorrhiza vestigiális* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) com diferentes dietas artificiais*", é de parecer favorável à **APROVAÇÃO** do(a) acadêmico(a), habilitando-o(a) ao título de *Mestre em Engenharia Florestal*, área de concentração em SILVICULTURA.


Dr. Juliano Gil Nunes Wendt
Universidade do Contestado - UNC
Primeiro examinador


Dr. Bráulio Santos
Universidade Federal do Paraná
Segundo examinador


Dr. Milton José Sousa
Universidade Federal do Paraná
Orientador e presidente da banca examinadora

Curitiba, 04 de outubro de 2006.


Graciela Inês Bolzon de Muniz
Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal
Antonio Carlos Batista
Vice-coordenador do curso

À DEUS, por guiar meus passos, me dar coragem, persistência e vontade em todos os momentos.

Ao meu esposo, **RENATO**, pelo amor, carinho, paciência e compreensão.

Ao meu filho, **RENAN**, por ceder o tempo que lhe pertencia.

À minha mãe, **MARÍLIA**, que sempre se esforçou para proporcionar a melhor formação para mim, pelo amor e carinho que me deu.

Ao meu pai, **OSMAM**, que mesmo de longe, sempre desejou o melhor para mim.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nilton José Sousa, pela orientação e por tudo o que me ensinou. Pela amizade, compreensão, incentivo, dedicação e força de vontade, que determinaram à realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ivan Crespo Silva, pela co-orientação e pelas opiniões e dedicação na correção deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Viana Soares, pela amizade e principalmente pelo auxílio na execução da análise estatística deste trabalho e revisão do Abstract.

A Prof(a). Dr(a). Lúcia Massuttii de Almeida, do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, pela iniciação nesta atividade.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realização desta pesquisa através do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal.

À empresa “Swedish Match do Brasil S. A.” e “Companhia Florestal Guapiara”, pelo suporte financeiro que viabilizou a realização deste trabalho.

À FUPEF (Fundação de Pesquisas Florestais do Paraná), pelo suporte administrativo que permitiu a realização deste trabalho.

À Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná, Prof(a). Dr(a). Graciela Inês Bolzon de Muniz pela colaboração, compreensão e amizade.

À Pós-Graduação em Engenharia Florestal e seus professores, pelos conhecimentos transmitidos.

Às equipes técnicas das empresas “Swedish Match” e “Companhia Florestal Guapiara”, nas pessoas de Edilene Buturi Machado e Eng. Florestal Msc. Giancarlo Mira Otto, pelo entusiasmo, amizade e colaboração.

A Ana Paula Mitchell pela elaboração do Abstract deste trabalho.

Aos funcionários da biblioteca do Centro de Ciências Florestais e da Madeira, com especial agradecimento a Bibliotecária Tânia de Barros Baggio, pelo auxílio na busca de algumas referências bibliográficas e pela revisão e normatização final deste trabalho.

Aos amigos Alexandre Beutling e Lorena Stolle pela amizade, incentivo e pela execução das análises estatísticas deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de São Paulo e a funcionária do Laboratório de Entomologia da ESALQ (Piracicaba – SP), Neide Graciano Zério, pelo envio de algumas dietas artificiais testadas neste trabalho e pelo auxílio na busca de algumas referências bibliográficas.

Aos amigos do Laboratório de Proteção Florestal e acadêmicos do curso de Engenharia Florestal: Fernando Lisboa, Márcio dos Santos Rochadelli e Vinícius Otávio Benoit Costa, pela convivência diária, pelo apoio, compreensão e dedicação na coleta dos dados referentes a este trabalho.

À todos os estagiários que freqüentaram o Laboratório de Proteção Florestal, enquanto estive desenvolvendo meus trabalhos, e à Rejane de Moura Corrêa Orchanheski, meu muito obrigada.

Ao colega e Engenheiro Florestal Msc. Álvaro Boson de Castro Faria, pela amizade e pelo incentivo na continuidade dos trabalhos com dietas artificiais.

À colega e Dr. Márcia Marzagão Ribeiro, pela amizade e apoio durante a realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal: Alexandre Koehler, Aline Nikosheli Nepomuceno, Andréa Abbud de Souza, Edilene Buturi Machado, Marcelo Francia Arco-Verde, Luiz Cezar Machado Pereira e Rafaela Mazur Bizi, pelo entusiasmo, amizade e colaboração.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FLÁVIA DE ALBUQUERQUE SERÓDIO FERREIRA CORRÊA,

filha de Osman Seródio Ferreira e Marília Leite de Albuquerque, nasceu em 13 de setembro de 1974, na cidade de Recife – PE. Em 1993, ingressou no Curso de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná. Em 1998, formou-se Engenheiro Florestal. Sempre atuando na área científica desde a graduação, em março de 2004, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal da Universidade Federal do Paraná, e vem desenvolvendo pesquisas relacionadas ao controle de pragas florestais.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE TABELAS | viii |
| LISTA DE GRÁFICOS | x |
| LISTA DE FIGURAS | xi |
| RESUMO | xii |
| ABSTRACT | xiii |
| | |
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 OBJETIVOS | 3 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 3 |
| 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO | 3 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 3.1 NUTRIÇÃO DE INSETOS | 4 |
| 3.2 DIETAS ARTIFICIAIS | 5 |
| 3.3 CRIAÇÕES DE INSETOS EM LABORATÓRIO | 10 |
| 3.4 GÊNERO <i>Populus</i> | 16 |
| 3.4.1 Classificação Botânica | 16 |
| 3.4.2 Área de Dispersão | 16 |
| 3.4.3 Plantios de <i>Populus</i> no Mercosul | 17 |
| 3.4.4 Utilização da Árvore | 17 |
| 3.4.5 Pragas | 19 |
| 3.4.6 Ocorrência de <i>Condylorrhiza vestigialis</i> no Brasil | 19 |
| 3.5 ASPECTOS GERAIS DO CONTROLE DE <i>Condylorrhiza vestigialis</i> | 20 |
| 3.6 MANEJO INTEGRADO DE <i>Condylorrhiza vestigialis</i> | 21 |
| 3.7 VÍRUS DE <i>Condylorrhiza vestigialis</i> | 22 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| 4.1 OBTENÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO | 23 |
| 4.2 DESCRIÇÃO DAS DIETAS ARTIFICIAIS UTILIZADAS | 26 |
| 4.3 PREPARAÇÃO DAS DIETAS | 32 |
| 4.4 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE LAGARTAS DE <i>C. vestigialis</i> NAS DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS | 35 |
| 4.5 DETERMINAÇÃO DOS ÍNSTARES LARVAIS DE <i>C. vestigialis</i> NA DIETA BASE 2 (DB2) | 37 |
| 4.6 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ADULTOS DE <i>C. vestigialis</i> OBTIDOS NA DIETA BASE 2 (DB2) | 38 |
| 4.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS | 39 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 40 |
| 5.1 AVALIAÇÃO DAS DIETAS UTILIZADAS NAS DIFERENTES ETAPAS DO ESTUDO | 40 |
| 5.1.1 Primeira Etapa | 40 |
| 5.1.2 Segunda Etapa | 42 |
| 5.1.3 Terceira Etapa | 45 |
| 5.1.4 Quarta Etapa | 46 |
| 5.2 COMPARAÇÃO ENTRE AS DIETAS TESTADAS | 48 |
| 5.2.1 Fase Larval | 48 |
| 5.2.2 Fase de Pré-pupa..... | 50 |
| 5.2.3 Fase Pupal | 51 |
| 5.2.4 Fase Adulta | 54 |

| | |
|--|-----------|
| 5.2.5 Ciclo de Vida de <i>C. vestigialis</i> nas Dietas Artificiais Testadas | 58 |
| 5.2.6 Peso das Pupas | 59 |
| 5.2.7 Razão Sexual | 60 |
| 5.2.8 Instares Larvais | 61 |
| 5.3 VIABILIDADE DAS DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS | 62 |
| 5.4 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ADULTOS DE <i>C. vestigialis</i> OBTIDOS NA DIETA BASE 2 (DB2) | 64 |
| 6 CONCLUSÕES | 67 |
| 7 RECOMENDAÇÕES | 68 |
| REFERÊNCIAS | 69 |
| ANEXOS | 76 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 1 - DIFERENTES DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS NA PRIMEIRA ETAPA DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) | 27 |
| TABELA 2 - ALTERAÇÕES NA DIETA ARTIFICIAL PROPOSTA POR GREENE <i>et al.</i> (1976), NA SEGUNDA ETAPA DO TRABALHO DE CRIAÇÃO DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) | 28 |
| TABELA 3 - DIETA BASE 1 (DB1), PARA A CRIAÇÃO DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) | 30 |
| TABELA 4 - DIETA BASE 2 (DB2), PARA A CRIAÇÃO DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NA QUARTA ETAPA DO EXPERIMENTO | 32 |
| TABELA 5 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS NA PRIMEIRA ETAPA DESTE TRABALHO | 41 |
| TABELA 6 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS ALTERAÇÕES DA DIETA PROPOSTA POR GREENE <i>et al.</i> (1976) | 44 |
| TABELA 7 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS ALTERAÇÕES DA DIETA PROPOSTA POR HOFFMANN-CAMPO <i>et al.</i> (1985), DENOMINADA DIETA BASE 1 (DB1) | 46 |
| TABELA 8 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS ALTERAÇÕES DA DIETA PROPOSTA POR HOFFMANN-CAMPO <i>et al.</i> (1985), DENOMINADA DIETA BASE 2 (DB2) | 48 |
| TABELA 9 - CICLO DE VIDA DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS | 59 |
| TABELA 10 - PESO MÉDIO DAS PUPAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS | 60 |
| TABELA 11 - RAZÃO SEXUAL DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), PARA AS DIETAS TESTADAS | 61 |

| | |
|---|-----------|
| TABELA 12 - VIABILIDADE DE TODAS AS DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS, PARA A CRIAÇÃO DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) | 63 |
| TABELA 13 - LONGEVIDADE DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), CRIADOS COM DIETA BASE 2 (DB2) | 64 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|---|----|
| GRÁFICO 1 - NÚMERO DE LAGARTAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), MORTAS, NAS DIETAS TESTADAS | 49 |
| GRÁFICO 2 - NÚMERO DE LAGARTAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), PREDADAS, NAS DIETAS TESTADAS | 50 |
| GRÁFICO 3 - NÚMERO DE PUPAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), MAL FORMADAS, NAS DIETAS TESTADAS | 52 |
| GRÁFICO 4 - NÚMERO DE PUPAS INVIÁVEIS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS | 53 |
| GRÁFICO 5 - PERCENTAGEM DE ADULTOS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), COM DEFORMAÇÕES, NAS DIETAS TESTADAS | 55 |
| GRÁFICO 6 - PERCENTAGEM DE ADULTOS MACHOS E FÊMEAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), COM DEFORMAÇÕES, NAS DIETAS TESTADAS | 56 |
| GRÁFICO 7 - PERCENTAGEM DE ADULTOS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NORMAIS, NAS DIETAS TESTADAS | 57 |
| GRÁFICO 8 - MEDIÇÃO DAS CÁPSULAS CEFÁLICAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE ÍNSTARES LARVAIS, DAS LAGARTAS CRIADAS COM DIETA BASE 2 (DB2) | 62 |
| GRÁFICO 9 - POSTURAS DAS FÊMEAS DE <i>C. vestigialis</i> (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), CRIADAS COM DIETA BASE 2 (DB2) | 66 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| FIGURA 1 - FASES BIOLÓGICAS DE <i>C. vestigialis</i> | 25 |
| FIGURA 2 - PREPARO DAS DIETAS E CRIAÇÕES DE LAGARTAS DE <i>C. vestigialis</i> EM MEIO ARTIFICIAL | 34 |
| FIGURA 3 - PUPAS MAL FORMADAS DE <i>C. vestigialis</i> | 52 |
| FIGURA 4 - PUPAS INVIÁVEIS DE <i>C. vestigialis</i> | 54 |
| FIGURA 5 - ADULTOS DE <i>C. vestigialis</i> COM DEFORMAÇÕES NAS ASAS | 56 |

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma dieta artificial adequada para a criação de *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae), que é considerada a principal praga de *Populus* spp., árvores que pertencem a família *Salicaceae*, plantada no Brasil para suprir as necessidades da indústria fosforeira, na fabricação de palitos e caixas. O trabalho foi desenvolvido em quatro fases. Na primeira fase foram testadas três formulações de dietas artificiais que são utilizadas com sucesso na criação massal de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae); essas dietas foram desenvolvidas por Greene *et al.* (1976), Hensley e Hammond (1968) e Mihshfeldt e Parra (1986). Na segunda fase foram testadas três alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976). Na terceira fase foram testadas alterações na dieta artificial proposta por Hoffmann-Campo *et al.* (1985), que difere da dieta de Greene *et al.* (1976) nas proporções dos componentes e na composição da vitamina utilizada; esta foi convencionalmente chamada de Dieta Base 1. Na quarta fase foram feitas alterações na Dieta Base 1, com a utilização de Suco V8 e a partir dessas alterações formulou-se uma dieta que foi chamada de Dieta Base 2. Os resultados obtidos mostraram que somente a Dieta Base 2 deu suporte para que a criação de *C. vestigialis* pudesse ser mantida com sucesso em laboratório, possibilitando a criação massal, para manter constante a produção de um baculovirus conhecido como *Condylorrhiza vestigialis multiplenucleopolyhedrovirus* (CvMNPV), que pode ser utilizado como alternativa aos inseticidas oferecidos no mercado, conferindo total segurança à saúde humana e ao meio ambiente, podendo também ser usado em um programa de manejo integrado de *C. vestigialis*.

Palavras-chave: Insetos-Nutrição; Pragas-Controle Biológico; Lepidoptera; Mariposa; Choupo.

ABSTRACT

The objective of this research was to develop an artificial diet suitable for the growing of *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Crambidae), considered the main enemy of *Populus* spp., that is cultivated in Brazil to make match boxes and splints. The work was conducted in four steps. On the first step three artificial diet formulations successfully used for the massive growing of *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) were tested; these diets were developed by Greene *et al.* (1976), Hensley and Hammond (1968) and Mihsfeldt and Parra (1986). On the second step, three alterations of the artificial diet proposed by Greene *et al.* (1976) were tested. On the third step alterations of the diet proposed by Hoffmann-Campo *et al.* (1985) were tested. The Hoffmann-Campo *et al.* diet differs from the one proposed by Greene in the components proportions and vitamin composition; this modified diet was conventionally named Base I Diet. On the fourth step, additional alterations were made to the Base I Diet, as for example, the use of V8 juice. From these alterations a conventional artificial diet was formulated, named Base II Diet. Results showed that only Base II Diet gave support to the massive laboratory growing of *C. vestigialis*, making possible the continuous growing of *Condylorrhiza vestigialis multiplenucleopolyhedrovirus* (CvMNPV), a baculovirus that can be used as an option for the pesticides. This baculovirus can be used in an integrated plague management and cause no risk to human and environment health.

Key-words: Insects-Nutrition; Pest-Biological Control; Lepidoptera; Moths; *Populus*.

1 INTRODUÇÃO

As primeiras plantas do gênero *Populus* chegaram ao Brasil entre 1905 e 1910, mas seus plantios começaram a ter sucesso somente a partir do final da década de 1980, quando foram levadas em consideração suas exigências nutricionais e silviculturais. Atualmente, o Brasil possui cerca de 5.500 ha de plantio de *Populus* spp., destinados principalmente à indústria de fósforo para a fabricação de palitos e caixas.

Dos insetos desfolhadores que atacam os plantios de *Populus* spp. no Brasil, merecem destaque: *Condylorrhiza vestigialis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Crambidae) e *Sabulodes caberata caberata* Guenée, 1857 (Lepidoptera: Geometridae). Sendo mais representativos os danos provocados pelas lagartas de *C. vestigialis*, pois estes são mais freqüentes e comprometem seriamente a produção dos povoamentos.

Para o controle de *C. vestigialis*, vários métodos já foram testados, sendo o controle biológico através da utilização de um vírus entomopatogênico uma das alternativas mais promissoras. O vírus em questão pertence a família Baculoviridae e foi identificado como *Condylorrhiza vestigialis multiplenucleopolyhedrovirus* (CvMNPV).

Os testes realizados em laboratório e em condições de campo com este agente, demonstraram que ele é eficiente para o controle de *C. vestigialis*, havendo a necessidade de que o mesmo seja produzido em escala, para que possa ser efetivamente utilizado dentro de um programa integrado para o controle deste inseto. Como a reprodução desta virose em condições de campo, seguindo os moldes utilizados para a lagarta-da-soja não é viável, visto que a altura das árvores de *Populus* spp. impossibilitam a coleta de lagartas contaminadas, a alternativa para este caso é criar as lagartas em laboratório e nestas reproduzir a virose.

Para criar um inseto de forma massal em laboratório, é imprescindível a utilização de dietas artificiais, pois estas possibilitam a manutenção contínua de populações do inseto alvo, durante todo o ano e conseqüentemente a produção do agente de controle que se pretende multiplicar. Assim, neste trabalho procurou-se

desenvolver uma dieta artificial que proporcionasse um bom desenvolvimento de *C. vestigialis* em laboratório, visando a produção massal do vírus associado a este inseto.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver uma metodologia para a criação de *Condylorrhiza vestigialis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Crambidae) em laboratório utilizando dieta artificial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os aspectos biológicos relacionados à reprodução de *C. vestigialis*, utilizando diferentes dietas artificiais;
- Determinar a eficiência da criação de *C. vestigialis* nas diferentes dietas artificiais;
- Determinar a viabilidade da criação de *C. vestigialis* em cada dieta testada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 NUTRIÇÃO DE INSETOS

A nutrição dos insetos estuda os requisitos alimentares qualitativos e quantitativos. A nutrição qualitativa envolve exigências nutricionais sob o ponto de vista químico, e a nutrição quantitativa, considera que é importante não somente as exigências básicas, mas a proporção de alimento ingerido, digerido, assimilado e convertido em tecidos de crescimento (PARRA, 1991).

A maior parte dos insetos tem exigências nutricionais qualitativas semelhantes, uma vez que a composição química dos tecidos e os processos metabólicos básicos são geralmente similares. Mas grandes variações nestas exigências podem ocorrer e elas, nestes casos, refletem diferenças no metabolismo, ou são resultantes de reservas acumuladas num estágio anterior de desenvolvimento, ou da capacidade do inseto associar-se a microrganismos para sintetizar certos nutrientes (PARRA, 1991). Segundo Panizzi e Parra (1991), os seres vivos, geralmente, são um reflexo daquilo que consomem e no caso dos insetos, muitos aspectos da sua biologia, estão inseridos dentro de um contexto nutricional.

De acordo com Parra (1991), os insetos têm como exigências nutricionais básicas: aminoácidos, vitaminas e sais minerais (nutrientes essenciais) e carboidratos, lipídios e esteróis (nutrientes não-essenciais), os quais devem ser adequadamente balanceados. Segundo o mesmo autor, a qualidade do alimento é dependente de atributos físicos como: dureza, pilosidade da superfície, forma, entre outros, os quais influenciam na capacidade do inseto consumir e digerir o alimento, além dos aleloquímicos e componentes nutricionais. Kogan (1977), salienta que os aleloquímicos podem atuar como atraentes e estimulantes de alimentação ou como deterrentes e repelentes.

O tipo de alimento oferecido na fase larval interfere na capacidade reprodutiva do inseto, pois existe claramente uma relação do consumo de alimento de qualidade nutricional adequada com a capacidade de converter o alimento ingerido em produção

de ovos (PANIZZI; PARRA, 1991; BATISTA-PEREIRA, 1999; SANTOS *et al.*, 2000). Parra (1991), enfatiza que a quantidade e qualidade do alimento consumido na fase larval do inseto, afetam a taxa de crescimento, o tempo de desenvolvimento, peso do corpo, sobrevivência, bem como influenciam na fecundidade, longevidade, movimentação e capacidade de competição de adultos; e enfocou que larvas alimentadas inadequadamente levam à pupas e adultos de má qualidade.

Waldbauer e Friedman (1991), salientam que é necessário que um certo limiar energético seja atingido, para que esses processos ocorram normalmente; pois formas jovens alimentadas de forma inadequada, formarão pupas e adultos de má qualidade, geralmente sem condições de competir no meio ambiente.

O ganho de peso pelo inseto é um importante parâmetro para avaliação de crescimento, uma vez que é um fator que se correlaciona diretamente com a quantidade e qualidade de alimento ingerido (PARRA; HADDAD, 1989).

Hagen (1976), discute o papel da nutrição no manejo de insetos e salienta que aspectos vitais como crescimento, metamorfose, reprodução, localização e seleção do hospedeiro, bem como defesa, são influenciados por fatores nutricionais.

3.2 DIETAS ARTIFICIAIS

Parra (1991), cita que existem inúmeros trabalhos sobre nutrição de insetos desde o início deste século, e a partir da década de 1970, um grande número de publicações sobre o assunto foram feitas. O desenvolvimento de dietas artificiais para insetos, principalmente a partir deste período, propiciou um refinamento das pesquisas sobre exigências nutricionais. Hoje existem meios artificiais para mais de 1300 espécies de insetos.

De acordo com Singh (1977)¹ citado por Parra (1996), o primeiro inseto a ser criado com dieta artificial, composta por peptona, extrato de carne, amido e minerais, desde a fase de ovo até adulto, foi *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758) (Diptera:

¹ SINGH, P. **Artificial diets for insects, mites, and spiders**. New York, IFI/Plenum, 1977. 594p.

Calliphoridae), por Bogdanov em 1908. De acordo com Vanderzant e Reiser (1956)² citado por Parra (1996), a primeira tentativa de criar um inseto fitófago em meio artificial foi feita por Bottger (1942), que utilizou uma dieta para *Ostrinia nubilalis* (HÜBNER) (Lepidoptera: Pyralidae), que consistia de caseína, açúcares, gorduras, sais, vitaminas, celulose, ágar e água.

No Brasil, os trabalhos com dietas artificiais foram iniciados no Departamento de Entomologia da ESALQ, em Piracicaba - SP, por Gallo *et al.* (1969). Os autores utilizaram a dieta proposta por Hensley e Hammond (1968), para a multiplicação de *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (Lep.: Crambidae), em um programa visando seu controle biológico. A partir daí outros trabalhos de pesquisas foram desenvolvidos visando à criação de insetos.

Segundo Singh (1983) e Parra (2002), uma dieta artificial ideal para a criação massal de insetos deve ter as seguintes características: 1) fornecer todos os nutrientes para a produção de insetos comparáveis aos da natureza; 2) propiciar alta viabilidade larval; 3) dar origem a adultos com alta capacidade reprodutiva; 4) ser de baixo custo; 5) ser facilmente preparada, a partir de ingredientes de fácil aquisição no mercado; 6) servir, de preferência, para a criação de um grande número de espécies de insetos; 7) poder ser armazenada por longos períodos 8) proporcionar uma viabilidade total de, pelo menos, 75%; 9) manter a qualidade do inseto ao longo das gerações, sem perder o vigor ou fecundidade.

Para Parra (1996), o conhecimento da dieta artificial adequada tanto para a fase larval como para a fase adulta do inseto é fundamental, para a manutenção do nível populacional constante de espécies de interesse em laboratório durante todo o ano.

Segundo Parra (1991 e 1998), embora algumas dietas artificiais sejam satisfatórias para o crescimento do inseto, nas mesmas podem faltar fagoestimulantes (físicos ou químicos), ou mesmo características físicas ou biológicas que permitam o desenvolvimento do inseto, pois mesmo oferecendo ao inseto uma dieta considerada ideal, o mesmo pode não se desenvolver normalmente.

² VANDERZANT, E. S. e REISER, R. Aseptic rearing of the pink bollworm in synthetic media. **J. Econ. Entomol.** 49: 7-10, 1956.

De acordo com Parra (1996), fagoestimulantes são compostos que induzem e/ou estimulam os insetos a se alimentar; e estes estimulantes de alimentação, podem não ser os mesmos em cada estágio de desenvolvimento do inseto.

A dieta deve conter todos os ingredientes exigidos pelo inseto (proteínas, vitaminas, sais minerais, carboidratos, lipídeos e esteróis), e alguns grupos exigem ainda ácidos nucleicos; entretanto, isso não é suficiente, pois a ausência de certas propriedades físicas (dureza, textura, homogeneização, conteúdo de água) e de fagoestimulantes (físicos e químicos), assim como o balanceamento de nutrientes (essenciais e não essenciais), pode determinar um desenvolvimento inadequado do inseto (PARRA, 1996 e 1998).

Segundo Parra (1991), os nutrientes essenciais (vitaminas, aminoácidos e alguns sais minerais), são compostos que devem ser incluídos na dieta porque não podem ser sintetizados nem pelo sistema metabólico do animal, nem pelos simbioses. Os nutrientes não-essenciais (carboidratos, lipídios e esteróis), são elementos que devem ser consumidos para produzir energia, e assim são convertidos, de forma tal que os insetos possam utilizá-los através de processos metabólicos.

Para Parra (1991), as exigências nutricionais dos insetos são determinadas em estudos com dietas artificiais, e a função de alguns nutrientes, serão definidos conforme a descrição a seguir:

- a) Aminoácidos (composto orgânico): normalmente estão presentes na dieta como proteínas, e são exigidos para produção de proteínas estruturais, hormônios e enzimas; conseqüentemente, são sempre essenciais às dietas de insetos em desenvolvimento, e são exigidas em altas concentrações para um crescimento ótimo. Aminoácidos essenciais são aqueles que o organismo animal não consegue sintetizar, necessitando ser ingerido através da alimentação e, aminoácidos naturais ou não-essenciais são aqueles que o organismo animal consegue sintetizar. Os aminoácidos atuam na reestruturação celular e crescimento;

- b) Vitaminas (composto orgânico): são essenciais para praticamente todos os insetos e atuam nos processos metabólicos fornecendo componentes estruturais das enzimas e participam na formação de ossos e tecidos. Quando se formula uma dieta artificial, existem misturas vitamínicas que são incorporadas às dietas como: mistura fortificante de Vanderzant e mistura vitamínica de Vanderzant;
- c) Sais minerais (composto inorgânico): são compostos inorgânicos quantitativamente pouco importantes, porém com importância qualitativa. São encontrados na forma solúvel como íons e na forma insolúvel fazendo parte de estruturas rígidas como ossos, dentes, conchas e carapaças. São importantes para o balanceamento iônico e a permeabilidade da membrana dos insetos; devido à falta de conhecimentos nesta área de estudo, são utilizados em dietas para insetos, misturas de sais para vertebrados, como por exemplo: sais de Wesson;
- d) Carboidratos (composto orgânico): são a principal fonte de energia para os insetos e tem função de reserva, isolante térmico, elétrico e proteção mecânica. As exigências variam entre espécies e muitas vezes entre formas imaturas e adultas da mesma espécie;
- e) Esteróis (composto orgânico): são essenciais para quase todos os insetos e a faixa de esteróis utilizada pelos insetos é similar ao colesterol; promovem o crescimento larval e são responsáveis pela esclerotização da cutícula;
- f) Água (composto inorgânico): os insetos exigem água, e a maioria dos insetos terrestres contém pelo menos 70% de água em seu corpo.

A proteína através de seus aminoácidos tem papel fundamental nos processos metabólicos, sendo limitantes para o crescimento de insetos (SCRIBER; SLANSKY JR., 1981).

Existem diversas fontes de proteínas contendo todos os aminoácidos essenciais; as mais relacionadas são o feijão, a soja, a caseína e o germe de trigo, que normalmente são utilizadas na composição de meios artificiais para insetos (VANDERZANT, 1974).

A composição básica para a produção de um meio artificial para a criação adequada de insetos pode ser extraída da discussão que diversos autores fizeram sobre o assunto (VANDERZANT, 1974; SINGH, 1985):

- a) Fontes protéicas: germe de trigo, caseína, proteína de soja, feijão, levedura de cerveja;
- b) Fontes de lipídios: óleo de germe de trigo, colesterol, ácido linolênico;
- c) Misturas diversas de sais minerais (Wesson);
- d) Misturas diversas de vitaminas (Vanderzant);
- e) Carboidratos: sacarose;
- f) Agentes gelificantes: ágar, alginatos, gelatina;
- g) Conservativos: agentes fungistáticos, antibióticos, antioxidantes.

De acordo com Parra (1996), uma dieta artificial deve ser composta pelos seguintes componentes: a) fontes protéicas: caseína, germe de trigo, soja, feijão levedura de cerveja, milho, albumina, etc; b) fontes de lipídeos e esteróis: óleos vegetais, colesterol, ácido linolênico, ácido linoleico, entre outros; c) fontes de sais minerais: misturas diversas (sais de Wesson); d) fontes vitamínicas: (Mistura fortificante de Vanderzant); e) fontes de carboidratos: sacarose, glucose, frutose, etc; f) agentes gelificantes: ágar, alginatos e similares e g) conservativos: agentes fungistáticos, anti-bacterianos e anti-oxidantes. De acordo com o mesmo autor, os antioxidantes utilizados nas dietas artificiais são, geralmente, o ácido ascórbico (vitamina C) e α -tocoferol (vitamina E).

Segundo Alves e Moino Jr. (1998), uma dieta artificial deve conter anticontaminantes como antibióticos e substâncias fungistáticas que evitem ou reduzam a contaminação por microrganismos. A dieta deve ser elaborada em ambiente limpo e deve conter anti-contaminantes de origem química, sendo mais rotineiramente utilizados o ácido acético, formaldeído a 0,05%, metilparahidroxibenzoato de sódio (nipagim) de 0,5 a 1,5%, hipoclorito de sódio de 0,01 a 1%, benzoato de sódio e antibióticos como penicilina, acromicina e estreptomicina (BERNON; LEPPLA, 1994; ALVES; MOINO Jr., 1998).

Parra (2001), enfoca que ainda existem muitas dificuldades na produção “*in vitro*”, destacando-se: a) escolha de um recipiente adequado para a criação, em função do inseto estudado; b) determinação da temperatura e do fotoperíodo adequados para a criação; c) ajuste das características físicas da dieta (forma, textura, entre outros); d) determinação e utilização de pH e pressão osmótica adequados; e) balanceamento adequado e perfeita dissolução dos nutrientes; o balanceamento e a dissolução devem ser mantidos ao longo do desenvolvimento do inseto, pois, como o inseto apresenta intestino cego (sem eliminação de resíduos), pode haver toxicidade metabólica; assim estudos de digestão, peculiaridade do canal alimentar e enzimas digestivas tornam-se necessários e f) escolha do recipiente que permita trocas gasosas.

Segundo Parra (2000), os estudos relacionados à biologia de insetos são fundamentais para fornecer subsídios a programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois além de conhecer as características biológicas do inseto, é de fundamental importância manter colônias em laboratório, para que os estudos possam ser realizados continuamente, sem a dependência da sua ocorrência natural no campo e, para que estes estudos possam ser mantidos continuamente em laboratório, com raras exceções, faz-se necessário o uso de dieta artificial.

3.3 CRIAÇÕES DE INSETOS EM LABORATÓRIO

a) Definição e características

A partir da década de 1960, ocorreu um grande desenvolvimento nos estudos sobre a produção de dietas artificiais para a criação de insetos em condições controladas (SINGH, 1983). Para Parra (2001), a criação de insetos em laboratório e em meios artificiais é de fundamental importância quando se deseja obter material biológico puro e de qualidade, para se realizar estudos entomológicos básicos ou aplicados.

Parra (1998), distingue três categorias de criações de insetos em laboratório: i) criação de pequena escala para pesquisas básicas ou para objetivos genéricos; ii)

criação comercial (em alguns países é possível comprar insetos de criações comerciais); e iii) criação massal, geralmente envolvendo operações semelhantes a uma fábrica, servindo de suporte a programas de controle de pragas.

No Brasil, existe pouca tradição na criação de insetos (PARRA, 2001). Porém, para Hoffmann-Campo *et al.*, (1985) e Parra (1992 e 2001), tem ocorrido considerável avanço na instalação de pequenos laboratórios para fins didáticos ou experimentais, em diversas universidades e instituições de pesquisa pública.

A expansão e evolução dos programas de manejo integrado de pragas, em nível mundial, têm exigido o refinamento das técnicas de criação de insetos, visando a implementação de novas tecnologias de controle de pragas, tais como, o controle biológico através de predadores e parasitóides (CÔNSOLI; PARRA, 1997) e estudos com agentes microbianos (MOSCARDI *et al.*, 1997; GOMES *et al.*, 1999).

b) Critérios para a implantação de criações massais

Van Lenteren (1986), descreve os critérios que devem ser levados em consideração antes de iniciar um programa de criação massal: a) o número efetivo de indivíduos para iniciar uma criação massal é muito menor do que o número de indivíduos fundadores, assim, comece com uma população grande; b) leve em conta os fenômenos dependentes de densidade (use gaiolas grandes); c) crie um balanço apropriado de competição, mas evite superpovoamento; d) ajuste as condições ambientais para o melhor genótipo, não para o pior ou o médio; use condições abióticas flutuantes; e) mantenha populações de laboratório separadas e cruze-as sistematicamente para aumentar a variabilidade do F1; f) meça as frequências de marcadores morfológicos e bioquímicos das populações fundadoras e monitore as mudanças; g) desenvolva marcadores genéticos, morfológicos e bioquímicos para estudos de população e h) determine os padrões que se aplicam para o uso dos insetos, e então adapte os procedimentos de criação para maximizar os parâmetros correspondentes na população domesticada.

Parra (2002), fala da importância de se ter uma criação massal de insetos, como base de um programa de controle biológico aplicado, embora ela possa não ser suficiente para que o programa como um todo seja bem-sucedido. Parra (1992), enfatiza que não se pode iniciar uma criação massal, sem antes ter existido a criação de pesquisa; e para a condução da criação massal, deve haver a construção de um laboratório adequado, com o mínimo de instalações que permitam a produção dos insetos desejados com boa qualidade, sem problemas de sanidade, tão comuns em criações em larga escala.

Segundo Parra (1990 e 1996), as instalações devem ser adequadas, com separação de locais para cada atividade; a entrada de pessoas estranhas ao laboratório deve ser rigorosamente fiscalizada, pela possibilidade de introdução de contaminantes externos.

Prezotti e Parra (2002), destacam que existem três elementos que devem ser controlados dentro de uma criação massal: a produção, o processo e o produto. O controle da produção é a garantia de que a criação do inseto e as operações a ela associadas estão sendo executadas, sendo o desempenho dessas operações controlado diretamente pelo monitoramento dos procedimentos, equipamentos e ambiente. O controle do processo refere-se ao ajuste desses procedimentos de criação por meio do monitoramento do produto inacabado, comparando-o com padrões preestabelecidos. O controle do produto visa assegurar que os insetos encontrem-se em condições apropriadas para tratamento, manuseio e utilização. A distribuição e o acompanhamento da eficiência no controle das populações-alvo são as operações finais (LEPPLA; FISHER, 1989).

c) Problemas encontrados em criações massais

Segundo Bush, Neck e Kitto (1976)³ citado por Bueno (2000), os fatores que influenciam a mudança nas populações de campo quando introduzidas em laboratório são os seguintes: características de dispersão, especialmente comportamento de vôo do adulto e dispersão larval, pois elas, podem ser severamente restringidas em condições de laboratório.

Para Bartlett (1984a), os fatores que influenciam as mudanças nas populações de campo introduzidas em laboratório são as seguintes: a) comportamentos dependentes da densidade (ex. eficiência de busca) podem ser afetados no laboratório e b) processos de seleção no acasalamento podem ser alterados porque fêmeas não copuladas ou previamente copuladas terão dificuldade de escaparem.

De acordo com Lerner (1958)⁴ citado por Bueno (2000), os fatores que influenciam as mudanças nas populações de campo quando introduzidas em laboratório são os seguintes: a) as populações de laboratório são mantidas em ambientes constantes com fatores abióticos estáveis (luz, temperatura, umidade) e fatores bióticos constantes (alimento, não predação ou parasitismo), não há seleção para contrapor às pressões inesperadas. O resultado é uma mudança nos critérios que determinam a adaptação, e uma modificação de todo um sistema genético; b) não há competição interespecífica nas populações do laboratório como resultado de uma possível mudança na variabilidade genética; c) as condições de laboratório são apropriadas para um genótipo médio, algumas vezes para aquele mais pobre. Nenhuma mudança do ambiente é possível se todos os indivíduos forem confinados no mesmo ambiente. O resultado é um possível decréscimo na variabilidade genética.

Bueno (2000), enfatiza que um dos problemas freqüentemente encontrados em criações de insetos é a ocorrência de patógenos ou contaminantes microbianos, conduzindo a uma alta mortalidade, desenvolvimento prolongado, adultos diminutos, amplas flutuações na qualidade dos insetos e efeitos patológicos diretos. Para o mesmo

³ BUSH, G. L.; NECK, R. W.; KITTO, G. B. Screwworm eradication: inadvertent selection for noncompetitive ecotypes during mass rearing. *Science*, Washington, v. 193, n. 4252, p. 491-493. Aug. 1976.

⁴ LERNER, I. *Genetic basis of selection*. New York: John Wiley, 1958. 298 p.

autor, o contaminante microbiano mais comum encontrado em criações de insetos são os fungos, seguidos por bactérias, vírus, protozoários e nematóides; os insetos coletados no campo para iniciar uma colônia no laboratório são a principal fonte de contaminantes microbianos e a segunda fonte são os ingredientes da dieta.

Bartlett (1984b), salienta que para evitar contaminações, a desinfecção dos insetos e ingredientes empregados na dieta artificial devem ser realizados, pois se não forem tomados esses cuidados, a contaminação pode ser evidenciada rapidamente, mas a eliminação do patógeno pode ser muito complicada.

Segundo Macedo (2000), as contaminações por fungos e bactérias são provavelmente as causas dos maiores problemas na produção em alta escala nos laboratórios, por isso, a assepsia em todos os ambientes do laboratório e fases do processo é de fundamental importância. Todos os esforços e produtos utilizados diretamente para conter as contaminações em todo o processo, serão em vão se o ambiente não reunir boas condições de assepsia, com baixo potencial de inóculos. Segundo o mesmo autor, as contaminações por protozoários têm sido ultimamente as mais frequentes e difíceis de controlar, por não haver produtos específicos contra esses microrganismos e pela transmissão ocorrer de uma geração para outra. Há protozoários presentes em praticamente todas as criações, e conforme o nível de infecção, os sintomas são mais ou menos perceptíveis.

De acordo com Parra (1996), se microrganismos como fungos, bactérias, leveduras, vírus, protozoários, entre outros, não forem eliminados na criação de insetos em dieta artificial, poderão dizimar populações, pois em criações massais sua dispersão é facilitada. O mesmo autor enfatiza que, em grandes criações, especialmente em países mais desenvolvidos, os cuidados para evitar a proliferação de microrganismos chegam a níveis de alta sofisticação. Parra (2002), salienta que os problemas de sanidade nas criações de insetos em dietas artificiais, aumentam à medida que aumenta a população deste inseto.

Parra (2002), informa que a qualidade do inseto produzido é outro fator importante em uma criação massal, e para evitar problemas, deve-se começar a criação com um número razoável de insetos, pois geralmente, quando uma população de inseto

é introduzida em laboratório, ocorre queda da variabilidade genética em virtude da deriva genética, da seleção e do cruzamento entre irmãos (*inbreeding*) nas primeiras gerações. Somente por volta da quinta à sétima geração é que ocorre a recuperação dessa variabilidade devido a mutações e recombinações (LEPPLA; FISHER, 1989; PARRA, 2002).

Segundo Parra (1990, 1992 e 1996), é muito importante que sejam levados em consideração os problemas de alergia resultantes da atividade diária com os insetos, pois existem pessoas bastante alérgicas especialmente às escamas de Lepidoptera.

d) Insetos criados em dietas artificiais

Bavaresco *et al.* (2004), criaram *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lep.: Noctuidae) na dieta artificial utilizada para *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lep.: Crambidae) recomendada por Parra (1996).

Fukuzawa *et al.* (2004), criaram *Ostrinia palustralis* (HÜBNER, 1796) (Lepidoptera: Crambidae, na planta hospedeira e em duas dietas artificiais comercialmente conhecidas como Silkmate 2M e Silkmate L4M que são utilizadas no Japão para a criação do bicho-da-seda.

Genc e Nation (2004), criaram *Phyciodes phaon* (Edwards) (Lepidoptera: Nymphalidae) em dieta artificial e observaram que a adição de folhas secas e congeladas da planta hospedeira na dieta, igual a 10% do peso seco dos ingredientes, melhorou a taxa de sobrevivência e fertilidade dos adultos e aumentou a taxa de sobrevivência das lagartas.

Santos (2003) e Parra (1986), criaram lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner 1818 (Lep.: Noctuidae) em laboratório e em dieta artificial, infectadas com seu vírus de poliedrose nuclear, cujo objetivo era a produção de um bioinseticida à base desse vírus.

Bernardi *et al.* (2000), testaram seis dietas artificiais para a criação de *Corcyra cephalonica* (STANTON, 1865) (Lep.: Pyralidae) para a produção massal de *Trichogramma* spp.

Mihsfeldt (1985), fez um estudo em laboratório comparando diferentes dietas artificiais para a criação de *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (Lep.: Crambidae).

3.4 GÊNERO *Populus*

3.4.1 Classificação Botânica

O gênero *Populus* pertence à Divisão: Phanerogamae, Subdivisão: Angiospermae, Classe: Dicotyledonae, Subclasse: Monochlamydae, Grupo: Amentiflorae e Família: Salicaceae. Este gênero é dividido em cinco grupos ou seções: Turanga, Leuce, Aigeiros, Tacamahca e Leucoides, cuja importância, distribuição e interesse econômico são desiguais (FAO, 1980).

3.4.2 Área de Dispersão

A família Salicaceae, compreende dois gêneros (*Salix* e *Populus*), com aproximadamente 350 espécies. Destas, poucas são tropicais, a maioria delas estão distribuídas na zona temperada do Hemisfério Norte e da Zona Subártica. O gênero *Populus* é representado por mais de 100 espécies dispersas nas regiões boreais e subtropicais, sendo diversas delas, cultivadas nas regiões frias e temperadas de ambos os hemisférios (REITZ, 1983).

Segundo Partarrieu (2006), o gênero *Populus* tem aproximadamente 35 espécies nativas no Hemisfério Norte (Europa, América do Norte e Ásia), e em uma pequena região da África. Estas 35 espécies se classificam em 6 seções de acordo com aspectos morfológicos, distribuição geográfica e capacidade de reprodução.

Medeiros e Hoppe (2002), enfatizam que o gênero *Populus* apresenta uma grande variedade de espécies amplamente distribuídas no Hemisfério Norte, e destacam

que o *Populus deltoides* (Álamo), é originário do leste da América do Norte, e é amplamente utilizado em florestamentos e reflorestamentos para a produção de madeira, vigas de pontes, mourões, arborização e paisagismo.

3.4.3 Plantios de *Populus* no Mercosul

O *Populus* spp. possui uma grande importância econômica nos países do Mercosul, especialmente na Argentina, onde é o terceiro gênero mais plantado, juntamente com o Uruguai e o Chile, totalizando mais de 140.000 ha plantados na região (FAO, 1979). De acordo com Casaubon *et al.* (2002), a Argentina possui uma área importante de cultivo de Salicáceas (*Populus deltoides* e *Salix* spp), representando a maior superfície do mundo plantada com estas espécies (65.000 ha). O mesmo autor, cita que as plantações de Álamos em Delta de Paraná (Argentina), ocupam aproximadamente 14.000 ha, tanto em solos de alto relevo como em solos planos.

Segundo Partarrieu (2006), atualmente existem cerca de 6.000 ha de plantio de *Populus* spp no Chile.

De acordo com Machado (2006), o Brasil atualmente possui cerca de 5.500 ha de plantio de *Populus* spp., destinados principalmente à indústria de fósforo para a fabricação de palitos e caixas.

3.4.4 Utilização da Árvore

A madeira de Álamo possui inúmeras utilizações, que dependem da região onde é cultivado e principalmente do desenvolvimento da indústria local. São utilizados na forma de toras, como madeira serrada (tábuas, vigas e ripas), na forma de partículas para fabricação de chapas e na forma de pasta para produção de celulose (FAO, 1980).

Segundo Medeiros e Hoppe (2002), no Brasil o Álamo vem sendo utilizado para a produção de palitos de fósforo, arborização, paisagismo, ou como espécie alternativa

para a produção de chapas do tipo OSB (chapas aglomeradas estruturais, com fibras orientadas no mesmo sentido). Os mesmos autores, salientam que os primeiros plantios homogêneos foram implantados no estado de Santa Catarina na década de 1980, obtendo bons resultados quanto ao crescimento inicial quando comparado com plantios em clima temperado.

A alta rentabilidade do Álamo e o seu grande uso na Europa e EUA é um incentivo para a sua propagação e exploração, em solos subtropicais, porém pouco se conhece sobre as exigências fisiológicas da espécie nestes solos, uma vez que todos os experimentos realizados com o Álamo foram feitos em solos de clima temperado (MEDEIROS; HOPE, 2002).

Por ser uma árvore de grande porte, pode ser utilizada como árvore ornamental, bem como para quebra-ventos e no reflorestamento de margens de rios (REITZ, 1983). Atualmente também está sendo utilizado como fitorremediador de contaminantes (remove elementos contaminantes nos solos ou nas águas) (ARANCIBIA, 2006).

Sendo bem tolerantes, estas podem ser plantadas em solos pobres e contaminados, uma vez que as Salicáceas se adaptam rapidamente ao aumento na concentração de metais no solo. Em função disso, existem muitos trabalhos sobre o acúmulo de traços de certos elementos nos tecidos de *Populus* spp., e uso potencial da mesma como planta bioindicadora de qualidade de solo (MADEJÓN, 2003).

Atualmente o Álamo é utilizado principalmente para a produção de polpa e papel, madeira para serraria, embalagens, chapas de partículas e energia. No Brasil, a maior parte dos povoamentos destina-se à indústria do fósforo, para fabricação de palitos e caixas. Um percentual bem menor está sendo plantado para a produção de lâminas e compensados (TECHELATCKA, 2001⁵ citado por SOUSA, 2002).

Existe uma nova política ambiental, na União Européia, de apoio ao cultivo intensivo de Álamo, em particular pela madeira ter alta qualidade tecnológica, assim como pela função favorável ao meio ambiente, que desempenha em relação ao seqüestro de carbono como filtro verde e na redução da pressão sobre as massas florestais naturais (SIMARRO, 2003).

⁵ TECHELATCKA, J. C. Entrevista concedida a Nilton José Sousa. Curitiba, 16 de julho de 2002.

3.4.5 Pragas

O Álamo é uma planta exigente de umidade e precisa de um abastecimento contínuo e constante de água; só não é necessária a rega quando seu sistema radicular encontra água por si só, ou quando o clima é continuamente úmido; pois o Álamo sofre com secas e é facilmente atacado por diferentes agentes prejudiciais: fungos e insetos (OLIVER, 1988).

Segundo Corrêa *et al.* (1999)⁶, a principal praga do *Populus* spp no Brasil é um lepidóptero fitófago chamado *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) (Crambidae, Pyrastinae), e conhecido popularmente por “Mariposa-do-Álamo”. Além deste, existem outros insetos com potencial de se tornarem pragas como a lagarta *Sabulodes caberata caberata* (Guenée, 1857) (Lep.: Geometridae), vulgarmente conhecida como lagarta mede-palmo do eucalipto; e as coleobrocas das famílias Scolytidae e Platypodidae.

De acordo com Diodato (1999), o ataque de *C. vestigialis* aos plantios de *Populus* spp é sempre em reboleira, isto é, por regiões ou áreas, e vai diminuindo gradativamente à medida que se afasta do centro da área de ocorrência do dano.

3.4.6 Ocorrência de *Condylorrhiza vestigialis* no Brasil

O primeiro registro de *C. vestigialis* em povoamentos de *Populus* spp., aqui no Brasil, foi feito por Marques *et al.* (1995); os autores destacaram a presença do inseto a partir de 1993, em povoamentos localizados no município de São Mateus do Sul – PR. Porém, Diodato e Pedrosa-Macedo (1996), afirmam que a primeira detecção de *C. vestigialis* em plantios de *Populus* na região Sul do estado do Paraná, foi feita por eles, em 1992.

A espécie *C. vestigialis* foi detectada como praga do gênero *Populus* spp., a partir da retomada da silvicultura desta espécie florestal no sul do Brasil (TREFFLICH; PORTELA, 1997).

⁶ CORRÊA *et al.* (1999). Relatório não publicado.

Segundo Diodato e Pedrosa-Macedo (1996), *C. vestigialis* passa o período de outono e inverno, que coincidem com a época de dormência característica do gênero *Populus* spp., na floresta nativa, próxima ao plantio. Estes mesmos autores evidenciam que os hospedeiros naturais de *C. vestigialis*, encontram-se nas florestas nativas, migrando posteriormente para plantios puros vizinhos onde encontram abundante fonte de alimento no período mais quente do ano, o que torna o gênero *Populus* um hospedeiro alternativo deste inseto.

3.5 ASPECTOS GERAIS DO CONTROLE DE *Condylorrhiza vestigialis*

Sousa (2002), testou vários inseticidas para o controle de *C. vestigialis*; alguns tinham ação principal de contato e pertenciam aos grupos: organofosforados, carbamatos e piretróides; outros eram inseticidas fisiológicos que tinham ação por ingestão e pertenciam aos seguintes grupos: benzoilureias e hidrazida e também testou mesclas de inseticidas que foram indicados por um índice classificatório parcial (ICP) desenvolvido pelo autor, sem grandes restrições, concluindo que a utilização de mesclas de inseticidas é uma alternativa viável para o controle deste agente causal.

Trefflich e Sousa (2000a), fizeram diferentes experimentos com *C. vestigialis* e, com base nos resultados obtidos, concluíram que todas as informações registradas poderão ser utilizadas para a implantação de um programa de manejo para o controle da Mariposa-do-Álamo.

Trefflich (1998), salienta que o controle de Mariposa-do-Álamo é problemático pois seu cultivo é realizado em área de várzea, e o emprego de produtos químicos nesta área, podem causar impactos negativos ao meio ambiente, sendo necessária a utilização de agentes biológicos e desenvolvimento de técnicas de manejo integrado para o controle desta praga.

Corrêa *et al.* (1996), evidenciaram que a utilização de produtos químicos no controle de *C. vestigialis* pode ocasionar sérios problemas ao meio ambiente, e por isso, é necessário o emprego de técnicas alternativas para o controle da mesma.

3.6 MANEJO INTEGRADO DE *Condylorrhiza vestigialis*

Sousa (2002), testou formulações comerciais de inseticidas biológicos para o controle de *C. vestigialis*, com ação de contato e ingestão e que são formulados com agentes biológicos contendo: bactéria (*Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*), fungos (*Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*) e vírus (*Baculovirus anticarsia*), chegando a conclusão de que se estes agentes biológicos forem utilizados juntamente com produtos químicos ou fisiológicos, podem ter um resultado mais satisfatório para o controle de *C. vestigialis*.

Trefflich e Sousa (2000b), testaram a eficiência em laboratório de três produtos para o controle de *C. vestigialis*: um produto biológico (*Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*), um fisiológico (derivado da uréia) e um piretróide químico (deltametrina), e chegaram a conclusão que estes produtos poderão ser utilizados em um programa de manejo integrado desta praga, desde que sejam feitos testes de campo para verificação da especificidade dos mesmos.

Trefflich (1999), analisou em laboratório a eficiência de dois produtos à base de fungos entomopatogênicos comparados a um inseticida químico para o controle da Mariposa-do-Álamo, e os resultados revelaram uma eficiência de 100% para o inseticida químico (Clorpirifos) e nenhuma ação para os produtos à base de fungos (*Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*).

Diodato e Pedrosa-Macedo (1996), ressaltam que é importante a utilização de inimigos naturais na aplicação de um programa de controle biológico de *C. vestigialis*.

Corrêa *et al.* (1996), testaram a eficiência de *Baculovirus anticarsia* e *Nomuraea rileyi* para o controle de *C. vestigialis*. Os resultados mostraram pouca eficiência desses agentes para controle, mas mesmo assim, os autores ressaltaram que existem indicativos de que *N. rileyi* poderá ser utilizado futuramente em um MIP da Mariposa-do-Álamo.

Experimentos com *C. vestigialis* levados a cabo no Laboratório de Proteção Florestal da UFPR (Universidade Federal do Paraná), mostraram que indivíduos alimentados com folhas de Álamo, em sua maioria, tiveram morte repentina; análises destes insetos indicaram a presença de vírus entomopatogênicos. (SOUSA, 2006a).

3.7 VÍRUS DE *Condylorrhiza vestigialis*

Em 2002, lagartas coletadas em campo com sintomatologia típica de virose, foram analisadas em microscópio óptico na Embrapa-Soja (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e na Universidade Federal do Paraná (UFPR), evidenciando que os corpos poliédricos observados eram típicos de vírus entomopatogênicos (SOUSA, 2006a).

De acordo com Castro *et al.* (2003), a descoberta de um baculovírus abre perspectivas promissoras de sua utilização no controle biológico de *C. vestigialis*, em um programa de manejo integrado desta praga. Segundo os mesmos autores, a multiplicação do vírus de *C. vestigialis* em laboratório, é feito através da infecção de lagartas sadias criadas em dieta artificial.

Atualmente um baculovírus descoberto na Mariposa-do-Álamo conhecido por *Condylorrhiza vestigialis multiplenucleopolyhedrovirus* (CvMNPV) (Família: *Baculoviridae*, Gênero: *Nucleopolyhedrovirus*), vem sendo estudado e caracterizado por Castro *et al.* (2004a).

Segundo Castro *et al.* (2004a), este baculovírus produz dois tipos de fenótipos denominados “budded vírus” (BVs) e “occluded vírus” (OVs ou PIBs), que são partículas altamente infecciosas responsáveis pela disseminação e propagação da doença; os poliedros (PIBs), são responsáveis pela transmissão do vírus de inseto para inseto (CASTRO *et al.*, 2004a).

Castro *et al.* (2004b), fizeram testes em diferentes linhagens celulares de alguns lepidópteros, utilizando *Condylorrhiza vestigialis multiplenucleopolyhedrovirus* (CvMNPV), e chegaram a conclusão de que duas linhagens se apresentaram permissivas ao CvMNPV (SF-21 e UFL-AG-286), porém, SF-21 foi a mais suscetível e produtiva a esse baculovírus, fato que merece destaque por se tratar de uma linhagem derivada de *Spodoptera frugiperda*, espécie diferente da hospedeira natural.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO

As lagartas de *C. vestigialis* utilizadas neste trabalho, procederam de uma criação massal especialmente desenvolvida para este fim. Os materiais biológicos que deram início a esta criação foram coletados aleatoriamente em viveiros e plantios de *Populus* spp., localizados nos municípios de São Mateus do Sul – PR, nas Fazendas São Joaquim e São João Batista, pertencentes à “Companhia Florestal Guapiara” e Porto União - SC, Fazenda Pintado, pertencente à empresa “Swedish Match do Brasil S.A.”

O material coletado consistiu em folhas de *Populus* spp. contendo insetos em suas diversas fases, acondicionados em caixas ou sacos plásticos e enviados ao Laboratório de Proteção Florestal da UFPR, localizado no município de Curitiba - PR.

a) Geração F₁

No laboratório, o material originário do campo foi triado (ovos, lagartas, pré-pupas, pupas e adulto) (FIGURA 1), e acondicionado em caixas plásticas menores chamadas caixas de criação e colocados em uma sala denominada sala de criação. Os dados relacionados à temperatura e umidade relativa do ar, nesta sala de criação, foram anotados diariamente com o auxílio de um termohigrômetro digital de parede modelo HT200, e os valores médios foram os seguintes: temperatura máxima e mínima de: $26,09^{\circ}\text{C} \pm 0,87^{\circ}\text{C}$ e $22,96^{\circ}\text{C} \pm 1,32^{\circ}\text{C}$, respectivamente e umidade relativa do ar máxima e mínima de: $77,11\% \pm 3,59\%$ e $65,48\% \pm 3,54\%$, respectivamente.

Nesta sala, as lagartas foram alimentadas diariamente com folhas de *Populus* spp. Quando atingiam a fase de pupa, eram colocadas em recipiente de vidro até o momento da emergência dos adultos. Estes, após a emergência, eram transferidos para uma gaiola de acrílico, onde eram alimentados com uma solução aquosa de mel de abelha a 50% embebido em algodão.

Diariamente, os papéis que revestiam esta gaiola eram trocados, pois nestes as fêmeas realizavam a postura dos ovos. Neste momento, era renovada a solução de mel e água e os adultos mortos eram retirados da gaiola. Os papéis com os ovos de *C. vestigialis* eram acondicionados em caixas de criação e cada folha de papel era intercalada com folhas de *Populus* spp., após eclosão das lagartas (geração F₁)⁷. Estas, dependendo do número, eram divididas em outras caixas e criadas com folhas de *Populus* spp. de acordo com a descrição feita acima até a fase de pupa. As pupas da geração F₁ também foram acondicionadas em recipientes de vidro, até a emergência dos adultos. Estes adultos foram colocados em caixa de acrílico e criados com os mesmos procedimentos de alimentação e coleta dos ovos descritos anteriormente.







b) Geração F₂

As posturas da geração F₁ foram acondicionadas em recipientes específicos, e as lagartas obtidas destes ovos (geração F₂)⁸, foram também criadas em folhas de *Populus* spp. Parte das posturas dos adultos originados desta geração foi utilizada nos testes deste trabalho e as demais foram utilizadas para a manutenção da colônia de insetos. À medida que os testes com as dietas avançavam utilizavam-se novos lotes de lagartas e quando necessário eram realizadas novas coletas de campo que passavam pelos procedimentos descritos neste item 4.1.

⁷ Primeira geração filial de um cruzamento.

⁸ Segunda geração filial de um cruzamento.

FIGURA 1- FASES BIOLÓGICAS DE *C. vestigialis*

| | |
|---|--|
|  |  |
| <p>Foto: Edilene B. Machado (Swedish Match do Brasil S. A.) Ovos</p> | <p>Foto: Nilton J. Sousa Lagartas</p> |
|  |  |
| <p>Foto: Nilton J. Sousa Pré-Pupa</p> | <p>Foto: Nilton J. Sousa Pupa</p> |
|  |  |
| <p>Foto: Nilton J. Sousa Fêmea</p> | <p>Foto: Nilton J. Sousa Macho</p> |

4.2 DESCRIÇÃO DAS DIETAS ARTIFICIAIS UTILIZADAS

a) Primeira etapa

Nesta primeira etapa, foi testada uma formulação de dieta artificial que é utilizada com sucesso na criação massal de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lep.: Noctuidae) e duas formulações utilizadas para a criação massal de *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (Lep.: Crambidae). A opção de utilizar estas dietas teve embasamento em dois fatores observados em literatura especializada.

a) O primeiro é que a dieta artificial desenvolvida por Greene *et al.* (1976), para a criação de *A. gemmatalis* (TABELA 1), é usualmente recomendada como a primeira opção quando se deseja desenvolver uma formulação para um lepidóptero que nunca foi criado com dieta artificial, sendo que à medida que esta não apresenta os resultados desejados, são realizadas alterações até que se obtenha a formulação adequada para o inseto que se pretende criar, fato que ocorreu neste trabalho.

b) O segundo, levou em consideração o fato de *D. saccharalis* pertencer à família Crambidae que é a mesma família de *C. vestigialis*. Assim, foram testadas duas formulações diferentes de dietas artificiais, que são utilizadas com sucesso na criação de *D. saccharalis*, desenvolvidas por Hensley e Hammond (1968) e por Mihsfeldt e Parra (1986) (TABELA 1).

TABELA 1 - DIFERENTES DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS NA PRIMEIRA ETAPA DE CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

| Dieta de Greene <i>et al.</i> (1976), utilizada para a criação de <i>A. gemmatalis</i>. | | Dieta de Hensley e Hammond (1968), utilizada para a criação de <i>D. saccharalis</i>. | | Dieta de Mihsfeldt e Parra (1986), utilizada para a criação de <i>D. saccharalis</i>. | |
|--|------------|--|------------|--|------------|
| Ingredientes | Proporções | Ingredientes | Proporções | Ingredientes | Proporções |
| Feijão branco | 56,25 g | Germe de trigo | 27 g | Germe de trigo | 15 g |
| Germe de trigo | 45 g | Sacarose | 45 g | Farelo de soja | 54 g |
| Proteína de soja | 22,5 g | Caseína | 27 g | Açúcar | 52,50 g |
| Caseína | 22,5 g | Cloreto de colina | 0,90 g | Cloreto de colina | 0,40 g |
| Levedura de cerveja | 28,15 g | Sais de Wesson | 9 g | Sais de Wesson | 7,50 g |
| Nipagim | 2,25 g | Nipagim | 1,35 g | Nipagim | 3,00 g |
| Ácido sórbico | 1,35 g | Ácido ascórbico | 3,60 g | Ácido ascórbico | 1,90 g |
| Ácido ascórbico | 2,70 g | Aureomicina (Tetrex) | 0,25 g | Tetrex ou Wintomylon | 0,13 g |
| Tetrex ou tetraciclina | 0,85 g | Ágar | 18 g | Ágar | 11,30 g |
| Ágar | 17,5 g | Formaldeído (37,2%) | 0,45 ml | Formol | 0,75 ml |
| Formol 37% | 2,70 ml | Solução vitamínica (1) | 9 ml | Solução vitamínica (1) | 11,30 ml |
| Solução vitamínica (1) | 6,75 ml | Água destilada | 780 ml | Vita Gold | 0,40 ml |
| Água destilada | 900 ml | | | Água destilada | 900 ml |

(1) Segundo informações fornecidas pelo Laboratório de Entomologia da ESALQ/USP, a solução vitamínica utilizada nesta dieta foi desenvolvida por PARRA (1999), é composta por: biotina 0,02 mg, ácido fólico 0,25 mg, piridoxina 0,25 mg, tiamina 0,25 mg, riboflavina 0,50 mg, pantotenato de cálcio 1,00 mg, niacinamida 1,00 mg, vitamina B12 0,002 mg e inositol 20,00 mg. Todos os componentes do complexo vitamínico podem ser adquiridos no mercado nacional, e são formulados em via úmida (vitamina B12) e via seca (os demais). Para obter a solução vitamínica, deve-se misturar as duas vias em um litro de água destilada e após sua utilização, conservá-la em ambiente refrigerado.

b) Segunda etapa

Nesta segunda etapa, foram testadas três formulações baseadas na dieta artificial desenvolvida por Greene *et al.* (1976), para a criação de *A. gemmatalis*, conforme descrição na TABELA 2.

TABELA 2 - ALTERAÇÕES NA DIETA ARTIFICIAL PROPOSTA POR GREENE *et al.* (1976), NA SEGUNDA ETAPA DO TRABALHO DE CRIAÇÃO DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

| Dieta de Greene <i>et al.</i> (1976) | | Dieta de Greene alterada-1 | |
|---|----------------|---|---------------|
| Ingredientes | Proporções | Ingredientes | Proporções |
| Feijão branco | 56,25 g | Feijão branco | 56,25 g |
| Germe de trigo | 45 g | Germe de trigo | 45 g |
| Proteína de soja | 22,5 g | Proteína de soja | 22,5 g |
| Caseína | 22,5 g | Caseína | 22,5 g |
| Levedura de cerveja | 28,15 g | Levedura de cerveja | 28,15 g |
| Nipagim | 2,25 g | Nipagim | 2,25 g |
| Ácido sórbico | 1,35 g | Folhas de <i>Populus</i> spp. liofilizadas | 13 g |
| Ácido ascórbico | 2,70 g | Ácido ascórbico | 3,50 g |
| Tetrex ou tetraciclina | 0,85 g | Tetrex ou tetraciclina | 0,85 g |
| Ágar | 17,5 g | Ágar | 17,5 g |
| Formol 37% | 2,70 ml | Formol 37% | 2,70 ml |
| Solução vitamínica (1) | 6,75 ml | Solução vitamínica (1) | 6,75 ml |
| Água destilada | 900 ml | Água destilada | 900 ml |
| Dieta de Greene alterada-2 | | Dieta de Greene alterada-3 | |
| Ingredientes | Proporções | Ingredientes | Proporções |
| Feijão branco | 56,25 g | Feijão branco | 56,25 g |
| Germe de trigo | 45 g | Germe de trigo | 45 g |
| Proteína de soja | 22,5 g | Proteína de soja | 22,5 g |
| Caseína | 22,5 g | Caseína | 22,5 g |
| Levedura de cerveja | 28,15 g | Levedura de cerveja | 28,15 g |
| Nipagim | 2,25 g | Nipagim | 2,25 g |
| Folhas de <i>Populus</i> spp. liofilizadas | 13 g | Folhas de <i>Populus</i> spp. liofilizadas | 13 g |
| Ácido ascórbico | 3,50 g | Ácido ascórbico | 3,50 g |
| Tetrex ou tetraciclina | 0,85 g | Tetrex ou tetraciclina | 0,85 g |
| Ágar | 17,5 g | Ágar | 17,5 g |
| Formol 37% | 2,70 ml | Formol 37% | 2,70 ml |
| Solução vitamínica (1) | 13,5 ml | Solução vitamínica de Vanderzant (2) | 20 ml |
| Água destilada | 900 ml | Água destilada | 900 ml |

(1) Ver descrição abaixo da TABELA 1.

(2) O Complexo Vitamínico de Vanderzant, utilizado nesta dieta é o mesmo descrito por PARRA (1996) e contém os seguintes componentes: Niacinamida (4 mg); Pantotenato de cálcio (4 mg); Tiamina (1 mg); Riboflavina (2 mg); Piridoxina (1 mg); Ácido fólico (1 mg); Biotina (0,08 mg); Vitamina B₁₂ (0,008 mg), Água destilada (400 ml).

A primeira mudança na formulação da dieta de Greene *et al.* (1976), consistiu no acréscimo de folhas de *Populus* spp. liofilizadas e no aumento da concentração de um conservante (ácido ascórbico), pois a introdução das folhas, em experimentos preliminares, sem o aumento deste conservante, fez com que a dieta oxidasse.

A segunda mudança na formulação da dieta de Greene *et al.* (1976), consistiu no acréscimo de folhas de *Populus* spp. liofilizadas, no aumento da concentração de ácido ascórbico e da solução vitamínica.

A terceira mudança na formulação da dieta de Greene *et al.* (1976), consistiu no acréscimo de folhas de *Populus* spp. liofilizadas, no aumento da concentração de ácido ascórbico e na substituição da solução vitamínica preconizada pelo Laboratório de Entomologia da ESALQ, pela solução vitamínica de Vanderzant; pois estudos preliminares com dietas artificiais demonstraram que, esta solução vitamínica foi bem aceita pelas lagartas de *C. vestigialis*.

O ácido sórbico foi retirado das formulações das dietas, pois segundo Dunkel e Read (1991), este ácido pode ser tóxico aos lepidópteros pertencentes à família Pyralidae, como *C. vestigialis* pertence à super-família Pyraloidea, optou-se por retirar este ingrediente.

c) Terceira etapa

Nesta etapa, foram testadas alterações na dieta artificial de *A. gemmatalis*, proposta por Hoffmann-Campo *et al.* (1985), que difere da dieta de Greene *et al.* (1976), nas proporções dos componentes utilizados e na composição das vitaminas utilizadas. As principais alterações efetuadas na dieta de Hoffmann-Campo *et al.* (1985), foram as proporções dos ingredientes, a retirada da tetramicina, a adição de formol puro, a adição de sais de Wesson, a substituição do complexo vitamínico pelo complexo vitamínico de Vanderzant, a adição de açúcar, óleo de soja e a substituição da proteína de soja por folhas de *Populus* spp. liofilizadas. O ácido sórbico voltou a

ser utilizado, pois ele faz parte da composição desta dieta. Esta dieta foi denominada Dieta Base 1 (DB1) (TABELA 3).

TABELA 3 - DIETA BASE 1 (DB1), PARA A CRIAÇÃO DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

| Dieta de Hoffmann-Campo <i>et al.</i> (1985) | | Dieta Base 1 (DB1) | |
|--|-------------------------------|---|---------------|
| Ingredientes | Proporções | Ingredientes | Proporções |
| Feijão Cozido (Rosinha, Carnaval ou Carioca) | 250 g | Feijão cozido (Carioca) | 15,6 g |
| Germe de trigo | 200 g | Germe de trigo | 12,5 g |
| Proteína de soja | 200 g | Folhas de <i>Populus</i> spp. liofilizadas | 10 g |
| Caseína | 100 g | Caseína | 6,25 g |
| Levedura de cerveja | 125 g | Levedura de cerveja | 7,8 g |
| Nipagim | 10 g | Nipagim | 0,63 g |
| Ácido sórbico | 6 g | Ácido sórbico | 0,38 g |
| Acido ascórbico | 12 g | Acido ascórbico | 0,75 g |
| Tetrex ou Tetramicina | 1 cápsula (± 250 a 500 mg) | Sais de Wesson (3) | 1 g |
| Ágar-agar | 75 g | Ágar-agar + gelatina incolor | 10 g + 3 g |
| Formol (40%) | 12 ml | Formol Puro | 0,75 g |
| Complexo vitamínico (2) | 20 a 30 ml | Complexo vitamínico de Vanderzant (4) | 20 g |
| Água destilada | 4000 ml | Açúcar | 3 g |
| | | Óleo de soja | 10 g |
| | | Água destilada | 300 ml |

(2) Segundo Hoffmann-Campo *et al.* (1985), o complexo vitamínico contém os seguintes componentes: biotina, ácido fólico, piridoxina, tiamina, riboflavina, pantotenato de cálcio, niacinamida e ácido ascórbico. Todos os componentes do complexo vitamínico podem ser adquiridos no mercado nacional formulados em via úmida (ácido ascórbico) e via seca (os demais). Misturando as duas formulações em 1 litro de água, é obtida a solução vitamínica, que deve ser conservada em geladeira.

(3) Os Sais de Wesson utilizado nesta dieta é o mesmo descrito por Parra (1996), onde foi feito a conversão de percentagem em grama: Carbonato de cálcio (10,5 g); Sulfato de cobre (5H₂O) (0,019 g); Sulfato de magnésio (4,5 g); Sulfato de potássio e alumínio (0,005 g); Iodeto de potássio (0,003 g); Cloreto de sódio (5,25 g); Fosfato tricálcico (7,45 g); Fosfato férrico (0,735 g); Sulfato de manganês (0,01 g); Cloreto de potássio (6 g); Monofosfato de potássio (15,5 g); Fluoreto de sódio (0,028 g).

(4) O Complexo Vitamínico de Vanderzant, utilizado nesta dieta é o mesmo descrito por Parra (1996) e contém os seguintes componentes: Niacinamida (4 mg); Pantotenato de cálcio (4 mg); Tiamina (1 mg); Riboflavina (2 mg); Piridoxina (1 mg); Ácido fólico (1 mg); Biotina (0,08 mg); Vitamina B₁₂ (0,008 mg), Água destilada (400 ml).

d) Quarta etapa

Nesta etapa, foram realizadas algumas alterações na Dieta Base 1 (DB1), como segue:

- Substituição das folhas de *Populus* spp. liofilizadas por folhas de *Populus* spp. desidratadas a sombra ou em estufas ventiladas. Houve esta substituição, pois o processo de liofilização é muito caro e por isso, inviável;
- Retirada do ácido sórbico da composição da dieta; pelo motivo descrito no item 4.2.b;
- Aumento da quantidade de açúcar, por ser considerado um fagoestimulante importante;
- Redução da quantidade de ágar-agar, pois este é um dos ingredientes mais caros da dieta;
- Retirada da gelatina incolor, pois a junção do ága-agar com a gelatina, fazia com que a dieta ficasse muito dura, e com isso, difícil de ser consumida por lagartas recém-eclodidas e também ficasse ressecada em menos tempo, quando comparada ao uso exclusivo de ágar-agar;
- Colocação de cloranfenicol na formulação, para evitar a contaminação da dieta por bactérias;
- Diminuição na concentração do formol;
- Alteração das quantidades dos componentes: caseína, levedura de cerveja, ácido ascórbico e nipagim, para facilitar a pesagem.

Além destas modificações, uma observação constatada no Laboratório de Populicultura da empresa Swedih Match, em Curitiba-PR, originou o acréscimo de mais um ingrediente a Dieta Base 2 (DB2), denominação dada a esta nova formulação (TABELA 4).

Esta constatação, foi que uma lagarta de primeiro ínstar de *C. vestigialis*, alimentava-se de um meio de cultura para fungos que tinha como componente principal o suco vendido comercialmente pela denominação de “V8”. Assim, optou-se por um teste preliminar onde este componente foi adicionado a dieta, obtendo ótimos

resultados na alimentação de lagartas de primeiros ínstaes, fato que originou a adição desse componente na dieta.

TABELA 4 - DIETA BASE 2 (DB2), PARA A CRIAÇÃO DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NA QUARTA ETAPA DO EXPERIMENTO

| Dieta Base1 (DB1) | | Dieta Base 2 (DB2) | |
|--|------------|---|-----------------|
| Ingredientes | Proporções | Ingredientes | Proporções |
| Feijão cozido (Carioca) | 15,6 g | Feijão cozido (Carioca) | 15,6 g |
| Germe de trigo | 12,5 g | Germe de trigo | 12,5 g |
| Folhas de <i>Populus</i> spp. liofilizadas | 10 g | Folhas de <i>Populus</i> spp. desidratadas | 10 g |
| Caseína | 6,25 g | Caseína | 7 g |
| Levedura de cerveja | 7,8 g | Levedura de cerveja | 8 g |
| Nipagim | 0,63 g | Nipagim | 1 g |
| Ácido sórbico | 0,38 g | Cloranfenicol | 0,0034 g |
| Acido ascórbico | 0,75 g | Acido ascórbico | 1 g |
| Sais de Wesson (3) | 1 g | Sais de Wesson (3) | 1 g |
| Ágar-agar + gelatina incolor | 10 g + 3g | Ágar-agar | 7 g |
| Formol Puro | 0,75 g | Formol 37% | 0,75 g |
| Complexo vitamínico de Vanderzant (4) | 20 g | Complexo vitamínico de Vanderzant (4) | 20 g |
| Açúcar | 3 g | Açúcar | 3,5 g |
| Óleo de soja | 10 g | Óleo de soja | 10 g |
| Água destilada | 300 ml | Suco V8 | 80 ml |
| | | Água destilada | 300 ml |

(3) Ver descrição abaixo da TABELA 3.

(4) Ver descrição abaixo da TABELA 3.

4.3 PREPARAÇÃO DAS DIETAS

Para a preparação das dietas, em todas as etapas deste trabalho, foi utilizada a metodologia empregada no Laboratório de Entomologia da ESALQ/USP, de acordo com a rotina descrita a seguir:

- Inicialmente todos os ingredientes utilizados foram pesados em balança digital analítica;
- A água destilada foi dividida em três partes iguais;

- A primeira parte foi batida no liquidificador juntamente com o ágar-agar por \pm 1 minuto, em seguida foi levada ao fogo para ser aquecido por mais ou menos 2 minutos;
- A segunda parte da água destilada foi colocada no liquidificador e batida juntamente com o feijão, o germe de trigo, a caseína, a levedura de cerveja, as folhas de álamos desidratadas e trituradas, açúcar, óleo de soja e o suco V8; todos estes ingredientes foram batidos no liquidificador por \pm 3 minutos;
- O ágar-agar após ser fervido e engrossado, teve a segunda parte já batida adicionada, e após levantar fervura (\pm 10 minutos), foi retirada do fogo;
- A terceira parte e última parte da água destilada foi levada ao liquidificador por \pm 3 minutos, juntamente com o nipagim, o ácido ascórbico, o cloranfenicol, o formol, o complexo vitamínico de Vanderzant e os sais de Wesson;
- Após levantar a fervura dos ingredientes presentes na primeira e na segunda fase do preparo da dieta, o fogo foi desligado e dentro do recipiente onde estavam os ingredientes, foi inserido um termômetro, até que o mesmo chegasse entre 60°C e 65°C , para que neste momento fosse acrescentada a terceira parte dos ingredientes já batidos no liquidificador, pois temperaturas acima de 65°C podem degradar os ingredientes que servem como conservantes e assim, os mesmos perderem sua eficiência;
- Após a mistura homogênea de todos os ingredientes, nas três diferentes fases de preparo, 10 ml da dieta preparada foram colocados dentro de cada tubo de PVC transparente (7,5 cm de altura e 3 cm de diâmetro) previamente lavados com água e sabão e esterilizados com álcool 70%, em seguida foram levados a uma câmara com luz ultra-violeta, para eliminação de focos de contaminação. Concluído este processo, os tubos contendo dieta eram armazenados em geladeira (FIGURA 2).

FIGURA 2 - PREPARO DAS DIETAS E CRIAÇÕES DE LAGARTAS DE *C. vestigialis* EM MEIO ARTIFICIAL



Foto: Renato de M. Corrêa
Preparo da Dieta



Foto: Flávia de A. S. F. Corrêa
Colocação da Dieta nos Potes de Criações



Foto: Flávia de A. S. F. Corrêa
Potes de Criações contendo Dieta Artificial



Foto: Nilton J. Sousa
Potes de Criações contendo Lagartas



Foto: Renato de M. Corrêa
Potes de Criações contendo Ovos



Foto: Renato de M. Corrêa
Potes de Criações Inclinados

4.4 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE LAGARTAS DE *C. vestigialis* NAS DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS

Na primeira, segunda e terceira etapa deste estudo, foram montados 30 tubos para cada formulação de dieta utilizada. Em cada tubo contendo 10 ml de dieta, foram colocados cinco ovos provenientes da criação massal descrita no item 4.1. Os ovos eram devidamente desinfetados, através da passagem do papel onde estavam as posturas, em solução de água sanitária a 5% por 5 minutos, com posterior lavagem em água destilada por mais 5 minutos. A colocação dos ovos nos tubos, foi feita com uso de um bico de Bunsen, para evitar focos de contaminação. Após a colocação dos ovos, os tubos foram devidamente vedados com algodão não hidrofóbico e numerados.

Na quarta etapa deste trabalho, foram montados 50 tubos para a formulação denominada Dieta Base 2 (DB2), seguindo os mesmos procedimentos descritos no parágrafo anterior. Esta alteração no número de tubos foi adotada, após um experimento preliminar que indicava a possibilidade de desenvolvimento de todas as fases do inseto nesta formulação, fato que remeteu a necessidade de uma maior fonte de informações.

Após a montagem descrita acima, em todas as etapas do trabalho, os tubos foram dispostos inclinados num ângulo de 30°C em estantes de aço, em uma sala aclimatizada com temperatura e umidade controladas, conforme descrição no item 4.1 a).

Diariamente os tubos foram observados individualmente, para a avaliação do desenvolvimento das lagartas desde a eclosão dos ovos até a formação da pupa.

Nestas observações, eram realizadas as seguintes anotações: número de ovos eclodidos; número de lagartas mortas; número de lagartas mortas por canibalismo; formação da pré-pupa; formação da pupa. Quando necessário, os tubos eram abertos em ambiente limpo, para a retirada de lagartas mortas e para a limpeza dos excrementos que ficavam armazenados dentro dos tubos.

Cinco dias após a formação das pupas, as mesmas foram retiradas dos tubos de criação, pesadas em balança analítica, individualizadas em potes plásticos transparentes contendo 4 cm de diâmetro e 5 cm de altura, numerados, armazenados em placas de alumínio, e depois colocados dentro da sala de criação com temperatura e umidade relativa conforme descrição no item 4.1 a).

Após a emergência dos adultos, fez-se a sexagem e a anotação de anomalias que poderiam acontecer como: má formação das asas, entre outros e foi determinada a razão sexual dos mesmos.

Os parâmetros biológicos avaliados em cada dieta e em todas as etapas do trabalho foram os seguintes:

- Número de ovos viáveis;
- Período de incubação dos ovos (em dias);
- Duração e viabilidade da fase larval (em dias e em %);
- Duração e viabilidade da fase de pré-pupa (em dias e em %);
- Duração e viabilidade da fase pupal (em dias e em %);
- Ciclo de vida (em dias);
- Peso das pupas fêmea e macho com 5 dias de idade (em gramas);
- Percentagem de adultos com deformações nas asas;
- Razão sexual;
- Viabilidade da dieta (em %).

Para facilitar a análise dos dados biológicos avaliados, estes foram agrupados em três níveis distintos de sobrevivência, como segue: a) de 0% a 33% foi considerado como “baixa viabilidade”; b) de 34% a 66% foi considerado como “média viabilidade”; c) de 67% a 100% foi considerado como “alta viabilidade”. É importante destacar que estes níveis foram determinados pela autora deste trabalho, com base em observações realizadas em estudos preliminares a esta dissertação.

As pupas foram pesadas somente com cinco dias de idade, pois em um estudo feito anteriormente, foi comprovado que quando recém-formadas (coloração verde claro), as pupas são bem sensíveis ao toque e muitas vezes, ao lado de uma pupa

recém-formada, tinha uma lagarta entrando na fase de pré-pupa e esta com certeza, se tocada tinha grande chance de ter má-formação; com período de cinco dias, não ocorreu nenhum problema de má-formação e morte, pois todos os indivíduos do recipiente, já estavam num estágio avançado da fase de pupa (coloração verde tendendo para o bege).

Razão sexual (rs) é a proporção entre o número de fêmeas e a soma do número de fêmeas e machos do inseto, por geração (SILVEIRA NETO *et al.*, 1976) e é calculada aplicando-se a seguinte fórmula:

$$rs = \frac{\text{número de fêmeas}}{\text{número de fêmeas} + \text{número de machos}}$$

4.5 DETERMINAÇÃO DOS ÍNSTARES LARVAIS DE *C. vestigialis* NA DIETA BASE 2 (DB2)

Em função dos resultados que foram obtidos, optou-se pela determinação de instares larvais apenas das lagartas que foram utilizadas na quarta etapa dos experimentos realizados com dietas artificiais.

Assim, foram montados para este fim 50 tubos com a Dieta Base 2 (DB2), seguindo a mesma metodologia e procedimentos descritos anteriormente para preparação dos tubos, inoculação dos ovos e criação das lagartas. Desta forma, após a eclosão, 10 lagartas eram retiradas a cada dia aleatoriamente, e eram acondicionadas em frascos contendo álcool 70%, específicos de cada dia de coleta. Este procedimento foi adotado até a fase de pré-pupa.

Concluída esta fase de coleta, as larguras das cápsulas cefálicas, das 10 lagartas mortas em cada dia do desenvolvimento larval, foram medidas através de uma ocular graduada, acoplada a um microscópio-estereoscópico.

Para determinação dos instares larvais, foi utilizada uma das metodologias preconizadas por Parra e Haddad (1989), conhecida como curva de distribuição de frequência, onde tomadas as medidas das larguras das cápsulas cefálicas da amostra

de lagartas, os dados são plotados de tal forma que no eixo das abscissas se tenha as larguras das cápsulas cefálicas e no eixo das ordenadas, as frequências de ocorrência; onde cada pico da curva multimodal de distribuição de frequência representará um ínstar.

4.6 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ADULTOS DE *C. vestigialis* OBTIDOS NA DIETA BASE 2 (DB2)

A exemplo do que foi relatado no item 4.5, os parâmetros descritos abaixo foram avaliados apenas para os adultos originários da quarta etapa dos experimentos, ou seja aqueles obtidos com a formulação denominada Dieta Base 2 (DB2), conforme descrição a seguir:

- Total de ovos/fêmea;
- Viabilidade dos ovos/dia da postura;
- Data da morte de cada indivíduo adulto.

Para observação destes parâmetros foram separados adultos de *C. vestigialis* emergidos no mesmo dia, na proporção de 2 machos para 1 fêmea, segundo recomendação proposta por MISKIMEN (1965). Esses adultos foram colocados em tubos de PVC com 14,5 cm de diâmetro e 15,5 cm de altura, perfazendo um total de 30 tubos. A parte interna de cada tubo foi revestido com papel sulfite (MENDES *et al.*, 1977 ; MENDES, 1980); que foi diariamente trocado e molhado. Os adultos foram alimentados com uma solução aquosa de mel de abelha a 50% embebido em algodão. A troca do alimento foi realizada diariamente para evitar que o mesmo fermentasse ou secasse. A extremidade superior do tubo foi tampada com “voil”.

Todos os ovos obtidos nas folhas de papel sulfite foram contados diariamente e colocados dentro de potes plásticos devidamente numerados; dentro destes, foram colocados tubos contendo dieta artificial, objetivando que as lagartas eclodidas migrassem para o interior dos tubos com dieta. Cinco dias após a data da postura, os ovos foram avaliados novamente para verificação e contagem dos ovos viáveis e inviáveis.

Este procedimento foi realizado na totalidade dos tubos e em todos os dias em que foram encontradas posturas.

4.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Após o término dos levantamentos do desenvolvimento das lagartas de *C. vestigialis* nas diferentes dietas artificiais, os valores dos diferentes parâmetros biológicos estudados nas diferentes etapas, foram submetidos à análise estatística pelo teste de comparação de médias, Student-Newman-Keuls (SNK), ao nível de 5% de probabilidade de erro, sendo o delineamento estatístico, em todas as fases do experimento inteiramente casualizado. O software utilizado para fazer esta análise estatística foi o STATIGRAFICS 4.1 PLUS.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 AVALIAÇÃO DAS DIETAS UTILIZADAS NAS DIFERENTES ETAPAS DO ESTUDO

5.1.1 Primeira Etapa

Nesta etapa do trabalho foram testadas dietas artificiais propostas por Greene *et al.* (1976), Hensley e Hammond (1968) e por Mihsfeldt e Parra (1986), como descrito no item 4.2.a. Dos 150 ovos utilizados em cada dieta testada nesta fase, observou-se uma viabilidade dos ovos da ordem de 98%, 98% e 96,67%, respectivamente (TABELA 5).

Três dias após a eclosão, 27,21%, 29,25% e 27,59% das lagartas haviam morrido, respectivamente. Ao completar 12 dias da data da eclosão, 89,72%, 100% e 100% das lagartas já haviam morrido, respectivamente. Com isso, apenas 2,44% dos insetos conseguiram completar seu ciclo, colocando 67,55% de ovos viáveis e férteis (TABELA 5). Isto indica duas possibilidades: a primeira é que as dietas testadas não foram atrativas ou palatáveis para as lagartas, mesmo na ausência de outra fonte de alimento. A segunda é que além da atratividade, as dietas testadas não possuíam os nutrientes necessários ao desenvolvimento dos insetos.

Além destas constatações, os dados obtidos demonstram que a dieta proposta por Greene *et al.* (1976), utilizada para a criação massal de *Anticarsia gemmatalis* e as dietas propostas por Hensley e Hammond (1968) e Mihsfeldt e Parra (1986), para a criação massal de *Diatraea saccharalis*, não são viáveis para a criação massal de *Condylorrhiza vestigialis*, pois contrariaram os princípios preconizados por Parra (2002), que indica que uma dieta artificial adequada, entre outros requisitos, deve possuir uma atratividade larval e originar adultos com alta capacidade reprodutiva.

Dessa forma, esta etapa do trabalho foi descartada e novos experimentos foram instalados, pois a meta do trabalho era testar e obter dietas artificiais que fossem atrativas para lagartas de *C. vestigialis*, principalmente as de 1^o até 3^o instares, que são mais seletivas.

TABELA 5 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS NA PRIMEIRA ETAPA DESTE TRABALHO

| Dados Biológicos Avaliados | Dieta proposta por Greene <i>et al.</i> (1976), para a criação de <i>A. gemmatalis</i> | Dieta proposta por Hensley e Hammond (1968), para a criação de <i>D. saccharalis</i> | Dieta proposta por Mihsfeldt e Parra (1986), para a criação de <i>D. saccharalis</i> |
|---|---|---|---|
| Número de ovos avaliados | 150 | 150 | 150 |
| Número e % de ovos não viáveis | 3 ovos (2%) | 3 ovos (2%) | 5 ovos (3,33%) |
| Número e % de ovos viáveis | 147 (98%) | 147 (98%) | 145 (96,67%) |
| Número e % de lagartas mortas 3 dias após a eclosão dos ovos | 40 lagartas (27,21%) | 43 lagartas (29,25%) | 40 lagartas (27,59%) |
| Número e % de lagartas mortas 12 dias após a eclosão dos ovos | 96 lagartas (89,72%) | 104 lagartas (100%) | 105 lagartas (100%) |
| Número e % de adultos emergidos | 11 adultos (7,48%) | 0 | 0 |
| Número de fêmeas emergidas | 6 | 0 | 0 |
| Número de machos emergidos | 5 | 0 | 0 |
| Número de ovos postos e % de ovos viáveis | 379 ovos (67,55%) | 0 | 0 |

5.1.2 Segunda Etapa

Nesta etapa do trabalho, foram avaliadas algumas alterações na dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976), pois foi ela, de acordo com o item 5.1.1., que propiciou um melhor desenvolvimento da criação de *C. vestigialis* na primeira etapa deste trabalho. Estas alterações propiciaram que três novas formulações baseadas na dieta de Greene fossem formuladas (TABELA 6).

Em cada dieta testada nesta etapa do trabalho 150 ovos foram avaliados. A viabilidade dos ovos foi alta obtendo os seguintes percentuais: 98%, 94,67% e 97,33%, para as dietas Greene alterada-1 (Greene alt. 1), Greene alterada-2 (Greene alt. 2) e Greene alterada-3 (Greene alt. 3), respectivamente.

A viabilidade da fase larval foi média nas duas primeiras dietas testadas nesta etapa do trabalho: 53,74% e 53,52%, respectivamente e foi baixa na terceira dieta testada: 28,08% (TABELA 6). Estes percentuais não são viáveis para uma criação de insetos, quando se objetiva desenvolver e/ou manter pesquisas em laboratório, pois ao longo das gerações, terá que sempre haver um aumento no número de insetos, para que a criação não acabe.

Comparando apenas o desenvolvimento larval, constata-se que houve uma diferença de ± 6 dias, entre a primeira e a terceira modificações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976) (TABELA 6). Este fato isoladamente, indicaria que a dieta Greene alt. 1 é a mais indicada para a criação de *C. vestigialis*, pois segundo Mihsfeldt (1985), a dieta que proporcionou um menor período larval é interessante para ser utilizada num programa de criação de insetos em laboratório. Porém, outros parâmetros devem ser considerados para esta definição.

A viabilidade da fase de pré-pupa, como mostra a TABELA 6, foi alta nas três dietas testadas nesta etapa do trabalho e foi maior para a dieta Greene alt. 2, seguida pela Greene alt. 1 e Greene alt. 3, respectivamente; novamente a dieta Greene alt.3, apresentou um menor percentual entre as dietas testadas nesta etapa. O fato da dieta Greene alt. 2 ter tido uma viabilidade superior nesta fase, pode ser explicada pela utilização do dobro de vitamina comparado à dieta Greene alt. 1. Este fato pode estar

associado ao maior armazenamento de energia na fase larval e conseqüentemente na maior produção de indivíduos saudáveis na fase pupal.

A viabilidade da fase pupal, quando comparada aos outros parâmetros biológicos avaliados nesta etapa do trabalho, foi média nas três dietas testadas nesta etapa do trabalho e foi maior para a dieta Greene alt.3, seguida pela Greene alt.1 e Greene alt.2, respectivamente (TABELA 6).

O fato da dieta Greene alt. 3, ter apresentado o maior percentual de viabilidade da fase pupal (51,72% contra 37,10% e 34,85% das dietas Greene alt. 1 e Greene alt. 2, respectivamente, provavelmente esta associado a adição da solução vitamínica de Vanderzant, pois em todos os outros parâmetros, esta dieta apresentou % inferiores às outras formulações testadas nesta fase (exceção para a viabilidade dos ovos).

Esta dedução está associada às citações das literaturas que indicam que, o armazenamento de energia na fase larval, através de fontes protéicas associadas às soluções vitamínicas adequadas, são imprescindíveis para a viabilidade das pupas, em função do consumo de energia que a lagarta tem para chegar à fase de pupa. Assim, como a adição desta solução vitamínica foi a única alteração feita em relação às outras formulações, é provável que esta tenha exercido influência na viabilidade das pupas criadas nesta dieta.

TABELA 6 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS ALTERAÇÕES DA DIETA PROPOSTA POR GREENE *et al.* (1976)

| Descrição dos Parâmetros Biológicos | Dieta de Greene alterada-1 | Dieta de Greene alterada-2 | Dieta de Greene alterada-3 |
|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Número de ovos avaliados | 150 | 150 | 150 |
| Número e % de ovos não viáveis | 3 ovos (2%) | 8 ovos (5,33%) | 4 ovos (2,67%) |
| Número e % de ovos viáveis | 147 (98%) | 142 (94,67%) | 146 (97,33%) |
| Período de incubação | 3 dias | 3 dias | 3 dias |
| Viabilidade da fase larval (%) | 53,74 | 53,52 | 28,08 |
| Duração da fase larval | 25,69 ± 5,80 dias | 27,79 ± 3,25 dias | 31,66 ± 6,44 dias |
| Número de lagartas mortas | 59 | 52 | 56 |
| Número de lagartas predadas | 9 | 14 | 49 |
| Número de lagartas vivas | 79 | 76 | 41 |
| Viabilidade da fase de pré-pupa (%) | 78,48 | 86,84 | 70,73 |
| Duração da fase de pré-pupa | 1 dia | 1 dia | 1 dia |
| Número de pré-pupas mal formadas | 17 | 10 | 12 |
| Viabilidade da fase pupal (%) | 37,10 | 34,85 | 51,72 |
| Duração da fase pupal | 9,83 ± 0,89 dias | 10,13 ± 1,77 dias | 9,13 ± 1,46 dias |
| Número de pupas formadas | 62 | 66 | 29 |
| Total de adultos emergidos | 23 | 23 | 15 |
| Número de adultos emergidos com defeito | 5 (4♀ e 1♂) | 6 (5♀ e 1♂) | 6 (5♀ e 1♂) |
| Número de adultos emergidos sem defeito | 18 (9♀ e 9♂) | 17 (8♀ e 9♂) | 9 (5♀ e 4♂) |
| Total de adultos não emergidos | 39 | 43 | 14 |
| Número de ovos postos e % de ovos viáveis. | 174 (67,24%) | 137 (64,23%) | 152 (67,11%) |

NOTA: ♀: fêmea e ♂: macho

5.1.3 Terceira Etapa

Como as dietas artificiais testadas anteriormente não apresentaram resultados satisfatórios, nesta terceira etapa do trabalho, foi testada uma nova dieta artificial modificada, nominada como Dieta Base 1 (DB1), conforme descrição no item 4.2.c.

Nesta etapa do trabalho foram avaliados 150 ovos, cuja viabilidade foi alta (100%) (TABELA 7). A viabilidade da fase larval foi muito baixa, apenas 2%, fato que deve estar associado a baixa atratividade da dieta ao inseto, ou a falta de algum ingrediente nutricional importante em sua composição. As prováveis causas desta baixa viabilidade larval podem estar associadas: a utilização de folhas de *Populus* spp. liofilizadas e a utilização de açúcar, ambos com função atrativa, que não conseguiram desencadear atratividade no inseto, especialmente para as lagartas de primeiro até terceiro ínstaes que são mais seletivas.

A utilização de formol na concentração de 100% e não a 37% como estava sendo utilizado anteriormente, e na mesma dosagem, provavelmente não exerceu grande influência sobre a baixa percentagem de pupas formadas, pois a quantidade utilizada foi pequena. Mas novos estudos que afirmem ou neguem esta hipótese devem ser realizados.

Em relação a adição de ácido sórbico, não foi possível determinar se este exerceu alguma influência na alta mortalidade das lagartas, pois seria necessário realizar estudos mais aprofundados a este respeito. Entretanto a citação de Dunkel e Read (1991) deve ser considerada, pois nela é relatado que este ácido pode ser tóxico aos lepidópteros pertencentes à família Pyralidae assim, como *C. vestigialis* pertence à super-família Pyraloidea, talvez este componente possa ter exercido efeito negativo sobre os insetos testados nesta etapa.

A carência nutricional pode ter influenciado na sobrevivência das pupas, que não conseguiram emergir. Este fato pode estar associado à baixa acumulação de gordura no corpo das lagartas, fato que normalmente é observado em fontes alimentares com baixa qualidade (TABELA 7).

TABELA 7 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS ALTERAÇÕES DA DIETA PROPOSTA POR HOFFMANN-CAMPO *et al.* (1985), DENOMINADA DIETA BASE 1 (DB1)

| Descrição dos Parâmetros Biológicos | Dieta Base 1 (DB1) |
|--|---------------------------|
| Número de ovos avaliados | 150 |
| Número e % de ovos não viáveis | 0 (0%) |
| Número e % de ovos viáveis | 150 (100%) |
| Período de incubação dos ovos | 3 dias |
| Viabilidade da fase larval (%) | 2 |
| Duração da fase larval | 35 ± 1 dia |
| Número de lagartas mortas | 146 |
| Número de lagartas predadas | 1 |
| Número de lagartas vivas | 3 |
| Viabilidade da fase de pré-pupa (%) | 100 |
| Duração da fase de pré-pupa | 1 dia |
| Número de pré-pupas mal formadas | 0 |
| Viabilidade da fase pupal (%) | 100 |
| Duração da fase pupal | Não constatado (1) |
| Número de pupas formadas | 3 |
| Total de adultos emergidos | 0 |
| Número de adultos emergidos com defeito | 0 |
| Número de adultos emergidos sem defeito | 0 |
| Total de adultos não emergidos | 3 |
| Número de ovos postos e % de ovos viáveis. | 0 |

(1) Nesta dieta não houve a emergência de adultos, por isso, a duração da fase larval não pode ser determinada.

5.1.4 Quarta Etapa

Nesta etapa do trabalho, foi testada uma nova formulação de dieta artificial, nominada de Dieta Base 2 (DB2), baseada em alterações feitas na Dieta Base 1 (DB1).

Nesta etapa do trabalho foram avaliados 250 ovos cuja viabilidade foi alta (97,2%) (TABELA 8). A viabilidade da fase larval foi alta (88,48%), o que indica que o agente fagoestimulante utilizado foi eficiente, melhorando a atratividade da dieta, fato que não aconteceu na Dieta Base 1. Neste caso, este efeito pode estar relacionado ao uso de folhas de *Populus* spp. desidratadas, juntamente com o suco V8 e o açúcar.

Os dados da TABELA 8, demonstram que a Dieta Base 2, foi a que propiciou que as lagartas se desenvolvessem num menor período de tempo ($19,40 \pm 2,41$ dias), comparado às três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976) e a Dieta Base 1 ($25,69 \pm 5,8$ dias, $27,79 \pm 3,25$ dias, $31,66 \pm 6,44$ dias e 35 ± 1 dia, respectivamente), e também foi a que proporcionou uma viabilidade maior para a fase larval (88,48%), comparado com às três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976) e a Dieta Base 1 (53,74%, 53,52%, 28,08% e 2%, respectivamente).

O tempo necessário para a criação das lagartas na Dieta Base 2 ($19,40 \pm 2,41$ dias), está bem próximo ao encontrado por Diodato (1999) ($19,5 \pm 1,6$ dias), para criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus deltoides*, em temperatura constante de 25°C e 90% de umidade relativa.

A viabilidade da fase de pré-pupa também foi alta (96,28%), o que comprova que uma alimentação de boa qualidade na fase larval, na maioria das vezes faz com que todo o desenvolvimento do ciclo biológico do inseto em estudo ocorra com sucesso.

A viabilidade pupal também foi alta (95,17%) (TABELA 8), mostrando que a dieta artificial utilizada nesta etapa do trabalho foi atrativa e nutricionalmente adequada, proporcionando que o inseto em estudo armazenasse energia na fase larval produzindo indivíduos adultos sadios. O tempo de vida (fase compreendida desde a data da postura dos ovos até a emergência dos adultos), foi o menor ($32,36 \pm 4,19$ dias – TABELA 8), comparado às outras dietas artificiais testadas neste trabalho e, para a criação de insetos em laboratório objetivando pesquisa, quanto menor o tempo de vida para o inseto completar seu ciclo produzindo indivíduos sadios é melhor.

TABELA 8 - DESCRIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS ALTERAÇÕES DA DIETA PROPOSTA POR HOFFMANN-CAMPO *et al.* (1985), DENOMINADA DIETA BASE 2 (DB2)

| Descrição dos parâmetros biológicos | Dieta Base 2 (DB2) |
|--|---------------------------|
| Número de ovos avaliados | 250 |
| Número e % de ovos não viáveis | 7 (2,8%) |
| Número e % de ovos viáveis | 243 (97,2%) |
| Período de incubação dos ovos | 2,9 ± 0,65 dias |
| Viabilidade da fase larval (%) | 88,48 |
| Duração da fase larval | 19,4 ± 2,41 dias |
| Número de lagartas mortas | 15 |
| Número de lagartas predadas | 13 |
| Número de lagartas vivas | 215 |
| Viabilidade da fase de pré-pupa (%) | 96,28 |
| Duração da fase de pré-pupa | 1,01 ± 0,12 dias |
| Número de pré-pupas mal formadas | 8 |
| Viabilidade da fase pupal (%) | 95,17 |
| Duração da fase pupal | 9,05 ± 1,01 dias |
| Número de pupas formadas | 207 |
| Total de adultos emergidos | 197 |
| Número de adultos emergidos com defeito | 15 (9♀ e 6♂) |
| Número de adultos emergidos sem defeito | 182 (99♀ e 83♂) |
| Total de adultos não emergidos | 10 |

NOTA: ♀: fêmea e ♂: macho

5.2 COMPARAÇÃO ENTRE AS DIETAS TESTADAS

5.2.1 Fase Larval

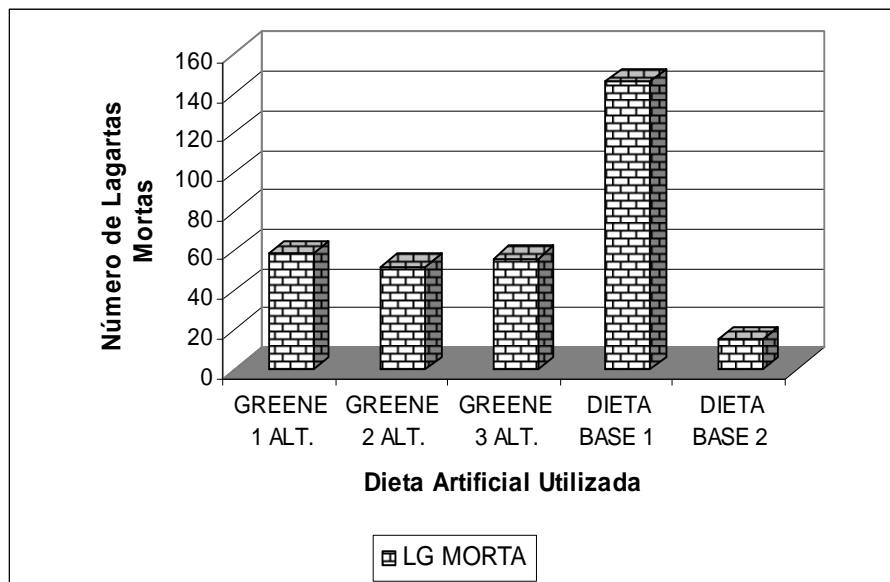
a) Número de lagartas mortas

Através da análise do GRÁFICO 1, observa-se: a) homogeneidade no número de lagartas mortas nas três alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976), este fato pode estar associado as carências nutricionais em cada uma dessas três dietas; b) a Dieta Base 1 foi a que teve uma quantidade superior de lagartas mortas; c) a Dieta Base 2 foi a que teve um número inferior de lagartas mortas. A morte das lagartas em cada uma das dietas testadas neste trabalho, pode estar

relacionada com a não atratividade da dieta ao inseto, associado pela carência de algum nutriente importante.

O resultado da análise estatística, ANEXO 1, demonstra que a Dieta Base 1, teve uma aceitabilidade muito pequena pelas lagartas, em especial as lagartas de primeiros ínstares, e isto pode ser demonstrado através do valor médio de lagartas mortas nesta fase (0,97). As três alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976), tiveram uma aceitabilidade maior que a Dieta Base 1 (0,39, 0,35 e 0,37 respectivamente), mas mesmo assim foi baixa comparada a Dieta Base 2 (0,06).

GRÁFICO 1 - NÚMERO DE LAGARTAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), MORTAS, NAS DIETAS TESTADAS



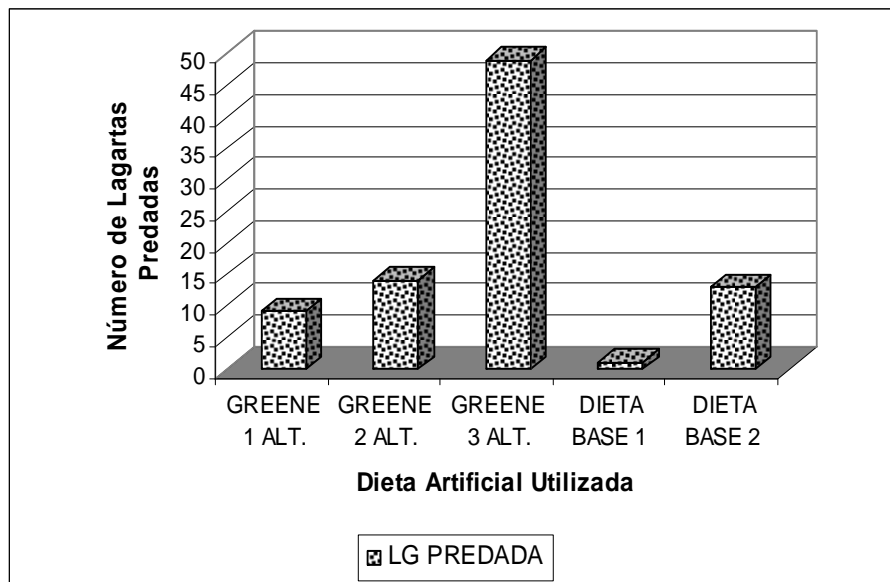
b) Número de lagartas predadas

Através da análise no GRÁFICO 2, observa-se que: a) na Dieta Base 1, o número de lagartas predadas foi bem menor, pois a maioria das lagartas alimentadas com esta dieta morreram, como mostra o gráfico anterior; b) a dieta Greene alt. 1 teve uma quantidade de lagartas predadas menor que as dietas Greene alt. 2 e Dieta Base 2, que tiveram o mesmo número de lagartas predadas; c) a dieta de Greene alt. 3, foi a que teve a maior quantidade de lagartas predadas. Esta predação pode estar

relacionada à alguma carência nutricional, onde as lagartas tentam supri-la através do canibalismo.

Em todas as dietas artificiais testadas neste experimento, foi constatado que a percentagem de lagartas predadas foi baixa, fato que pode ser determinado pelo número pequeno de indivíduos em cada recipiente de criação, pois em criações com superpopulações de insetos, mesmo com quantidade farta de alimento, a ocorrência de predação é grande. A análise estatística referente a este item, encontra-se no ANEXO 2.

GRÁFICO 2 - NÚMERO DE LAGARTAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), PREDADAS, NAS DIETAS TESTADAS



5.2.2 Fase de Pré-pupa

A duração da fase de pré-pupa foi homogênea para todas as dietas artificiais testadas neste trabalho (média de 1 dia), e foi bem próxima ao encontrado por Diodato (1999), na criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus deltoides* à 25°C e 90% de umidade relativa do ar, que foi de $1,1 \pm 0,2$ dias.

5.2.3 Fase Pupal

a) Pupas mal formadas

Através da análise do GRÁFICO 3, observa-se que: a) a Dieta Base 1 não teve pupas mal formadas, mas esta foi a dieta que produziu o menor número de pupas (3 pupas), como observado no item 5.1.3; b) a dieta Greene alt. 1, foi a que produziu o maior número de pupas mal formadas, seguida pela dieta Greene alt. 3, Greene alt. 2 e pela Dieta Base 2, que foi a que teve um menor número de pupas mal formadas.

Considerou-se como pupas mal formadas, àquelas pupas que não conseguiram se formar totalmente, ficando com resquícios morfológicos da fase larval. Salienta-se que as pré-pupas de *C. vestigialis* são muito sensíveis e, quando manuseadas, podem não se formar totalmente e ficar com resquícios larvais (FIGURA 3). Esta má formação, no caso deste trabalho, não está relacionada ao manuseio das lagartas na fase de pré-pupa, pois estas não foram manipuladas. Esta má formação pode estar relacionada à qualidade nutricional da dieta, pois segundo Parra (1992 e 1996), a deficiência nutricional na fase larval, pode influenciar na má formação das pupas. De acordo com a análise das médias obtidas nesta etapa do trabalho, ANEXO 3, a Dieta Base 2 foi a que produziu um número menor de pupas mal formadas, e por isso, produziu um número maior de pupas sadias.

Nas três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), e na Dieta Base 2, observa-se que a fase pupal teve um período constante (9 dias em média), mas teve uma viabilidade maior para as lagartas criadas na Dieta Base 2 (37,10%, 34,85%, 51,72% e 95,17%, respectivamente).

GRÁFICO 3 - NÚMERO DE PUPAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), MAL FORMADAS, NAS DIETAS TESTADAS

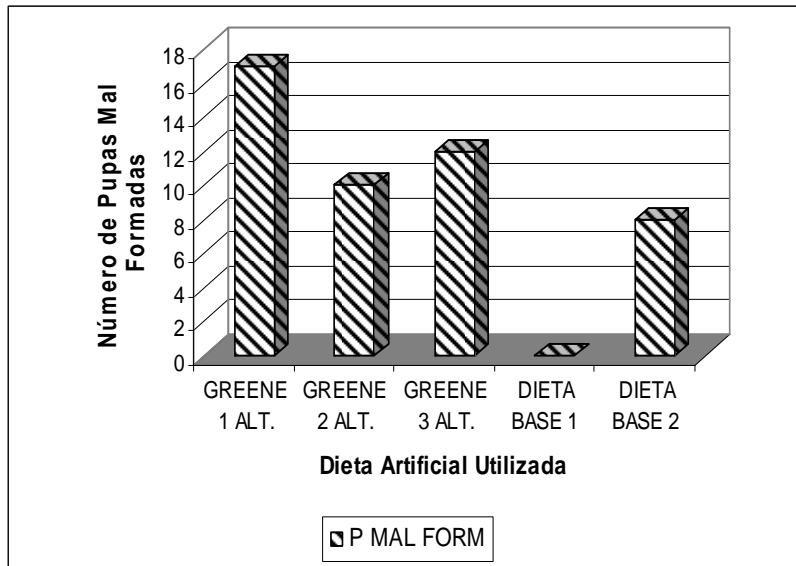


FIGURA 3 - PUPAS MAL FORMADAS DE *C. vestigialis*



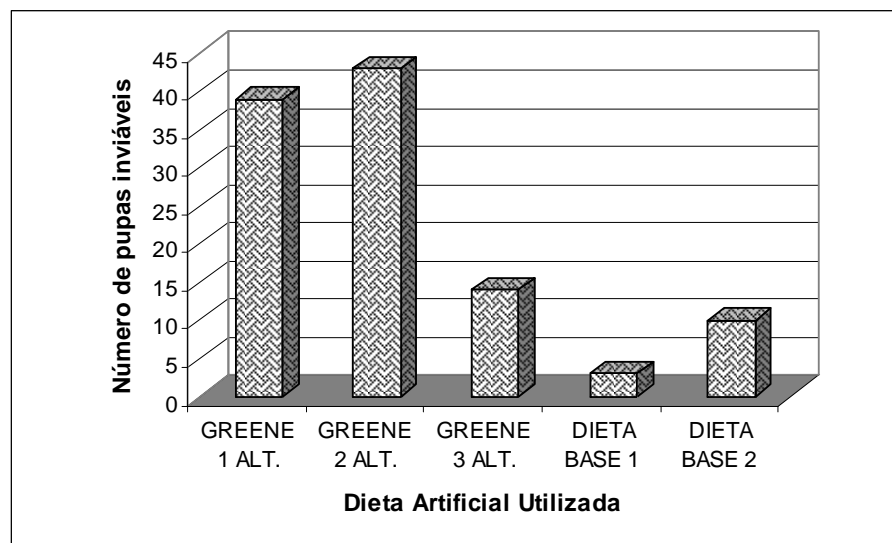
Foto: Nilton J. Sousa

Pupas mal formadas

b) Pupas inviáveis

Através da análise do GRÁFICO 4, observa-se que: a) a Dieta Base 1 não produziu nenhuma pupa viável; b) a dieta Greene alt. 2 foi a que teve um maior número de pupas inviáveis, seguido por Greene alt. 1 e 3; c) a Dieta Base 2, foi a que teve um menor número de pupas inviáveis. Considerou-se como pupas inviáveis, de acordo com Parra (1992 e 1996), pupas que se formaram perfeitamente, mas delas não houve a emergência de adultos (FIGURA 4). A tabela da análise estatística referente a este item, encontra-se no ANEXO 4.

GRÁFICO 4 - NÚMERO DE PUPAS INVIÁVEIS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS



De acordo com Parra (1996 e 2001), a temperatura e a umidade relativa do ar podem influenciar na emergência de adultos. Entretanto, observações preliminares às realizadas neste trabalho, indicam que estes fatores não foram os responsáveis por maiores ou menores percentuais de emergência de adultos nas dietas testadas. Esta indicação está baseada no fato de que em condições similares de temperatura e umidade relativa, os percentuais entre as dietas foram diferentes, sendo que o que de

fato diferiu entre elas, foi a composição e conseqüentemente os nutrientes, os fagoestimulantes e outros componentes.

FIGURA 4 - PUPAS INVIÁVEIS DE *C. vestigialis*



5.2.4 Fase Adulta

a) Adultos com deformações

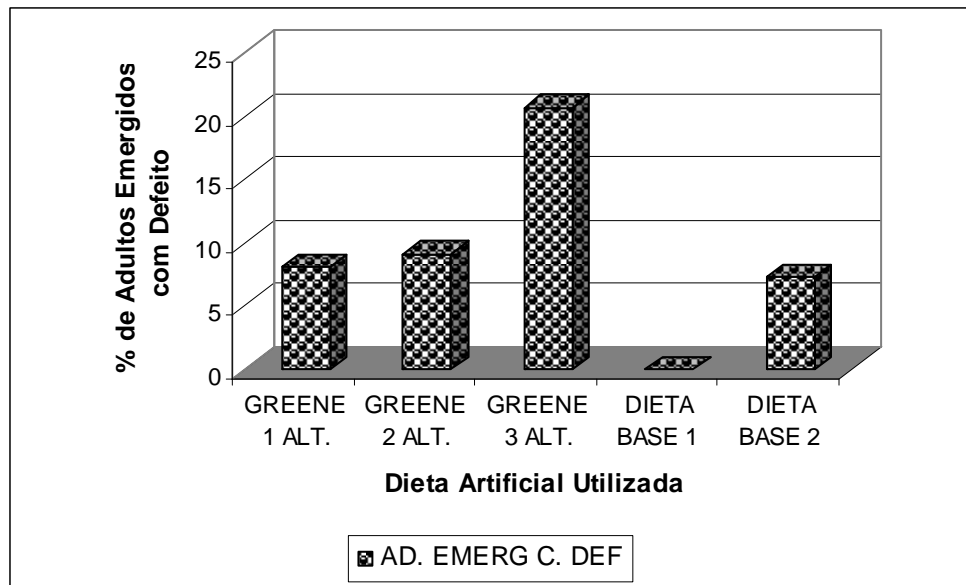
Em todas as dietas artificiais testadas, a única anomalia encontrada nos adultos foi a deformação nas asas, como mostra a FIGURA 5 (a e b); as médias da análise estatística obtidas nesta etapa do trabalho estão demonstradas no ANEXO 5.

Através da análise do GRÁFICO 5, observa-se que: a) a Dieta Base 1 não originou adultos com deformações; isto ocorreu porque não houve a emergência de adultos para os insetos criados nesta dieta; b) as duas primeiras alterações na dieta proposta por Greene *et al.* (1976), tiveram percentuais muito próximos; c) o maior percentual de adultos com deformações foi encontrado na dieta Greene alt. 3; d) o

menor percentual de adultos com deformações foi constatado nos adultos criados na Dieta Base 2.

De acordo com Parra (1996), o aparecimento de uma anomalia morfológica pode ser a manifestação de uma dieta com deficiências nutricionais, desta forma, esta afirmação é mais um indicativo de que a Dieta Base 2 é a mais equilibrada nutricionalmente, pois foi a que apresentou o percentual mais baixo, tendência que observa-se nos outros parâmetros avaliados. A qualidade da dieta utilizada em cada etapa deste trabalho, provavelmente pode ter influenciado na percentagem de adultos emergidos com defeito nas asas.

GRÁFICO 5 - PERCENTAGEM DE ADULTOS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), COM DEFORMAÇÕES, NAS DIETAS TESTADAS



Através da análise do GRÁFICO 6, observa-se que nas três alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976) e na Dieta Base 2, a proporção de adultos com deformação nas asas foi maior para as fêmeas do que para os machos (30,77% e 10%; 38,46% e 10%; 50% e 20%; 8,33% e 6,74%, respectivamente), mas observa-se que esta diferença foi bem menor na Dieta Base 2, comparando-a em percentagem com as demais. Na Dieta Base 1 não pode ser feito este cálculo, pois nela, não houve a

emergência de adultos. Segundo Mihsfeldt (1985), uma dieta artificial não é favorável, quando os indivíduos adultos provenientes dela têm mais de 20% de deformidades.

A proporção maior de fêmeas com deformação nas asas, talvez possa ser explicada, pela maior emergência de fêmeas em relação aos machos, em todas as dietas artificiais testadas neste trabalho.

GRÁFICO 6 - PERCENTAGEM DE ADULTOS MACHOS E FÊMEAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), COM DEFORMAÇÕES, NAS DIETAS TESTADAS

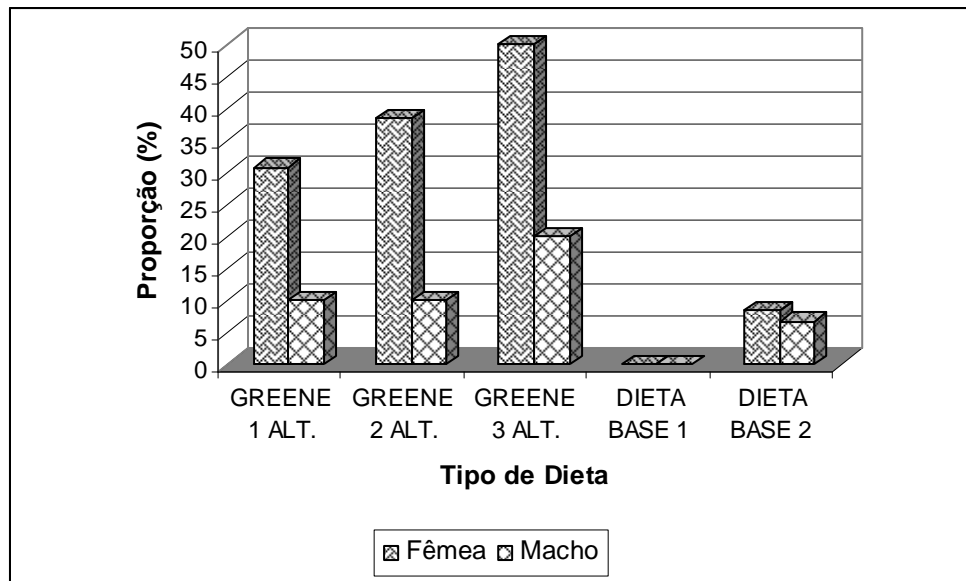


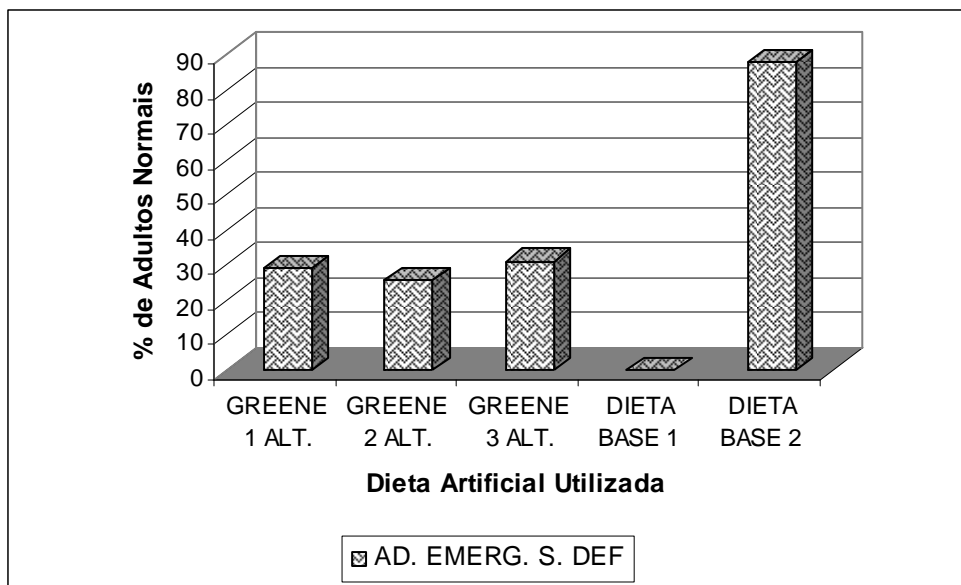
FIGURA 5 - ADULTOS DE *C. vestigialis* COM DEFORMAÇÕES NAS ASAS



b) Adultos normais

Através da análise do GRÁFICO 7, observa-se que: a) a Dieta Base 1 novamente não apresentou percentual indicativo para análise estatística, pois não produziu indivíduos adultos; b) as três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), tiveram percentuais bem próximos em relação à quantidade de adultos normais; c) a Dieta Base 2 foi a que teve a maior percentagem de adultos emergidos sem defeito, e esta diferença é bastante expressiva. Novamente este é mais um indicativo de que a Dieta Base 2 é a mais adequada, entre as outras formulações testadas para a criação de *C. vestigialis* em dieta artificial, pois nela, o inseto em estudo passou por todas as fases do seu ciclo biológico com sucesso, e produziu uma grande quantidade (%) de adultos saudáveis e férteis. As médias da análise estatística obtidas nesta etapa do trabalho estão demonstradas no ANEXO 6.

GRÁFICO 7 - PERCENTAGEM DE ADULTOS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NORMAIS, NAS DIETAS TESTADAS



5.2.5 Ciclo de Vida de *C. vestigialis* nas Dietas Artificiais Testadas

Analisando a TABELA 9, nota-se que a Dieta Base 2 foi a que formou adultos num menor período de tempo ($32,36 \pm 4,19$ dias), comparado às três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976) ($39,52 \pm 6,69$ dias; $41,92 \pm 5,02$ dias e $44,79 \pm 7,90$ dias respectivamente). Na Dieta Base 1 não pode ser feito este cálculo, pois nela, não houve a emergência de adultos. De acordo com Diodato e Pedrosa-Macedo (1996), o período de desenvolvimento de ovo até adulto de *C. vestigialis* em folhas de *Populus* spp., varia de 28 a 45 dias e está diretamente ligado a fatores climáticos e no Sul do Brasil o ritmo biológico é adaptado de acordo com as estações do ano.

De acordo com Singh (1983) e Parra (2002), o ciclo de vida (fase compreendida desde a data da postura dos ovos até a emergência dos adultos), é um fator muito importante a ser considerado, pois este, deve ser bem próximo ao ciclo de vida obtido pelo inseto na planta hospedeira. Se o tempo de vida do inseto em dieta artificial for muito maior que na planta hospedeira, provavelmente a dieta testada está carente em algum ingrediente importante, e assim, perde o seu valor. O ciclo de vida encontrado para a criação de *C. vestigialis*, na (DB2) foi semelhante ao encontrado por Diodato (1999), que teve uma média de $31,4 \pm 1,6$ dias, na criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus deltoides*, à 25°C e a 90% de umidade relativa do ar. Portanto este é mais um indicativo de que esta é a melhor opção entre as formulações testadas, para a criação de *C. vestigialis* em meios artificiais.

TABELA 9 - CICLO DE VIDA DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS

| Dietas Testadas | Ciclo de Vida (1) |
|------------------------|--------------------------|
| Dieta de Greene alt. 1 | 39,52 ± 6,69 dias |
| Dieta de Greene alt. 2 | 41,92 ± 5,02 dias |
| Dieta de Greene alt. 3 | 44,79 ± 7,90 dias |
| Dieta Base 1 | Não constatado |
| Dieta Base 2 | 32,36 ± 4,19 dias |

(1) Esta fase refere-se ao tempo total utilizado pelo inseto desde a data da postura dos ovos até a emergência do adulto.

5.2.6 Peso das Pupas

Através da análise da TABELA 10 observa-se que: a) na sexagem das pupas, as fêmeas foram mais pesadas que os machos para a primeira alteração da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), e para a Dieta Base 2; b) na segunda e terceira alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), ocorreu o inverso, os machos foram mais pesados que as fêmeas; c) na Dieta Base 1 não pode ser feito este cálculo, pois nela, não houve a formação de adultos; d) o maior valor de peso das fêmeas e machos foram encontrados na primeira modificação da dieta proposta por Greene *et al.* (1976) ($0,1012 \pm 0,01$ g e $0,1005 \pm 0,02$ g respectivamente); e) o menor valor de peso das pupas fêmea e macho foram encontrados na terceira alteração da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976) ($0,0532 \pm 0,01$ g e $0,0592 \pm 0,02$ g respectivamente); f) o baixo peso pupal na dieta Greene alt. 3, pode ser explicado pela menor viabilidade larval, o que demonstra que esta dieta foi menos atrativa que as outras testadas em cada etapa do trabalho.

O peso médio das pupas fêmea e macho em todas as dietas testadas neste trabalho foram os seguintes: $0,0837 \pm 0,01$ g e $0,0855 \pm 0,02$ g, respectivamente; valores médios um pouco menores que o encontrado por Diodato (1999), para criação de *C. vestigialis*, em temperatura ambiente, em folhas de *Populus deltoides*, ($0,0884 \pm 0,07$ g); e valores médios maiores que o encontrado pelo mesmo autor para a criação de *C. vestigialis* a 25°C e 90% de umidade relativa ($0,0766 \pm 0,022$ g).

De acordo com Parra (1996), o peso da pupa é reflexo da quantidade e da qualidade de alimento ingerido pelo inseto na forma jovem, por isso, lagartas mal alimentadas devem gerar pupas mais leves e menores, diminuindo com isso, a qualidade da criação de inseto, prejudicando a qualidade das posturas efetuadas pelas fêmeas provenientes desta dieta. Assim, novamente a Dieta Base 2 destaca-se em relação as outras formulações.

TABELA 10 - PESO MÉDIO DAS PUPAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), NAS DIETAS TESTADAS

| Diets Testadas | Peso Médio das Pupas (g) |
|------------------------|---------------------------------|
| Dieta de Greene alt. 1 | 0,1012 ± 0,01 (♀) |
| | 0,1005 ± 0,02 (♂) |
| Dieta de Greene alt. 2 | 0,0825 ± 0,02 (♀) |
| | 0,0904 ± 0,02 (♂) |
| Dieta de Greene alt. 3 | 0,0532 ± 0,01 (♀) |
| | 0,0592 ± 0,02 (♂) |
| Dieta Base 1 | Não constatado |
| Dieta Base 2 | 0,098 ± 0,01 (♀) |
| | 0,092 ± 0,02 (♂) |

NOTA: ♀: fêmeas e ♂: machos

5.2.7 Razão Sexual

A razão sexual de *C. vestigialis* não pôde ser determinada na Dieta Base 1, pois nela não houve a emergência de adultos. A razão sexual foi semelhante para a primeira e segunda alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976) (0,56), e para a Dieta Base 2 (0,55), enquanto que para a terceira alteração da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), foi observado um maior valor de razão sexual (0,67), ou seja, houve uma maior proporção de emergência de fêmeas em relação aos machos (TABELA 11). O valor médio da razão sexual deste experimento (0,59) foi um pouco maior que o valor médio encontrado por Diodato (1999), que foi de (0,53) a 25°C e 90% de umidade relativa e por Sousa *et al.* (2006b), que foi de 0,50, para a criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus* spp.

Em mais este parâmetro, a Dieta Base 2, destacou-se produzindo uma proporção de praticamente uma fêmea para cada macho, fator importante para a manutenção de

qualquer criação, pois em caso de desequilíbrio nesta proporção, um maior número de machos do que de fêmeas e vice-versa, pode dificultar o equilíbrio da criação massal.

TABELA 11 - RAZÃO SEXUAL DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), PARA AS DIETAS TESTADAS

| Dietas Testadas | Razão Sexual |
|------------------------|---------------------|
| Dieta de Greene alt. 1 | 0,56 |
| Dieta de Greene alt. 2 | 0,56 |
| Dieta de Greene alt. 3 | 0,67 |
| Dieta Base 1 | Não constatado |
| Dieta Base 2 | 0,55 |

5.2.8 Ínstares Larvais

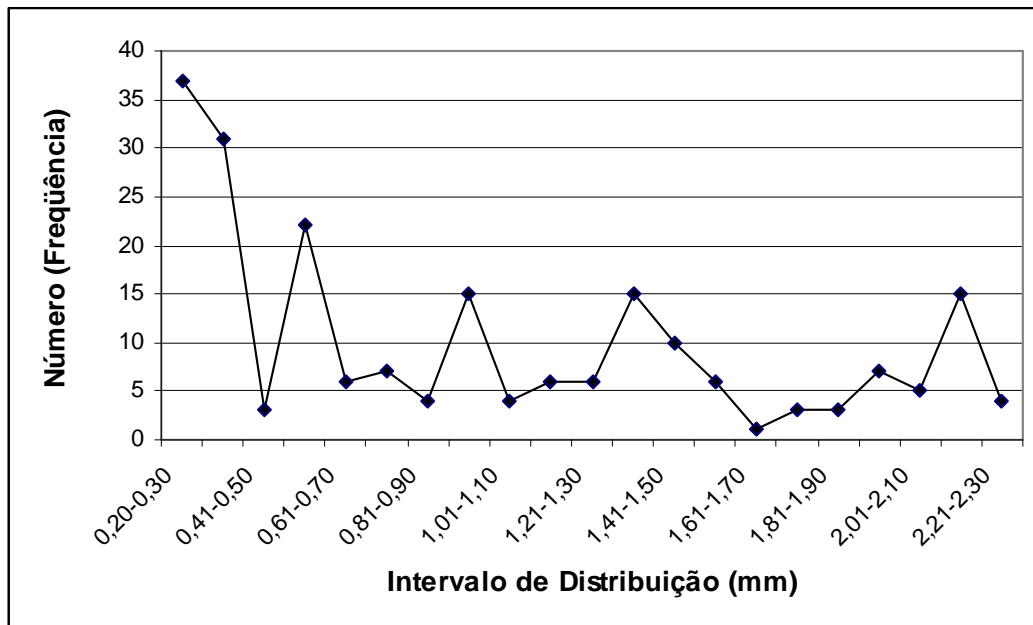
De acordo com a metodologia preconizada por Parra e Haddad (1989), na avaliação do número de ínstaes de *C. vestigialis*, a curva de distribuição de frequência obtida pela medida das cápsulas cefálicas, indicou a existência de cinco ínstaes larvais (GRÁFICO 9). Cabe aqui ressaltar que a dieta artificial utilizada nesta etapa do estudo foi a Dieta Base 2, por ser a única a ter obtido uma viabilidade alta (81,07%) para criação das lagartas de *C. vestigialis*. Este número de ínstaes difere das observações de Diodato (1999), que determinou a existência de seis ínstaes larvais em temperatura ambiente. Porém, este número é coincidente com os valores obtidos por Sousa *et al.* (2006b), que em temperatura ambiente, também determinou cinco ínstaes larvais para a criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus* spp.

O número de ínstaes obtidos neste trabalho e os obtidos por Diodato (1999) e Sousa *et al.* (2006b), estão dentro das previsões de Parra & Haddad (1989), que evidenciam uma variação de quatro a oito para a maioria dos insetos, pois existem vários fatores, além dos intrínsecos da espécie, que fazem com que haja variação no número de ínstaes, tais como: hereditários, forma de criação, temperatura, nutrição e sexo.

No GRÁFICO 8, os dados foram dispostos em intervalo de distribuição no eixo do “x” de 0,10 em 0, 10 mm e frequência no eixo do “y”. Os maiores picos representaram

os cinco ínstaes pelos quais as lagartas de *C. vestigialis* criadas na Dieta Base 2 passaram na fase larval.

GRÁFICO 8 - MEDIÇÃO DAS CÁPSULAS CEFÁLICAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), PARA A DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE ÍNSTARES LARVAIS, DAS LAGARTAS CRIADAS NA DIETA BASE 2 (DB2)



5.3 VIABILIDADE DAS DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS

Nas três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), foi observado que a viabilidade das dietas testadas foi muito baixa, como mostra a TABELA 12. O que demonstra que as mesmas, não foram muito bem aceitas pelas lagartas, seja pela carência de algum ingrediente ou pela não atratividade da mesma sobre o inseto; comprovando a necessidade de se testar mais algumas variações de dietas artificiais, como foi feito neste trabalho.

Assim, os dados obtidos demonstram que as três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), não são viáveis para a criação massal de *C. vestigialis*, pois além de contrariarem os princípios preconizados por Parra (2002), que indica que uma dieta

artificial adequada, entre outros requisitos, deve possuir uma atratividade larval e originar adultos com alta capacidade reprodutiva.

A viabilidade da Dieta Base 1 não pode ser constatada, pois nenhuma pupa proveniente dela emergiu (TABELA 12).

A Dieta Base 2 teve uma viabilidade superior quando comparada com as demais dietas artificiais testadas neste trabalho, com um percentual de 74,9% (TABELA 12), que atende a recomendação de Singh (1983), que indica que uma dieta artificial para ser considerada adequada, deve apresentar uma viabilidade superior a 75%. Tudo indica que esta viabilidade superior na (DB2), esteja relacionada não só aos ajustes dos ingredientes da dieta, mas ao aprimoramento do agente fagoestimulante, que a tornou mais atrativa especialmente para as lagartas de primeiros ínstares, as quais são mais exigentes e seletivas.

TABELA 12 - VIABILIDADE DE TODAS AS DIETAS ARTIFICIAIS TESTADAS, PARA A CRIAÇÃO DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

| Dietas Testadas | Viabilidade das Dietas Artificiais Testadas (%) |
|------------------------|--|
| Dieta de Greene alt. 1 | 15,65 (1) 12,24 (2) |
| Dieta de Greene alt. 2 | 15,33 (1) 11,97 (2) |
| Dieta de Greene alt. 3 | 10 (1) 6,16 (2) |
| Dieta Base 1 | Não constatado |
| Dieta Base 2 | 81,07 (1) 74,90 (2) |

(1) Viabilidade da dieta (%), levando em consideração o número total de adultos emergidos (com e sem defeito nas asas);

(2) Viabilidade da dieta (%), levando em consideração somente o número de adultos emergidos sem defeito.

5.4 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE ADULTOS DE *C. vestigialis* OBTIDOS NA DIETA BASE 2 (DB2)

a) Longevidade do adulto

As fêmeas utilizadas nesta etapa do experimento viveram menos ($9,47 \pm 2,78$ dias) que os machos ($13,5 \pm 4,37$ dias) (TABELA 13). Isto é muito comum acontecer na ordem Lepidoptera, pois o desgaste no momento da postura faz com que as fêmeas vivam menos. A observação de que a longevidade dos machos é maior que a das fêmeas é coincidente com as observações feitas por Diodato (1999) e por Sousa *et al.* (2006b), que também observaram esta tendência.

Os valores referentes à longevidade (2) obtidos neste trabalho ($41,83 \pm 6,97$ dias para fêmeas e $45,86 \pm 8,56$ dias para machos) (TABELA 13), foram maiores que o encontrado por Diodato (1999), ($31,9 \pm 1,3$ dias para fêmeas e $30,9 \pm 1,9$ para machos), para a criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus deltoides*, em temperatura constante de 25°C e 90% de umidade relativa ar.

TABELA 13 - LONGEVIDADE DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), CRIADOS COM DIETA BASE 2 (DB2)

| Análise dos Dados | Fêmea | Macho 1 | Macho 2 |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Número de indivíduos avaliados | 30 | 30 | 30 |
| Tempo de vida (1) | 9,47 dias | 11,87 dias | 15,13 dias |
| Erro Padrão | 2,78 | 3,96 | 4,77 |
| Tempo de vida (2) | $41,83 \pm 6,97$ dias | $44,23 \pm 8,15$ dias | $47,49 \pm 8,96$ dias |

(1) A longevidade aqui representada refere-se à média de tempo vivido pelo inseto desde a emergência do adulto até a sua morte;

(2) A longevidade aqui representada refere-se à média de tempo vivido pelo inseto desde a eclosão do ovo até a sua morte.

b) Número de ovos postos

Nesta etapa do trabalho, foi verificado que as fêmeas de *C. vestigialis* começaram efetuar as primeiras posturas a partir do terceiro dia de sua emergência; coincidindo com o trabalho realizado por Sousa *et al.* (2006b), onde a maioria das

fêmeas de *C. vestigialis* criadas em folhas de *Populus* spp. iniciaram as posturas três dias após a instalação do experimento. Este fato provavelmente ocorre devido ao período de tempo necessário para a maturação sexual das fêmeas e machos. Foi observado que 43,33% das fêmeas iniciaram as posturas 3 dias após a instalação do experimento e 56,67% iniciaram as posturas 4 dias após esta montagem.

Do terceiro ao quarto dia, as posturas começaram a ser efetuadas, mas foi alta a quantidade de ovos não viáveis (chochos) (7,6%), porém, a partir do quinto dia esta diferença começou a diminuir. O maior pico de postura foi obtido em média entre o quinto e sexto dia da emergência da fêmea, e a partir deste período pode-se evidenciar uma queda constante na oviposição como também no número de ovos férteis (GRÁFICO 9), fato que coincide com o início da morte das fêmeas; este valor está próximo ao encontrado por Sousa *et al.* (2006b), na criação de *C. vestigialis* em folhas de *Populus* spp., onde o pico das posturas foi encontrado no quarto dia da emergência da fêmea.

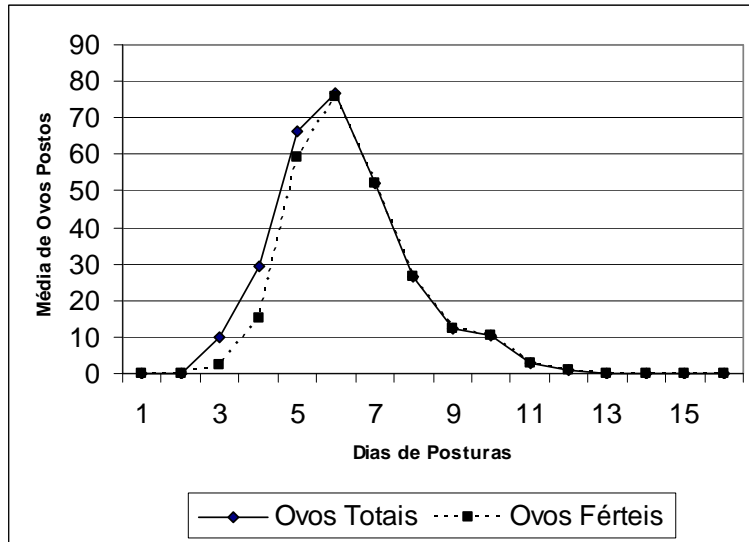
Foram observados um número mínimo de 3 e um número máximo de 8 posturas por fêmea, e o número de ovos apresentou uma variação de 1 a 247 ovos. Em algumas situações, as posturas foram feitas em locais inapropriados, como na tela de cobertura das gaiolas onde estavam os adultos, ou sobre o recipiente que continha a alimentação.

O número de ovos por postura de *C. vestigialis* foi muito variável, e durante esta fase do experimento foram colocados 8640 ovos, cuja média foi de 288 ovos/fêmea. Os ovos foram colocados em camadas simples, em várias camadas sobrepostas ou isolados. Em todas as posturas, o período médio de incubação dos ovos foi de 2,9 dias, diferindo dos valores encontrados por Sousa *et al.* (2006b) que foi de 2 dias e por Diodato (1999), que foi de $5,17 \pm 1,4$ dias em condições ambientais e $3,22 \pm 0,7$ dias à 25°C e 90% de umidade relativa do ar.

A viabilidade dos ovos foi alta (89,51%), para as fêmeas provenientes da Dieta Base 2. Este resultado foi maior do que o encontrado por Sousa *et al.* (2006b), para a criação de *C. vestigialis* em condições ambientais (80,10%) e por Diodato (1999), que encontrou uma viabilidade de 82,51% para a criação de *C. vestigialis* em folhas de

Populus deltoides em condições ambientais e 81,70% para os criados a 25°C e 90% de umidade relativa do ar.

GRÁFICO 9 - POSTURAS DAS FÊMEAS DE *C. vestigialis* (GUENÉE, 1854) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE), CRIADAS COM DIETA BASE 2 (DB2)



6 CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- A criação em laboratório de *C. vestigialis* é viável com dieta artificial;
- A Dieta Base 2 é eficiente e viável para a criação de *C. vestigialis* em laboratório;
- As outras dietas testadas neste trabalho não são eficientes para a criação de *C. vestigialis* em laboratório;
- Folhas de *Populus* spp. liofilizadas ou desidratadas, suco V8 e açúcar são imprescindíveis para tornar formulações de dietas artificiais atrativas e palatáveis para lagartas de *C. vestigialis*, principalmente as de primeiros ínstares que são mais seletivas;
- A substituição de folhas de *Populus* spp. liofilizadas por folhas desidratadas na Dieta Base 2 facilita e reduz o custo das formulações;
- A exclusão de formol puro e do ácido sórbico na formulação da Dieta Base 2, são fatores que podem ter contribuído para a aceitação desta formulação, para lagartas de *C. vestigialis*;
- A retirada da gelatina e a redução na quantidade de ágar-agar, na Dieta Base 2, reduz a manipulação da lagartas de *C. vestigialis*, e o custo de produção da dieta, pois permite que a dieta fique palatável para as lagartas por um período maior de tempo;
- Não houve a contaminação das dietas testadas neste trabalho por agentes microbianos;
- Todo ingrediente por si só, exerce influência na atratividade da dieta artificial, por isso, preparar uma dieta viável e que produza 100% de adultos férteis e saudáveis é uma tarefa complexa e difícil.

7 RECOMENDAÇÕES

Considerando a natureza experimental do presente trabalho e vários aspectos que, embora não fizessem parte dos objetivos ou da sistematização do estudo, foram percebidos e considerados importantes no decorrer das avaliações, procurou-se incluir nesta parte recomendações para balizar o desenvolvimento de novas investigações sobre o tema em evidência. Assim, recomenda-se:

- Realizar estudos visando a determinação do custo de produção da Dieta Base 2 e do percentual que isto representa por unidade de área (ha) de *Populus* spp. tratado com o Baculovírus *Condylorrhiza vestigialis multiplenucleopolyhedrovirus* (CvMNPV);
- Desenvolver pesquisas visando a substituição dos ingredientes que representam maior percentual no custo da Dieta Base 2, visando a redução do custo de produção;
- Desenvolver pesquisas visando a otimização do uso das dietas e a redução do desperdício nas várias fases de desenvolvimento de *C. vestigialis*;
- Desenvolver pesquisas com novas formulações e ingredientes, visando a obtenção de novas opções de dietas;
- Fazer tabela de vida de *C. vestigialis* em dieta artificial;
- Avaliar os métodos para medir o consumo e utilização de dieta artificial por lagartas de *C. vestigialis*;

REFERÊNCIAS

- ALVES, S. B.; MOINO Jr., A. Manutenção de insetos livres de agentes patogênicos, p.799-814. In: ALVES, S. B. (Coord.). **Controle microbiano de insetos**. 2^a ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- ARANCIBIA, F. Z. **Programa del desarrollo y fomento del género *Populus***. Disponível em:<pdfp.utralca.cl>. Acesso em: 20/02/2006.
- BATISTA-PEREIRA, L. G. **Biologia, padrão de emissão de feromona sexual e comportamento de acasalamento de *Thyrinteina arnobia* (STOLL, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e dieta artificial**. 139 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.
- BARTLETT, A. C. Genetic changes during insect-domestication. In: KING, E. C.; LEPPLA, N. C. (Eds). **Advances and challenges in insect rearing**. New Orleans: USDA/ARS, 1984a. p. 2-8.
- BARTLETT, A. C. Establishment and maintenance of insect colonies through genetic control. In: KING, E. C.; LEPPLA, N. C. (Eds.). **Advances and challenges in insect rearing**. New Orleans: USDA/ ARS, 1984b. p.1.
- BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; RINGENBERG, R.; FORESTI, J. Adequação de uma dieta artificial para a criação de *Spodoptera cosmioides* (WALK.) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 2, p. i-f, 2004.
- BERNARDI, E. B.; HADDAD, M. L.; PARRA, J. R. P. Comparação de dieta artificial para criação de *Corcyra cephalonica* (STAINTON, 1865) (Lep.: Pyralidae) para a produção em massa de *Trichogramma*. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 60, n. 1, p. 45-52, 2000.
- BERNON, G. L.; LEPPLA, N. C. Nutrition and quality control in mass rearing of phytophagous insects. In: OCHIENG-ODERO, J. P. R. (Ed.). **Techniques of insect rearing for the development of integrated pest and vector management strategies**. Nairobi: ICIPE, 1994. v. 1.
- BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras, MG: Ed. UFLA, 2000. 206 p.
- CASAUBON, E.; CUETO, G.; HODARA, K.; GONSÁLEZ, A. Interacciones entre sitio, plaga y una enfermedad del fuste en una plantación de *Populus deltoides* cv. *Catfish-2* en el bajo delta del Río Paraná (Argentina). **Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales**. Madrid, vol. 11, n. 1, p. 29-38, 2002.

CASTRO, M. E. B.; RIBEIRO, Z. M. A.; SOUZA, M. L.; SOUSA, N. J.; MOSCARDI, F. **Identificação do baculovírus da lagarta-do-álamo *Condylorrhiza vestigialis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Pyralidae)**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. (Comunicado Técnico; n. 87).

CASTRO, M. E. B.; BATISTA dos SANTOS, A. C.; RIBEIRO, Z. M. de A.; SOUZA, M. L.; SOUSA, N. J. **Análise de proteínas estruturais e de DNA do baculovírus *Condylorrhiza vestigialis nucleopolyhedrovirus***. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004a. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; n. 62).

CASTRO, M. E. B.; RIBEIRO, Z. M. A.; SIQUEIRA, C. B.; DOS SANTOS, A. C. B.; SOUZA, M. L.; SOUSA, N. J. **Infecção por *Condylorrhiza vestigialis nucleopolyhedrovirus* em diferentes linhagens celulares e espécies de insetos**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004b. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; n. 72).

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J.R.P. Produção *in vitro* de parasitóides: criação de *Trichogramma galloi* Zucchi e *Trichogramma pretiosum* Riley, no Brasil. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba: Fealq, 1997. p. 259-302.

CORRÊA, R. M.; MARQUES, E. N.; SOUSA, N. J. Agentes entomopatogênicos no controle biológico da “Mariposa do Álamo” *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Pyralidae: Crambidae). In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 5., 1996, Foz do Iguaçu. **Anais...Foz do Iguaçu: Eventos Editora, 1996. 2v. p. 385.**

DIODATO, M. A.; PEDROSA-MACEDO, J. H. Presencia de *Condylorrhiza vestigialis* (GUENÉE, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) sobre *Populus* spp. en el Brasil. **Quebracho**, Santiago del Estero, n. 4, p. 17-19, 1996.

DIODATO, M. A. **Bioecologia, aspectos morfológicos e consumo de *Condylorrhiza vestigialis* (GUÉNEE, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) em *Populus deltoides* Bart. ex Marsh. (Salicaceae)**. 100 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

DUNKEL, F. V. e READ, N. R. Review of the effects of sorbic acid on insect survival in rearing diets with reference to other antimicrobials. **American Entomologist**, Lanhan, v. 37, n. 3, p. 172-173, 1991.

FAO. **Poplars and Willows**. Roma, 1979. 328 p. (Forestry Series; n. 10).

FAO. **Los álamos y los sauces en la producción de madera y la utilización de las tierras**. Roma, 1980. 349p.

FUKUZAWA, M.; TATSUKI, S. ISHIKAWA, Y. Rearing of *Ostrinia palustris* (Lepidoptera: Crambidae) larvae with a switchover of two Kinds of artificial diets. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 39, n. 3, p. 363-366, 2004.

GALLO, D.; WIENDL, F. M. WILLIAMS, R. N. e BERTI FILHO, E. Método de criação artificial da broca da cana-de-açúcar para emprego no seu controle. In: II Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Entomologia. **Resumo** da II Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Entomologia. Recife. 1969. p. 4.

GENC, H.; NATION, J. L. An artificial diet for the butterfly *Phyciodes phaon* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 87, n. 2, p. i-f, 2004.

GOMES, S. A.; MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* a isolados geográficos de um vírus de poliedrose nuclear. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, D. F., v. 34, n. 9, p. 1539-1544, 1999.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing produce and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

HAGEN, K. S. Role of nutrition in insect management. **Proceedings Tallahassee Timbers Conference on Ecological Animal Control Habitat Management**, Tallahassee, n. 6, p. 221-261, 1976.

HENSLEY, S. D. e HAMMOND, A. H. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**. College Park, v. 61, n. 6, p. 1742-1743, 1968.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, E.B.; MOSCARDI, F. **Criação massal da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis***. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1985. 23p. (Documento; n. 10).

KOGAN, M. The role of chemical factors in insect/plant relationships. **Proceedings of International Congress of Entomology**, n. 15, p. 211-227, 1977.

LEPPLA, C. N.; FISHER, W. R. Total quality in insect mass production for insect pest management. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 108, p. 452-461, 1989.

MACEDO, N. Método de criação do parasitóide. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras, MG: Editora UFLA, 2000, p. 161-173.

MACHADO, E. B. **Entrevista concedida a Flávia de A. S. F. Corrêa**. Curitiba, 6 de julho de 2006.

- MADEJÓN, P. Elementos traza y nutrientes en álamo blanco tras el vertido tóxico de las minas de Aznalcóllar. **Investigacion Agraria: Sistemas y Recursos Forestales**, Madrid, v. 12, n. 3, p. 19-32, 2003.
- MARQUES, E. N.; SOUSA, N. J.; CORRÊA, R de M.; GOMES, N. B. Ocorrência de *Condylorrhiza vestigialis* (GUENÉE, 1854) (Lepidoptera: Pyralidae) em povoamentos de Álamo *Populus* spp. no Município de São Mateus do Sul – Paraná. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, Curitiba, v. 14, n. 1-2, p. 229-230, 1995.
- MEDEIROS, J. G. da SILVA e HOPPE, J. M. Efeito da aplicação de calcário em estacas de *Populus deltoides* BARTR. ex Marsh cultivadas em vaso. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 2, p. 161-167, 2002.
- MENDES, A. C.; BOTELHO, P. S. M. e MACEDO, N. Estudos comparativos de novos substratos para a oviposição de *Diatraea saccharalis* (FABR., 1794) (Lep.: Crambidae) em condições de laboratório. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 6, p. 73-77, 1977.
- MENDES, A. C. Métodos de criação de parasitos da broca de cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., 1980, Campinas. **Anais ...Campinas**, 1980, p.103-132.
- MIHSFELDT, L. H. **Comparação de dietas artificiais para a criação de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera – Pyralidae)**. 120 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.
- MIHSFELDT, L. H. e PARRA, R. P. Comparação de dietas artificiais para a criação de *Diatraea saccharalis* (FABRICIUS, 1794) (Lepidoptera: Pyralidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 5. 1986, Rio de Janeiro, **Resumo**. 1986. p. 67.
- MISKIMEN, G. W. Nonaseptic laboratory rearing of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 58, n. 6, p. 820-823, 1965.
- MOSCARDI, F.; LEITE, L.G.; ZAMATARO, C.E. Production of nuclear polyhedrosis vírus of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae): effect of virus dosage, host density and age. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. i-f, 1997.
- OLIVER, J. M. M. **Chopos y Choperas**. Madrid: Mundi-Prensa, 1988. 124 p.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J. R. P. Introdução à ecologia nutricional de insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia Nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. p. 1–7.

PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos In: ALVES, S. B. (Org.). **Controle microbiano de insetos com patógenos**. São Paulo: Manole, 1986. p. 348–376.

PARRA, J.R.P.; HADDAD, M. L. **Determinação do número de ínstaes de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1989. 49p.

PARRA, J. R. P. Técnicas de criação e produção massal de inimigos naturais. In: CROCOMO, W. B.(Org.). **Manejo Integrado de Pragas**. São Paulo: UNESP, 1990. p. 117–146.

PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia Nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. p. 9–65.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 1992. 161p.

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

PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. (Coord.). **Controle microbiano de insetos**. 2^a ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

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

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 6^a ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134p.

PARRA, J. P. R. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P. *et al.* (Eds.). **Controle biológico no Brasil**. São Paulo: Manole, 2002. p. 143-164.

PARTARRIEU, U. **Caracterización dendrológica y fenológica de clones de *Populus spp.*** Disponível em: <www.cesaf.uchile.cl/cesaf/n13/4.html>. Acesso em: 20/02/2006.

PREZOTTI, L.; PARRA, J. R. P. Controle de qualidade em criações massais de parasitóides e predadores. In: PARRA, J. R. P. *et al.* (Eds.). **Controle biológico no Brasil**. São Paulo: Manole, 2002. p. 295–342.

REITZ, R. Salicáceas. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, p. 1-24, 1983.

SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, T. V.; ZANUNCIO, J. C. Desenvolvimento de *Thyrinteina arnobia* STOLL (Lepidoptera: Geometridae) em folhas de *Eucalyptus urophylla* e *Psidium guajava*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n.1, p.13-22, 2000.

SANTOS, B. **Avanços na produção massal de lagartas de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) infestadas com o seu vírus de poliedrose nuclear, em laboratório e do bioinseticida à base deste vírus**. 89f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

SCRIBER, J. M.; SLANSKY JR. F. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology**, v. 26, p. 183-211, 1981.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N. A. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Ed. Ceres, 1976. 419p.

SIMARRO, A. P. **El cultivo del choupo en el marco de la política agrária comun y de la Union Europea ampliada. El punto de vista de los cultivadores**. Roma, FAO, 2003.

SINGH, P. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. **Insect Science and its Application**, Oxford, v. 4, n. 4, p. 357–362, 1983.

SINGH, P. Multiple species rearing diets. In: SINGH, P.; MOORE, R. F. (Eds.) **Handbook of Insect Rearing**. Amsterdam: Elsevier, 1985. v. 1.

SOUSA, N. J. **Classificação de inseticidas e simulação de um programa de manejo de resistência para a mariposa-do-álamo (*Condylorrhiza vestigialis*) GUENÉE, 1854 (Lepidoptera: Crambidae)**. 135f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

SOUSA, N. J. **Entrevista concedida a Flávia de A. S. F. Corrêa**. Curitiba, 18 de Fevereiro de 2006a.

SOUSA, N. J.; TREFFLICH, K.; FARIA, A. B. C.; ANJOS, R. A. M.; MACHADO, E. B.; OTTO, G. M. Determinação de aspectos biológicos relacionados a criação em laboratório de *Condylorrhiza vestigialis* (GUENÉE, 1854) (Lepidoptera: Crambidae) em dieta natural/folhas de *Populus* (Salicaceae). **Revista Floresta**, Curitiba. 2006b. No prelo.

TREFFLICH, K.; PORTELA, V. Levantamento de inimigos naturais de *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Pyralidae) em plantios de *Populus* spp. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5., 1997, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1997. p. 187.

TREFFLICH, K. Efeito da dieta e da temperatura sobre *Condylorrhiza vestigialis* em *Populus* spp. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 6., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1998. p.215.

TREFFLICH, K. Avaliação do comportamento de *Condylorrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Pyralidae), após aplicação de produtos biológicos e químicos. In: EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7., 1999, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 1999. 1v. p. 219.

TREFFLICH, K.; SOUSA, N. J. Estudos de alternativas de controle de *Condylorrhiza vestigialis* em *Populus* spp. In: PESQUISA FLORESTAL ONLINE, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: UFPR, 2000a. p. 44.

TREFFLICH, K.; SOUSA, N. J. Eficiência de três produtos químicos para o controle de *Condylorrhiza vestigialis* GUENÉE, 1854 (Lepidoptera – Pyralidae). In: SEMINÁRIO DE ATUALIDADES EM PROTEÇÃO FLORESTAL, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: FUPEF, 2000b. p. 182.

VANDERZANT, E. S. Development, significance and application of artificial diets for insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 19, p. 139-154, 1974.

Van LENTEREN, J. C. Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. In: FRANZ, J. M. (Ed.) **Biological plant and health protection**. Stuttgart: Fischer, 1986. p. 31-56.

WALDBAUER, G. P.; FRIEDMAN, S. Self-selection of optimal diets by insects. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 36, p. 43-63, 1991.

ANEXOS

- ANEXO 1 - AVALIAÇÃO DAS LAGARTAS MORTAS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO
- ANEXO 2 - AVALIAÇÃO DAS LAGARTAS PREDADAS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO
- ANEXO 3 - AVALIAÇÃO DAS PUPAS MAL FORMADAS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO
- ANEXO 4 - AVALIAÇÃO DAS PUPAS INVIÁVEIS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO
- ANEXO 5 - AVALIAÇÃO DOS ADULTOS DEFORMADOS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO
- ANEXO 6 - AVALIAÇÃO DOS ADULTOS NORMAIS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

ANEXO 1 - AVALIAÇÃO DAS LAGARTAS MORTAS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

| TIPO DE DIETA | SOMA | MÉDIA | GRUPOS HOMOGÊNEOS |
|---------------|------|-----------------|-------------------|
| Dieta Base 2 | 250 | 0,06 | A |
| Greene Alt. 2 | 150 | 0,35 | B |
| Greene Alt. 3 | 150 | 0,37 | B |
| Greene Alt. 1 | 150 | 0,39 | B |
| Dieta Base 1 | 150 | 0,97 | C |
| Contraste | | Diferença | |
| 1-2 | | 0,05 | |
| 1-3 | | 0,02 | |
| 1-4 | | ** -0,58 | |
| 1-5 | | ** 0,33 | |
| 2-3 | | -0,03 | |
| 2-4 | | ** -0,63 | |
| 2-5 | | ** 0,29 | |
| 3-4 | | ** -0,60 | |
| 3-5 | | ** 0,31 | |
| 4-5 | | ** 0,91 | |

* médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls).

** pares que denotam diferença estatisticamente significativa com 95,0% de confiança de acerto.

De acordo com resultados obtidos, o número de lagartas mortas em todas as dietas artificiais testadas, mostrou que as três alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976), formaram um grupo homogêneo, não havendo diferença significativa entre eles. Entretanto, verificou-se diferença significativa entre o grupo homogêneo das três alterações, comparado com os grupos homogêneos formados pelas Dietas Bases 1 e 2.

ANEXO 2 - AVALIAÇÃO DAS LAGARTAS PREDADAS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

| TIPO DE DIETA | SOMA | MÉDIA | GRUPOS HOMOGÊNEOS |
|---------------|------------|-----------|-------------------|
| Dieta Base 1 | 150 | 0,01 | A |
| Dieta Base 2 | 250 | 0,05 | AB |
| Greene Alt. 1 | 150 | 0,06 | AB |
| Greene Alt. 2 | 150 | 0,09 | B |
| Greene Alt. 3 | 150 | 0,33 | C |
| Contraste | | Diferença | |
| | 1-2 | | -0,03 |
| | 1-3 | | ** -0,03 |
| | 1-4 | | 0,05 |
| | 1-5 | | 0,01 |
| | 2-3 | | ** -0,23 |
| | 2-4 | | ** 0,09 |
| | 2-5 | | 0,04 |
| | 3-4 | | ** 0,32 |
| | 3-5 | | ** 0,27 |
| | 4-5 | | -0,05 |

* médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls).

** pares que denotam diferença estatisticamente significativa com 95,0% de confiança de acerto.

De acordo com os resultados obtidos, o número de lagartas predadas em todas as dietas artificiais testadas formou um primeiro grupo homogêneo entre a Dieta Base 1 e 2 + primeira alteração da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), não havendo diferença significativa entre eles. A Dieta Base 2 + as duas primeiras alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), formaram um segundo grupo homogêneo, não havendo diferença significativa entre eles e a terceira alteração da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), formou um grupo homogêneo único.

ANEXO 3 - AVALIAÇÃO DAS PUPAS MAL FORMADAS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

| TIPO DE DIETA | SOMA | MÉDIA | GRUPOS HOMOGÊNEOS |
|---------------|------------|-----------|-------------------|
| Dieta Base 1 | 150 | 0,00 | A |
| Dieta Base 2 | 250 | 0,03 | AB |
| Greene Alt. 2 | 150 | 0,07 | BC |
| Greene Alt. 3 | 150 | 0,08 | BC |
| Greene Alt. 1 | 150 | 0,11 | C |
| Contraste | | Diferença | |
| | 1-2 | | 0,05 |
| | 1-3 | | 0,03 |
| | 1-4 | | **0,11 |
| | 1-5 | | **0,08 |
| | 2-3 | | -0,01 |
| | 2-4 | | **0,07 |
| | 2-5 | | 0,03 |
| | 3-4 | | **0,08 |
| | 3-5 | | 0,05 |
| | 4-5 | | -0,03 |

* médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls).

** pares que denotam diferença estatisticamente significativa com 95,0% de confiança de acerto.

De acordo com os resultados obtidos, o número de pupas mal formadas em todas as dietas artificiais testadas formou um primeiro grupo homogêneo entre as Dietas Base 1 e 2, não havendo diferença significativa entre eles. A Dieta Base 2 + a segunda e terceira alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), formaram um segundo grupo homogêneo, não havendo diferença significativa entre eles e as três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), formaram um terceiro grupo homogêneo, não havendo diferença significativa entre eles.

ANEXO 4 - AVALIAÇÃO DAS PUPAS INVIÁVEIS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

| TIPO DE DIETA | SOMA | MÉDIA | GRUPOS HOMOGÊNEOS |
|---------------|------------|-----------|-------------------|
| Dieta Base 1 | 150 | 0,02 | A |
| Dieta Base 2 | 250 | 0,04 | A |
| Greene Alt. 3 | 150 | 0,09 | A |
| Greene Alt. 1 | 150 | 0,26 | B |
| Greene Alt. 2 | 150 | 0,29 | B |
| Contraste | | Diferença | |
| | 1-2 | | -0,03 |
| | 1-3 | | **0,17 |
| | 1-4 | | **0,24 |
| | 1-5 | | **0,22 |
| | 2-3 | | **0,19 |
| | 2-4 | | **0,27 |
| | 2-5 | | **0,25 |
| | 3-4 | | 0,07 |
| | 3-5 | | 0,05 |
| | 4-5 | | -0,02 |

* médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls).

** pares que denotam diferença estatisticamente significativa com 95,0% de confiança de acerto.

De acordo com os resultados obtidos, o número de pupas inviáveis em todas as dietas artificiais testadas formou um primeiro grupo homogêneo entre as Dietas Base 1 e 2 + a terceira alteração da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), não havendo diferença significativa entre eles. A primeira e segunda alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), formaram um segundo grupo homogêneo, não havendo diferença significativa entre eles.

ANEXO 5 - AVALIAÇÃO DOS ADULTOS DEFORMADOS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

| TIPO DE DIETA | SOMA | MÉDIA | GRUPOS HOMOGÊNEOS |
|---------------|------------|-----------|-------------------|
| Dieta Base 1 | 150 | 0,00 | A |
| Greene Alt. 1 | 150 | 0,03 | AB |
| Greene Alt. 3 | 150 | 0,04 | AB |
| Greene Alt. 2 | 150 | 0,04 | AB |
| Dieta Base 2 | 250 | 0,06 | B |
| Contraste | | Diferença | |
| | 1-2 | | -0,01 |
| | 1-3 | | -0,01 |
| | 1-4 | | 0,03 |
| | 1-5 | | -0,03 |
| | 2-3 | | 0,00 |
| | 2-4 | | 0,04 |
| | 2-5 | | -0,02 |
| | 3-4 | | 0,04 |
| | 3-5 | | -0,02 |
| | 4-5 | | ** -0,06 |

* médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls).

** pares que denotam diferença estatisticamente significativa com 95,0% de confiança de acerto.

De acordo com os resultados obtidos, o número de adultos deformados em todas as dietas artificiais testadas formou um primeiro grupo homogêneo entre a Dieta Base 1 + as três alterações da dieta artificial proposta por Greene *et al.* (1976), não havendo diferença significativa entre eles; e formou um segundo grupo homogêneo entre as três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976) + a Dieta Base 2, não havendo diferença significativa entre eles.

ANEXO 6 - AVALIAÇÃO DOS ADULTOS NORMAIS, UTILIZANDO O TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIA STUDENT-NEWMAN-KEULS, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE DE ERRO

| TIPO DE DIETA | SOMA | MÉDIA | GRUPOS HOMOGÊNEOS |
|---------------|------------|-----------|-------------------|
| Dieta Base 1 | 150 | 0,00 | A |
| Greene Alt. 3 | 150 | 0,06 | AB |
| Greene Alt. 2 | 150 | 0,11 | B |
| Greene Alt. 1 | 150 | 0,12 | B |
| Dieta Base 2 | 250 | 0,73 | C |
| Contraste | | Diferença | |
| | 1-2 | | 0,01 |
| | 1-3 | | 0,06 |
| | 1-4 | | **0,12 |
| | 1-5 | | ** -0,61 |
| | 2-3 | | 0,05 |
| | 2-4 | | **0,11 |
| | 2-5 | | ** -0,61 |
| | 3-4 | | 0,06 |
| | 3-5 | | ** -0,67 |
| | 4-5 | | ** -0,73 |

* médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de múltipla comparação (Student-Newman-Keuls).

** pares que denotam diferença estatisticamente significativa com 95,0% de confiança de acerto.

De acordo com os resultados obtidos, o número de adultos normais em todas as dietas artificiais testadas formou um primeiro grupo homogêneo entre a Dieta Base 1 e terceira alteração da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), não havendo diferença significativa entre eles. As três alterações da dieta proposta por Greene *et al.* (1976), formaram um segundo grupo homogêneo, não havendo diferença significativa entre eles; a Dieta Base 2 formou um terceiro grupo homogêneo isolado.