

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MARCAÇÃO, VOO TUTORADO E DISPERSÃO DE
Anticarsia gemmatalis (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE) e *Chrysodeixis includens* (WALKER)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**Daniel Ferreira Caixeta
Engenheiro Agrônomo**

2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**MARCAÇÃO, VOO TUTORADO E DISPERSÃO DE
Anticarsia gemmatalis (HÜBNER) (LEPIDOPTERA:
EREBIDAE) e *Chrysodeixis includens* (WALKER)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Daniel Ferreira Caixeta

Orientador: Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus
de Jaboticabal, como parte das exigências
para a obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Entomologia Agrícola).**

2014

C138m Caixeta, Daniel Ferreira
Marcação, voo tutorado e dispersão de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae)/ Daniel Ferreira Caixeta. -- Jaboticabal, 2014

xiii, 70 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014

Orientador: Odair Aparecido Fernandes

Banca examinadora: Jorge Braz Torres, Celso Omoto, Arlindo
Leal Boiça Junior, Ricardo Antonio Polanczyk

Bibliografia

1. Movimentação. 2. Falsa-medideira. 3. Lagarta da soja. 4.
Refúgio. 5. Resistência I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:633.34

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: danielfcaixeta@yahoo.com.br

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: MARCAÇÃO, VOO TUTORADO E DISPERSÃO DE *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) E *Chrysodeixis includens* (WALKER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

AUTOR: DANIEL FERREIRA CAIXÊTA

ORIENTADOR: Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR
Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal


Prof. Dr. JORGE BRAZ TORRES
Universidade Federal Rural de Pernambuco / Recife/PE


Prof. Dr. CELSO OMOTO
Universidade de São Paulo / Piracicaba/SP

Data da realização: 28 de janeiro de 2014.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

DANIEL FERREIRA CAIXETA – Nascido em 15 de setembro de 1985, na cidade de Pires do Rio, GO, filho de Luzia Maria Ferreira Caixeta e Divino Gonçalves Caixeta. Em 2003, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Goiás-UFG, em Goiânia, e recebeu o título de Engenheiro Agrônomo em fevereiro de 2008. Trabalhou durante toda a graduação com entomologia agrícola. Foi estagiário no departamento de entomologia agrícola da UFG de 2003 a 2004, sob orientação da Prof. Dr.(a) Cecília Czepak, desenvolvendo projetos em parceria com diversas multinacionais. Posteriormente, foi bolsista de iniciação científica do CNPQ-PIBIC durante três anos na Embrapa Arroz e Feijão, sob orientação do Prof. Dr. José Alexandre Freitas Barrigossi. Em 2008 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – UNESP sob orientação do Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes, e, em 2010, iniciou o Doutorado. Desde então, desenvolveu estudos sobre a marcação e dispersão de lepidópteros-praga em culturas como cana-de-açúcar e soja. Atuou como docente no curso de Agronomia da Fundação Doutor Francisco Maeda, e, atualmente, é professor de Entomologia Geral, Agrícola e Proteção de Plantas no curso de Agronomia da Unievangélica em Goianésia, Goiás.

A ansiosa solicitude pela vida

“Por isso, vos digo: não andeis ansiosos pela vossa vida, quanto ao que haveis de comer ou beber; nem pelo vosso corpo, quanto ao que haveis de vestir. Não é a vida mais do que o alimento, e o corpo, mais do que as vestes?

Observai as aves do céu: não semeiam, não colhem, nem ajuntam em celeiros; contudo, vosso Pai celeste as sustenta. Porventura, não valeis vós muito mais do que as aves?

Qual de vós, por ansioso que esteja, pode acrescentar um côvado ao curso da sua vida?

E porque andais ansiosos quanto ao vestuário? Considerais como crescem os lírios do campo: eles não trabalham, nem fiam.

Eu, contudo, vos afirmo que nem mesmo Salomão, em toda a sua glória, se vestiu como qualquer deles.

Ora, se Deus veste assim a erva do campo, que hoje existe e amanhã é lançada no forno, quanto mais a vós outros, homens de pequena fé?

Portanto, não vos inquieteis, dizendo: Que comeremos? Que beberemos? Ou: Com que nos vestiremos?

Porque os gentios é que procuram todas estas coisas; pois vosso Pai celeste sabe que necessitais de todas elas; buscai, pois, em primeiro lugar, o seu reino e a sua justiça, e todas estas coisas vos serão acrescentadas.

Portanto, não vos inquieteis com o dia de amanhã, pois o amanhã trará os seus cuidados; basta a cada dia o seu próprio mal.”

Mateus 6, 25-34.

Aos meus pais, Divino Gonçalves Caixeta e Luzia Maria Ferreira Caixeta, por terem se esforçado tanto para proporcionar a formação que não puderam ter, pelo apoio sempre presente em minhas decisões, pelos conselhos, por ser meu alicerce. Sem o amor de vocês eu nunca teria chegado tão longe, nada que eu faça ou diga irá retribuir o que fizeram por mim.

OFEREÇO

A minha amada esposa Lidiane Gonçalves de Jesus Caixeta, pelo amor, carinho e apoio incondicional em todos os momentos, sejam bons ou ruins. Pelo companheirismo surreal, pelas palavras, gestos, e sorrisos que iluminaram meu caminho até aqui.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu pai, meu amigo, meu conselheiro e companheiro, aquele que semeou o desejo de vencer em meu coração e que é meu alicerce e força, sem ti Senhor, nada disso seria realidade.

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao Prof. Dr. Odair A. Fernandes, pela orientação, pelos ensinamentos, pela estrutura, paciência e confiança investidas no meu trabalho.

Ao Dr. José Alexandre Freitas Barrigossi, pela amizade, e pelos valorosos ensinamentos que tanto contribuíram para que eu me tornasse o profissional que sou hoje.

Aos Professores do Departamento de Fitossanidade, pela atenção dispensada e contribuição em minha formação.

A toda equipe de colaboradores do Laboratório de Ecologia Aplicada (APECOLAB) da FCAV/UNESP. Aos estagiários: Laíssa Cavalline, Wellington Secatto, Audrey Hermes Konda e Dayane Andrade dos Reis. A nossa faz-tudo e grande amiga Márcia Regina Macri. E, em especial, aos parceiros que fizeram esforços no mínimo insanos para que esse trabalho pudesse ser realizado: MSc. Leandro Aparecido de Souza, Leonardo da Silva Turco, Ana Elisa Mafra e Lidiane Gonçalves de Jesus.

Aos grandes e inesquecíveis amigos da pós-graduação: Dr. Alexandre Carlos Menezes Netto, Dr. José Antonio de Souza Rossato Junior, MSc. Tiago Rodrigo

Lohmann, Dr.(a) Juliana Duarte de Souza Alonso, MSc.(a) Andrea Correa Varella e MSc. Edson Corbo, pela ajuda desde a elaboração das perguntas até a correção do manuscrito, pelos conselhos, conversas, risos, enfim, por lembranças de momentos maravilhosos que jamais serão esquecidos.

Ao Dr. Thomas Hunt, pelo fornecimento dos corantes.

A SGS Gravena e ao Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ-USP pelos insetos e materiais que foram utilizados para iniciar as colônias.

E à Monsanto do Brasil, pelo financiamento parcial do trabalho.

A todos, muito obrigado.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1.1. Introdução	1
1.2. Revisão de literatura	3
1.2.1. Importância e aspectos bioecológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>C. includens</i>	3
1.2.2. A soja <i>Bt</i> e o manejo de resistência de insetos	4
1.2.3. Marcação dos insetos visando estudos de dispersão	5
1.2.4. Voo-tutorado, migração e dispersão de <i>A. gemmatalis</i> e <i>C. includens</i>	6
1.2.5. Fatores que podem influenciar a movimentação dos insetos em campo	9
1.3. Referências	10
CAPÍTULO 2–Efeito de corantes lipossolúveis na marcação, desenvolvimento e voo tutorado de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lepidoptera: Erebidae) e <i>Chrysodeixis includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	15
INTRODUÇÃO	17
MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	25
AGRADECIMENTOS	27
REFERÊNCIAS CITADAS	28
TABELAS	32
FIGURAS	35

CAPÍTULO 3–Voo tutorado e dispersão de adultos de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lepidoptera: Erebidae)	37
INTRODUÇÃO	39
MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO	51
AGRADECIMENTOS	55
REFERÊNCIAS CITADAS	56
TABELAS	60
FIGURAS	64
CAPÍTULO 4–Considerações finais	68

MARCAÇÃO, VOO TUTORADO E DISPERSÃO DE *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) e *Chrysodeixis includens* (WALKER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

RESUMO – O uso de plantas *Bt* no controle de pragas possui riscos quanto à seleção de indivíduos resistentes. Por isso, a adoção de áreas de refúgio é crucial para minimizar a evolução da resistência. E para planejar a disposição e a distância entre essas áreas deve-se conhecer a dispersão dos insetos. Assim, o primeiro objetivo deste trabalho foi marcar *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) por meio de corantes lipossolúveis para definir o melhor corante-concentração a ser utilizados em estudos de dispersão. O segundo objetivo foi avaliar os efeitos da idade, do sexo e da cópula no voo tutorado, e o reflexo desses cenários na reprodução e no manejo de resistência, para, com isso, realizar estudos de dispersão de adultos de *A. gemmatalis* em soja. Os corantes azul (Solvent Blue 35) e vermelho (Sudan Red 7B) nas concentrações de 100 e 400 ppm diluídos em óleo foram testados. Verificou-se que o corante Sudan Red 7B a 400 ppm pode ser utilizado na marcação de *A. gemmatalis*, mas não para *C. includens*. Avaliou-se o voo tutorado e a reprodução de fêmeas e machos, copulados ou não com 2, 4 e 6 dias após a emergência. Constatou-se que diversas características relacionadas ao voo e à reprodução de *A. gemmatalis* reforçam a estratégia de refúgio estruturado em soja *Bt*, o que pode desacelerar o desenvolvimento de populações resistentes no campo. Avaliou-se a dispersão por meio da liberação e captura. Utilizaram-se armadilhas luminosas na captura dos insetos, distribuídas nos sentidos norte, sul, leste e oeste, e espaçadas a 150 m entre si até a distância máxima de 900 m. Mais de 10% dos adultos de *A. gemmatalis* estudados puderam voar mais de 800 m. Consequentemente, propõe-se que as áreas de refúgio em soja *Bt* sejam espaçadas a até 800 m de distância entre si, visando a diminuição da frequência dos indivíduos resistentes no campo.

Palavras-chave: movimentação, falsa-medideira, lagarta da soja, refúgio, resistência.

MARKING, TETHERED FLIGHT, AND DISPERSAL OF *Anticarsia gemmatalis* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: EREBIDAE) e *Chrysodeixis includens* (WALKER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT -The use of *Bt* crops to control pests may cause environmental risks mainly due to selection of resistant individuals. Therefore, the use of refuge areas is crucial to minimize the evaluation of resistance. However, dispersal of target insects should be understood to properly plan the locations of these areas. Thus, the first objective of this study was to mark *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) and *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) by oil-soluble dyes in order to establish the best concentration to be used in dispersal studies. The second objective was to evaluate the effects of age, sex, and copulation on tethered flight and their implication of these scenarios on reproduction and resistance management as well as to carry out dispersal studies of *A. gemmatalis* adults in soybean. The blue (Solvent Blue 35) and red (Sudan Red 7B) dyes at 100 and 400 ppm concentrations diluted in oil were tested. It was noticed that the Sudan Red 7B at 400 ppm can be used for marking *A. gemmatalis*, but not for *C. includens*. We evaluated the tethered flight and reproduction of females and males, mated and unmated with 2, 4, and 6 days after emergence. Results indicated that several characteristics related to flight and reproduction of *A. gemmatalis* support the structured refuge strategy for *Bt* soybean, which can slow down the development of resistant populations in the field. Dispersal of insects was also evaluated through the release and capture. Light traps were used to capture the insects and were distributed 150 m apart in the North, South, East and West directions. The farthest light trap was located 900 m from the release site. More than 10% of *A. gemmatalis* adults could fly more than 800 m. Consequently, it is proposed that refuge areas in *Bt* soybeans should be spaced up to 800 m away from each other, aiming to reduce the frequency of resistant individuals in the field.

Key Words: movement, soybean looper, velvetbean caterpillar, refuge, resistance.

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1.1. Introdução

A piramidização, alta dose e o refúgio estruturado são as principais ferramentas utilizadas para minimizar o aumento da frequência de alelos de resistência em populações de insetos presentes em áreas cultivadas com plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, conhecidas comumente como plantas *Bt* (GOULD, 1998). Na soja MON 87701 x MON 89788 aprovada para comercialização no Brasil há apenas um evento que permite a produção da proteína inseticida Cry1Ac (CTNBIO, 2010). Essa proteína confere resistência às duas principais pragas desfolhadoras da cultura, *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (BERNARDI et al., 2012). Como esse material não é piramidizado, o sucesso de controle e redução de desenvolvimento da resistência deve se basear na elevada expressão da proteína nos tecidos da planta (alta dose) e no refúgio estruturado. Para dimensionar o refúgio, faz-se necessário conhecer a dispersão dos adultos dessas pragas, visando o manejo de resistência (GOULD, 1998).

O estudo do voo dos insetos é facilitado por meio da marcação, que possibilita diferenciar os indivíduos liberados dos selvagens. É necessário que o corante não afete de forma significativa a biologia e o comportamento do inseto, prejudicando o voo. Ressalta-se ainda que a marcação precisa ser duradoura (SOUTHWOOD, 1978; HUNT et al., 2000).

Não existem informações a respeito da marcação e da capacidade de dispersão de adultos de *A. gemmatalis* e *C. includens* no Brasil. Os poucos estudos existentes no mundo tratam da migração de adultos em condições de clima temperado. Buschman et al., (1977) e Tingle e Mitchell (1977) monitoraram populações de ambos os insetos, e observaram que estes podem migrar grandes distâncias, chegando muitas vezes a atravessar estados inteiros nos EUA. Fatores como correntes de ar, disponibilidade de alimento e temperatura podem influenciar o voo migratório desses indivíduos.

Assim, a fim de viabilizar estudos relativos à dispersão de adultos de *A. gemmatalis* e de *C. includens* em agroecossistemas, uma vez que a soja *Bt* foi liberada para o plantio, o primeiro objetivo deste trabalho foi avaliar a marcação de ambas as espécies por meio de corantes diluídos em óleo de soja e incorporados à dieta das lagartas. Para tanto, avaliou-se o efeito da solução contendo os corantes no desenvolvimento e na capacidade de voo tutorado, para definir a melhor cor e concentração dos corantes (corante-concentração) a serem utilizados. O segundo objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da idade, do sexo e da cópula no voo tutorado, e o reflexo desses cenários na reprodução e no manejo de resistência, para, com isso, realizar estudos de dispersão de adultos de *A. gemmatalis* em áreas cultivadas com soja, com o intuito de identificar os principais fatores que influenciam o voo e a distância máxima de dispersão, de modo que seja possível contribuir para o planejamento das áreas de refúgio.

1.2. Revisão de literatura

1.2.1. Importância e aspectos bioecológicos de *A. gemmatalis* e *C. includens*

A. gemmatalis e *C. includens* são insetos cujas larvas se alimentam de folhas de diversas leguminosas. A lagarta da soja, *A. gemmatalis*, é considerada o principal desfolhador da soja, já a lagarta falsa-medideira, *C. includens*, que era considerada praga secundária tem se tornado cada vez mais importante, e hoje é considerada praga-chave na cultura. Ambas ocorrem de maneira bastante generalizada no Brasil (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; MARSARO JUNIOR et al., 2010).

A incubação dos ovos de *A. gemmatalis* dura cerca de três dias, e cada fêmea tem capacidade de depositar até 1000 ovos, dos quais 80% são depositados nos primeiros nove dias de vida da mariposa. As fêmeas adultas podem viver até 20 dias. Da mesma forma, o período de incubação de *C. includens* é de cerca de três dias. As fêmeas podem viver até 15 dias, e colocar mais de 600 ovos. O potencial reprodutivo dessas pragas faz com que ambas desempenhem um papel importantíssimo dentro do complexo de lagartas desfolhadoras que atacam a cultura da soja (LEPPLA, 1976, HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

As larvas de *A. gemmatalis* possuem vários hospedeiros alternativos, como feijões, amendoim, arroz e algodão. O ataque à cultura da soja é intensificado a partir de dezembro no Sul do Brasil, podendo gerar perdas de até 100%. Nos dois primeiros ínstaes as lagartas raspam o parênquima foliar, e perfuram as folhas a partir do terceiro ínstar. A fase larval dura cerca de 15 dias, e as lagartas podem consumir de 85 a 150cm² de área foliar; aproximadamente 96% desse consumo ocorre do 4°. ao 6°. ínstaes (PACKARD, 1948; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; MOSCARDI et al., 2012).

A fase larval de *C. includens* dura de 13 a 20 dias, e durante esse período pode consumir até 200 cm² de área foliar. O que diferencia o dano causado pela falsa-medideira da lagarta-da-soja, é que a falsa-medideira não consome as nervuras da folha, o que deixa as plantas com um aspecto rendilhado (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; MOSCARDI et al., 2012).

O processo reprodutivo de ambas as espécies, incluindo o acasalamento e a oviposição, ocorre à noite. Logo após o entardecer, as fêmeas emitem o feromônio levantando o abdome, e os machos, após identificar os voláteis, voam a procura das fêmeas até encontrá-las para acasalar. Fatores como a idade e cópula interferem na emissão de feromônio pelas fêmeas e na capacidade reprodutiva (GREENE et al., 1973; MASON; JOHNSON, 1987; HOFFMANN-CAMPO et al., 2000; PINTO; SANTANA; BOTTON, 2005).

1.2.2. A soja *Bt* e o manejo de resistência de insetos

Recentemente, uma ferramenta importante no combate às principais lagartas desfolhadoras da soja foi aprovada para uso comercial no Brasil, a Intacta RR2 Pro[®], que foi geneticamente modificada para expressar a proteína Cry1Ac, proveniente da bactéria *B. thuringiensis* (CTNBIO, 2010).

O emprego desse tipo de tecnologia apresenta riscos, sobretudo no aumento da frequência dos alelos de resistência nas populações das pragas-alvo presentes em áreas cultivadas com plantas *Bt* (GOULD, 1998). Isso ocorre devido à pressão de seleção imposta a esses indivíduos, uma vez que a maioria das áreas cultivadas é muito extensa. Esse cenário torna-se ainda mais perigoso quando considera-se o potencial reprodutivo dos insetos, que em sua maioria tem várias gerações por ano (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012).

A proteína Cry1Ac é eficaz no controle de *A. gemmatalis*, contudo é possível que haja desenvolvimento de resistência (HOMRICH et al., 2008). Sumerford e Solomon (2000) verificaram a presença de lagartas de *C. includens* em campos de algodão *Bt* nos Estados Unidos, comprovando a sobrevivência de alguns indivíduos que apresentaram peso inferior aos coletados em campos cultivados com plantas convencionais.

A soja *Bt* aprovada para comercialização no Brasil permite a produção da proteína inseticida em alta dose para *A. gemmatalis*, já para *C. includens*, o mesmo evento não atende o conceito da alta dose, pois possibilita a sobrevivência dos indivíduos heterozigotos (BERNARDI et al., 2012).

O aumento da frequência alélica dos genes de resistência nas populações das pragas-alvo é acelerado quando o manejo cultural recomendado para essa tecnologia não é devidamente empregado (SOSA-GÓMEZ; OMOTO, 2012). Uma das ferramentas mais utilizadas para minimizar os impactos das plantas *Bt* é o uso do refúgio estruturado, que consiste em áreas cultivadas com plantas convencionais com ciclo similar ao das plantas geneticamente modificadas. A principal premissa é que essas áreas funcionem como um banco de insetos suscetíveis à proteína, para que, por meio da cópula com indivíduos resistentes, possibilitem o fluxo gênico entre insetos de áreas transgênicas com insetos de áreas sob cultivo convencional, causando a diluição do gene que confere a resistência. Essa ferramenta diminui a probabilidade de um inseto resistente transmitir o gene ou alelo de resistência para sua prole. Para determinar a distância entre essas áreas, é necessário entender o comportamento de voo dos insetos, bem como avaliar sua dispersão (GOULD, 1998).

1.2.3. Marcação dos insetos visando estudos de dispersão

A marcação dos insetos é necessária para diferenciar os indivíduos selvagens dos liberados em estudos de dispersão (SOUTHWOOD, 1978). O marcador utilizado não pode afetar de forma significativa a biologia e o comportamento de voo do inseto, nem prejudicar a reprodução. Ressalta-se ainda que a marcação deve ser duradoura (SOUTHWOOD, 1978; HUNT et al., 2000).

Os corantes lipossolúveis do grupo Azo têm sido empregados como marcadores em diversos estudos de dispersão de insetos (QURESHI et al., 2004; WALTON; CONLONG, 2008; BOWEN; KARD, 2012). Esses corantes artificiais eram utilizados inicialmente na indústria alimentícia, mas estudos demonstraram que boa parte dessas substâncias eram potencialmente carcinogênicas. Posteriormente, o consumo humano de alguns tipos de corantes foi proibido, e desde então a maioria dessas substâncias tem sido utilizadas na indústria química, de combustíveis, e para tingir tecidos celulares em microscopia, dentre outras aplicações (PRADO; GODOY, 2003).

O uso de corantes lipossolúveis na marcação de insetos possui várias vantagens perante outros métodos. Após ser diluído em óleo, o corante é incorporado à dieta e oferecido ao inseto, permitindo a marcação de vários indivíduos e com pouca demanda de mão-de-obra. Este tipo de técnica tem baixo custo e alta eficiência. Além disso, o inseto não elimina o corante com facilidade (HAGLER; JACKSON, 2001).

Nem todo corante é eficiente na marcação, e, geralmente, concentrações superiores a 100 ppm são mais adequadas. Entretanto, acima de 500 ppm podem prejudicar o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (VILARINHO et al., 2006) e o voo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (ZHAO et al., 2008). Por outro lado, sabe-se que somente concentrações entre 500 e 1000 ppm marcaram adultos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) (BURTON; SNOW, 1970).

O corante vermelho Sudan Red 7B é mais eficaz na marcação de adultos de *S. frugiperda* e *H. armigera* do que o azul Solvent Blue 35 (VILARINHO et al., 2006; ZHAO et al., 2008). Todavia, esse padrão não se aplica a todos os lepidópteros. Estudos com *Diatraea grandiosela* (Dyar) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) demonstraram que o corante azul foi tão eficiente quanto o vermelho na marcação e não afetou o desenvolvimento dos insetos (QURESHI et al., 2004; VILARINHO, 2007). Portanto, é necessário estudar os efeitos dos corantes e suas respectivas concentrações para cada espécie (SOUTHWOOD, 1978).

Um dos poucos fatores que podem afetar a eficiência de marcação do corante além da concentração é a presença do ácido ascórbico na dieta artificial. Pois pode influenciar na diminuição da eficiência de marcação dos insetos, uma vez que causa descoloração de diversos corantes lipossolúveis pertencentes ao grupo Azo (PRADO; GODOY, 2003).

1.2.4. Voo-tutorado, migração e dispersão de *A. gemmatalis* e *C. includens*

O voo tutorado em laboratório não pode ser comparado com o voo real do inseto, uma vez que em laboratório é difícil simular a ação dos ventos, os obstáculos, os estímulos químicos e visuais, dentre outros fatores que influenciam

diretamente na movimentação dos insetos em campo. Entretanto, essa ferramenta permite obter informações valiosas sobre a estimativa da capacidade de voo relativa em diferentes cenários (GATEHOUSE; WOODROW, 1987).

A avaliação do voo tutorado dos insetos é possível por meio de aparelhos conhecidos como “Flight Mills”. Esses dispositivos são dotados de uma haste móvel muito leve, na qual o inseto é fixado, e com o impulso gerado pelo bater das asas do indivíduo adulto essa haste se movimenta, assim o inseto voa em círculos em torno de um eixo central. A cada volta, esses aparelhos registram todas as informações de voo (WALES; BARFIELD, LEPPLA, 1985; BARFIELD; WATERS; BECK, 1988; NARANJO, 1990).

A maneira menos prejudicial para colar os insetos nesses aparelhos é imobilizando-os por meio de um sugador similar ao utilizado por Morris (1965). Autores que utilizam o resfriamento dos insetos, ou mesmo CO₂ para anestesiá-los antes da fixação no aparelho correm o risco de interferir em diversos processos fisiológicos do inseto, e, conseqüentemente, prejudicar o voo (SCHUMACHER et al., 1997).

Os “Flight Mills” ou Aparelhos de Avaliação de Voo Tutorado (AAVT) podem ser utilizados para comparar o voo tutorado de indivíduos marcados e não marcados com corantes lipossolúveis, a fim de avaliar possíveis efeitos negativos da técnica de marcação sobre o voo, antes de estudos de dispersão em campo (ZHAO et al., 2008). Em outros casos é possível avaliar os efeitos do voo na reprodução, diferenças de voo entre sexos e idades, duração e frequência de voo dos insetos durante a escotofase (WALES; BARFIELD, LEPPLA, 1985; NARANJO, 1990; SCHUMACHER et al., 1997).

Os principais tipos de movimentação dos insetos em condições de campo resumem-se em dispersão e migração, que subdivide-se em imigração e emigração. A migração consiste na movimentação de insetos entre habitats, que muitas vezes é confundida com processos populacionais que ocorrem em escala local. Já a dispersão consiste na redistribuição populacional que leva à propagação local dos organismos (SCHELLHORN; BIANCHI; HSU, 2014).

Tanto *C. includens* como *A. gemmatalis* são insetos que possuem comportamento migratório em clima temperado, tendo em vista a escassez de

alimento e as baixas temperaturas. Acredita-se que ambas as espécies sejam incapazes de sobreviver no inverno da região continental dos EUA, e em muitas ocasiões, populações destas pragas voaram dezenas de quilômetros em busca de alimento, e de temperaturas mais favoráveis (BUSCHMAN et al., 1977; TINGLE & MITCHELL, 1977).

Ainda não há um consenso no meio científico acerca dos fluxos migratórios de pragas no Brasil, uma vez que a maioria dos insetos de maior importância econômica são polípagos, ou seja, não há falta de alimento, e que as temperaturas não são drásticas no inverno ao ponto de limitar o desenvolvimento dos insetos. No entanto, Sosa-Gómez (2004) realizou estudos de caracterização genética de populações de *A. gemmatalis* para compreender possíveis fluxos migratórios no Brasil com diversas regiões nas Américas, e constatou-se similaridade genética entre populações do Brasil com os EUA, sugerindo que podem ter havido fluxos migratórios entre os dois países. O que torna esse resultado ainda mais interessante, é que a distância entre os pontos amostrados é de aproximadamente 6.500 km. No entanto, as populações do Brasil estão geneticamente distantes das populações da Argentina, indicando que há isolamento geográfico entre essas regiões.

Apesar de haver informações sobre possíveis fluxos migratórios de *A. gemmatalis* no Brasil (SOSA-GÓMEZ, 2004), não existem estudos relevantes sobre a dispersão de *A. gemmatalis* e *C. includens* em agroecossistemas tropicais. E, segundo Gould (1998), estudos de dispersão são cruciais na determinação da distância entre as áreas de refúgio, visando o manejo de resistência de insetos a plantas geneticamente modificadas.

Os poucos estudos existentes sobre a dispersão de lepidópteros-praga no Brasil foram realizados com *S. frugiperda* na cultura do milho, e com *D. saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar, e ambos os insetos foram capazes de voar até 800 m (CAIXETA, 2010; VILARINHO et al., 2011). Isso indica que a distância máxima entre as áreas de refúgio adotada na cultura do milho no Brasil está coerente (VILARINHO et al., 2011).

1.2.5. Fatores que podem influenciar a movimentação dos insetos em campo

A razão pela qual a maioria dos insetos tem hábito de voo noturno pode ser explicada pelas condições ambientais favoráveis encontradas à noite. Neste período a atmosfera encontra-se mais estável, proporcionando melhores condições para a migração. Alguns indivíduos chegam a alcançar altitudes acima da camada de inversão térmica, pois nesse ponto as condições climáticas são ideais para a migração a longas distâncias. Outras vantagens do voo noturno são evitar a predação por aves, o estresse térmico e a perda de água pela ação da radiação solar (DRAKE; FARROW, 1988).

Showers et al. (1989) propuseram que o movimento de correntes de ar foi fator chave na dispersão de adultos de *Agrotis ipisilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), levando alguns indivíduos a percorrerem vários quilômetros nas planícies do estado do Texas, nos Estados Unidos. A direção do vento também influenciou no deslocamento de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae), de modo que alguns indivíduos que se dispersaram a favor do vento apresentaram velocidade média de voo superior à velocidade do vento em alguns casos (SHOWERS et al., 2001).

Muitas vezes, o voo noturno não é orientado apenas pela direção do vento, mas podem haver alguns elementos de navegação que são utilizados pelos insetos, e que podem ser mais eficazes em ventos fracos. O feromônio liberado pelas fêmeas virgens pode ser um desses elementos de navegação. Os machos atraídos pelos voláteis presentes nas correntes de ar voam à procura das fêmeas que aguardam imóveis à espera de parceiros para a cópula (TURNER; HAMILTON; LEE, 1978; JOHNSON et al., 1981; DRAKE; FARROW, 1988).

Faz-se necessário conhecer melhor as respostas de cada espécie aos diversos fatores climáticos, a fim de verificar a capacidade de adaptação de cada uma às variáveis atmosféricas. Também, é necessário elucidar questões sobre os fatores que influenciam na orientação de voo dos insetos, verificando possíveis predisposições genéticas e adaptativas (DRAKE; FARROW, 1988; HOLLAND; WIKELSKI; WILCOVE, 2006; SCHELLHORN; BIANCHI; HSU, 2014).

1.3. Referências

BARFIELD, C. S.; WATERS, D. J.; BECK, H. W. Flight device and database management system for quantifying insect flight and oviposition. **Journal of Economic Entomology**, v. 81, n. 5, p. 1506-1509, 1988.

BERNARDI, O.; MALVESTITI, G. S.; DOURADO, P. M.; OLIVEIRA, W. S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Management Science**, v. 68, p. 1083–1091, 2012.

BOWEN, C. J.; KARD, B. Termite aerial colony elimination using lufenuron bait (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Kansas Entomological Society**, v. 85, n. 4, p. 237-284, 2012.

BURTON, R. L.; SNOW, J. W. A marker dye the corn earworm. **Journal of Economic Entomology**, v. 63, p. 1976-1977, 1970.

BUSCHMAN, L. L.; WHITCOMB, W. H.; NEAL, T. M.; MAYS, D. L. Winter survival and hosts of the velvetbean caterpillar in Florida. **Florida Entomologist**, v. 60, p. 267-273, 1977.

CAIXETA, D. F. **Dispersão de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. 2010. 48 f. Dissertação, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010.

CTNBio, 2010. **Commercial release of genetically modified insect-resistant and herbicide-tolerant soy containing genetically modified events MON 87701 and MON 89788**. Technical Opinion No. 2542/2010. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>

DRAKE, V. A.; FARROW, R. A. The influence of atmospheric structure and motions on insect migration. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p. 183-210, 1988.

GATEHOUSE, A. G.; WOODROW, K. P. Simultaneous monitoring of flight and oviposition of individual velvetbean caterpillar moths (by Wales, Barfield & Leppla, 1985): a critique. **Physiological Entomology**, v. 12, p. 117–121, 1987.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest and ecology. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 701-726, 1998.

GREENE, G. L.; REID, J. C.; BLOUNT, V. N.; RIDDLE, T. C. Mating and oviposition behavior of the velvetbean caterpillar in soybean. **Environmental Entomology**, v. 2, n. 6, p. 1113-1115, 1973.

HAGLER, J. R.; JACKSON, C. G. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. **Annual Review of Entomology**, v. 46, p. 511-543, 2001.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; CORREA-FERREIRA, B. S.; 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 Soja, 2000. 70 p.

HOLLAND, R.A.; WIKELSKI, M.; WILCOVE, D.S. How and why do insects migrate? **Science**, v. 313, p. 794-796, 2006.

HOMRICH, M. S.; PASSAGLIA, L. M. P.; PEREIRA, J. F.; BERTAGNOLLI, P. F.; SALVADORI, J. P.; NICOLAU, M.; KALTCHUK-SANTOS, E.; ALVES, L. B.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Agronomic performance, chromosomal stability and resistance to velvetbean caterpillar of transgenic soybean expressing *cry1Ac* gene. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, n.7, p. 801-807, 2008.

HUNT, T. E.; HELLMICH, R. L.; DYER, J. M.; HIGLEY, L. H.; WITKOWSKI, J. F. Oil-Soluble dyes for marking European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 35, p. 338-341, 2000.

JOHNSON, D. W.; MITCHELL, E. R.; TUMLINSON, J. H.; ALLEN, G. E. Velvetbean caterpillar: response of males to virgin females and pheromone in the laboratory and field. **Florida Entomologist**, v. 64, p. 528-533, 1981.

MARSARO JUNIOR, A. L.; PEREIRA, P. R. V. da S.; SILVA, W. R. da; GRIFFEL, S. C. P. Flutuação populacional de insetos-praga na cultura da soja no estado de Roraima. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 8, p. 71-76, 2010.

MASON, L. J.; JOHNSON, S. J. Observations on the mating behavior of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomologist**, v. 70, n. 3, p. 411-413, 1987.

MORRIS, G. K. Vacuum cleaner restraining device. *Turtox News*, v. 43, p. 270, 1965. In T. J. WALKER; S. A. WINERITER, Marking techniques for recognizing individual insects. **Florida Entomologist**, v. 64, n. 1, p. 18-30, 1981.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. de F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **SOJA. Manejo Integrado e Insetos e outros Artrópodes-Praga**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2012. cap. 4, p. 213-334.

NARANJO, S. E. Comparative flight behavior of *Diabrotica virgifera virgifera* and *Diabrotica barberi* in the laboratory. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 55, p. 79-90, 1990.

PACKARD, C. M. Some of the insects. **Year book of agriculture**, p. 273-284, 1948.

PINTO, A. P.; SANT'ANA, J.; AND BOTTON, M. Influência da idade da fêmea na performance reprodutiva e longevidade de *Argyrotaenia sphaleropa* (Lepidoptera: Tortricidae). **Iheringia**, v. 95, p. 435-440, 2005.

PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, n. 2, p. 237-250, 2003.

QURESHI, J. A.; BUSCHMAN, L. L.; THRONE, J. E.; RAMASWAMY, S. B. Oil-soluble dyes incorporated in meridic diet of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) as markers for adult dispersal studies. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 3, p. 836-845, 2004.

REEVES, W. C.; BROOKMAN, B.; HAMMON, W. McD. Studies on the flight range of certain culex mosquitoes, using a fluorescent-dye marker, with notes on culiset a and anopheles. **Mosquito News**, v. 8, n. 2, p. 61-69, 1948.

SCHELLHORN, N. A.; BIANCHI, F. J. J. A.; HSU, C. L. Movement of Entomophagous Arthropods in Agricultural Landscapes: Links to Pest Suppression. **Annual Review of Entomology**, v. 59, p. 559-581, 2014.

SCHUMACHER, P.; WEYENETH, A.; WEBER, D. C.; DORN, S. Long flights in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: influence of sex, mated status and age. **Physiological Entomology**, v. 22, p. 149–160, 1997.

SHOWERS, W. B.; HELLMICH, R. L.; DERRICK-ROBINSON, M. E.; HENDRIX III, W. H. Aggregation and dispersal behavior of marked and released European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) adults. **Environmental Entomology**, v. 30, p. 700-710, 2001.

SHOWERS, W. B.; SMELSER, R. B.; KEASTER, A. J.; WHITFORD, F.; ROBINSON, J. F.; LOPEZ, J. D.; TAYLOR, S. E. Recapture of marked black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) males after long-range transport. **Environmental Entomology**, v. 18, p. 447-458, 1989.

SOSA-GÓMEZ, D. R. Intraspecific variation and population structure of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, p. 378–384, 2004.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; OMOTO, C. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **SOJA. Manejo Integrado e Insetos e outros Artrópodes-Praga**. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2012. cap. 10, p. 673-724.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods: with particular reference to the study of insect population**. 2nd ed. London: Chapman & Hall, 1978. 524 p.

SUMERFORD, D. V.; SOLOMON, L. W. Growth of wild *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae collected from bt and non-bt cotton. **Florida Entomologist**, v. 83, n. 3, p. 354-357, 2000.

TINGLE, F. C.; MITCHELL, E. R. Seasonal populations of armyworms and loopers at Hastings, Florida. **Florida Entomologist**, v. 60, n. 2, p. 115-122, 1977.

TURNER, W. K.; HAMILTON, E. W.; LEE, F. L. Effect of wind speed and direction on the approach of soybean loopers to a pheromone source in the field. **Florida Entomologist**, v. 61, n. 1, p. 19-25, 1978.

VILARINHO, E. C.; FERNANDES, O. A.; OMOTO, C; HUNT, T. E. Oil-soluble dyes for marking *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of economic Entomology**, v. 99, n. 6, p. 2110-2115, 2006.

VILARINHO, E. C. **Marcação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.)(Lepidoptera: Crambidae) e dispersão de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)(Lepidoptera: Noctuidae)**. 2007. 59 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007.

VILARINHO, E. C.; FERNANDES, O. A.; HUNT, T. E.; CAIXETA, D. F. Movement of *Spodoptera frugiperda* adults (Lepidoptera: Noctuidae) in maize in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 94, p. 480 – 488, 2011.

WALES, P. J.; BARFIELD, C. S.; LEPPLA, N. C. Simultaneous monitoring of flight and oviposition of individual velvetbean caterpillar moths. **Physiological Entomology**, v. 10, p. 467–472, 1985.

WALTON, A. J.; AND CONLONG, D. E. Use of oil soluble dyes to mark adult *Eldana saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae). **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, v. 81, p. 298-309, 2008.

ZHAO, X. C.; WU, K. M.; GUO, Y. Y. Oil-soluble dyes in larval diet used for marking *Helicoverpa armigera*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 126, p. 256–260, 2008.

CAPÍTULO 2 – Efeito de corantes lipossolúveis na marcação, desenvolvimento e voo tutorado de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT

Knowledge of the habits, reproductive strategies, and dispersal capabilities of an insect pest provides a basis for the development of new approaches to pest management. Studies on dispersal dynamics contribute to the understanding of the behavior and ecological interactions of insects. Therefore, to facilitate studies of dispersal of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) and *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) adults in agroecosystems, this study was run. The objective of this work was to evaluate the effect of marking on the development and tethered flight capacity of the study species to define the best marker and concentration to be used. To evaluate the effect of the markers on the development of the insects, red (Sudan Red 7B) and blue (Solvent Blue 35) oil-soluble dyes at 100 and 400 ppm were tested in addition to a control (no dye and soybean oil). The effect of red dye in a 400 ppm solution in oil on the tethered flight of males and females was evaluated with flight mills. The red dye at the 400 ppm concentration marked both species more efficiently. The mark remained visible throughout the life of the insect. Overall, the 400 ppm solution of blue dye in soybean oil prolonged the development of *A. gemmatalis* and increased the mortality of both species. The 400 ppm solution of red dye in oil did not affect *A. gemmatalis* flight performance. The marked *C. includens* individuals flew longer distances and for a longer time than the non-marked individuals. Accordingly, Sudan Red 7B at 400 ppm is recommended for marking *A. gemmatalis* but not *C. includes*, because it may overestimate the flight capacity. This dye-concentration may be used to mark *A. gemmtalis* adults on dispersion studies, aiming to establish management strategies to delay the growth of resistant populations on genetically modified soybean.

Key Words: velvetbean caterpillar; soybean looper; markers; biology; flight mill.

RESUMO

O conhecimento do voo dos insetos fornece informações que estimulam novas abordagens a respeito do manejo de pragas. Estudos da dinâmica de dispersão ajudam na compreensão do comportamento do inseto e de suas interações ecológicas. A fim de viabilizar estudos de movimentação de adultos de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae), e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da marcação no desenvolvimento e na capacidade de voo tutorado para definir a melhor combinação de corante-concentração a ser utilizada. Para avaliar o efeito no desenvolvimento, testaram-se os corantes lipossolúveis azul (Solvent Blue 35) e vermelho (Sudan Red 7B) nas concentrações de 100 e 400 ppm mais óleo, e a testemunha (sem corante e óleo de soja). O efeito da solução contendo corante vermelho a 400 ppm foi avaliado no voo tutorado de machos e fêmeas por meio de aparelhos de avaliação de voo tutorado. Na concentração maior, o corante vermelho foi mais eficiente na marcação do que na concentração menor em ambas as espécies, e permaneceu visível até a morte dos adultos. A solução contendo o corante azul a 400 ppm prolongou o desenvolvimento de *A. gemmatalis*, e reduziu a sobrevivência de ambas as espécies. Para *A. gemmatalis*, o corante vermelho mais óleo não prejudicou o voo, mesmo a 400 ppm. Em *C. includens*, os indivíduos marcados voaram distâncias maiores e por mais tempo do que os insetos não marcados. Com isso, recomenda-se o uso do corante Sudan Red 7B a 400 ppm somente para a marcação de *A. gemmatalis*, mas não para *C. includens*, pois pode superestimar a capacidade de voo. Esse corante-concentração poderá ser utilizado para marcar adultos de *A. gemmatalis* em estudos de dispersão visando o estabelecimento de estratégias de manejo que possam mitigar o desenvolvimento de populações resistentes à soja geneticamente modificada.

O conhecimento dos hábitos do inseto, da sua reprodução e habilidade de voo fornecem informações que estimulam novas abordagens a respeito do manejo de pragas. Estudos de dispersão ajudam na compreensão do comportamento do inseto e de suas interações ecológicas (Holland et al. 2006; Mazzi & Dorn 2012).

Para estudar o voo dos insetos no campo, faz-se necessário marcá-los para que possam ser monitorados. Para tanto, algumas técnicas de marcação, liberação e captura são amplamente usadas para avaliar a dispersão (Hagler & Jackson 2001), embora seja importante destacar que a técnica utilizada na marcação não pode afetar a biologia e o comportamento desses indivíduos (Hunt et al. 2000), nem prejudicar a locomoção. Ressalta-se, ainda, que a marcação deve permanecer visível até a morte do inseto (Hagler & Jackson 2001).

Corantes misturados ao alimento foram utilizados pela primeira vez para marcar adultos de dípteros (Reeves et al. 1948). Atualmente, corantes lipossolúveis do grupo Azo são empregados como marcadores em diversos estudos de dispersão de insetos em condições de campo (Qureshi et al. 2004; Walton & Conlong 2008; Bowen & Kard 2012). Em noctuídeos, observou-se que existem diferenças na eficiência de marcação em função do tipo de corante utilizado, e que concentrações de pelo menos 100 ppm são mais eficientes na marcação. No entanto, acima de 500 ppm podem prejudicar o desenvolvimento e, conseqüentemente, o voo (Vilarinho et al. 2006; Zhao et al. 2008).

Não existem informações sobre marcação e movimentação de adultos de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições tropicais. Todavia, tanto *C. includens* quanto *A. gemmatalis* possuem comportamento migratório em regiões de clima temperado, visto que são pouco tolerantes à baixa temperatura e possuem diversos hospedeiros alternativos. Nos EUA, verificou-se que populações destas pragas foram capazes de voar dezenas de quilômetros em busca de alimento e de temperaturas mais favoráveis (Buschman et al. 1977; Tingle & Mitchell 1977).

A soja geneticamente modificada que expressa proteínas tóxicas a insetos foi aprovada para uso comercial no Brasil (CTNBio 2010), com isso serão necessárias estratégias de manejo de resistência de insetos. Entre as ferramentas existentes, uma das mais difundidas é a adoção de áreas de refúgio (Gould 1998); e para

estabelecê-las, deve-se considerar a capacidade de dispersão do inseto-alvo. Assim, a fim de viabilizar estudos relativos à movimentação de adultos de *A. gemmatalis* e de *C. includens* em agroecossistemas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a marcação de ambas as espécies por meio de corantes diluídos em óleo de soja e incorporados à dieta das lagartas. Para tanto, avaliou-se o efeito da solução contendo os corantes no desenvolvimento e na capacidade de voo tutorado, para definir a cor do corante e a melhor concentração (corante-concentração) a ser utilizada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios de marcação de adultos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia Aplicada, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP. As colônias de *A. gemmatalis* e *C. includens* foram formadas a partir de insetos mantidos na SGS Gravena, Jaboticabal, SP, e Laboratório de Biologia de Insetos, ESALQ-USP, Piracicaba, SP, Brasil. O estabelecimento da criação, a dieta, e todos os procedimentos de manutenção dos insetos no laboratório foram realizados conforme Hoffmann-Campo et al. (1985).

Preparo da dieta artificial e marcação dos insetos

Soluções contendo os corantes lipossolúveis vermelho (Sudan Red 7B - C.I.26050) e azul (Solvent Blue 35 - C.I.61554) (Aldrich Company Inc.) foram incorporadas ao alimento oferecido às lagartas (Hendricks et al. 1971; Hunt et al. 2000). Inicialmente foram diluídos 5 g do corante em pó em 50 mL de óleo de soja, depois retirou-se 1 mL desta solução contendo 0,1 g de corante, que foi incorporado a 1 L de dieta para obter 100 ppm (Ostlie et al. 1984; Vilarinho et al. 2006). A mistura foi homogeneizada durante um minuto em liquidificador industrial e vertida em bandejas plásticas para resfriar em temperatura ambiente por duas horas.

Ensaio de marcação

Para cada espécie foi realizado um ensaio composto por cinco tratamentos e quatro repetições de 30 insetos cada, adotando o delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram em testemunha, com dieta sem corante e sem óleo, e dietas com a solução contendo o corante azul e vermelho nas concentrações de 100 e 400 ppm. A escolha dos corantes-concentrações foram baseadas em Qureshi et al. (2004) e Vilarinho et al. (2006).

Lagartas de segundo ínstar mantidas inicialmente em dietas sem corante foram transferidas para placas de Petri de acrílico de 5 cm de diâmetro por 2 cm de altura, com 3 cm³ de dieta artificial contendo o corante. Os insetos foram mantidos sob condições controladas ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; $60 \pm 15\%$ UR; fotoperíodo de 12.12 h L.E).

As lagartas foram observadas diariamente para avaliação do desenvolvimento e da mortalidade (%) e duração do período larval (dias). Durante a fase de pupa, foram avaliados os parâmetros duração do período (dias) e peso das pupas com 24 h de idade. O ciclo (ovo a adulto) também foi avaliado.

No momento da pesagem, todas as pupas foram separadas por sexo, para agrupar os indivíduos em casais antes da emergência, a fim de avaliar a marcação dos ovos. Para tanto, 20 casais de cada tratamento foram separados aleatoriamente, e para formá-los, foram utilizadas pupas de mesma idade para obter emergência simultânea. Os demais insetos adultos de cada tratamento foram mantidos individualmente e também foram avaliados.

Na fase adulta, todos os insetos foram mantidos em gaiolas plásticas de 15 cm de altura, e 8 cm de diâmetro. As gaiolas foram recobertas internamente com papel sulfite e fechadas com tecido tipo "voile". Cada gaiola continha um chumaço de algodão embebido em mel a 10% que foi substituído a cada dois dias. Foram avaliados os parâmetros: número de adultos e posturas cuja coloração interna foi diferente da testemunha, e o ciclo, que compreende desde a incubação dos ovos até a emergência do adulto.

Os indivíduos foram considerados marcados quando o corante foi mantido até a fase adulta. Para observar a marcação fez-se a remoção das escamas de uma

pequena área do abdômen dos insetos adultos para verificar a coloração interna. Em alguns casos foi necessário dissecá-los para avaliar a marcação.

Influência do corante no voo tutorado

Os ensaios para avaliar o voo de *A. gemmatalis* e *C. includens* foram realizados para testar machos e fêmeas marcados e não marcados com o corante vermelho a 400 ppm, uma vez que esse corante-concentração não interferiu no desenvolvimento e foi eficiente na marcação. Os insetos utilizados tinham dois dias de idade (Zhao et al. 2008).

Para comparar o voo destes indivíduos foram utilizados “flight mills” ou Aparelhos de Avaliação de Voo Tutorado (AAVT) adaptados a partir das metodologias propostas por Wales et al. (1985), Barfield et al. (1988) e Naranjo (1990) (Figura 1A). Os 16 aparelhos construídos foram instalados em ambiente fechado com condições controladas ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR, e fotoperíodo de 14.10 h L.E), similares às condições utilizadas em criação de adultos (Hoffmann-Campo et al. 1985).

O aparelho possui uma haste de fibra de vidro fixada a um eixo móvel de aço (agulha Corrente[®] n°6) que se move no sentido horário impulsionada pelos insetos durante o voo. A cada volta o imã fixado à haste envia um impulso magnético que é captado pelo sensor, permitindo que o ciclo-computador (Echowell[®] Bri2) registre as informações de voo. A distância entre o eixo e o inseto foi de 29,3 cm, para tanto a cada volta o inseto percorria 1,84 metros. O ciclo-computador foi calibrado a partir desse valor (Fig. 1A, B).

Os insetos foram colados em uma haste fixadora com a ponta curvada em 90° para não danificar o mesonoto (Fig. 1C). O eixo móvel foi guiado por um suporte de acrílico com um orifício no centro sustentado por dois alfinetes. A ponta inferior do eixo foi tutorada por um parafuso Philips com sulco arredondado no centro, para que o eixo não girasse de forma desordenada durante o voo (Fig. 1D). Todas as hastes foram equilibradas para o peso médio dos adultos (cerca de 120 mg) a fim de manter o sistema estável (Fig. 1A).

Fez-se a imobilização dos insetos por meio de um sugador similar ao utilizado por Morris (1965) para viabilizar a fixação na haste móvel. Depois de imobilizá-los, retiravam-se as escamas com uma haste flexível de algodão. O tempo de permanência dos insetos no sugador, que compreende o manuseio e a fixação, foi padronizado em 90 segundos. Para fixar os insetos no aparelho, colocou-se um pingo de super-cola a base de cianocrilato (Super-Bonder[®], Henkel) (Liu et al. 2011) no mesonoto, com cerca de 1mm de diâmetro. Posteriormente, passou-se termocola a base de silicone e resinas plásticas (Tilibra[®]) na ponta da haste fixadora, e depois de dois segundos, aproximadamente, a haste foi fixada no mesonoto contendo super-cola (Fig. 1C). Todos os insetos foram colados no aparelho a pelo menos uma hora do início das avaliações, para que o stress causado no manuseio não interferisse no voo (Schumacher et al. 1997). Testes foram realizados para verificar a viabilidade da técnica e permitiram confirmar que o voo e a reprodução não foram afetados.

O armazenamento de dados do aparelho é feito por meio de um Ciclo-Computador (Fig. 1A). O modelo do dispositivo utilizado permite avaliar a velocidade média, a distância percorrida e a duração do voo. Também foi possível calcular o tempo imóvel, e realizar a avaliação da perda de peso (peso de pupas menos o peso do adulto após o voo).

Como a reprodução de ambas as espécies, incluindo o voo, o acasalamento e a oviposição ocorrem à noite, os ensaios de avaliação de voo tutorado foram realizados durante a escotofase (Greene et al. 1973; Mason & Johnson 1987). As avaliações começaram às 19:00 horas e foram finalizadas às 07:00 da manhã, uma hora antes e uma depois da fase de escuro, que foi das 20:00 até 06:00 horas da manhã.

Análise estatística

Em todos os ensaios, os dados foram transformados quando as variáveis não apresentaram normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. As transformações utilizadas foram \sqrt{x} para desenvolvimento larval e de pupa, peso de pupas, distância acumulada e duração de voo em ambas as espécies; e para velocidade média e

tempo imóvel em *A. gemmatalis*, e arco-seno $\sqrt{\%/100}$ para a porcentagem de adultos e ovos marcados, e perda de peso após o voo para *A. gemmatalis*.

Nos ensaios de marcação, consideraram-se os cinco tratamentos como fatores qualitativos estruturados. Por isso, utilizou-se o teste de Dunnett para as variáveis relacionadas ao desenvolvimento de larvas e pupas, e contrastes ortogonais para avaliar a eficiência de marcação (Scheffé) (Bertoldo et al. 2008). Utilizou-se o procedimento GLM para análise de variância e o LSMEANS para ajustar as médias em cada fator testado, uma vez que ambos são indicados para análises com dados desbalanceados (SAS Institute 2004). A viabilidade dos insetos (número inicial de indivíduos menos a mortalidade de larvas e pupas) foi corrigida conforme Abbott (1925).

Para a variável ciclo, adotou-se o delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial 5x2, com cinco tratamentos e dois sexos. O procedimento SLICE (SAS Institute 2004) foi utilizado nas análises de efeitos simples para decompor as interações significativas, seguido do teste de Tukey para separação das médias (Nogueira & Corrente 2000).

Dois fatores foram estabelecidos para os ensaios de voo tutorado: sexo (macho e fêmea) e marcação (marcados ou não). Adotou-se o delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial (2x2) com 18 repetições para *A. gemmatalis* e 12 para *C. includens*.

RESULTADOS

Desenvolvimento larval, de pupas e o ciclo de *A. gemmatalis* e *C. includens* alimentadas com dieta contendo os corantes

O tratamento que continha a solução com o corante azul a 400 ppm foi o que mais interferiu no desenvolvimento de *A. gemmatalis*, prolongando a duração do período larval ($gl = 4$; $F = 6,16$; $p < 0,05$). Todavia, não houve diferença significativa entre os tratamentos no período pupal, no peso das pupas e na razão sexual ($p > 0,05$) (Tabela 1). Também houve redução na viabilidade dos adultos de *A. gemmatalis* cujas lagartas ingeriram dieta contendo a solução com o corante azul a

100 e 400 ppm, de 9,67% e 15,50%, respectivamente. Por outro lado, a diminuição na viabilidade dos adultos cujas larvas se alimentaram de dieta contendo o corante vermelho mais óleo de soja foi inferior a 1% em ambas as concentrações comparadas ao controle.

Em *C. includens*, os corantes-concentrações não afetaram o período larval e de pupa, o peso das pupas e a razão sexual ($p > 0,05$) (Tabela 1). Em relação à testemunha, houve redução 12,3% na viabilidade dos adultos que se alimentaram com dieta contendo o corante azul a 400 ppm mais óleo. Os demais tratamentos não interferiram na viabilidade dos adultos.

Em ambas as espécies, não houve interação entre tratamentos e sexos para a variável ciclo ($p > 0,05$), assim o efeito de cada fator foi analisado separadamente. Em *A. gemmatalis* verificou-se que o ciclo dos insetos cujas larvas se alimentaram da dieta contendo a solução com o corante azul a 400 ppm foi mais longo do que no controle ($p < 0,05$). Para os demais tratamentos não houve alteração no ciclo em relação ao controle. O ciclo de *C. includens* não foi afetado pelos corantes-concentrações testados ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Em ambas as espécies, o ciclo dos machos foi mais longo que o das fêmeas independente do corante-concentração utilizado ($p < 0,05$). Em *A. gemmatalis*, o ciclo dos machos e das fêmeas foi de 28,3 e 27,6 dias, respectivamente, e de 26,1 e 25,3 para *C. includens*.

Marcação de adultos e ovos de *A. gemmatalis* e *C. includens*

Os insetos alimentados com dieta sem corante foram comparados aos indivíduos marcados, e, conforme pôde-se observar na Tabela 2, houve diferença entre os tratamentos na marcação de adultos e ovos, em ambas as espécies (gl = 4; $F = 11,87$; $p < 0,01$; e gl = 4; $F = 100,70$; $p < 0,01$ para *A. gemmatalis*, gl= 4; $F = 15,84$; $p < 0,01$; e gl = 4; $F = 179,04$; $p < 0,01$ para *C. includens*, respectivamente). Comparados ao controle por meio de observação e/ou dissecação, os corantes-concentrações alteraram a coloração interna dos adultos e ovos em ambas as espécies em relação à testemunha, garantindo a marcação interna. Verificou-se que o corante vermelho foi mais eficiente na marcação de adultos e ovos do que o

corante azul nas concentrações testadas em *A. gemmatalis* e *C. includens* ($p < 0,02$) (Tabela 2).

Na comparação entre a maior e a menor concentração do corante vermelho, observou-se que em ambas as espécies a menor concentração marcou menos indivíduos adultos e ovos do que a maior, tanto em *A. gemmatalis* como em *C. includens* ($p < 0,05$) (Tabela 2).

O corante azul foi ineficiente na marcação de adultos e ovos de *A. gemmatalis*, independente da concentração utilizada. Observou-se que a presença do corante foi vestigial, e modificou a coloração de menos de 7% dos insetos ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Mais de 98% dos adultos de *A. gemmatalis* marcados com o corante Sudan Red 7B apresentaram coloração evidente na maior concentração. Houve modificações na cor de mais de 88% dos ovos com a maior concentração do corante vermelho ($p < 0,05$). Em *C. includens* o corante vermelho a 400 ppm marcou pelo menos sete vezes mais adultos e ovos do que na menor concentração ($p < 0,02$) (Tabela 2).

Para *C. includens*, apenas a maior concentração do corante azul possibilitou a marcação de adultos quando comparada à menor, que não modificou a coloração interna de nenhum indivíduo ($p < 0,01$) (Tabela 2).

A presença do corante vermelho Sudan Red 7B a 400 ppm na fase de ovo, lagarta e adulto de *C. includens* e *A. gemmatalis* foi registrada (Fig. 2A, B).

Avaliação da capacidade de voo de indivíduos marcados e não marcados

Independente do sexo e da marcação, *A. gemmatalis* e *C. includens* voaram, em média, 15,4% e 37,3% do tempo (12 h). Não houve interação significativa entre a marcação e o sexo no voo tutorado em ambas as espécies ($p > 0,05$), com isso o efeito dos fatores foi analisado separadamente para cada variável.

Observou-se diferença na velocidade média de *A. gemmatalis* ($gl = 1$; $F = 5,01$; $p < 0,05$), e os indivíduos que ingeriram dieta contendo o corante vermelho a 400 ppm mais óleo se locomoveram a velocidades superiores às dos indivíduos sem corante ($p < 0,05$). Todavia, isso não se refletiu na distância e na duração do voo (p

> 0,05). Os adultos marcados e os sem a presença do corante mais óleo foram semelhantes na perda de peso e no tempo imóvel ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Para *C. includens*, não houve diferença entre machos e fêmeas ($p > 0,05$). Entretanto, na comparação entre adultos marcados e não marcados, os indivíduos que se alimentaram da dieta contendo a solução com o corante voaram por um período maior e, conseqüentemente, ficaram menos tempo parados do que os indivíduos sem corante ($p < 0,05$). Para a perda de peso e velocidade média, não observou-se diferenças ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Em *A. gemmatalis*, observou-se que a perda de peso dos machos foi maior que a das fêmeas ($p < 0,05$). Para a velocidade média, a distância e duração de voo e o tempo imóvel, os machos não foram diferentes das fêmeas ($p > 0,05$) (Tabela 3).

DISCUSSÃO

O corante vermelho na concentração maior foi mais eficiente na marcação de adultos e ovos do que na concentração menor, em ambas as espécies. Essa concentração-dependência também foi evidenciada em estudos com *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), que somente foram marcadas com o corante Calco Oil Red N1700, nas concentrações de 500 e 1000 ppm, sendo ineficiente a 250 ppm (Burton & Snow 1970). A presença do ácido ascórbico na dieta artificial pode ter influenciado na diminuição da eficiência de marcação dos insetos com o corante Sudan Red 7B a 100 ppm, uma vez que causa descoloração de diversos corantes pertencentes à mesma classe (Prado & Godoy 2003).

O corante Solvent Blue 35 não foi eficaz na marcação de *A. gemmatalis* e *C. includens*, diferente do corante Sudan Red 7B que marcou mais de 98% dos adultos, e permaneceu visível mesmo após a morte dos insetos. Em estudos com *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), o mesmo corante vermelho foi mais eficaz do que o azul (Vilarinho et al. 2006; Zhao et al. 2008). Entretanto, esse padrão não se aplica a todos os lepidópteros. Estudos com *Diatraea grandiosela* (Dyar) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) demonstraram que o corante azul foi tão

eficiente quanto o vermelho na marcação e não afetou o desenvolvimento (Qureshi et al. 2004; Vilarinho 2007).

Na presença de solventes orgânicos como acetato de etila e clorofórmio, há mais de 30% de perda na coloração do corante Solvent Blue 35 do que no corante Sudan Red 7B, conforme Souka & Farag (1990). Esta maior solubilidade do corante azul em solventes não lipídicos, provavelmente, está relacionada à menor eficiência na marcação de *A.gemmatalis* e *C. includens*, uma vez que ambas foram capazes eliminá-lo com mais facilidade do que o vermelho. Todavia, isto precisa ser elucidado.

A solução contendo Solvent Blue 35 na maior concentração mais óleo prolongou o período larval de *A. gemmatalis* em relação à testemunha, diminuiu a viabilidade de adultos de ambas as espécies, e prolongou o ciclo em relação à testemunha. Segundo Vilarinho et al. (2006), o mesmo corante também estendeu a fase larval e de pupa de *S. frugiperda*. Sabe-se que a qualidade do alimento pode interferir em aspectos biológicos dos insetos (Waldbauer, 1968), e este aumento no tempo de desenvolvimento dos insetos cujas larvas ingeriram dieta com o corante azul e óleo deve estar relacionado à energia direcionada para metabolizar essa substância xenobiótica (Vilarinho et al. 2006).

O corante Sudan Red 7B a 400 ppm foi eficiente na marcação e não interferiu no desenvolvimento de ambas espécies, com isso pôde-se testar a capacidade de voo tutorado dos insetos marcados. Esta estratégia permite obter informações sobre a estimativa da capacidade de voo relativa, embora o voo tutorado não simule necessariamente o voo real do inseto (Gatehouse & Woodrow 1987). Na maior concentração, o corante vermelho e o óleo causaram aumento na velocidade de voo de *A. gemmatalis* em relação ao controle. Entretanto, a duração e a distância são as principais características que refletem alterações no voo. Como não houve alteração nesses parâmetros entre adultos de *A. gemmatalis*, o corante não prejudicou o voo. A mesma situação foi observada em estudos de marcação de *H. armigera* (Zhao et al. 2008).

Para *C. includens*, os indivíduos marcados voaram mais e por um período maior do que os insetos não marcados, e isto, possivelmente, está associado ao corante acrescido de óleo, que prejudicou a qualidade do alimento. Segundo Angelo

& Slansky Jr. (1984), há uma mudança na estratégia de sobrevivência do inseto quando as larvas ingerem alimento cuja qualidade não é ideal, e isso, possivelmente, pode ter contribuído para que os adultos voassem mais em busca de condições mais favoráveis para sua prole.

Com isso, os efeitos observados no voo de *C. includens* sugerem que o corante vermelho a 400 ppm não pode ser utilizado, pois pode superestimar a capacidade de voo do inseto. Entretanto, faz-se necessário novos testes com outros tipos de corantes e concentrações. Por outro lado, o uso do corante Sudan Red 7B a 400 ppm para marcação de *A. gemmatalis* é recomendado, pois não afeta o desenvolvimento e o voo. Essa concentração do corante vermelho poderá ser utilizada para marcar adultos da lagarta da soja em estudos de dispersão em agroecossistemas.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas de laboratório Wellington Secatto, Andrea Corrêa Varella, Márcia Macri, Alexandre Carlos Menezes Netto, Tiago Rodrigo Lohmann e, em especial aos colegas Leandro Aparecido de Souza pela ajuda indispensável na condução dos experimentos, e à Juliana Duarte de Souza Alonso pelo auxílio na correção do manuscrito. Ao Dr. Thomas Hunt, pelo fornecimento dos corantes. A SGS Gravena e ao Laboratório de Biologia de Insetos, ESALQ-USP pelos insetos e materiais que foram utilizados para iniciar as colônias. A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor. E à Monsanto do Brasil, pelo financiamento parcial do trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- ANGELO, M. J., AND SLANSKY, F. Jr. 1984. Body building by insects: trade-offs in resource allocation with particular reference to migratory species. *Florida Entomol.* 67(1): 22-41.
- BARFIELD, C. S., WATERS, D. J., AND BECK. H. W. 1988. Flight device and database management system for quantifying insect flight and oviposition. *J. Econ. Entomol.* 81(5): 1506-1509.
- BOWEN, C. J., AND KARD, B. 2012. Termite aerial colony elimination using lufenuron bait (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Kansas Entomol. Soc.* 85(4): 237-284.
- BERTOLDO, J. G., COIMBRA, J. L. M., GUIDOLIN, A. F., MIQUELOTO, A., AND TOALDO, D. 2008. Uso ou abuso em testes de comparação de média: conhecimento científico ou empírico? *Ciencia Rural.* 38(4): 1145-1148.
- BURTON, R. L., AND SNOW, J. W. 1970. A marker dye the corn earworm. *J. Econ. Entomol.* 63: 1976-1977.
- BUSCHMAN, L. L., WHITCOMB, W. H., NEAL, T. M., AND MAYS, D. L. 1977. Winter survival and hosts of the velvetbean caterpillar in Florida. *Florida Entomol.* 60 (4): 267-273.
- CTNBio, 2010. Commercial release of genetically modified insect-resistant and herbicide-tolerant soy containing genetically modified events MON 87701 and MON 89788. Technical Opinion No. 2542/2010. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>
- GATEHOUSE, A. G., AND WOODROW, K. P. 1987. Simultaneous monitoring of flight and oviposition of individual velvetbean caterpillar moths (by Wales, Barfield & Leppla, 1985): a critique. *Physiol. Entomol.* 12: 117-121.
- GOULD, F. 1998 Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *An. Rev. Entomol.* 43: 701-726.

- GREENE, G. L., REID, J. C., BLOUNT, V. N., AND RIDDLE, T. C. 1973. Mating and oviposition behavior of the velvetbean caterpillar in soybean. *Environ. Entomol.* 2(6): 1113-1115.
- HAGLER, J. R., AND JACKSON, C. G. 2001. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annu. Rev. Entomol.* 46: 511-543.
- HENDRICKS, D. E., LEAL, M. P., ROBINSON, S. H., AND HERNANDEZ N. S. 1971. Oil-soluble black dye in larval diet marks adults and eggs of tobacco budworm and pink bollworm. *J. Econ. Entomol.* 64 (6): 1339-1401.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B., OLIVEIRA, E. B. de, AND MOSCARDI, F. 1985. Criação massal da lagarta da soja. Embrapa Soja, Londrina, 23 pp.
- HOLLAND, R. A., WIKELSKI, M., AND WILCOVE, D. S. 2006. How and why do insects migrate? *Sci.* 313 (11): 794-796.
- HUNT, T. E., HELLMICH, R. L., DYER, J. M.; HIGLEY, L. H., AND WITKOWSKI, J. F. 2000. Oil-Soluble dyes for marking European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J. Entomol. Sci.* 35: 338-341.
- LIU, Z., MACNEIL, J. N., AND WU, K. 2011. Flight Mill performance of the lacewing *Chrysoperla sinica* (Neuroptera: Chrysopidae) as a function of age, temperature, and relative umidity. *J. Econ. Entomol.* 104(1): 94-100.
- MASON, L. J., AND JOHNSON, S. J. 1987. Observations on the mating behavior of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol.* 70(3): 411-413.
- MAZZI, D., AND DORN, S. 2012. Movement of insect pests in agricultural landscapes. *Ann. Appl. Biol.* 160: 97-113.
- MORRIS, G. K. 1965. Vacuum cleaner restraining device. *Turttox News* 43: 270. In T. J. WALKER, AND S. A. WINERITER, 1981. Marking techniques for recognizing individual insects. *Florida Entomol.* 64(1): 18-30.
- NARANJO, S. E. 1990. Comparative flight behavior of *Diabrotica virgifera* and *Diabrotica barberi* in the laboratory. *Entomol. Exp. Appl.* 55: 79-90.
- NOGUEIRA, M. C. S., AND CORRENTE, J. E. 2000. Decomposição da interação tripla significativa utilizando o comando contrast do PROC GLM do SAS, aplicado ao modelo de classificação tripla para dados balanceados. *Bragantia.* 59: 109-115.

- OSTLIE, K. R., HIGLEY, L. G., KASTER, L. V., AND SHOWERS, W. B. 1984. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) development, larval survival and adult vigor on meridic diets containing marker dyes. *J. Econ. Entomol.* 77: 118-120.
- PRADO, M. A., AND GODOY, H. T. 2003. Corantes artificiais em alimentos. *Alim. Nutr.* 14(2): 237-250.
- QURESHI, J. A., BUSCHMAN, L. L., THRONE, J. E., AND RAMASWAMY, S. B. 2004. Oil-soluble dyes incorporated in meridic diet of *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) as markers for adult dispersal studies. *J. Econ. Entomol.* 97(3): 836-845.
- REEVES, W. C., BROOKMAN, B., AND HAMMON W. McD. 1948. Studies on the flight range of certain culex mosquitoes, using a fluorescent-dye marker, with notes on culiset a and anopheles. *Mosquito News* 8(2): 61-69.
- SAS INSTITUTE. 2004. SAS/STAT user's guide, release 9.1 ed. SAS Institute, Cary, NC.
- SCHUMACHER, P., WEYENETH, A., WEBER, D. C. AND DORN, S. 1997. Long flights in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: influence of sex, mated status and age. *Physiol. Entomol.* 22: 149-160.
- SOUKA, N., AND FARAG, A. N. 1990. Dosimetric studies based on the radiation-induced bleaching of sudan red and sudan blue dyes in organic solutions. *Appl. Radiat. Isot.* 41(8): 739-744.
- TINGLE, F. C., AND MITCHELL, E. R. 1977. Seasonal populations of armyworms and loopers at Hastings, Florida. *Florida Entomol.* 60: 115-122.
- VILARINHO, E. C., FERNANDES, O. A., OMOTO, C. AND HUNT, T. E. 2006. Oil-soluble dyes for marking *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 99(6): 2110-2115.
- VILARINHO, E. C. 2007. Marcação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) e dispersão de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tese, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 59 pp.
- WALDBAUER, G. P. 1968. The consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect. Physiol.* 5: 229-288.

- WALES, P. J., BARFIELD, C. S., AND LEPPLA, N. C. 1985. Simultaneous monitoring of flight and oviposition of individual velvetbean caterpillar moths. *Physiol. Entomol.* 10: 467–472.
- WALTON, A. J., AND CONLONG, D. E. 2008. Use of oil soluble dyes to mark adult *Eldana saccharina* (Lepidoptera: Pyralidae). *Proc. S. Afr. Sug. Technol. Ass.* 81: 298-309.
- ZHAO, X. C., WU, K. M., AND GUO, Y. Y. 2008. Oil-soluble dyes in larval diet used for marking *Helicoverpa armigera*. *Entomol. Exp. Appl.* 126: 256–260.

TABELA 1. EFEITO DAS SOLUÇÕES CONTENDO OS CORANTES-CONCENTRAÇÕES NA DURAÇÃO DO PERÍODO LARVAL E DE PUPAS, NO PESO DAS PUPAS E NA RAZÃO SEXUAL E NO CICLO DE *A. gemmatalis* E *C. includens* (MÉDIA±ERRO PADRÃO).

Tratamento	<i>A. gemmatalis</i>					
	Período Larval (dias)	Período de Pupa (dias)	Peso de Pupas (mg)	Razão Sexual	Ciclo (dias)	
Testemunha	15,4±0,18	9,9±0,07	289,3±2,99	0,55±0,06	27,6±0,19	
Vermelho-100 ppm	15,7±0,19 ^{ns}	10,0±0,10 ^{ns}	295,6±3,06 ^{ns}	0,50±0,07 ^{ns}	28,0±0,22 ^{ns}	
Vermelho-400 ppm	15,5±0,20 ^{ns}	9,7±0,07 ^{ns}	296,3±3,57 ^{ns}	0,55±0,08 ^{ns}	27,4±0,18 ^{ns}	
Azul-100 ppm	15,9±0,23 ^{ns}	9,8±0,10 ^{ns}	293,6±3,45 ^{ns}	0,45±0,04 ^{ns}	27,8±0,23 ^{ns}	
Azul-400 ppm	16,6±0,25 [*]	10,2±0,11 ^{ns}	294,7±3,90 ^{ns}	0,48±0,04 ^{ns}	28,9±0,28 [*]	
<i>C. includens</i>						
Testemunha	15,5±0,18	8,4±0,07	251,3±3,56	0,47±0,02	25,9±0,17	
Vermelho-100 ppm	15,7±0,17 ^{ns}	7,9±0,04 ^{ns}	258,7±2,89 ^{ns}	0,47±0,03 ^{ns}	25,9±0,17 ^{ns}	
Vermelho-400 ppm	15,0±0,17 ^{ns}	8,1±0,06 ^{ns}	253,3±2,80 ^{ns}	0,59±0,04 ^{ns}	25,2±0,15 ^{ns}	
Azul-100 ppm	15,2±0,16 ^{ns}	8,1±0,06 ^{ns}	254,5±3,08 ^{ns}	0,48±0,02 ^{ns}	25,5±0,17 ^{ns}	
Azul-400 ppm	15,2±0,15 ^{ns}	8,4±0,09 ^{ns}	250,9±3,44 ^{ns}	0,50±0,06 ^{ns}	26,0±0,43 ^{ns}	

Médias comparadas ao controle pelo teste de Dunnett, em que ^{*} indica diferença significativa em relação ao controle ($p < 0,05$), e ^{ns} não significativa.

TABELA 2. EFICIÊNCIA DE MARCAÇÃO DE ADULTOS E OVOS DE *A. gemmatalis* E *C. includens* (MÉDIA±ERRO PADRÃO).

Tratamentos	<i>A. gemmatalis</i>		<i>C. includens</i>	
	Adultos Marcados (%)	Ovos Marcados (%)	Adultos Marcados (%)	Ovos Marcados (%)
Testemunha	-	-	-	-
Vermelho - 100 ppm	88,3±1,17	51,7±21,15	12,1±3,55	0,0±0,00
Vermelho - 400 ppm	98,1±1,12	88,1±7,90	92,0±2,83	100,0±0,00
Azul - 100 ppm	5,6±3,46	0,0±0,00	0,0±0,00	0,0±0,00
Azul - 400 ppm	4,0±4,00	6,3±6,25	21,4±3,42	33,3±33,33
Contrastes ortogonais				
				Valor de <i>p</i>
Testemunha vs Demais tratamentos	0,0001	0,0100	0,0001	0,0169
Vermelho vs Azul	0,0001	0,0001	0,0001	0,0109
Vermelho 400 ppm vs Vermelho 100 ppm	0,0225	0,0493	0,0001	0,0001
Azul 400 ppm vs Azul 100 ppm	0,5134	0,5963	0,0001	0,0653

TABELA 3. EFEITO DOS FATORES SEXO E MARCAÇÃO (CORANTE VERMELHO A 400 PPM) NA VELOCIDADE MÉDIA, DISTÂNCIA E DURAÇÃO DE VOO, TEMPO IMÓVEL, E NA PERDA DE PESO EM *A. gemmatalis* E *C. includens* (MÉDIA±ERRO PADRÃO).

<i>A. gemmatalis</i>						
Fator	Velocidade Média (km/h)	Distância de voo (km)	Duração do voo (h)	Tempo Imóvel (h)	Perda de peso (%)	
Sexo						
Fêmea	3,8±0,09 a	8,4±1,61 a	2,0±0,35 a	10,1±0,35 a	59,5±0,80 b	
Macho	3,7±0,06 a	5,0±1,05 a	1,3±0,25 a	10,7±0,25 a	65,1±0,46 a	
Cor						
Normal	3,7±0,06 b	4,9±1,15 a	1,2±0,27 a	10,8±0,27 a	62,2±0,74 a	
Marcado	3,9±0,08 a	8,5±1,53 a	2,0±0,33 a	10,0±0,33 a	62,5±0,85 a	
<i>C. includens</i>						
Sexo						
Fêmea	4,6±0,14 a	15,7±2,16 a	3,4±0,42 a	8,6±0,42 a	62,4±0,89 a	
Macho	4,6±0,16 a	15,4±2,83 a	3,2±0,52 a	8,9±0,52 a	63,4±0,82 a	
Cor						
Normal	4,5±0,14 a	11,8±1,96 b	2,6±0,41 b	9,5±0,41 a	62,5±0,87 a	
Marcado	4,6±0,15 a	19,5±2,67 a	4,0±0,47 a	8,0±0,47 b	62,3±0,87 a	

Médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, $p < 0,05$.

FIGURAS

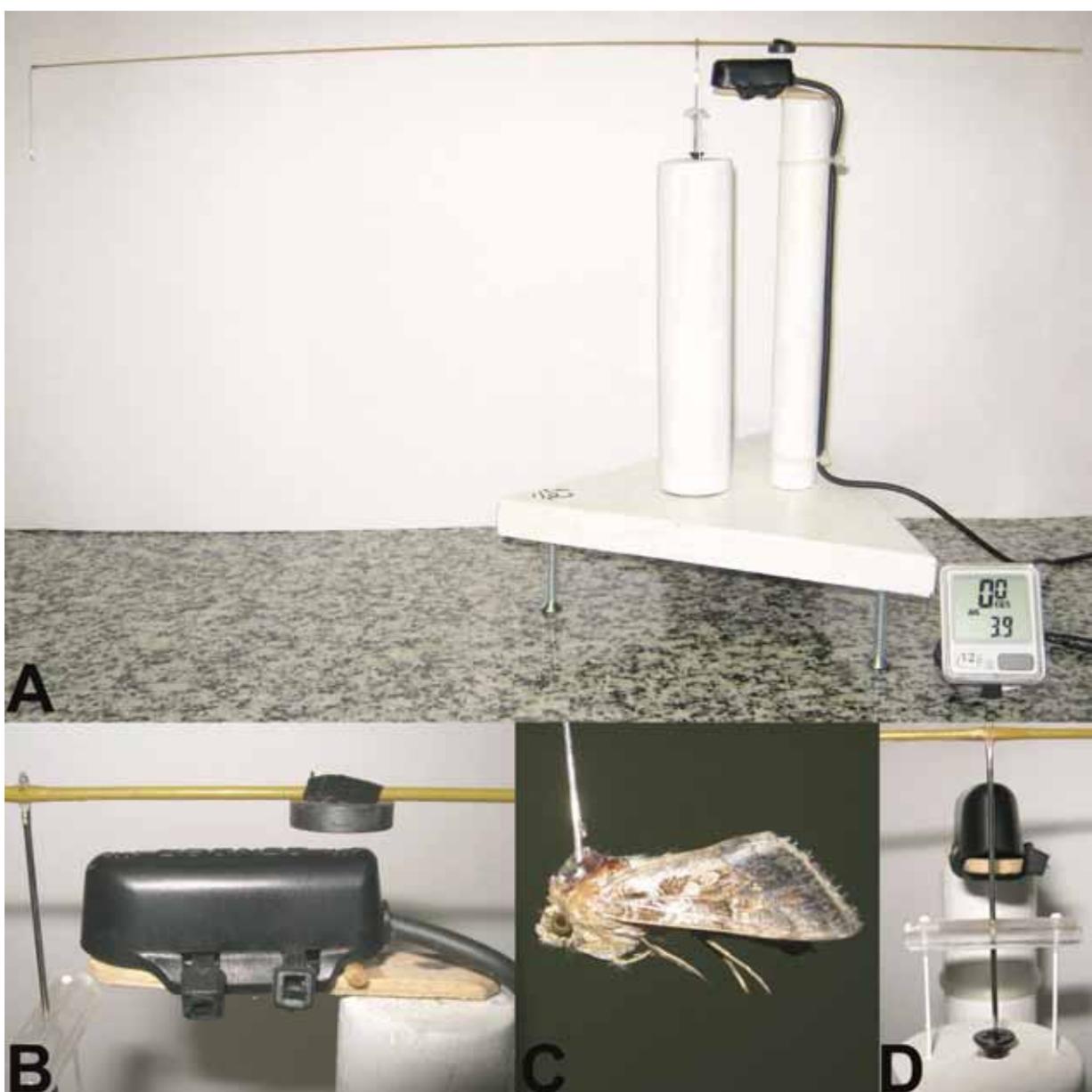


Fig. 1. A, visão geral do aparelho de avaliação de voo tutorado utilizado nos ensaios; B, sensor e imã; C, *C. includens* colado na haste fixadora; D, suporte do eixo móvel.

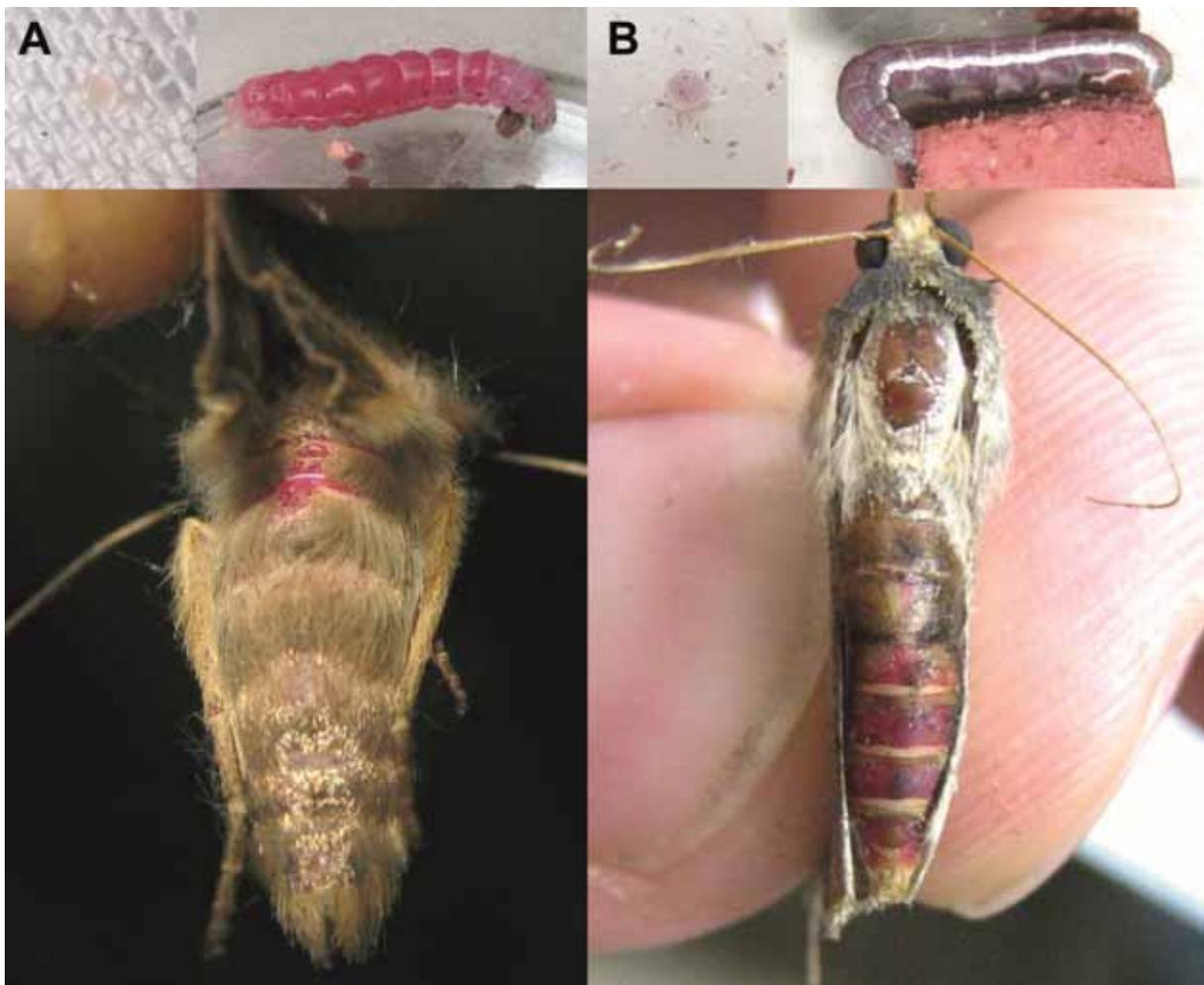


Fig. 2. A e B, visão do ovo, lagarta e adulto de *C. includens* e *A. gemmatalis*, respectivamente (ambos se alimentaram com o corante vermelho a 400 ppm).

CAPÍTULO 3 – Voo tutorado e dispersão de adultos de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae)

ABSTRACT

The use of *Bt* soybean to suppress the complex of defoliating caterpillars will likely increase the genetic frequency of resistance in field populations. Thus, the strategy of using structured refuge areas is critical. Therefore, the objectives of this study were a) to evaluate the effect of age, sex, and copulation on tethered flight, and implications in reproduction and resistance management and b) to determine the dispersion capacity and the main factors influencing the flight of *A. gemmatalis* adults in soybean field. In the laboratory, tethered flight of 2-, 4-, and 6-day old mated and unmated females and males, were evaluated using flight mills. Reproduction after flight was also studied. We evaluated the dispersion through the release and capture of marked *A. gemmatalis* adults. Light traps distributed in north, south, east and west directions were used to capture the insects. Traps were spaced 150 m apart and up to 900 m from the release site. The results on bioecological aspects of *A. gemmatalis* reproduction and dispersal support the structured refuge strategy for *Bt* soybean to further minimize the increase of resistant populations in the field. Based on the maximum flight distance achieved by adults and as over 10% of the individuals can fly between 800 m and 900 m, it is proposed that refuge areas for *Bt* soybeans should be 800 m apart to allow mating of susceptible and resistant insects from areas cultivated with genetically modified soybeans that produce insecticidal proteins.

Key words: flight mill; marking; velvetbean caterpillar; movement; refuge strategy.

RESUMO

O emprego da soja *Bt* na supressão do complexo de lagartas desfolhadoras deverá provavelmente aumentar a frequência de alelos de resistência nas populações de campo. Assim, a estratégia de uso das áreas de refúgio estruturado é fundamental. Logo, os objetivos deste estudo foram a) avaliar os efeitos da idade, do sexo e da cópula no voo tutorado, e implicações na reprodução e no manejo de resistência e b) determinar a capacidade de dispersão e os principais fatores que influenciam o voo dos adultos de *A. gemmatalis* em campo de soja. Em laboratório, avaliou-se o voo tutorado de fêmeas e machos, copulados ou não com 2, 4 e 6 dias de idade com "flight mills". A reprodução após o voo também foi estudada. Avaliou-se a dispersão por meio da liberação e captura dos adultos de *A. gemmatalis*. Foram utilizadas armadilhas luminosas na captura dos insetos, distribuídas nos sentidos norte, sul, leste e oeste. As armadilhas foram espaçadas a 150 m entre si até a distância máxima de 900 m do local de liberação. Os resultados sobre os aspectos bioecológicos da reprodução e dispersão de *A. gemmatalis* reforçam a estratégia de refúgio estruturado para a soja *Bt* para minimizar o aumento de populações resistentes no campo. Baseado na distância máxima de voo alcançada pelos adultos bem como o fato de que mais de 10% dos indivíduos podem voar entre 800 m e 900 m, propõe-se que as áreas de refúgio em soja *Bt* sejam espaçadas a até 800 m de distância para permitir acasalamento de insetos suscetíveis e resistentes provenientes de áreas cultivadas com soja geneticamente modificada que produzem proteínas inseticidas.

A soja geneticamente modificada que expressa proteínas com ação inseticida ao complexo de lagartas desfolhadoras foi liberada recentemente para a comercialização no Brasil pela Comissão Técnica Nacional em Biossegurança (CTNBio 2010). Entretanto, o emprego deste tipo de tecnologia pode provocar o aumento da frequência de indivíduos resistentes nas populações. Esse fenômeno é causado pela pressão de seleção imposta às populações dos insetos-alvo, uma vez que a maioria das áreas cultivadas é muito extensa (Gould 1998).

Uma das ferramentas mais utilizadas para minimizar os impactos negativos das plantas geneticamente modificadas que expressam proteínas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (plantas *Bt*) é o uso de áreas de refúgio, que possibilitam o fluxo entre insetos de áreas transgênicas com insetos de áreas sob cultivo convencional. Essa tática diminui a probabilidade de um inseto resistente transmitir o gene ou alelo de resistência para sua descendência. No entanto, para determinar a distância entre essas áreas é necessário entender o comportamento de voo dos insetos, bem como avaliar sua dispersão (Gould 1998). Para estudar o voo dos insetos no campo faz-se necessário marcá-los para que possam ser monitorados. Para tanto, algumas técnicas de marcação, liberação e captura são amplamente utilizadas (Hagler & Jackson 2001).

Recentemente foram realizados estudos para compreender os fluxos migratórios de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebididae) entre o Brasil e diversas regiões nas Américas, e constatou-se que há similaridade genética entre as populações locais e as dos Estados Unidos da América (EUA). Entretanto, a população do Brasil está geneticamente distante da população da Argentina, indicando que há isolamento geográfico entre essas regiões (Sosa-Gómez 2004). No entanto, não existem informações relevantes sobre a dispersão de *A. gemmatalis* em agroecossistemas tropicais.

Os poucos estudos existentes no mundo sobre a movimentação de adultos de *A. gemmatalis* concentram-se no comportamento migratório, principalmente em regiões de clima temperado. Como são pouco tolerantes à baixa temperatura, populações destas pragas nos EUA são capazes de voar dezenas de quilômetros em busca de alimento e de temperaturas mais favoráveis (Buschman et al. 1977).

Portanto, para elucidar questões referentes à dispersão de *A. gemmatalis* em agroecossistemas tropicais, o objetivo deste estudo foi a) avaliar os efeitos da idade, do sexo e da cópula no voo tutorado, e o reflexo desses cenários na reprodução e no manejo de resistência e b) determinar a capacidade de dispersão e os principais fatores que influenciam o voo dos adultos de *A. gemmatalis* em campo, de modo a contribuir para o planejamento de áreas de refúgio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Marcação de *A. gemmatalis* visando a liberação em campo

O estabelecimento e condução das colônias foram realizados conforme Hoffmann-Campo et al. (1985). Na marcação dos insetos para os ensaios de liberação em campo, foi utilizada solução contendo o corante lipossolúvel vermelho (Sudan Red 7B - C.I.26050) (Sigma-Aldrich Co., S. Louis, MO, USA) misturada ao alimento oferecido às lagartas (Hendricks et al. 1971; Hunt et al. 2000). Inicialmente foram diluídos 5 g do corante em pó em 50 mL de óleo de soja, depois retirou-se uma alíquota de 4 mL desta solução contendo 0,4 g de corante, que foi incorporada a 1 litro de dieta para obter 400 ppm (Capítulo 2). A mistura foi homogeneizada durante um minuto em liquidificador industrial e vertida em bandejas plásticas para resfriar em temperatura ambiente por duas horas. Posteriormente, a dieta foi oferecida aos insetos para alimentação. Esse corante-concentração foi o mais adequado na marcação de *A. gemmatalis*, conforme observou-se no Capítulo 2.

Lagartas de segundo ínstar, mantidas inicialmente em dieta sem corante, foram separadas em grupos de quatro insetos cada e transferidas para copos plásticos de 100 mL com 7 cm de diâmetro por 5 cm de altura, contendo cerca de 4 cm³ de dieta artificial com o corante. Os insetos foram mantidos em condições controladas ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; $60 \pm 15\%$ UR; fotoperíodo de 12.12 h L.E).

As larvas ingeriram o corante misturado ao alimento, que aos poucos, foi depositado em seu tecido adiposo. Os indivíduos marcados mantiveram o corante até a fase adulta, e apresentaram cor vermelha nítida no abdome.

Influência do sexo, da cópula e das idades de *A. gemmatalis* no voo tutorado e no desempenho reprodutivo

Na avaliação do voo tutorado de *A. gemmatalis* foram utilizados 504 adultos para testar 12 condições distintas; fêmeas e machos, copulados ou não (grupos) com 2, 4 e 6 dias após a emergência. Avaliou-se a velocidade média (km/h), a distância percorrida (km) e a duração do voo (h) para cada situação testada. A partir dessas informações foi possível calcular o tempo imóvel, e realizar a avaliação da perda de peso, que consiste no peso de pupas menos o peso do adulto após o voo. Após o voo tutorado, ainda fez-se a medição das asas de 70% dos adultos para estimar a relação asa-peso (tamanho da asa em cm² dividido pelo peso da pupa em gramas) (Angelo & Slansky 1984). As asas foram escaneadas, e as imagens processadas no software QUANT v.1.0.0.22 para a medição da área alar.

Para obter os indivíduos copulados antes do voo, dois machos e uma fêmea e duas fêmeas e um macho foram acondicionados em gaiolas PVC com 15 cm de diâmetro por 21 cm de altura, a fim de garantir a cópula. Para confirmar a cópula fez-se manualmente o toque externo da parte mediana do abdômen das fêmeas para identificar se havia ou não a presença do espermatóforo na bolsa copulatória. Esse método foi desenvolvido para esse trabalho.

Foram utilizados aparelhos de avaliação de voo tutorado (AAVT ou “flight mills”) adaptados a partir das metodologias propostas por Wales et al. (1985), Barfield et al. (1988) e Naranjo (1990), e descritos detalhadamente no Capítulo 2. Os 16 aparelhos foram instalados em ambiente controlado (27±2 °C; 70±10% UR; fotoperíodo de 14.10 h L.E) (Hoffmann-Campo et al. 1985).

Inicialmente, as mariposas foram imobilizadas com um sugador similar ao utilizado por Morris (1965), a fim de viabilizar a fixação no aparelho. Depois de imobilizá-las, as escamas do mesonoto foram delicadamente retiradas com uma haste flexível com algodão nas extremidades. O tempo de permanência no sugador, que compreende o manuseio e a fixação, foi padronizado em 90 segundos. O mesonoto das mariposas foi colado à haste utilizando a combinação de super-cola à base de cianocrilato (Super-Bonder[®], Henkel) (Liu et al. 2011) com termo-cola à base de silicone e resinas plásticas (Tilibra[®]). Todos os insetos foram colados no

aparelho entre uma a três horas antes do início das avaliações, para que o stress causado no manuseio não interferisse no voo (Schumacher et al. 1997).

Como a reprodução, o voo, o acasalamento e a oviposição ocorrem predominantemente à noite, os ensaios de avaliação de voo tutorado foram realizados durante a escotofase (Greene et al. 1973). As avaliações começaram às 19:00 horas e foram finalizadas às 7:00 da manhã, uma hora antes e uma depois da fase de escuro, que foi das 20:00 até 6:00 horas.

Após o voo, os machos virgens e copulados, e as fêmeas virgens foram retirados dos aparelhos de voo e colocados em gaiolas de PVC com 15 cm de diâmetro por 21 cm de altura, recobertas com papel sulfite e lacradas com tela anti-afídica. Dentro das gaiolas já haviam dois indivíduos do sexo oposto com até dois dias após a emergência, para permitir o acasalamento e a avaliação da reprodução após voo. Avaliou-se o número de cópulas pré e pós voo por meio da dessecação do abdome das fêmeas e contagem do número de espermatozóides, e o número de lagartas provenientes dos ovos depositados pelas fêmeas antes e após o voo (sucesso reprodutivo). A longevidade dos adultos também foi avaliada. As fêmeas copuladas antes do voo foram depositadas em gaiolas de PVC com 10 cm de diâmetro e 21 cm de altura sem que houvesse outros indivíduos, pois não foi possível estimar o número de cópulas com exatidão. Cerca de 30% dos insetos testados inicialmente foram utilizados para as avaliações de desempenho reprodutivo. Os demais indivíduos foram mortos após a avaliação do voo, e a perda de peso que consiste no peso das pupas menos o peso dos adultos após o voo (expresso em %) foi estimada.

Dispersão de *A. gemmatilis* na cultura da soja

Os estudos para avaliar a capacidade de dispersão de *A. gemmatilis* foram conduzidos em área comercial de soja em sistema de consórcio com cana-de-açúcar durante a safra de 2011/2012. Neste sistema, a cada vinte linhas de soja com espaçamento a 0,5 m entre linhas havia duas linhas de cana espaçadas a 1,2 m. A área tinha aproximadamente 450 ha e estava localizada a oito quilômetros e meio a

oeste de Jaboticabal, SP (S 21° 17' 24,47" e W 48° 12' 38,95"). A cultivar utilizada foi a BRS 284, semeada em 25/11/2011.

Como ponto de liberação dos insetos, utilizou-se um abrigo com estrutura de metal revestido lateralmente com tela antiafídica (2 m x 2 m x 2,15 m). A metade do revestimento externo em tela era dobrável, para permitir a saída dos insetos após a liberação. Internamente havia uma proteção em tela com orifícios com 3 cm x 3 cm para evitar a entrada de pássaros. O abrigo foi dividido em quatro células para que não houvesse contato entre machos e fêmeas antes da liberação (Fig. 1A, B). Para acomodar os insetos no interior das quatro células do abrigo, foram utilizadas quatro caixas de madeira (40 cm x 25 cm x 12 cm), com cobertura em compensado (Fig. 1C). Após a observação da emergência dos primeiros adultos no laboratório, todas as pupas foram levadas ao campo e distribuídas uniformemente dentro da caixa de madeira.

As caixas de madeira foram sustentadas a 80 cm de altura por duas estacas pinceladas com graxa para evitar o ataque de formigas. Ao redor das caixas foram fixados quatro recipientes plásticos de 100 mL contendo algodão embebido em mel a 10% para alimentação dos adultos antes do voo. Abaixo de cada caixa, colou-se um balde com quatro litros de água para aumentar a umidade dentro da célula do abrigo (Fig. 1C).

Na captura dos adultos após a liberação, foi utilizada armadilha luminosa do tipo "Luiz de Queiroz" equipada com lâmpada fluorescente de luz negra de 15W (T8 Sylvania®). As lâmpadas foram ligadas a baterias estacionárias de 40 A, que foram recarregadas a cada dois dias. As armadilhas foram distribuídas no campo em torno do ponto de liberação, nos sentidos norte, sul, leste e oeste, e espaçadas a 150 m entre si, até a distância máxima de 900 m. Foram utilizadas seis armadilhas em cada sentido e a área circular do ensaio foi de 254,47 ha (Fig. 2). Este modelo de avaliação foi sugerido por Hunt et al. (2000) para analisar a distância e a direção da dispersão de insetos marcados.

Todas as armadilhas foram georreferenciadas com o auxílio de um GPS modelo Etrex Vista (Garmin). Posteriormente, as distâncias e direções de voo foram confirmadas através do software Geoffice GPS (Solsoft).

Os insetos foram mantidos no local da liberação por 48 h. Após este período, as pupas cujos adultos não emergiram e adultos defeituosos foram removidos e contabilizados. Conforme Simmons & Marti Jr. (1992), os insetos capturados foram coletados diariamente até o 15º. dia após a liberação. Após a coleta diária, foram levados para o Laboratório de Ecologia Aplicada, FCAV/UNESP para contabilizar os adultos capturados. Para confirmar a marcação, fez-se a remoção das escamas de uma pequena área do abdômen ou tórax dos insetos, e, quando necessário, foi feita a dissecação para confirmar a presença do corante nos tecidos das mariposas. Ao todo, foram realizadas cinco liberações com cerca de 3000 insetos cada, sendo quatro na safra de verão e uma na segunda safra de inverno.

Comparação de voo tutorado entre *A. gemmatalis* e *C. includens*

Ainda realizou-se um estudo de comparação de voo tutorado entre machos e fêmeas de *A. gemmatalis* e *C. includens* com dois dias após a emergência. As variáveis de voo avaliadas foram as mesmas do experimento em que verificou-se o efeito da idade, cópula e sexo no voo tutorado de *A. gemmatalis*.

Análise estatística

Voo tutorado

Para as variáveis avaliadas no voo tutorado de *A. gemmatalis*, adotou-se o delineamento de blocos ao acaso em esquema fatorial 3x2x2, com três idades, dois sexos e copulados ou não, com 42 repetições. No ensaio que compara o voo tutorado de *A. gemmatalis* e *C. includens*, estabeleceram-se dois fatores: sexo (macho e fêmea) e espécies. Adotou-se o delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial (2x2) com 19 repetições. O procedimento SLICE (SAS Institute 2004) foi utilizado nas análises de efeitos simples para decompor as interações significativas, seguido do teste de Tukey para separação das médias (Nogueira & Corrente 2000).

Em ambos os ensaios, os dados foram transformados quando as variáveis não apresentaram normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram transformados utilizando \sqrt{x} para as variáveis: velocidade média, distância e duração de voo, cópulas pré e pós voo, número de lagartas e longevidade de adultos.

Influência do vento na dispersão em campo

Os dados coletados na estação meteorológica da FCAV-UNESP foram utilizados para avaliar a influência da direção do vento na dispersão. Como *A. gemmatalis* possui hábito de voo noturno (Greene et al. 1973), foram utilizadas as informações coletadas entre 18:30 às 6:30.

Os insetos marcados capturados e aqueles provenientes do campo foram separados em grupos com três direções de voo distintas, para que fosse possível verificar a influência da direção do vento na dispersão; os grupos foram constituídos pelos insetos que voaram a favor do vento, os que voaram contra o vento e aqueles que foram indiferentes ao vento (Silva 2007).

Todas as coletas de campo foram utilizadas para analisar a influência da direção do vento na captura e distância de voo dos adultos, e cada dia de coleta compôs uma repetição. O número de insetos capturados e a distância de voo foram transformados utilizando \sqrt{x} . Fez-se a análise de variância seguida do teste de Tukey para separação das médias (SAS Institute 2004).

Ajuste do modelo matemático

Realizou-se a análise de regressão pelo método Quasi-Newton, com o intuito de comparar o ajuste de modelos à movimentação de adultos de *A. gemmatalis*. Utilizaram-se os modelos $y = e^{a+b/x}$, $y = e^{a+b \log(x)}$, $y = e^{a+b\sqrt{x}}$ (Avila et al. 2013), e $y = a^2/(1 + 2a^2bx)^{2,6}$, $y = a/(1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$ adaptados de Qureshi et al. (2005, 2006). Em todos os casos, a e b são constantes estimadas pelo modelo.

Foram avaliadas medidas de dispersão como o desvio padrão médio (DP), o quadrado médio do resíduo (QMR) e o desvio médio absoluto (DMA). O R^2 foi

calculado para verificar quanto da variância dos dados coletados foi explorada pelo modelo.

Medidas de dispersão calculadas:

- Desvio padrão médio: $DP = \sqrt{\frac{\sum_{t=1}^n (y_t - \hat{y}_t)^2}{n - gl}}$
- Desvio médio absoluto: $DMA = \frac{\sum_{t=1}^n |y_t - \hat{y}_t|}{n}$
- Quadrado Médio do Resíduo: $QMR = \frac{\sum_{t=1}^n (y_t - \hat{y}_t)^2}{n}$

Os valores de y_t são aqueles observados no tempo t , \hat{y}_t é o valor estimado pelo modelo e n é o número de observações.

RESULTADOS

Voo tutorado de *A. gemmatalis*

A idade, o sexo e o status de cópula no voo tutorado de *A. gemmatalis* resultou em interação significativa para sexo e grupos (copulados e não copulados) para as variáveis distância ($gl = 1$; $F = 6,75$; $p < 0,01$) e duração de voo ($gl = 1$; $F = 5,20$; $p < 0,05$), velocidade média ($gl = 1$; $F = 19,19$; $p < 0,0001$) e tempo imóvel ($gl = 1$; $F = 5,26$; $p < 0,05$). A distância, a duração e a velocidade de voo das fêmeas virgens foram maiores do que das fêmeas copuladas, e, conseqüentemente, o tempo imóvel das fêmeas virgens foi menor ($p < 0,05$). Comparando os sexos dentro do status de acasalamento, observou-se que a distância e a velocidade de voo das fêmeas virgens foram maiores do que dos machos virgens ($p < 0,05$). Não houve diferença entre machos copulados e virgens, nem entre fêmeas e machos copulados para nenhuma variável avaliada ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Houve interação significativa entre sexos e status de acasalamento para a distância ($gl = 2$; $F = 4,21$; $p < 0,05$) e a duração de voo ($gl = 2$; $F = 3,51$; $p < 0,05$). Os adultos virgens com seis dias voaram mais (distância maior, e mais tempo) do que os acasalados ($p < 0,05$). Não houve diferenças na distância e duração de voo entre adultos virgens e copulados com 2 e 4 dias. A idade não causou alterações na

distância e duração de voo para os indivíduos copulados e virgens ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Após o voo dos insetos, observou-se que a relação asa-peso dos indivíduos com seis dias (20,82) após a emergência foi menor do que naqueles com quatro (21,05) e dois dias (21,26), e isso está relacionado ao desgaste natural das asas.

Perda de peso

A perda de peso variou nas condições avaliadas, havendo interação tripla significativa entre idade, sexo e status de acasalamento ($gl = 2$; $F = 5,94$; $p < 0,01$). Para decompor a interação observada, avaliou-se primeiramente o fator cópula dentro dos níveis dos demais fatores, e, com base no teste de Tukey, pode-se afirmar que as fêmeas não copuladas com dois dias perderam menos peso que as fêmeas copuladas. Aos seis dias de vida ocorreu o inverso para machos e fêmeas, uma vez que tanto machos como fêmeas copuladas perderam mais peso do que os indivíduos virgens ($p < 0,001$) (Fig. 3a). Quanto mais tardio o acasalamento, maior foi a perda de peso, uma vez que indivíduos com 6 dias de idade foram mais afetados do que os indivíduos com dois dias ($p < 0,01$) (Fig. 3a).

Ainda para a variável perda de peso, avaliando os sexos dentro dos níveis dos demais fatores, observou-se que, de modo geral, os machos com 2, 4 e 6 dias após a emergência, tanto copulados quanto virgens, perderam mais peso do que as fêmeas em quase todas as condições testadas ($p < 0,001$); exceto em adultos copulados com 6 dias ($p > 0,05$) (Fig. 3b, c).

Reprodução antes e após o voo tutorado, e longevidade total dos adultos

No desdobramento da interação significativa entre idades e status de acasalamento para lagartas obtidas a partir de posturas de adultos após o voo (sucesso reprodutivo) ($gl = 2$; $F = 5,82$; $p < 0,01$), observou-se que o sucesso reprodutivo não muda independente da idade das fêmeas copuladas, ($p > 0,05$). Já para as fêmeas não copuladas, o sucesso reprodutivo é menor com o aumento da idade, uma vez que o número de lagartas com 6 dias foi menor do que com 2 e 4

dias ($p < 0,05$). Não houve interferência das idades e do status de acasalamento nas cópulas pós-voo dos machos ($p > 0,05$) (Tabela 1).

Houve diferença significativa nos parâmetros reprodutivos de *A. gemmatalis* quanto à idade dos adultos para as variáveis cópulas pré-voo em machos ($gl = 2$; $F = 11,05$; $p < 0,0005$), e número de lagartas pré-voo ($gl = 2$; $F = 17,89$; $p < 0,0001$). Observou-se que os machos com 6 dias copularam mais vezes do que com 2 e 4 dias, indicando que, quanto mais velho o indivíduo, maior é o número de cópulas ($p < 0,05$). Já as fêmeas tendem a ser monogâmicas, uma vez que o número de cópulas não varia independente da idade ($p > 0,05$), além de ser mais próximo de 1. Entretanto, o número de lagartas provenientes dos ovos depositados antes do voo das fêmeas copuladas aumenta conforme a idade, sendo que com 4 e 6 dias o sucesso reprodutivo é maior do que com 2 dias ($p < 0,05$) (Tabela 2).

O número de cópulas pós-voo das fêmeas virgens não foi afetado pelas idades ($p > 0,05$) (Tabela 2). Não houve diferença significativa na longevidade, independente do sexo, status de acasalamento e idade, e as médias variaram entre 9,8 dias até 17,1 dias ($p > 0,05$).

Liberação e captura

A liberação em que houve êxito na captura ocorreu entre os dias 25/12/2011 e 09/01/2012, quando a soja estava no estádio R1/R2, e a folha bandeira dos colmos de cana com cerca de 1,9 m. Cerca de 60% dos machos e 65% das fêmeas marcadas com o corante vermelho a 400 ppm deixaram o ponto de liberação, perfazendo 931 e 695 adultos liberados, respectivamente. Ao todo, 1626 adultos marcados saíram do ponto de liberação, dentre os quais 28 ou 1,72% foram capturados.

Constatou-se que 50% dos indivíduos marcados capturados foram coletados até 300 m. Entretanto, apesar da maior parte dos indivíduos terem permanecido nas áreas mais próximas ao ponto de liberação, observou-se que cerca de 15% dos indivíduos capturados voaram mais que 750 metros (Fig. 4a).

Importância do vento na dispersão

Quanto à influência da direção do vento na dispersão dos adultos marcados de *A. gemmatalis*, não houve diferença significativa no número médio de indivíduos marcados capturados e na distância média de deslocamento para aqueles que voaram a favor, contra e indiferentes à direção predominante do vento ($p > 0,05$). O número médio de indivíduos capturados e a distância de voo daqueles que voaram a favor contra e indiferentes ao vento foi 0,11, 0,08 e 0,10 adultos que voaram 450,1, 240,0 e 510,0 metros, respectivamente.

Ajuste de modelos para o voo tutorado e para a dispersão em campo

Todos os cinco modelos testados evidenciaram a relação de dependência entre as variáveis distância de voo e número de indivíduos ($p < 0,05$) (Tabela 3), demonstrando que há uma maior diluição dos adultos no campo em distâncias maiores, além disso, a maior parte dos indivíduos tendem a voar distâncias menores baseados na dispersão em campo e voo tutorado em laboratório; assim, quanto maior a distância de voo, menor é o número de indivíduos tanto em condições de laboratório como de campo.

Com base no desvio padrão, quadrado médio do resíduo e desvio médio absoluto, e considerando a variância explorada expressa pelo valor do R^2 , tanto em condições de campo como de laboratório, pôde-se observar que os modelos $y = a/(1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$, $y = e^{a+b\sqrt{x}}$, e $y = e^{a+b \log(x)}$ se destacaram dos demais, apresentando os melhores ajustes (Tabela 3) (Draper & Smith 1981).

O modelo $y = e^{a+b \log(x)}$ foi o que apresentou o melhor ajuste matemático em todos os parâmetros avaliados quando comparado aos demais. Entretanto, baseado nos dados coletados em laboratório, observou-se que o modelo superestimou a capacidade de voo do inseto em relação aos dados observados. Dos 488 indivíduos testados em laboratório, apenas um voou 66 km, e 99,8% dos indivíduos voaram menos de 55 km. Esse modelo estimou que 27 indivíduos poderiam voar entre 55 e 66 km, frente aos dois indivíduos que voaram entre essas distâncias no ensaio de laboratório. Nos dados coletados em campo, observou-se que apenas um indivíduo

foi capturado a 900 m, já o modelo estimou que seriam 2,4 indivíduos. Isso denota que, apesar do ajuste matemático, o modelo $y = e^{a+b \log(x)}$ não explica o fato biológico observado em campo e em laboratório, superestimando a capacidade máxima de voo.

Nos dados observados, 95% dos indivíduos em laboratório voaram até 39 km, e em campo 96% dos indivíduos foram capturados até 750 m do ponto de liberação. O modelo $y = a/(1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$ estimou que 95% dos indivíduos voariam até 38 km em laboratório, e em campo 92,8% dos indivíduos voariam até 750 m. Já no modelo $y = e^{a+b\sqrt{x}}$, 95% dos indivíduos em laboratório voariam até 26 km, e 92,5% voariam até 750 m em campo. Com isso, considerando a capacidade de voo de *A. gemmatalis* em laboratório e em campo, em termos biológicos, o modelo que mais se aproximou dos dados observados e que melhor explica a relação entre a distância de voo e o número de adultos de *A. gemmatalis* foi $y = a/(1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$.

As equações com os parâmetros a e b estimados na análise de regressão para o modelo $y = a/(1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$, os valores da variância captada pelo modelo (R^2), e o ajuste das curvas de regressão estão representados na Figura 4.

Comparação de voo tutorado entre *A. gemmatalis* e *C. includens*

Houve diferença significativa entre as espécies para as variáveis relação asa-peso ($gl = 1$; $F = 1184,56$; $p < 0,0001$), tempo imóvel ($gl = 1$; $F = 8,11$; $p < 0,01$), distância ($gl = 1$; $F = 11,50$; $p < 0,005$) e duração de voo ($gl = 2$; $F = 7,81$; $p < 0,01$). A relação asa-peso e o tempo imóvel de *A. gemmatalis* foram superiores a *C. includens*. No entanto, a distância e a duração de voo de *C. includens* foram maiores do que *A. gemmatalis* ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Na decomposição dos graus de liberdade da interação entre sexo e espécie, observou-se que as fêmeas de *C. includens* perderam mais peso do que as de *A. gemmatalis* ($p < 0,05$), já a perda de peso dos machos de ambas as espécies foi semelhante ($p > 0,05$). Comparando o sexo dentro de cada espécie, percebeu-se que os machos de *A. gemmatalis* perderam mais peso do que as fêmeas ($p < 0,05$), já em *C. includens* a perda de peso entre machos e fêmeas não foi diferente ($p > 0,05$). A velocidade média de voo dos machos de *C. includens* foi maior do que de *A.*

gemmatalis, e maior do que a velocidade de voo das fêmeas de *C. includens* ($p > 0,05$) (Tabela 4).

DISCUSSÃO

No ensaio de voo tutorado, observou-se que as fêmeas virgens percorreram distâncias 27% maiores do que as fêmeas copuladas e machos virgens, e que indivíduos virgens com 6 dias após a emergência voaram mais que os copulados; e isso, provavelmente, está relacionado à estratégia reprodutiva da espécie. Sabe-se que o acasalamento de *A. gemmatalis* ocorre predominantemente entre o segundo e o sétimo dia após a emergência dos adultos (Greene et al. 1973; Wales et al. 1985). Portanto, acredita-se que os indivíduos virgens já estavam próximos à senescência, o que pode prejudicar o acasalamento e a reprodução; então, possivelmente, as fêmeas virgens voaram mais em busca de parceiros para cópula.

Em fêmeas copuladas, o número de lagartas pré-voo varia em função da idade, mas o número de lagartas pós voo não. Isso indica que, provavelmente, o voo interferiu negativamente no sucesso reprodutivo após o voo. Segundo Milano et al. (2011), fêmeas de *A. gemmatalis* podem absorver os oócitos para suprir eventuais necessidades metabólicas, e isso deve ter contribuído para que a quantidade de lagartas provenientes dos ovos depositados após o voo fosse a mesma independente da idade, ou seja, o voo prejudicou a oviposição das fêmeas mais jovens. Já os machos não são afetados pela idade, e, aparentemente, o fato de terem voado não interferiu no número de cópulas após o voo, que foi igual ao dos machos virgens. Outro fator interessante é que quanto mais velhos, maior é o número de cópulas dos machos previamente copulados, mesmo assim isso não impediu que 23% desses indivíduos com seis dias voassem e copulassem novamente após o voo.

Já para as fêmeas virgens que copularam após o voo, o número de lagartas tende a diminuir com o aumento da idade, e isso, aparentemente, não está relacionado ao número de cópulas após o voo, que não foram alteradas com a idade. Os efeitos da idade de acasalamento na fecundidade são intrínsecos de cada espécie, mas em sua grande maioria quanto mais velha for a fêmea no momento do

acasalamento menor será a capacidade de oviposição (Pinto et al. 2005). Esse fenômeno provavelmente está relacionado à estratégia de alocação de recursos de *A. gemmatalis* durante a fase imatura, que primeiramente foram direcionados para o voo e acasalamento e depois para a reprodução (Milano et al. 2011; Molleman et al. 2011).

Os lepidópteros perdem cerca de 20 a 80% do seu peso no período entre a pupação até a emergência dos adultos, e essa redução relaciona-se diretamente à perda de água. Quando os insetos se reproduzem essa perda torna-se ainda maior (Molleman et al. 2011). *A. gemmatalis* possui algumas características muito peculiares quanto à alocação de recursos para a reprodução, e segundo Milano et al. (2010), os recursos energéticos adquiridos durante a fase imatura não são utilizados na maturação dos tecidos reprodutivos, mas são alocados para garantir o voo e a cópula. Já a maturação reprodutiva dos adultos depende dos carboidratos adquiridos nessa fase. No presente estudo observou-se que machos perdem mais peso dos que as fêmeas, e isso é uma característica comum em Lepidoptera. Entretanto, as razões pelas quais esse fenômeno acontece ainda não foram totalmente elucidadas (Molleman et al. 2011). Os machos e fêmeas acasalados perderam mais peso do que machos e fêmeas virgens; e em adultos acasalados, quanto mais velho é o indivíduo maior é a perda de peso. Isso confirma que há um aumento na alocação de água e outros recursos para a reprodução com o aumento da idade (Molleman et al. 2011), e, também, ajuda a explicar a distância de voo das fêmeas virgens com seis dias após a emergência, pois estas direcionaram seus recursos para o voo, diferente das fêmeas copuladas que investiram seus recursos na reprodução antes do voo, deixando-o em segundo plano.

A maior parte dos indivíduos marcados capturados permaneceram nas áreas mais próximas ao ponto de liberação, no entanto, observou-se que cerca de 15% dos indivíduos voaram pelo menos 750 m. Essa tendência de redução na captura com o aumento da distância é comum em estudos de dispersão de lepidópteros, e pode estar relacionada à dispersão dos indivíduos no campo e à capacidade de voo dos insetos. No Brasil, a mesma tendência foi observada em estudos de dispersão em campo com *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), e em termos

percentuais, a captura acima de 750 m também foi similar (Caixeta 2010; Vilarinho et al. 2011).

Sabe-se que o vento exerce papel fundamental no deslocamento de lepidópteros em campo. Showers et al. (1989) propuseram que o movimento de correntes de ar foi fator chave na dispersão de adultos de *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), levando alguns indivíduos a percorrerem vários quilômetros nas planícies do estado do Texas, nos Estados Unidos. A direção do vento também influenciou no deslocamento de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae), de modo que alguns indivíduos que se dispersaram a favor do vento apresentaram velocidade média de voo superior a velocidade do vento em alguns casos (Showers et al. 2001). No entanto, os resultados obtidos em campo com *A. gemmatalis* indicaram que a direção do vento não interferiu de forma decisiva na distância de voo e no sentido cardinal da captura dos indivíduos liberados. Tais resultados podem ser atribuídos ao baixo número de indivíduos capturados, uma vez que apenas 28 adultos foram recuperados.

Quanto maior for R^2 , e menor os valores do DP, QMR e de DMA, melhor é o ajuste matemático do modelo (Draper & Smith 1981). Entretanto, deve-se considerar se os modelos conseguem explicar o fato biológico. E, considerando a capacidade de voo de *A. gemmatalis* em laboratório e em campo, o modelo $y = a/(1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$ foi o que mais se aproximou dos dados observados, explicando a relação entre distância de voo e captura. E, segundo o que foi calculado pelo modelo para os dados de campo, é possível que mais de 15% dos indivíduos alcancem distâncias entre 800 e 900 m de voo em condições de campo. Esta capacidade de voo pode ser ainda maior em futuros ensaios de dispersão de *A. gemmatalis* em áreas não consorciadas com cana-de-açúcar, uma vez que as linhas de cana podem ter influenciado negativamente na capacidade de dispersão dos adultos, funcionando como barreiras físicas.

A soja *Bt* aprovada no Brasil permite a produção da proteína inseticida em alta dose para *A. gemmatalis* (Bernardi et al. 2012). Então, mesmo que alguma fêmea venha a sobreviver, é provável que não haverão muitos parceiros disponíveis para a cópula nas áreas cultivadas com essas plantas. Como fêmeas virgens com mais de 4 dias após a emergência tendem a voar distâncias maiores, é possível que

isso aumente a chance de ocorrência de acasalamento entre indivíduos de áreas sob cultivo de plantas *Bt* com aqueles provenientes das áreas de refúgio. Assim, haveria a diluição do gene de resistência no cruzamento entre fêmeas resistentes com machos suscetíveis (Gould 1998). O sucesso reprodutivo tende a ser baixo nesses casos, pois somente 15% das fêmeas virgens copulam depois do sexto dia após a emergência, e apenas 7,5% colocam ovos viáveis, no entanto, essa capacidade reprodutiva não foi diferente entre fêmeas que voaram com 2 e 4 dias após a emergência.

A reprodução das fêmeas copuladas foi prejudicada pelo voo, pois esperava-se que fêmeas com dois dias após a emergência gerassem mais descendentes do que com quatro e seis dias após o voo, mas isso não aconteceu. Essa informação é muito valiosa para o manejo de resistência de *A. gemmatalis* à soja *Bt*, pois é possível que, após a colheita, as fêmeas adultas resistentes à tecnologia tenham que voar a procura de outros hospedeiros para ovipositar, e isso poderá afetar negativamente o número de descendentes desses indivíduos, uma vez que há um custo reprodutivo em relação ao voo. Outro fator interessante foi observado nos machos, que mesmo tendo acasalado antes do voo, foram capazes de copular tantas fêmeas quanto os machos virgens, o que poderá facilitar ainda mais a cópula entre indivíduos resistentes e suscetíveis em condições de campo, mesmo que os machos provenientes das áreas de refúgio já tenham copulado.

Em condições de laboratório, mesmo com um corpo mais pesado, e área alar bem menor, *C. includens* foi capaz de voar praticamente o dobro da distância de *A. gemmatalis* com dois dias após a emergência, e isso se refletiu em uma maior perda de peso em *C. includens* comparada a *A. gemmatalis*. Sabe-se que o voo-tutorado em laboratório não pode ser comparado com o voo real do inseto, entretanto, essa ferramenta permite obter informações sobre a estimativa da capacidade de voo relativa em cenários distintos (Gatehouse & Woodrow 1987). Logo, espera-se que em condições de campo a capacidade de voo de *C. includens* seja pelo menos similar à de *A. gemmatalis*, assim como ocorre em movimentos migratórios de ambas as pragas em condições de clima temperado (Buschman et al. 1977; Tingle & Mitchell 1977), o que pode viabilizar o planejamento da distância entre as áreas de

refúgio baseadas na dispersão de *A. gemmatalis*, e que sirvam para *C. includens* até que estudos de dispersão de adultos dessa espécie possam ser desenvolvidos.

Com isso, constatou-se que diversas características relacionadas ao voo e à reprodução de *A. gemmatalis* observadas nesse estudo agem em benefício da estratégia de refúgio estruturado adotada para a soja MON 87701×MON 89788, o que pode minimizar ainda mais o aumento de indivíduos resistentes no campo. Baseado na distância máxima de voo alcançada pelos adultos, e amparados pela premissa de que mais de 10% dos indivíduos estudados podem voar mais de 800 m (Gould 1998), propõe-se que as áreas de refúgio em soja *Bt* sejam espaçadas a até 800 m de distância entre si, visando permitir acasalamento de insetos suscetíveis e resistentes provenientes de áreas cultivadas com soja geneticamente modificada que produzem proteínas inseticidas. Entretanto, faz-se necessário que sejam realizados estudos mais aprofundados sobre dispersão de outras espécies que também são alvo dessa tecnologia, especialmente aquelas que, provavelmente, possuem menor capacidade de dispersão como *Epinotia aporema* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae). Ainda deve-se avaliar os fluxos migratórios, a similaridade entre populações de diversas regiões, e manter um monitoramento eficiente das populações após a entrada efetiva da tecnologia no mercado, tudo para que seja possível implementar um programa sólido de manejo de resistência de *A. gemmatalis* e *C. includens* para soja geneticamente modificada que expressa proteína de *Bt*.

AGRADECIMENTOS

Aos colegas de laboratório Márcia Macri, Andrea Corrêa Varella, Alexandre Carlos Menezes Netto, José Antonio de Souza Rossato Junior, Ana Elisa Mafra, Leonardo da Silva Turco e Tiago Rodrigo Lohmann por terem participado da elaboração da metodologia, da condução dos ensaios e pelo auxílio na correção do manuscrito. A SGS Gravena e ao Laboratório de Biologia de Insetos, ESALQ-USP pelos insetos e materiais que foram utilizados para iniciar as colônias. A CAPES pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor. E à Monsanto do Brasil, pelo financiamento parcial do trabalho.

REFERÊNCIAS CITADAS

- ANGELO, M. J., AND SLANSKY, F. Jr. 1984. Body building by insects: trade-offs in resource allocation with particular reference to migratory species. *Florida Entomol.* 67(1): 22-41.
- AVILA, G. A., BERNDT, L. A., AND HOLWELL, G. I. 2013. Dispersal behavior of the parasitic wasp *Cotesia urabae* (Hymenoptera: Braconidae): A recently introduced biocontrol agent for the control of *Uraba lugens* (Lepidoptera: Nolidae) in New Zealand. *Biol. Contr.* 66(3): 166-172.
- BARFIELD, C. S., WATERS, D. J., AND BECK. H. W. 1988. Flight device and database management system for quantifying insect flight and oviposition. *J. Econ. Entomol.* 81(5): 1506-1509.
- BERNARDI, O., MALVESTITI, G. S., DOURADO, P. M., OLIVEIRA, W. S., MARTINELLI, S., BERGER, G. U., HEAD, G. P., AND OMOTO, C. 2012. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701 × MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatalis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Pest. Manag. Sci.*, 68: 1083–1091.
- BUSCHMAN, L. L., WHITCOMB, W. H., NEAL, T. M., AND MAYS, D. L. 1977. Winter survival and hosts of the velvetbean caterpillar in Florida. *Florida Entomol.* 60 (4): 267-273.
- CAIXETA, D. F. 2010. Dispersão de machos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. Dissertação, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 48 pp.
- CTNBio, 2010. Commercial release of genetically modified insect-resistant and herbicide-tolerant soy containing genetically modified events MON 87701 and MON 89788. Technical Opinion No. 2542/2010. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. <http://www.ctnbio.gov.br/index.php/content/view/15558.html>
- DRAPER, N., AND SMITH, H. 1981. The General Regression Situation, pp. 135-148 *In* N. Draper, AND H. Smith, Applied regression analysis. 2th. edn. Wiley & Sons, New York, USA.

- GATEHOUSE, A. G., AND WOODROW, K. P. 1987. Simultaneous monitoring of flight and oviposition of individual velvetbean caterpillar moths (by Wales, Barfield & Leppla, 1985): a critique. *Physiol. Entomol.* 12: 117–121.
- GOULD, F. 1998 Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology. *An. Rev. Entomol.* (43): 701-726.
- GREENE, G. L., REID, J. C., BLOUNT, V. N., AND RIDDLE, T. C. 1973. Mating and oviposition behavior of the velvetbean caterpillar in soybean. *Environ. Entomol.* 2(6): 1113-1115.
- HAGLER, J. R., AND JACKSON, C. G. 2001. Methods for marking insects: current techniques and future prospects. *Annu. Rev. Entomol.* 46: 511-543.
- HENDRICKS, D. E., LEAL, M. P., ROBINSON, S. H., AND HERNANDEZ N. S. 1971. Oil-soluble black dye in larval diet marks adults and eggs of tobacco budworm and pink bollworm. *J. Econ. Entomol.* 64 (6): 1339-1401.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B., OLIVEIRA, E. B. de, AND MOSCARDI, F. 1985. Criação massal da lagarta da soja. Embrapa Soja, Londrina, 23 pp.
- HUNT, T. E., HELLMICH, R. L., DYER, J. M.; HIGLEY, L. H., AND WITKOWSKI, J. F. 2000. Oil-Soluble dyes for marking European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *J. Entomol. Sci.* 35: 338-341.
- LIU, Z., MACNEIL, J. N., AND WU, K. 2011. Flight Mill performance of the lacewing *Chrysoperla sinica* (Neuroptera: Chrysopidae) as a function of age, temperature, and relative umidity. *J. Econ. Entomol.* 104(1): 94-100.
- MILANO, P., BERTI FILHO, E., PARRA, J. R. P., ODA, M. L., AND CÔNSOLI, F. L. 2010. Efeito da alimentação da fase adulta na reprodução e longevidade de espécies de Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elachistidae. *Neotrop Entomol.* 39: 172-180.
- MOLLEMAN, F., JAVOISĚ, J., ESPERK, T., TEDER, T., DAVIS, R., AND TAMMARU, T.. 2011. Sexual differences in weight loss upon eclosion are related to life history strategy in Lepidoptera. *J. Insect. Physiol.* 57: 712–722.
- MORRIS, G. K. 1965. Vacuum cleaner restraining device. *Turttox News* 43: 270. *In* T. J. WALKER, AND S. A. WINERITER, 1981. Marking techniques for recognizing individual insects. *Florida Entomol.* 64(1): 18-30.

- NARANJO, S. E. 1990. Comparative flight behavior of *Diabrotica virgifera* and *Diabrotica barberi* in the laboratory. Entomol. Exp. Appl. 55: 79-90.
- NOGUEIRA, M. C. S., AND CORRENTE, J. E. 2000. Decomposição da interação tripla significativa utilizando o comando contrast do PROC GLM do SAS, aplicado ao modelo de classificação tripla para dados balanceados. Bragantia. 59: 109-115.
- OSTLIE, K. R., HIGLEY, L. G., KASTER, L. V., AND SHOWERS, W. B. 1984. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) development, larval survival and adult vigor on meridic diets containing marker dyes. J. Econ. Entomol. 77: 118-120.
- PINTO, A. P., SANT'ANA, J., AND BOTTON, M. 2005. Influência da idade da fêmea na performance reprodutiva e longevidade de *Argyrotaenia sphaleropa* (Lepidoptera: Tortricidae). Iheringia. 95: 435-440.
- QURESHI, J. A., BUSCHMAN, L. L., THRONE, J. E., AND RAMASWAMY, S. B. 2005. Adult dispersal of *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) and implications for its resistance management in Bt-maize. J. Appl. Entomol., 129(6): 281-292.
- QURESHI, J. A., BUSCHMAN, L. L., THRONE, J. E., AND RAMASWAMY, S. B. 2006. Dispersal of adult *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) and its implications for corn borer resistance management in *Bacillus thuringiensis* maize. Ann. Entomol. Soc. Am., 99: 279-291.
- SAS INSTITUTE. 2004. SAS/STAT user's guide, release 9.1 ed. SAS Institute, Cary, NC.
- SCHUMACHER, P., WEYENETH, A., WEBER, D. C. AND DORN, S. 1997. Long flights in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) measured by a flight mill: influence of sex, mated status and age. Physiol. Entomol. 22: 149-160.
- SHOWERS, W. B., HELLMICH, R. L., DERRICK-ROBINSON, M. E., AND HENDRIX III, W. H. 2001. Aggregation and dispersal behavior of marked and released European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) adults. Environ. Entomol., 30: 700-710.
- SHOWERS, W. B., SMELSER, R. B., KEASTER, A. J., WHITFORD, F., ROBINSON, J. F., LOPEZ, J. D., AND TAYLOR, S. E. 1989. Recapture of marked black

- cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) males after long-range transport. *Environ. Entomol.*, 18: 447-458.
- SILVA, C. S. B. da. 2007. Dispersão do parasitóide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e sua interação com algumas variáveis ambientais em agroecossistemas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Dissertação, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 139 pp.
- SIMMONS, A. M., AND MARTI JR, O. G. 1992. Mating by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) frequency, duration, and of temperature. *Environ. Entomol.* 21: 371-375.
- SOSA-GOMEZ, D. R. 2004. Intraspecific variation and population structure of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). *Genet. Mol. Biol.* 27: 378–384.
- TINGLE, F. C., AND MITCHELL, E. R. 1977. Seasonal populations of armyworms and loopers at Hastings, Florida. *Florida Entomol.* 60: 115-122.
- VILARINHO, E. C., FERNANDES, O. A., HUNT, T. E., AND CAIXETA, D. F. 2011. Movement of *Spodoptera frugiperda* adults (Lepidoptera: Noctuidae) in maize in Brazil. *Florida Entomol.* 94: 480 - 488.
- VILARINHO, E. C., FERNANDES, O. A., OMOTO, C. AND HUNT, T. E. 2006. Oil-soluble dyes for marking *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 99(6): 2110-2115.
- WALES, P. J., BARFIELD, C. S., AND LEPPLA, N. C. 1985. Simultaneous monitoring of flight and oviposition of individual velvetbean caterpillar moths. *Physiol. Entomol.* 10: 467–472.

TABELA 1. EFEITO DA IDADE, DO SEXO E STATUS DE ACASALAMENTO DOS ADULTOS DE *A. gemmatilis* NA DISTÂNCIA, DURAÇÃO E VELOCIDADE MÉDIA DO VOO TUTORADO, NO TEMPO IMÓVEL, NAS CÓPULAS E NA PROLE.

Desdobramento da interação entre sexo e status de acasalamento						
Sexo	Status de acasalamento	Distância de voo (km)	Duração do voo (h)	Velocidade média (km/h)	Tempo imóvel (h)	
Fêmea	Copulado	8,7±0,85 b	2,1±0,19 b	3,8±0,04 b	9,9±0,19 a	A
	Virgem	14,2±1,28 a	3,1±0,26 a	4,2±0,07 a	8,9±0,26 b	A
Macho	Copulado	10,5±1,05 a	2,5±0,23 a	3,9±0,05 a	9,5±0,23 a	A
	Virgem	10,4±1,19 a	2,5±0,25 a	3,8±0,05 a	9,5±0,25 a	A
Desdobramento da interação entre idade e status de acasalamento						
Idade (dias)	Status de acasalamento	Distância de voo (km), ♂ e ♀	Duração do voo (h), ♂ e ♀	Cópulas pós-voo (♂)	Lagartas pós-voo (♀)	
2	Copulado	11,3±1,31 a	2,6±0,29 a	0,23±0,12 a	148,4±24,88 a	A
	Virgem	12,0±1,41 a	2,7±0,29 a	0,14±0,10 a	578,0±171,21 a	A
4	Copulado	9,7±1,23 a	2,4±0,27 a	0,46±0,31 a	201,1±25,27 a	A
	Virgem	10,7±1,69 a	2,6±0,36 a	0,15±0,10 a	198,0±93,59 a	A
6	Copulado	7,9±0,94 b	1,9±0,21 b	0,23±0,12 a	96,6±15,16 a	A
	Virgem	14,3±1,46 a	3,2±0,29 a	0,00±0,00 a	22,0±22,00 a	B

Nos desdobramentos das interações, as letras minúsculas referem-se às comparações entre status de acasalamento (a), e as maiúsculas às comparações entre sexo e idade para cada nível de status de acasalamento (A, **A**).

TABELA 2. EFEITO DA IDADE DOS ADULTOS DE *A. gemmatalis* NAS CÓPULAS PRÉ-VOO DE MACHOS E FÊMEAS, NO SUCESSO REPRODUTIVO (LAGARTAS) ANTES DO VOO DAS FÊMEAS COPULADAS, E NAS CÓPULAS PÓS VOO DAS FÊMEAS VIRGENS.

Idade (dias)	Adultos copulados antes do voo			Virgens
	Cópulas pré-voo (♂)	Cópulas pré-voo (♀)	Lagartas pré-voo (♀)	Cópulas pós-voo (♀)
2	1,2±0,10 b	1,1±0,10 a	22,5±9,96 b	0,23±0,12 a
4	1,5±0,18 b	1,3±0,13 a	232,8±52,97 a	0,46±0,22 a
6	2,3±0,31 a	1,3±0,13 a	396,7±61,53 a	0,15±0,10 a

TABELA 3. DESVIO PADRÃO (DP), QUADRADO MÉDIO DO RESÍDUO (QMR), DESVIO MÉDIO ABSOLUTO (DMA), VARIÂNCIA EXPLORADA (R²) E PROBABILIDADE DOS PARÂMETROS ESTIMADOS PARA OS CINCO MODELOS TESTADOS PELO MÉTODO QUASI-NEWTON.

Modelo	Ensaio	Parâmetros estimados				Valor de p	
		DP (%)	QMR	DMA	R ²	a	b
$y = a^2 / (1 + 2a^2bx)^{2,6}$	Campo	1,82	2,21	1,35	0,708	0,003	0,022
	Laboratório	3,62	12,71	2,59	0,933	0,000	0,000
$y = a / (1 + 2a^{0,85}bx)^{1,8}$	Campo	1,62	1,76	1,24	0,767	0,046	0,016
	Laboratório	3,03	8,89	2,17	0,953	0,000	0,000
$y = e^{a+b/x}$	Campo	1,48	1,46	0,96	0,807	0,036	0,013
	Laboratório	7,04	48,06	5,10	0,748	0,000	0,000
$y = e^{a+b \log(x)}$	Campo	1,46	1,42	1,02	0,812	0,004	0,016
	Laboratório	2,52	6,18	2,05	0,967	0,000	0,000
$y = e^{a+b\sqrt{x}}$	Campo	1,52	1,55	1,08	0,794	0,001	0,024
	Laboratório	3,41	11,32	2,41	0,941	0,000	0,000

TABELA 4. COMPARAÇÃO DE VOO TUTORADO ENTRE *A. gemmatalis* E *C. includens*, AVALIANDO A DISTÂNCIA E DURAÇÃO DO VOO, O TEMPO IMÓVEL, A RELAÇÃO ASA-PESO, A PERDA DE PESO E A VELOCIDADE MÉDIA DE VOO.

Diferenças no voo tutorado entre as espécies independentemente do sexo					
Espécie	Distância de voo (km)	Duração do voo (h)	Tempo imóvel (h)	Relação asa-peso	
<i>A. gemmatalis</i>	9,1±1,53 b	2,1±0,33 b	9,9±0,33 a	22,3±0,19 a	
<i>C. includens</i>	18,0±2,61 a	3,4±0,43 a	8,6±0,43 b	13,2±0,20 b	
Desdobramento da interação entre sexo e espécie					
Sexo	Espécie	Perda de peso (%)	Velocidade média (km/h)		
Fêmea	<i>A. gemmatalis</i>	60,1±0,78 b	B	4,0±0,11 a	A
	<i>C. includens</i>	64,8±0,65 a	A	4,2±0,34 a	B
Macho	<i>A. gemmatalis</i>	64,6±0,52 a	A	4,0±0,14 b	A
	<i>C. includens</i>	64,7±0,89 a	A	5,5±0,32 a	A

No desdobramento da interação entre espécie e sexo, as letras minúsculas referem-se às comparações entre espécies (a), e as maiúsculas entre sexo para cada nível de espécie (A, **A**).

FIGURAS



Fig. 1. A, visão geral do abrigo utilizado como ponto de liberação; B, abrigo aberto após a liberação dos adultos; C, caixas de madeira utilizadas para acomodar as pupas.

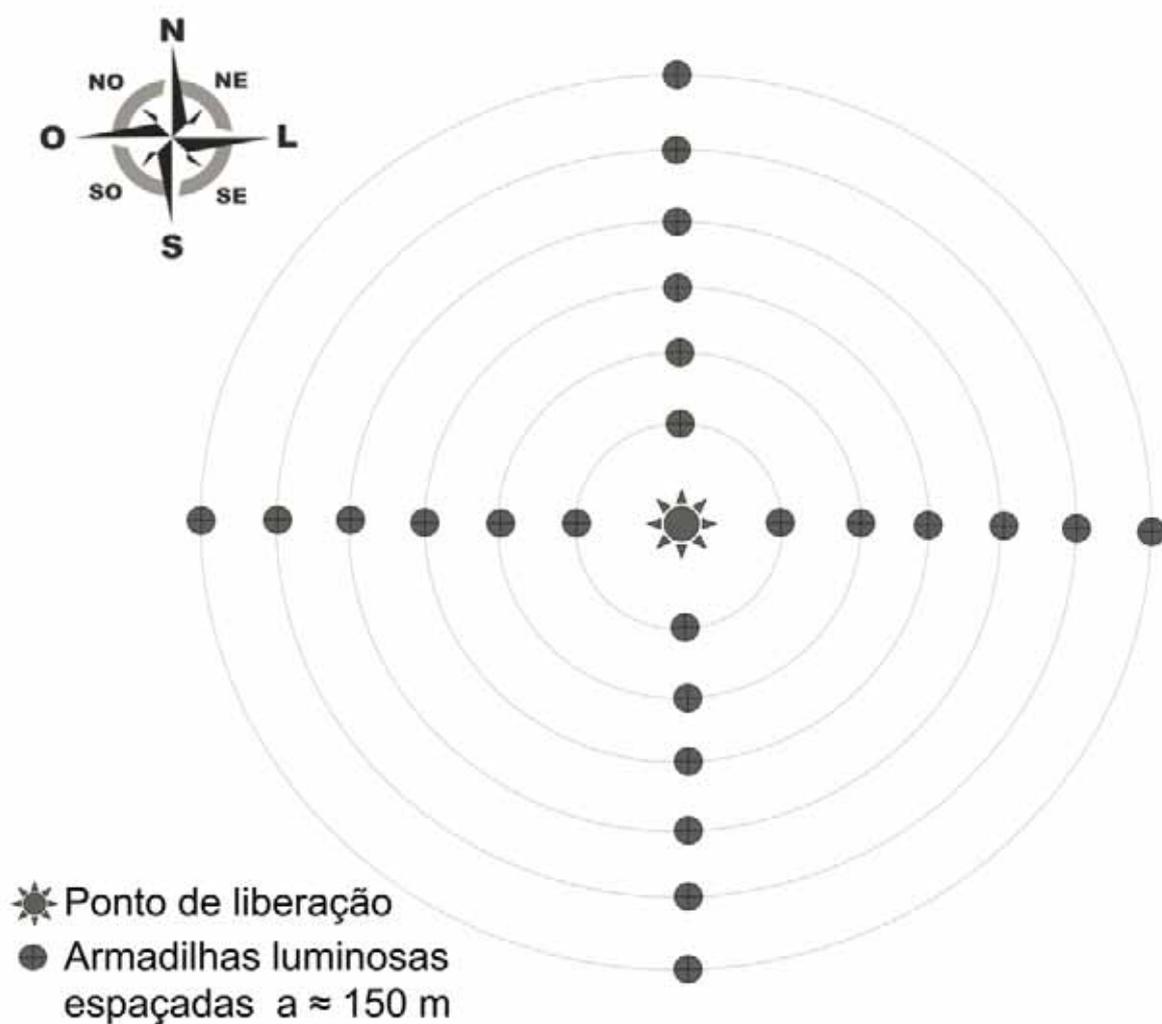


Fig. 2. Esquema de distribuição das armadilhas luminosas e ponto de liberação no ensaio de dispersão de adultos de *A. gemmatalis* em campo.

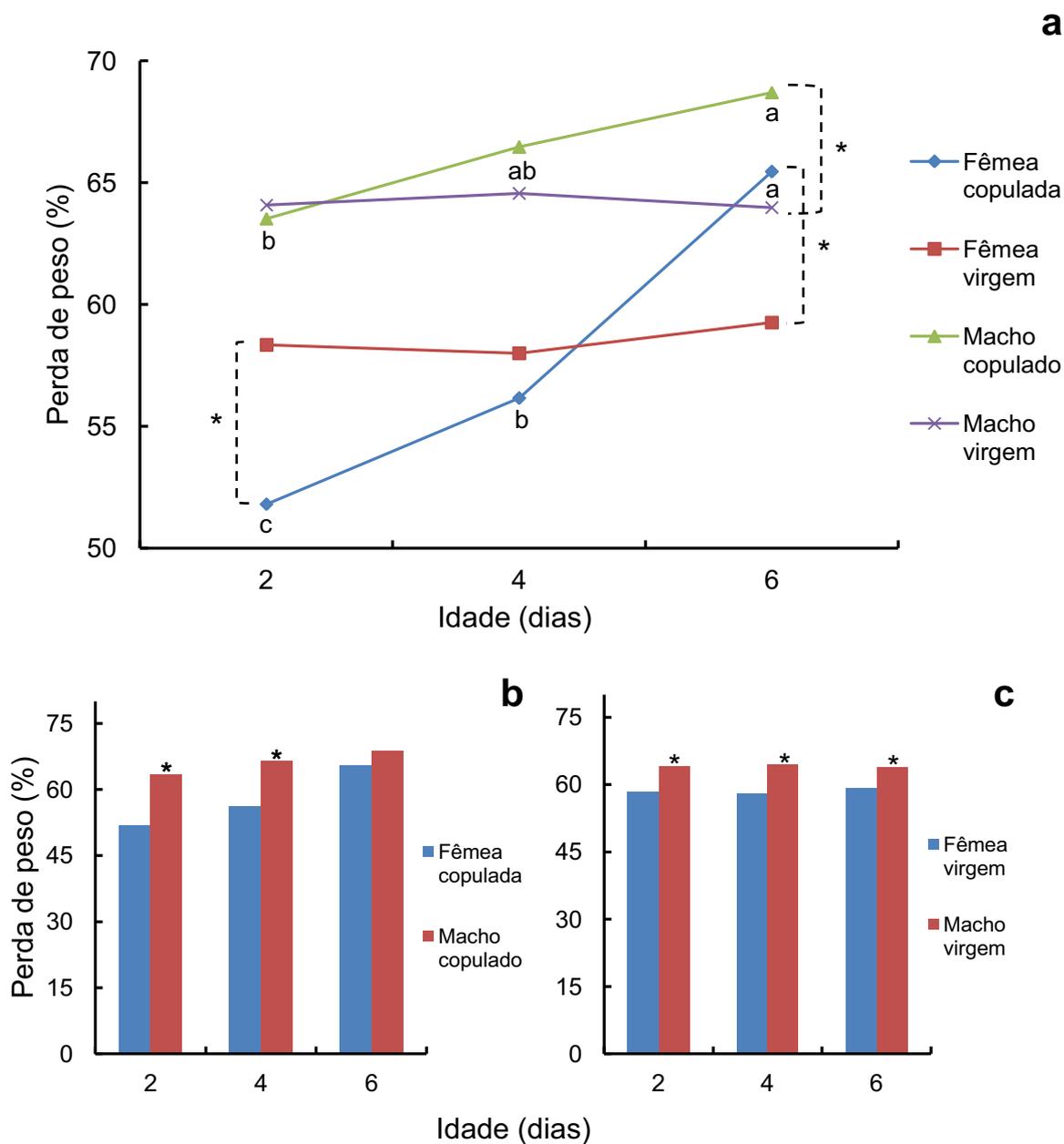


Fig. 3. Decomposição dos graus de liberdade da interação tripla entre idade, sexo e cópula para a perda de peso de *A. gemmatalis*; a, variando os níveis de idade e cópula dentro dos demais; b e c, variando os níveis de sexo dentro dos demais.

* significativo pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

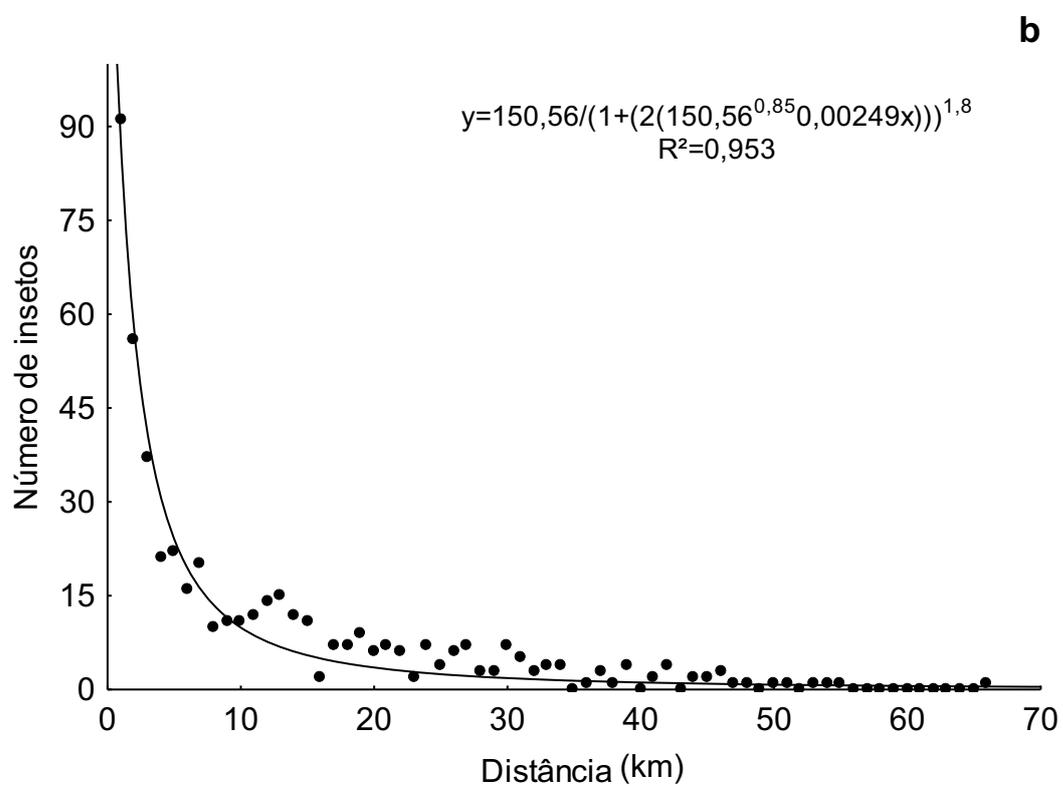
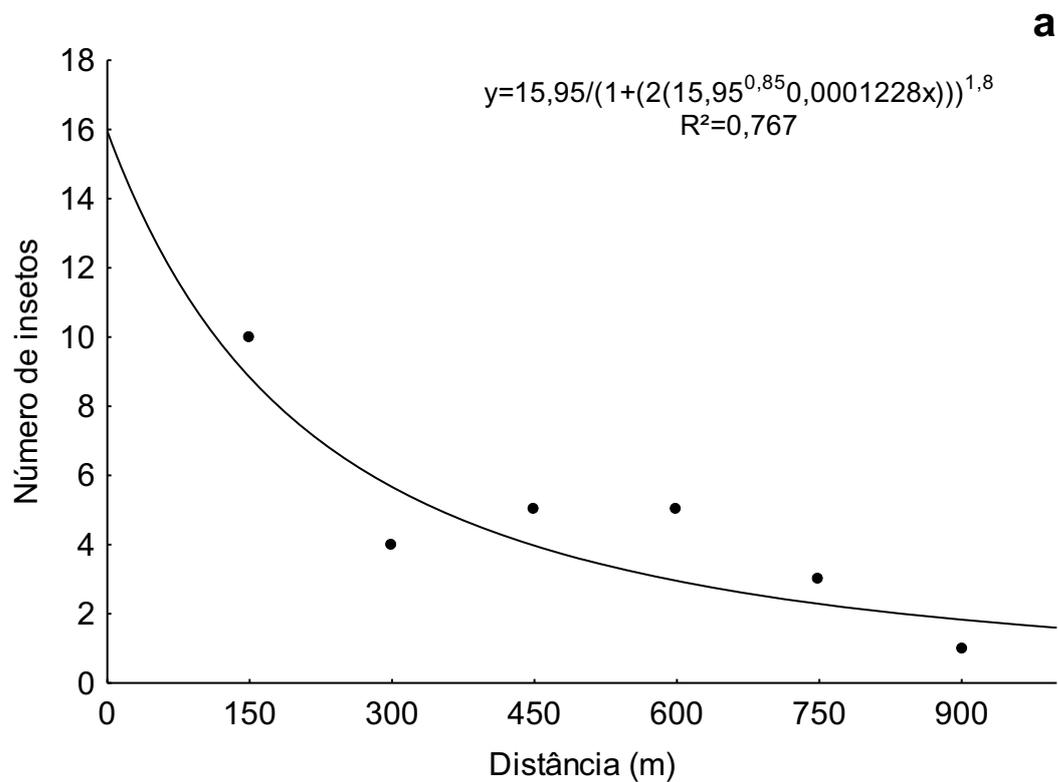


Fig. 4. Linhas de tendência das equações de regressão, e R^2 ; **a**, ensaio em campo (dispersão); **b**, ensaio em laboratório (voo tutorado) com *A. gemmatalis*.

CAPÍTULO 4 - Considerações finais

O conhecimento da dinâmica de dispersão das pragas-alvo em condições de campo é necessário para dimensionar a distância entre as áreas de refúgio visando o manejo de resistência da lagarta da soja e da falsa medideira às plantas *Bt*. E para realizar estudos de dispersão em agroecossistemas faz-se necessário separar os indivíduos selvagens dos indivíduos liberados. Por isso buscou-se o desenvolvimento de técnicas que permitissem a marcação de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), sem que essas prejudicassem o desenvolvimento e o voo dos insetos.

No presente trabalho, o corante lipossolúvel Sudan Red 7B na concentração de 400 ppm marcou mais de 98% dos adultos e 88% dos ovos de *A. gemmatalis*, sem interferir na biologia do inseto. Já para *C. includens*, isso não foi possível com os corantes-concentrações testados.

Além de viabilizar estudos de dispersão em campo, essa técnica também permite a exequibilidade de estudos concernentes à dinâmica de oviposição desses insetos, pois os ovos também foram marcados. Até a eclosão das lagartas é possível visualizar o corante com clareza, mas depois que as neonatas começam a se alimentar, a presença do corante deixa de ser visível e torna-se vestigial. Assim, essa técnica de marcação também possibilita a avaliação da dispersão inicial das lagartas de *A. gemmatalis* logo após a eclosão, embora isso não tenha sido realizado nesse estudo.

Os aparelhos de avaliação de voo tutorado adaptados para esse trabalho também poderão ser utilizados para outros lepidópteros-praga nos mais diversos cenários, uma vez que a estrutura do aparelho é simples, e que todos os materiais utilizados são facilmente encontrados no Brasil. Outro fator facilitador é que o custo unitário não excede R\$ 60,00.

O corante possibilitou a marcação de todas as estruturas internas de *A. gemmatalis*, assim, em estudos futuros, será possível verificar se as fêmeas foram copuladas, e se a cópula foi realizada com indivíduos do campo ou de laboratório. O mesmo poderia ser feito com os machos, avaliando a bolsa copulatória das fêmeas

selvagens, tendo em vista que o corante também modificou a coloração dos espermatozóides.

Antes do início dos ensaios em campo, foram realizados ensaios de voo tutorado em laboratório para entender os efeitos da idade, do sexo e da cópula no voo, e o reflexo desses cenários na reprodução. Observou-se que fêmeas virgens com mais de 4 dias após a emergência tendem a voar distâncias maiores, portanto, é possível que isso aumente a chance de ocorrência de acasalamento entre indivíduos de áreas sob cultivo de plantas *Bt* com aqueles provenientes das áreas de refúgio. Outro fator interessante foi observado nos machos, que mesmo tendo acasalado antes do voo, foram capazes de copular o mesmo número de fêmeas que os machos virgens. Com isso, percebe-se que as diversas características relacionadas ao voo e à reprodução de *A. gemmatalis* observadas nesse estudo agem em benefício da estratégia de refúgio estruturado adotada para a soja MON 87701×MON 89788, o que pode minimizar ainda mais o aumento de indivíduos resistentes no campo.

Baseado na distância máxima de voo alcançada pelos adultos que foi de 900 m, e amparados pela premissa de que mais de 10% dos indivíduos estudados podem voar mais de 800 m, propõe-se que as áreas de refúgio em soja *Bt* sejam espaçadas até 800 m de distância entre si, uma vez que, aparentemente, a distância de voo de *A. gemmatalis* seria o fator limitante para permitir o acasalamento de insetos suscetíveis e resistentes provenientes de áreas cultivadas com soja geneticamente modificada que produzem proteínas inseticidas.

Com a aprovação da China para a compra da Intacta RR2 Pro[®] em junho de 2013, associada ao recente surto populacional de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil neste mesmo ano, provavelmente haverá um incremento considerável na área plantada com esse material nas próximas safras. Isso deverá estimular esforços ainda maiores por parte das empresas produtoras de sementes para que essa tecnologia não seja perdida em poucos anos com o aumento da frequência de insetos resistentes nas áreas cultivadas com a soja *Bt*.

Esse estudo foi um dos primeiros esforços feitos no Brasil para tentar entender um pouco mais a respeito da dinâmica de dispersão de *A. gemmatalis* visando o estabelecimento de áreas de refúgio para a soja *Bt*. Entretanto, as

informações obtidas são limitadas, pois nos restringimos a estudar apenas uma população de *A. gemmatalis*, além disso, não foi possível realizar estudos com outras pragas-alvo como *C. includens*, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), *Epinotia aporema* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae) e *H. armigera*. Por isso, novos estudos são imprescindíveis para propor estratégias mais robustas que visam o manejo de resistência de insetos à soja *Bt*.