

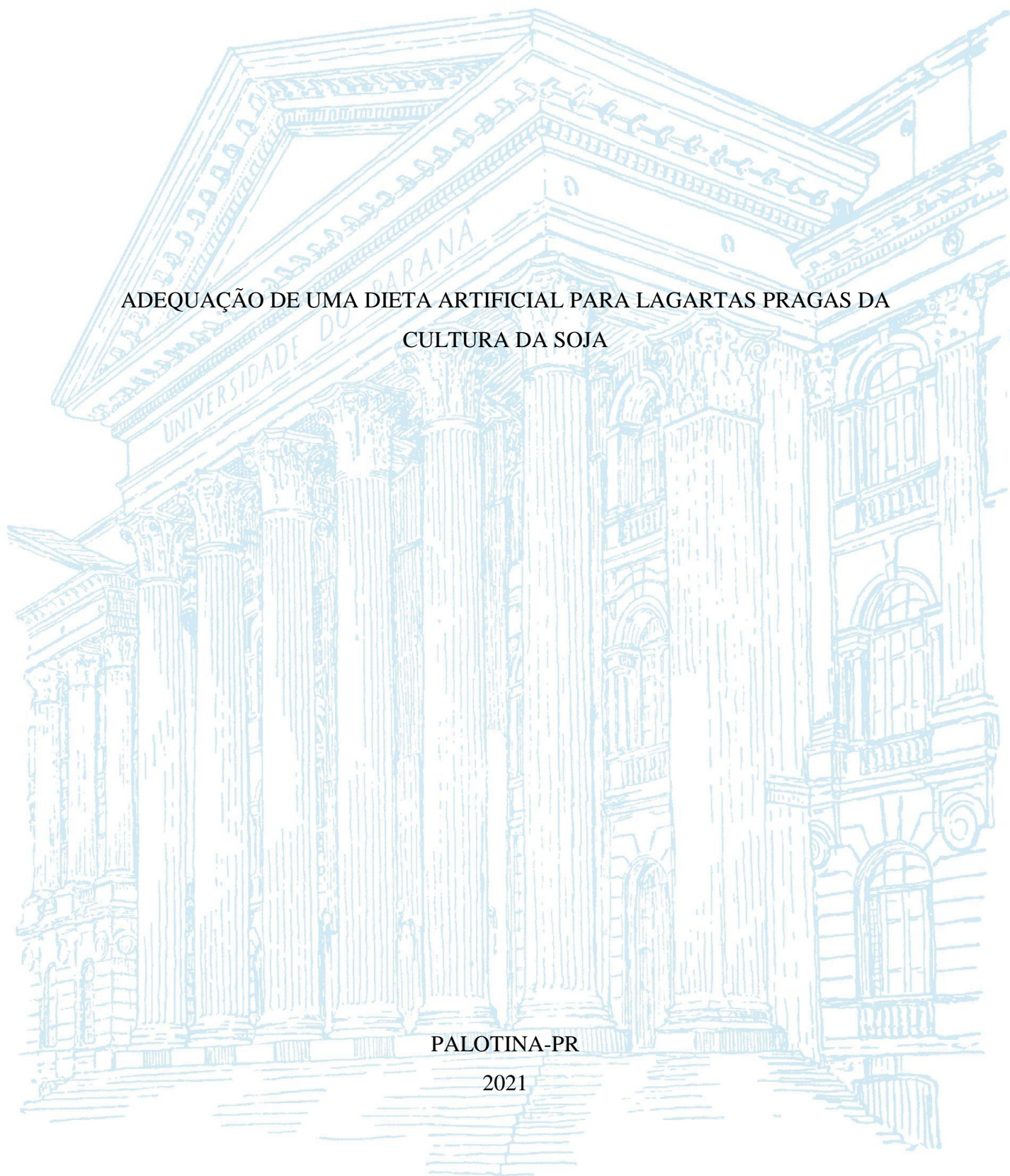
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VITÓRIA CORDEIRO NUNES

ADEQUAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PARA LAGARTAS PRAGAS DA
CULTURA DA SOJA

PALOTINA-PR

2021



VITÓRIA CORDEIRO NUNES

ADEQUAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PARA LAGARTAS PRAGAS
DA CULTURA DA SOJA

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, no curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina.

Orientador: Prof.º Dr. Edilson Caron

PALOTINA- PR

2021

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor e consumidor da minha fé, por ter me concedido vida e saúde para chegar até aqui.

À minha família, por estar ao meu lado desde os meus primeiros anos de vida escolar, por acreditar em meu potencial e sempre me apoiar e incentivar na conquista dos meus sonhos e objetivos.

Ao meu orientador, por todo conhecimento compartilhado e por me auxiliar com dedicação e paciência em todas as etapas desse trabalho, sempre apontando caminhos para um melhor resultado. Aproveito e agradeço também o Prof. Dr. Alexandre Leseur dos Santos, UFPR, pelas dicas em estatística que muito ajudaram na execução do projeto.

Agradeço também à Emanuelle Iaçana Berté Parisotto por sugerir a proposta do cozimento da farinha de feijão, o que agregou muito ao trabalho. E também agradeço à Ana Buss, pela disposição em auxiliar-me na confecção das pranchas utilizadas na metodologia.

À empresa Corteva Agriscience, que através da equipe de direção e funcionários muito contribuíram para a execução da pesquisa, desde a etapa inicial até os resultados finais, auxiliando tanto na parte prática, quanto na viabilização dos insumos e local adequado para a realização do trabalho.

Aos membros da banca, pela atenção e cuidado com que se dispuseram a avaliar, contribuir e enriquecer esse trabalho.

Aos meus amigos, por tornarem mais leve a caminhada e por estarem sempre por perto nos momentos de dificuldade e indecisão.

RESUMO

A cultura da soja predomina nos campos do Paraná e tem enfrentado danos como complexo de pragas que cresce em espécies e níveis de infestação ao longo dos anos. Com o intuito de implementar o Manejo Integrado de Pragas (MIP) na soja a partir da resistência da planta é necessária a criação de insetos pragas em laboratório, e para a manutenção dos mesmos, é fundamental a elaboração de uma dieta artificial. Uma das melhores dietas artificiais para lagartas utiliza o feijão cozido como produto base. Contudo, o preparo dessa dieta inicia com o cozimento do feijão, no qual envolve um custo de gás de cozinha e tempo de mão de obra considerado alto quando tratamos de criação de lagartas em grande escala. Com a proposta de reduzir os custos e economizar tempo criou-se *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*, lagartas comuns na soja, através de três dietas artificiais a base de feijão: D1, a tradicional com feijão branco cozido e duas alternativas, sendo elas D2, farinha de feijão branco crua, e D3 farinha de feijão branco cozida. Os parâmetros analisados foram: peso de pupas, desenvolvimento larval e razão sexual. Os resultados apontam *Anticarsia gemmatalis* com os mesmos resultados em qualquer dieta, sendo possível escolher a dieta pelo melhor custo benefício. Para *Spodoptera frugiperda* sugere-se utilizar a dieta com farinha de feijão crua ou cozida, já que a tradicional (D1) apresentou vários piores para o desenvolvimento larval. Com relação a *Helicoverpa armigera* a dieta com farinha de feijão crua (D2) apresentou pupas mais pesadas quando comparadas as outras dietas. Por fim, foi possível concluir que dentre as três dietas analisadas e levando em consideração os parâmetros verificados, a dieta mais promissora para diminuir custos e tempo de preparo foi aquela composta por farinha de feijão branco crua (D2).

Palavras-chave: Farinha de feijão. Nutrição de insetos. *Helicoverpa armigera* *Anticarsia gemmatalis*. *Spodoptera frugiperda*.

ABSTRACT

Soybean is one of the most important crops in the world and has faced damage from the complex of pests that grow in species and infestation levels over the years. In order to implement Integrated Pest Management (IPM) in soybeans based on plant resistance, it is necessary to rear pest insects in the laboratory, and for their maintenance, it is essential to develop an artificial diet. One of the best artificial diets for caterpillars uses cooked beans as a protein source. However, the preparation of this diet starts with the cooking of beans, which involves a cost of cooking gas and labor time considered high when dealing with large-scale larvae rearing. With the purpose of reducing costs and saving time, *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda* were reared, common caterpillars in soybeans, through three artificial diets based on beans: D1, the traditional one with cooked white beans and two alternatives, being D2, raw white bean flour, and D3 cooked white bean flour. The parameters analyzed were: pupae weight, larval development and sex ratio. The results show *Anticarsia gemmatalis* with the same results in any diet, being possible to choose the diet for the best cost-benefit ratio. For *Spodoptera frugiperda* it is suggested to use a diet with raw or cooked bean flour, since the traditional one (D1) presented worse numbers for larval development. Regarding *Helicoverpa armigera*, the raw bean flour diet (D2) presented heavier pupae when compared to the other diets. Finally, it was possible to conclude that among the three analyzed diets and taking into account the verified parameters, the most promising diet to reduce costs and preparation time was the one composed of raw white bean flour (D2).

Keywords: Bean flour. Insect nutrition. *Helicoverpa armigera*. *Anticarsia gemmatalis*. *Spodoptera frugiperda*

1 INTRODUÇÃO

A agricultura no estado do Paraná vem crescendo cada vez mais e a produção de soja está entre as atividades econômicas que apresentaram crescimentos mais expressivos. A cultura da soja predomina nos campos do Paraná e tem enfrentado danos com o complexo de pragas que cresce em espécies e níveis de infestação ao longo dos anos. Essa cultura está sujeita ao ataque de diferentes espécies de insetos pragas desde a emergência das plantas até a colheita (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2000).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), praga é qualquer espécie vegetal, animal ou agente patogênico nocivo aos vegetais ou produtos vegetais. Nesse contexto, as lagartas acabam se tornando pragas de cultivos agrícolas, como a soja, isso devido ao hábito alimentar herbívoro e voraz de algumas espécies. No entanto, no trabalho de Picanço (2010), ressalta que só é considerado praga a partir do momento que causa dano econômico.

Com o intuito de implementar o Manejo Integrado de Pragas (MIP) na soja a partir da resistência da planta é necessária a criação de insetos pragas em laboratório, e para a manutenção dos mesmos, é fundamental a elaboração de uma dieta artificial. Uma boa dieta artificial possibilita a manutenção contínua de insetos no laboratório, através da uniformidade nutricional e biológica, possibilita criações massais, e ainda melhor se for adequada a mais de uma espécie.

Uma das melhores dietas artificiais para lagartas utiliza o feijão cozido como fonte de proteínas e foi desenvolvida por Parra (1996). Essa dieta preenche todos os quesitos listados no parágrafo anterior. Contudo, o preparo dessa dieta inicia com o cozimento do feijão, no qual envolve um custo de gás de cozinha e tempo de mão de obra considerado alto quando tratamos de criação de lagartas em grande escala.

Para uma aplicação comercial do MIP com lagartas da soja se faz necessário uma grande criação de insetos, o que demanda o preparo diário de grande quantidade de dieta. A fim de diminuir os custos, ou pelos menos, o tempo de preparo da dieta artificial a base de feijão, uma das possibilidades seria modificar o início do protocolo substituindo o feijão cozido pela farinha de feijão. Essa substituição poderia reduzir ou até zerar os custos com o gás de cozinha e diminuir o tempo da mão de obra no primeiro estágio do protocolo.

Dessa forma, este estudo tem como objetivo a adequação de uma dieta artificial já consolidada para lepidópteros-praga visando a substituição do feijão cozido pela farinha

de feijão. Para isso serão testadas duas possibilidades: 1) farinha de feijão não cozida, crua; 2) farinha de feijão com o tempo de cozimento reduzido.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pragas da Soja

Os insetos podem causar danos variáveis às plantas e em todas as suas estruturas vegetais, tais danos podem ser diretos quando atacam o produto a ser comercializado, ou indireto, atacando os órgãos vegetais, porém influenciando no produto final. (GALLO *et al.* 2002).

Até o início da década de 1990, as pragas mais importantes se resumiam a insetos que se alimentavam de folhas e vagens. Porém, com a rápida expansão da cultura rumo as novas regiões, em especial aquelas cultivadas pela primeira vez no país, verificou-se um aumento na ocorrência de pragas que habitam outros nichos ecológicos (plântulas, hastes e pecíolos). (HOFFMANN-CAMPO, *et al.* 2012).

As lagartas assumem grande importância como pragas desfolhadoras. No Brasil atualmente são listadas na cultura da soja pelo menos 10 espécies de lagartas que atacam desde as raízes até o produto final já estocado. As principais são: *Anticarsia gemmatalis*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Agrotis ipsilon*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera eridania*, *Spodoptera cosmioides*, *Chrysodeixis includens*, *Rachiplusia nu*, *Heliothis virescens*, *Omiodes indicata* (HOFFMANN- CAMPO, *et al.* 2012), porém nos últimos anos houve o acréscimo de *Helicoverpa armigera* na lista. No entanto, na região oeste do Paraná, as principais espécies na cultura da soja são a *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens*, e as do grupo Heliothinae, a mais importante para o momento a *Helicoverpa armigera* (CONTE, *et al.* 2014). Assim, neste estudo serão estudadas três espécies, as principais pragas da cultura da soja.

2.1.1 *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1827)

(uma das lagartas do grupo Heliothinae)

A espécie *H. armigera* teve sua ocorrência no Brasil registrada pela primeira vez em 2013. A espécie é polífaga, portanto causa danos a diferentes culturas de importância econômica, como o algodão, leguminosas em geral, sorgo, milho, tomate,

plantas ornamentais e frutíferas. As lagartas de *H. armigera* se alimentam de folhas e caules, contudo, têm preferência por brotos, inflorescências, frutos e vagens (REED 1965, WANG & LI 1984) *apud* Czepak (2013), causando danos tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva.

A espécie apresenta grande mobilidade e alta capacidade de sobrevivência, mesmo em condições adversas, podendo completar várias gerações ao ano e finalizando o seu ciclo de ovo a adulto no período de quatro a seis semanas (FITT 1989). São detalhes característicos da lagarta a sua cápsula cefálica de cor parda clara, linhas finas brancas laterais e a presença de cerdas (MATTHEWS 1999) *apud* Czepak (2013).

Na safra 2012/2013 foi estimado que 46% do valor total gasto para o controle de pragas em lavouras de algodão foi devido às ações de controle visando *H. armigera*. O número de pulverizações na cultura aumentou cerca de 10 a 15%, e isto está ligado diretamente aos ataques dessa lagarta e à dificuldade de seu controle (MIRANDA, 2013).

2.1.2 *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)

(lagarta-militar ou lagarta-do-cartucho-do-milho)

A espécie foi reconhecida como praga do milho em 1797, na Geórgia, Estados Unidos, mas no Brasil teve seu primeiro surto em 1964, causando prejuízos no milho, arroz e pastagens. No Brasil *S. frugiperda* apresenta ampla distribuição por todo o território nacional, além de apresentar alimentação diversificada, incluindo a soja. (CRUZ E EMBRAPA, 1995).

É conhecida como lagarta-militar, quando ataca lavouras de soja, porém pode ser conhecida também como lagarta-do-cartucho quando relacionado à cultura do milho. Na fase inicial da cultura da soja essas lagartas são encontradas no solo durante o dia, sob restos culturais ou torrões. À noite ou em dias nublados as lagartas alimenta-se ativamente das plântulas. Os danos econômicos ocorrem quando coincide o ataque da *S. frugiperda* em seu último instar com plântulas recém-emergidas. As lagartas cortam essas plântulas rentes ao solo, causando sua morte e prejuízos na lavoura. (HOFFMANN-CAMPO, *et al.* 2012).

No seu último instar apresenta coloração marrom-acinzentada no dorso e esverdeada na face ventral. O corpo é mais largo nas regiões do sétimo, oitavo e nono

segmentos abdominais. A fronte da cabeça é usualmente marcada com um Y invertido. (CRUZ E EMBRAPA, 1995).

2.1.3 *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818

(lagarta-da-soja)

A lagarta-da-soja é uma espécie de ocorrência tropical e subtropical e restrita aos continentes americanos, sendo importante em várias culturas, principalmente na soja. No Brasil, há indícios que esse inseto provavelmente migra de regiões do Centro-Oeste para regiões subtropicais e temperadas no Sul do país. (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2012).

Conhecida como lagarta da soja, ataca a parte aérea da planta, raspando-as enquanto pequenas, causando apenas manchas. No entanto quando crescem, destroem completamente a folha e inclusive as suas hastes, consumindo cerca de 90 cm² da folha para completar seu desenvolvimento. Possuem quatro pares de falsas pernas, coloração variável e são muito ativas, porém não são canibais. (GALLO, *et al.* 2002). Quando adultas, as asas anteriores da mariposa cobrem todo o seu corpo, notando se perfeitamente uma listra transversal escura unindo as pontas das asas (GAZZONI e YORINIORI, 1995; GALLO, *et al.* 2002).

2.2 Manejo de pragas e a dieta artificial

Com muito sucesso foi implantada no Brasil a filosofia de Manejo Integrado de Pragas da Soja (MIP-Soja) na década de 1970 e tem sido aperfeiçoada constantemente (HOFFMANN-CAMPO, *et al.* 2000). Essa filosofia consiste na tomada de decisão baseada no nível de controle e de dano da praga. É um sistema de controle de pragas que procura preservar e aumentar os fatores de mortalidade natural das pragas pelo uso integrado dos métodos de controle selecionados com base em parâmetros técnicos, econômicos, ecológicos e sociológicos. Entre as medidas de controles estão: o controle biológico que consiste na ação de inimigos naturais para o combate das pragas, controle químico, que ocasiona a morte da praga por meio de compostos químicos, cultural, que se baseia no comportamento da praga e há ainda o controle a partir da resistência de plantas, cujas características inseridas na planta, em laboratório, minimizam os danos por ataques de pragas (PICANÇO, 2010).

Segundo Parra (1996) é fundamental manter colônias de insetos em laboratório para atender ao manejo de pragas, pois tanto em pesquisas básicas ou aplicadas, é necessário um suprimento contínuo dos insetos. A importância dessa criação se dá em forma de estudos de resistência de plantas, bioensaios com inseticidas, e estudos de exigências nutricionais.

O desenvolvimento de dietas artificiais para insetos em laboratório propiciou um refinamento nas pesquisas sobre exigências nutricionais e permitiu grandes avanços em áreas básicas e aplicadas (PANNIZI E PARRA, 2009). Uma dieta artificial é um conjunto de alimentos fornecidos pelo homem na tentativa de substituir o alimento natural por outro mais acessível ou conveniente sob o ponto de vista técnico ou econômico.

Segundo Parra (1996), uma dieta artificial é aquela que apresenta alta sobrevivência da fase jovem, produza inseto com durabilidade da fase jovem igual à da natureza, origine adultos com alta capacidade reprodutiva, sirva para mais do que uma espécie, seja de baixo custo, viável e mantenha a qualidade do inseto no decorrer das gerações. A nutrição de insetos assume importância em virtude da necessidade crescente de sua produção massal visando à resolução de problemas relacionadas à entomologia básica e aplicada. Assim, o conhecimento da dieta adequada tanto à fase larval, quanto a dos adultos da espécie que se está pesquisando é fundamental para manutenção de seu nível populacional constante no laboratório. (FONSECA, *et al.* 2005).

O processo de criação massal de insetos fitófagos em laboratório enfrenta muitos desafios, principalmente quanto à determinação de alimento adequado que garanta suas necessidades nutricionais de forma fácil e prática pelo ano todo (PARRA, 2012; COHEN, 2015). Para a obtenção de adultos mais longevos e fecundos, além da alimentação com soluções de carboidratos, devem ser adicionados à sua dieta diversos outros nutrientes, tais como sais minerais, lipídeos, aminoácidos e vitaminas (PARRA, 2000).

Segundo Parra (1996), as técnicas de criação de lepidópteros em laboratório obtiveram grande avanço ao ser introduzido o germe-de-trigo nas dietas artificiais, e atualmente, é considerado elemento fundamental das dietas para insetos. Fêmeas adultas de Lepidoptera necessitam de alimentos proteicos, sais, nutrientes, vitaminas,

carboidratos, lipídeos para continuar a postura e assim obter longevidade e fecundidade ótimas (PANIZZI & PARRA, 1991).

Os componentes de uma dieta artificial podem variar, pois dependem dos hábitos alimentares e exigências nutricionais do inseto, que variam entre parâmetros químicos, físicos e biológicos. Os parâmetros químicos abrangem os fagoestimulantes que induzem os insetos a se alimentar, os físicos dizem respeito a consistência e estrutura da dieta e se elas são adequadas ao hábitos alimentares e ao aparato bucal dos insetos, e por fim os biológicos são as exigências peculiares ao inseto e que não são diretamente ligadas ao fator nutricional. Essas exigências específicas são principalmente proteínas e aminoácidos, os quais são necessários em altas quantidades para apresentar um bom crescimento (PARRA, 1996).

Os componentes gerais de uma dieta proposta por Parra (1996) são: fontes protéicas, como caseína, germe de trigo, soja, feijão, levedura de cerveja, milho e albumina; fontes de lipídeos e esteróis, como óleos vegetais, colesterol, ácido linolênico e linoléico; fontes de sais minerais como os sais de Wesson, por exemplo; fontes vitamínicas; fontes de carboidratos como sacarose, glicose e frutose. Para dar consistência à dieta, se faz necessária à adição de agentes gelificantes, como o ágar ou alginato, e para preservá-la, agentes fungistáticos, antibacterianos e antioxidantes.

Segundo Panizzi e Parra (2009), a caseína, a soja, o feijão, a levedura de cerveja e o milho são fontes protéicas bastante utilizadas. Geralmente para lagartas tem sido utilizado o feijão como fonte proteica principal das dietas artificiais. Alguns trabalhos têm modificado essa dieta, trocando o feijão branco pelo carioca, farinha de milho, e proteína de soja (GARCIA E PARRA, 1999; BAVARESCO *et al.*, 2004; COIMBRA *et al.*, 2005), outros trabalhos mantém o feijão mas altera os outros componentes, como sais minerais, vitaminas, formol (MOREIRA *et al.*, 2020). Porém, não foi encontrado trabalhos que testassem a eficiência do feijão em outra forma que não há forma tradicional, cozida a partir do grão.

A farinha de feijão possui todas as características nutricionais do grão de feijão, alterando apenas as proporções. Contudo, até o presente estudo não há citação na literatura para seu uso em dietas artificiais de lagartas ou insetos em geral.

3 METODOLOGIA

O experimento foi realizado no laboratório de insetos da empresa Corteva Agriscience, na cidade de Toledo-PR. Para o experimento foram utilizadas três espécies de lagartas (Insecta: Lepidoptera): *S. frugiperda*, *A. gemmatalis* e *H. armigera*, as quais foram selecionadas devido à importância e ocorrência delas na cultura da soja mundialmente.

Para o desenvolvimento das lagartas foram ofertadas três dietas artificiais. A primeira é a dieta padrão com base no feijão branco cozido e proposta por Parra (1996), com algumas modificações, e aqui nomeada de D1 (Tab. I). As outras duas dietas são alterações da primeira, no qual a segunda dieta (D2) foi substituído o feijão branco cozido pela farinha de feijão crua e na terceira dieta (D3) no lugar do feijão branco cozido foi utilizada a farinha de feijão cozida.

Tabela I. Lista de ingredientes das dietas artificiais utilizadas no estudo.

Ingredientes	Dietas		
	D1*	D2	D3
Feijão cozido	900g	-	-
Farinha de feijão crua	-	900g	-
Farinha de feijão cozida	-	-	900g
Água	14,400L	14,400L	14,400L
Ágar	270g	270g	270g
Germen de trigo	720g	720g	720g
Farelo de soja	360g	360g	360g
Levedo de cerveja	450g	450g	450g
Vitamina	118ml	118ml	118ml
Formol 30,03%	51ml	51ml	51ml
Caseína	360g	360g	360g
Ácido ascórbico	47,52g	47,52g	47,52g
Ácido sórbico	23,76g	23,76g	23,76g
Nipagin	39,60g	39,60g	39,60g
Tetraciclina	1,488g	1,488g	1,488g

* A diferença da dieta de Parra (1996) para a da pesquisa, é a presença da proteína de soja no lugar do farelo de soja.

A proposta de aquecer a farinha de feijão segue Gonzáles (2000) o qual cita que os tratamentos térmicos podem ter efeitos variáveis na fibra alimentar, e que o cozimento promove o rompimento dos componentes celulares dos grãos de feijão (celulose, hemicelulose, lignina, pectina e gomas), além de propiciar interações entre proteínas e lipídios, assim como trocas qualitativas e quantitativas que variam na composição total da fibra alimentar ao comparar alimento cru e cozido (Tab. II).

Tabela II. Composição centesimal do feijão branco cozido e da farinha de feijão branco crua e cozida. Adaptado de Andrezza *et al.*, (2015).

	Feijão branco cozido	Farinha de feijão branco cru	Farinha de feijão branco cozido
Valor calórico	137 kcal	100kcal	333kcal
Carboidratos	26,9 g	43g	60g
Proteínas	9,73g	20g	23g
Gordura total	0,35g	0g	0g
Gordura saturada	0,1 g	0g	0g
Colesterol	0 mg	0mg	0mg
Fibra alimentar	6,3 g	20g	17g
Cálcio	90 mg	97mg	187mg
Ferro	3,7 mg	5mg	3mg
Sódio	6 mg	0mg	0mg

As três dietas foram vertidas a partir de um liquidificador industrial (Fig. 1) e uma panela industrial (Fig. 2), no entanto para D1 e D3 houve o acréscimo de uma etapa: o cozimento do feijão branco (D1) por cerca de 50 minutos em panela de pressão elétrica (Fig. 3) e da farinha do feijão branco (D3) por 22 minutos sem pegar pressão (Fig. 4). Após esse processo inicial, todas as dietas seguiram exatamente o mesmo protocolo. Primeiro receberam a adição de outras substâncias já listadas na tabela I (Fig.5), após foram mantidas sob luz ultravioleta por 30 minutos (Fig. 6) para evitar futuras contaminações de bactérias e fungos. Em seguida foram organizadas (Fig. 7) e ensacadas (Fig. 8) até o dia do seu uso para não perderem umidade para o ambiente, caso contrário ficam ressecadas e impossibilitadas de usar.

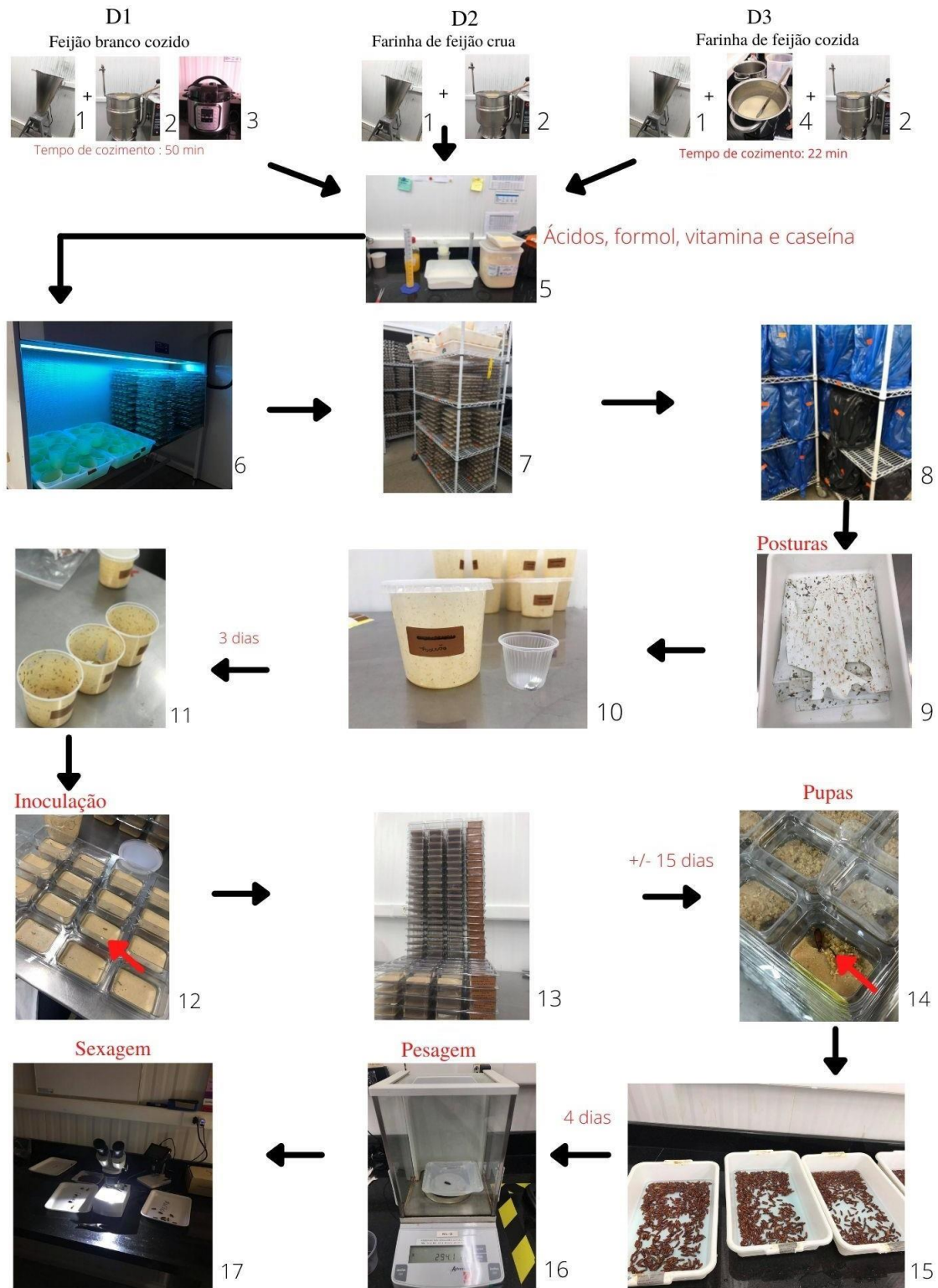
Para dar início ao experimento foram separados 60 copos plásticos (500 ml) revestidos com a dieta (Fig. 10) para colocar a postura das espécies (Fig. 9) com a seguinte composição: para cada dieta foram 10 copos para *S. frugiperda*, 20 para *H. armigera* e 20 para *A. gemmatalis*.

Posteriormente, as posturas foram armazenadas em uma sala com temperatura (27°C), fotofase (14 horas) e umidade (60%) controladas e contabilizado três dias para a eclosão das espécies. Assim que os ovos eclodiram (Fig. 11) e as lagartas alcançaram o tamanho ideal (segundo ínstar), foi realizada a inoculação nas bandejas com dietas para dar continuidade ao seu ciclo (Fig. 12).

Cada dieta rendeu em média 90 bandejas, que foram divididas entre as três espécies, 30 bandejas para cada. As bandejas foram armazenadas todas na mesma sala com fotofase controlada (14 horas) e temperatura média de 27°C onde foram mantidas até atingirem a fase de pupa (Fig. 13).

Durante cerca de 15 dias as lagartas foram mantidas nas dietas, tempo necessário para grande maioria dos indivíduos atingirem o estágio de pupa. O próximo passo foi a retirada das pupas das dietas utilizando uma pinça própria para a atividade e sendo colocadas em um recipiente de plástico (Fig. 14). Ao final, as pupas foram lavadas em uma solução de Sulfato de Cobre a 1% para evitar contaminação por fungos e bactérias. (Fig. 15). Após quatro dias foi realizada a pesagem das pupas e posteriormente sua sexagem, baseando-se nos caracteres morfológicos descritos por Butt & Cantu (1962) (Figs. 16 a 19).

Para a análise dos resultados as três dietas foram comparadas através de alguns parâmetros biológicos comumente utilizados para testar dietas artificiais em lagartas (BAVARESCO *et al.*, 2004, COIMBRA *et al.*, 2005), sendo elas: 1) peso individual das pupas (25 machos e 25 fêmeas por dieta selecionados aleatoriamente); 2) a viabilidade (quantas viraram pupas) do desenvolvimento das lagartas (cerca de 450 lagartas por dieta); e 3) proporção de machos e fêmeas (200 pupas por dieta selecionadas aleatoriamente). Para avaliar o parâmetro 1 foi utilizado análise de variância (ANOVA) a 0,05 de significância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, também a 0,05 de significância, enquanto que para os parâmetros 2 e 3 foi utilizado teste Qui-quadrado de Pearson a 0,05 de significância. Os testes foram rodados no programa BioEstat 5.0 e no Excel.



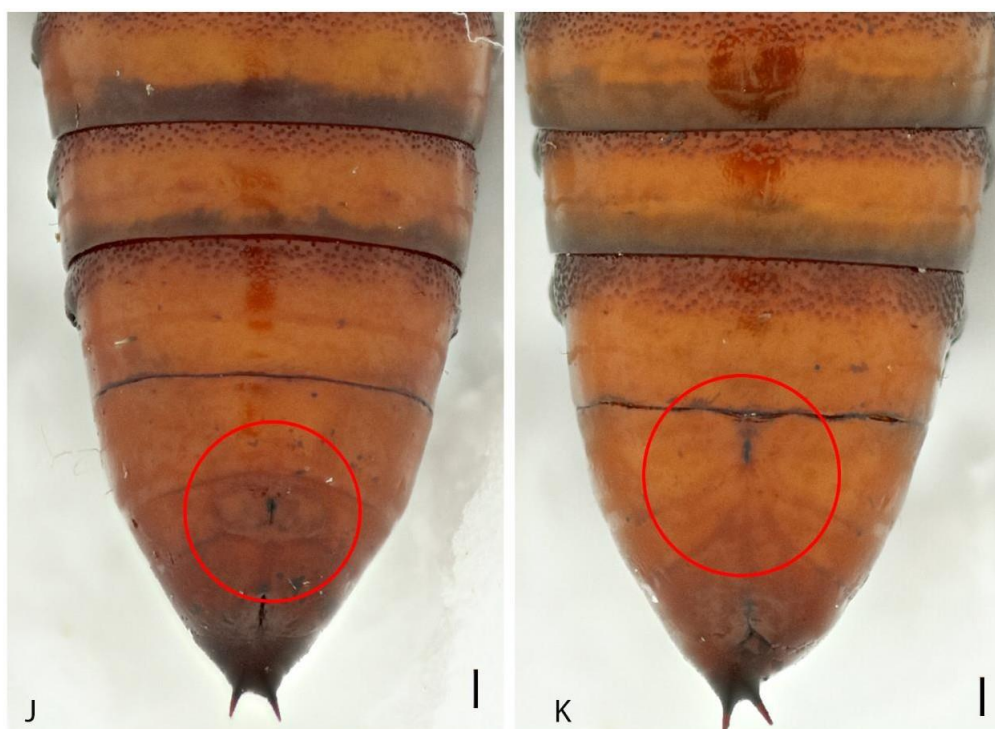
Fonte: o autor (2021)

Figuras 1 a 17. Protocolo de preparo das dietas. Explicação no texto da metodologia.



Fonte: o autor (2021)

Figuras 18. Lagartas e pupas das espécies de Lepidoptera utilizadas no experimento. A-C) *Helicoverpa armigera* A) Lagarta de quinto instar, B) Pupa macho C) Pupa fêmea. D-F) *Anticarsia gemmatalis* D) Lagarta de quinto instar, E) Pupa macho F) Pupa fêmea. G-I) *Spodoptera frugiperda* G) Lagarta de quarto instar, H) Pupa macho, I) Pupa fêmea. Escalas: 1cm.



Fonte: o autor (2021)

Figura 19. Detalhe do ápice do abdomen da pupa de *Spodoptera frugiperda* J) Macho, K) Fêmea.

Escala: 1mm.

4 RESULTADOS

Com intuito de descrever o tempo de desenvolvimento geral de fase lagarta e pupa para cada espécie com relação às três dietas, *Helicoverpa armigera*, em D1, demorou 16 dias para empupar depois de inoculada e 12 dias para emergir o adulto, já para D2 e D3 também foram 16 dias, porém 13 dias para virarem adultos. Para *Anticarsia gemmatilis*, em D1 e D3 foram 14 dias para virarem pupas, já na D2 foram apenas 13 dias, e para as três dietas as espécies precisou apenas de 10 dias para emergir adultos. Com relação ao desenvolvimento da *Spodoptera frugiperda*, foram 17 dias para se tornarem pupas em D1 e D3, e 15 dias para D2, e para emergir adultos, foram 9 dias para D1, 11 para D2, e 10 para D3.

1) PESO DE PUPAS *versus* DIETAS

Para as espécies *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda* a diferença dos pesos das pupas entre as três dietas não foi significativa, obtendo um $p > 0,05$, e

aceitando a hipótese nula (H_0) de que todas as dietas possuem médias estatisticamente iguais (Tabela III). No entanto, *Helicoverpa armigera*, obteve um valor de $p < 0,05$, rejeitando H_0 , ou seja, há diferença entre as médias. Neste caso, o teste Tukey mostrou diferença significativa de D2, com relação a D1 e D3, iguais entre si.

Tabela III. Peso de pupa em gramas de *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* em três dietas artificiais a base de feijão. D1: feijão branco cozido, D2: farinha de feijão branco crua, D3: farinha de feijão branco cozida. Valores dos pesos das pupas no apêndice.

Média do peso de pupa	<i>H. armigera</i>	<i>A. gemmatalis</i>	<i>S. frugiperda</i>
D1	387,88	484,43	274,16
D2	418,75	492,45	285,77
D3	385,31	481,54	284,050
Valor de p	$p < 0,01^*$	$p = 0,51$	$p = 0,31$

*Teste Tukey D2 diferente de D1 e D3.

2) DESENVOLVIMENTO LARVAL *versus* DIETAS

Para o parâmetro de desenvolvimento larval com relação às três dietas, *Helicoverpa armigera* e *Anticarsia gemmatalis* apresentaram um nível de significância de $p > 0,05$, ou seja, os tratamentos não possuem diferenças significativas com relação ao desenvolvimento das lagartas dessas espécies (Tabela IV). Contudo, *Spodoptera frugiperda* apresentou diferença significativa, $p < 0,05$, de D1 com relação a D2 e D3, estas iguais entre si.

3) NUMERO DE MACHOS E FÊMEAS *versus* DIETAS

Para o parâmetro número de machos em relação às fêmeas não houve diferença significativa entre as dietas para as três espécies estudadas.

Tabela IV. Desenvolvimento de *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* em três dietas artificiais a base de feijão: D1: feijão branco cozido, D2: farinha de feijão branco crua, D3: farinha de feijão branco cozida.

	<i>H. armigera</i>		<i>A. gemmatalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
	ND ¹	DES ²	ND ¹	DES ²	ND ¹	DES ²
D1	12	452	19	453	38	438
D2	11	450	24	455	6	458
D3	14	427	13	467	14	443
D1xD2	p=0,85		p=0,47		p=<0,01	
D1xD3	p=0,60		p=0,26		p=<0,01	
D2xD3	p=0,47		p=0,06		p=0,07	

¹Lagartas que não desenvolveram, ²lagartas que desenvolveram

Tabela V. Número de machos e fêmeas de *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* em três dietas artificiais a base de feijão: D1: feijão branco cozido, D2: farinha de feijão branco crua, D3: farinha de feijão branco cozida.

	<i>H. armigera</i>		<i>A. gemmatalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
D1	109	91	115	85	110	90
D2	108	92	112	88	100	100
D3	109	91	106	94	116	84
D1xD2	p=0,92		p=0,76		p=0,32	
D1xD3	p=1,00		p=0,37		p=0,55	
D2xD3	p=0,92		p=0,55		p=0,11	

5 DISCUSSÃO

Os valores obtidos no período de desenvolvimento das lagartas desde ovo até adulto nas três dietas foram menores, o que levanta a possibilidade de desenvolvimento em menos tempo, do que os valores encontrados por Garcia e Parra (1999). As condições de temperatura, umidade e fotofase foram as mesmas para ambos os trabalhos. Contudo, esse parâmetro não foi alvo de investigação nesta pesquisa, o qual poderá ser abordado futuramente.

Com relação aos pesos das pupas, não houve diferença de dietas para *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*, assim as farinhas de feijão branco crua e cozida não alteram o coeficiente de eficiência alimentar dos insetos, nem interferem no seu peso, resultado este semelhante ao de Andreazza *et al.* (2015). No entanto isso não se aplica a *H. armigera*, que apresentou diferença significativa em D2, a qual tinha como base a farinha de feijão branco crua, obtendo pupas mais pesadas com relação às demais.

Nesse mérito, Bavaresco *et al.* (2004) apresentou uma média de peso de pupas maior para *Spodoptera cosmioides* na dieta com feijão carioca cozido, e também em dieta com farinha de milho cozida, quando comparado ao feijão branco cozido, podendo então serem utilizados como uma segunda opção na falta da farinha do feijão.

Vale lembrar que Parra (1996) afirma que existe uma correlação entre peso de pupas e capacidade de postura. Do mesmo modo, Pannizzi e Parra (2009) encontraram que a quantidade e a qualidade do alimento consumido durante a fase larval refletem na taxa de crescimento, tempo de desenvolvimento, peso do corpo, fecundidade, longevidade e sobrevivência.

Ao se tratar do desenvolvimento larval, para *A. gemmatalis* e *H. armigera*, qualquer uma das três dietas obteve resultados parecidos. Porém para *S. frugiperda* a dieta com feijão branco cozido (D1) apresentou um grande número de lagartas que não se desenvolveram. Parra e Carvalho (1984) afirmaram que *S. frugiperda* adaptou-se melhor e sendo mais promissora com a variedade carioquinha do feijão, por proporcionar maior viabilidade das lagartas. Neste sentido, afirmamos que *S. frugiperda* obteve maior viabilidade utilizando farinha de feijão branco, tanto crua quanto cozida, do que ao utilizar o feijão branco em grãos cozido.

Parra (1996) sugere, a partir do desenvolvimento larval, dietas para *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* compostas por feijão branco cozido e feijão carioca cozido, respectivamente. Já Ribeiro (2017) ao trabalhar com a criação de *H. armigera* concluiu que a melhor dieta recomendada para essa espécie foi a mesma sugerida para *A. gemmatalis* em Parra (1996), no caso composta por feijão branco. Portanto, *A. gemmatalis* e *H. armigera*, se adaptaram com o feijão branco cozido, já *S. frugiperda* de fato, apresentou resultados mais promissores com a variedade carioca cozida. Do mesmo modo, nossos resultados foram iguais entre as dietas com relação a *A. gemmatalis* e *H. armigera*, contudo foram diferentes para *S. frugiperda* quando comparado à dieta padrão (D1) com as alternativas sugeridas neste trabalho (D2 e D3). Ou seja, para *S. frugiperda* as dietas a base de farinha de feijão crua ou cozida podem ser uma alternativa melhor na criação da espécie juntamente ao feijão carioca cozido.

Com relação ao número de machos e fêmeas nas dietas analisadas, não houve alteração, porém observou-se que o número de machos foi maior do que o de fêmeas.

Resultado este contrário do trabalho de Coimbra *et al.* (2005) com a espécie *Argyrotaenia sphaleropa* que apresentou maior número de fêmeas na dieta que continha feijão branco, porém acrescida de farinha de soja. Bavaresco (2004) trouxe dados interessantes quando se trata de razão sexual ao estudar *S. cosmioides* em diferentes dietas, no caso a dieta que mais se aproximou do equilíbrio entre machos e fêmeas foi a que continha como base a farinha de milho, mostrando a necessidade de utilizar outras fontes protéicas dependendo do objetivo da criação.

Dessa forma, no presente estudo e levando em consideração o último parâmetro analisado, a escolha da dieta nas três espécies analisadas pode ser feita com base no seu custo benefício, já que os resultados não sofreram interferência quando substituído o feijão branco cozido pelas farinhas crua e cozida do mesmo feijão.

6 CONCLUSÃO

Helicoverpa armigera apresentou resultados mais promissores na dieta que tem como base a farinha de feijão crua, pois, resultou em pupas mais pesadas, fator que influencia positivamente na fecundidade e capacidade de postura do inseto. Portanto, ao utilizarmos essa dieta, é possível aliar bons resultados com a redução dos gastos relacionados ao seu preparo.

Para *Spodoptera frugiperda*, as duas opções com farinha de feijão, sendo ela crua ou cozida, é viável para essa espécie, porém ao levar em conta o custo benefício e o objetivo de pular etapas de cozimento, a dieta com farinha de feijão crua é mais vantajosa.

Anticarsia gemmatalis obteve os mesmos resultados nas três dietas analisadas. Ou seja, para essa espécie, levando em consideração os parâmetros analisados, a substituição do grão cozido pela farinha crua é promissora. Desse modo, ao escolher a farinha de feijão crua como base da dieta artificial dessa espécie economizamos o custo e o tempo para cozimento e encurtamos o tempo do protocolo de elaboração, já que não haverá o cozimento do feijão.

Por fim, foi possível concluir que dentre as três dietas analisadas e levando em consideração os parâmetros verificados, a dieta mais promissora para diminuir custos e tempo de preparo foi àquela composta por farinha de feijão branco crua (D2).

REFERÊNCIAS

- ANDREAZZA, G. L; ANZOLIN, C; BEBBER, V. W; MARQUES, F. A; SOUZA, S. O; BARROS, M; MELO, S. S. Efeitos da faseolamina, farinhas de feijão cru e cozido no perfil nutricional e bioquímico de ratos jovens saudáveis. **Nutrire**. 2015 Aug. p. 137-144
- BAVARESCO, A.; GARCIA, M. S; GRUTZMACHER, A. D; RINGENBERG, R; FORESTI, J. Adequação de Uma Dieta Artificial Para a Criação de Spodoptera cosmíodes (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae) em Laboratório. **Neotropical Entomology**. 2004.
- BUTT, B. A & E. CANTU. 1962. Sex determination of lepidopterous pupae. Washington: United States Department of Agriculture (USDA): **Agricultural Research Service**, 7p. (ARS-33-75).
- COHEN, A. C. **Insect diets: science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 2015. p. 1-164.
- COIMBRA, S. M; GARCIA, M. S; LOECK, A. E; BOTTON, M; FORESTI, J. Aspectos biológicos de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick 1909) (Lepidoptera: Tortricidae) em Dietas Artificiais com Diferentes Fontes Proteicas. **Ciência Rural**, v.35, n.2, mar-abr, 2005.
- CONTE, O; OLIVEIRA, T. F; HARGER, N; FERREIRA, C. S. B. **Resultados do Manejo Integrado de Pragas da Soja na Safra 2013/14 no Paraná**. Londrina, PR: Embrapa, 2014. 1ª edição.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1995. 45p. (EMBRAPA/CNPMS. Circular Técnica, 21) .
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 110- 113, 2013.
- FITT, G. P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, n. 1, p. 17-52, 1989.
- FONSECA, F. L; COIMBRA, S. M; FORESTI, J e KOVALESKI, A. Efeito de dietas artificiais para a alimentação de adultos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae), em laboratório. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, p.1229-1233, nov-dez, 2005.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; DE BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. 2002. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ. 920p.
- GARCIA, M. S; PARRA, J. R. P. Comparação de Dietas Artificiais, com Fontes Protéicas Variáveis, para Criação de *Ecdytophpha aurantiana* (Lima) (Lepidoptera: Tortricidae). Junho, 1999 **An. Soc. Entomol. Brasil**.

GAZZONI, D. L.; YORINIORI, J. T. **Manual de identificação de pragas e doenças da soja**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 128p. (Manual de identificação de pragas e doenças, 1).

GONZÁLES, G. C. A. Efecto del tratamiento térmico sobre el contenido de fibra dietética total, soluble y insoluble en algunas leguminosas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 3, p. 281-285, set. 2000.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; FERREIRA, C. S. B.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 1ª edição.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 2000. 70 p. (Embrapa-CNPSO. Circular Técnica, 30).

MATTHEWS, M. **Heliothine moths of Australia: a guide to pest bollworms and related noctuid groups**. Melbourne: CSIRO, 1999.

MIRANDA, J. E. **Perdas por Pragas e Impacto Sobre o Custo de Produção do Algodão Brasileiro nas Safras 2011/2012 e 2012/2013**. 9º Congresso Brasileiro do Algodão. Embrapa Algodão, Núcleo do Cerrado, p. 2, 2013.

MOREIRA, S. C. S; SILVA I. F; ÁVILA, C. J; OLIVEIRA, H. N. Anticontaminantes alternativos como substitutos ao formaldeído na dieta artificial para criação de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomological Communications**, 2, 2020: ec02015.

PANIZZI, Antônio R.; PARRA, José Roberto Postali. **Introdução à bioecologia e nutrição de insetos como base para manejo integrado de pragas**. In: *Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas*[S.l: s.n.], 2009.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. p. 359.

PARRA, J.R.P. **A biologia de insetos e o manejo de pragas: da criação em laboratório a aplicação em campo**. In: GUEDES, J.C. et al. Bases técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 2000. 248p. p.1-29.

PARRA, J. R. P.; CARVALHO, S. M. Biologia e nutrição quantitativa de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em meios artificiais compostos de diferentes variedades do feijão. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v.13, p.305-319, 1984.

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

PARRA, J. R. P. The evolution of artificial diets and their interactions in science and technology. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.) **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Ratón: CRC Press, 2012. p. 51-92.

PICANÇO, M. C. **Manejo integrado de pragas**. Viçosa: UFV, 2010.

REED, W. *Heliothis armigera* (Hb.) (Noctuidae) in western Tanganyika: II. Ecology and natural and chemical control. **Bulletin of Entomological Research, Cambridge**, v.56, n. 1, p. 127-140, 1965.

RIBEIRO, Z. A. **DIETA ARTIFICIAL E METODOLOGIA DE CRIAÇÃO MASSAL PARA O BEM-ESTAR DE *Helicoverpa armigera***. Tese (Doutorado em Entomologia agrícola). UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE JABOTICABAL, 2017.

WANG, N. C.; LI, Z. H. Studies on the biology of cotton bollworm (*Heliothis armigera* Hübner) and tobacco budworm (*Heliothis assulta* Quenee). **Journal of the Shandong Agricultural University**, Taian, v. 1-2, n. 1, p. 13-25, 1984.

APÊNDICE 1

Tabela I. Valores de pesos de pupas de *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* para D1: feijão branco cozido.

<i>H. armigera</i>		<i>A. gemmatalis</i>		<i>S.fugiperda</i>	
MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS
386,5	462,4	269,8	226,1	275,5	261,4
391,6	394,2	278,8	241,9	293,9	261,3
359,5	403,5	279,9	202,4	260,0	299,9
377,5	318,4	265,1	267,9	277,0	265,6
386,7	441,8	283,1	240,2	272,5	278,3
366,4	428,6	241,2	268,6	291,8	257,3
368,4	398,4	268,4	214,3	298,8	266,1
410,8	388,5	225,9	215,9	287,1	124,1
387,4	355,1	283,9	236,3	281,9	276,1
387,2	417,3	217,9	224,2	279,3	361,6
362,6	398,4	251,8	273,3	239,1	209,9
293,1	350,1	240,3	210,0	182,6	301,4
395,0	462,7	264,1	236,4	280,6	259,5
416,8	407,8	282,8	202,2	264,2	297,2
349,3	429,2	298,5	221,4	288,6	296,6
396,7	349,7	261,0	233,6	294,7	245,8
415,2	351,2	258,1	234,1	252,5	308,8
433,6	395,1	294,5	234,3	309,8	270,9
431,3	429,5	240,0	217,4	273,9	314,6
372,1	393,5	262,7	220,6	272,8	272,9
465,3	387,1	259,9	236,8	282,4	272,7
328,3	323,3	245,6	231,1	287,3	292,6
342,7	370,9	210,1	246,9	288,2	318,6
360,2	376,8	265,7	251,9	273,6	262,8
377,8	398,7	311,5	204,5	284,3	267,2

Tabela II. Valores de pesos de pupas de *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* para D2: farinha de feijão branco crua.

<i>H. armigera</i>		<i>A. gemmatalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS
386,5	474,3	245,1	226,1	292,2	244,0
416,1	417,3	254,9	263,9	273,3	301,9
419,6	455,7	255,8	239,8	315,4	285,9
577,3	400,0	248,9	213,1	282,2	312,2
393,0	374,2	228,9	261,9	259,0	252,7
395,8	395,4	243,9	260,4	278,4	300,6
461,8	435,2	247,9	218,5	283,2	312,9
514,9	369,2	260,1	237,9	271,9	222,4
450,4	419,1	282,8	236,3	287,2	320,8
385,4	433,8	275,6	213,7	284,9	277,2
355,2	426,5	232,9	251,3	290,2	349,6
473,9	393,4	226,9	241,9	281,7	357,1
379,5	368,2	271,0	211,4	294,3	281,3
456,4	485,2	258,9	196,1	305,3	270,6
416,9	421,4	291,0	235,9	270,3	285,6
397,7	454,3	272,9	256,7	280,0	317,8
389,4	425,1	290,1	227,9	277,9	335,5
412,9	330,8	259,6	241,9	301,8	318,3
382,6	375,7	298,5	274,0	294,2	257,7
399,8	395,9	242,5	226,7	294,3	293,6
437,5	371,4	279,2	283,5	229,4	331,1
415,9	437,5	255,6	232,9	257,5	269,0
474,8	432,5	274,9	271,2	313,	277,5
350,1	425,6	275,7	283,6	306,6	223,4
417,9	458,5	226,4	251,0	246,1	218,5

Tabela III. Valores de pesos de pupas de *Helicoverpa armigera*, *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* para D3: farinha de feijão branco cozida.

<i>H. armigera</i>		<i>A. gemmatalis</i>		<i>S. frugiperda</i>	
MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS	MACHOS	FÊMEAS
370,8	441,7	268,8	220,8	261,0	242,6
400,0	381,5	254,2	229,6	289,6	299,2
373,2	405,9	253,0	208,6	296,2	283,0
361,8	420,0	285,1	208,4	256,7	300,9
292,9	370,7	271,2	239,8	280,9	301,4
335,1	323,1	285,0	277,6	288,7	289,2
378,0	356,4	247,3	230,7	282,5	278,5
368,1	427,5	245,9	233,5	252,7	285,4
387,5	364,6	250,2	236,7	269,7	270,9
387,0	392,8	246,9	257,8	280,1	295,5
424,2	376,2	235,6	223,0	322,7	312,5
392,6	421,6	271,2	220,8	286,6	316,4
380,3	391,9	249,2	238,4	290,9	247,9
360,5	405,5	290,3	237,3	278,4	286,9
415,4	466,6	274,7	269,5	299,3	290,3
407,2	343,4	260,1	224,0	295,8	264,7
349,5	348,8	256,6	237,5	291,7	289,6
388,1	351,9	226,7	239,6	213,6	281,9
386,2	349,9	264,9	255,4	255,7	256,9
365,9	394,5	216,1	256,1	277,9	287,2
407,0	416,9	274,2	201,1	282,0	293,9
342,6	369,3	222,6	265,4	302,2	317,2
378,3	379,7	241,7	206,3	274,2	297,1
410,9	461,1	290,9	196,0	283,1	311,6
382,6	358,2	256,3	226,7	279,4	282,9