

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA**

GIANNI QUEIROZ HADDAD

**Perspectiva de utilização da técnica do inseto estéril para lagarta da maçã
Heliothis virescens (Lepidoptera: Noctuidae) e lagarta do velho mundo
Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro
como um método alternativo de controle**

Piracicaba

2017

GIANNI QUEIROZ HADDAD

**Perspectiva de utilização da técnica do inseto estéril para lagarta da maçã
Heliothis virescens (Lepidoptera: Noctuidae) e lagarta do velho mundo
Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro
como um método alternativo de controle**

Versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011

**Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear
na Agricultura da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em Ciências**

**Área de Concentração: Energia Nuclear na
Agricultura e no Ambiente**

Orientador: Prof. Dr. Valter Arthur

Piracicaba

2017

Autorizo a divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP**

Haddad, Gianni Queiroz

Perspectiva de utilização da técnica do inseto estéril para lagarta da maçã *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) e lagarta do velho mundo *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro como um método alternativo de controle / Gianni Queiroz Haddad; orientador Valter Arthur. - - versão revisada de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

77 p. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Algodão 2. Controle de insetos 3. Insetos nocivos 4. Irradiação 5. Lagartas
6. Radiação gama 7. Radiação ionizante I. Título

CDU 632.935.4 : 633.51

*À George Augusto Haddad de Macedo
dedico*

*Aos meus pais e meu esposo
Ofereço*

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus pelas bênçãos que recebo em minha vida.

À Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz e ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo pela infraestrutura e total amparo intelectual.

Ao professor Valter Arthur pelo aceite, orientação, ensinamentos, compreensão, exemplo, amizade... ao longo desses quatro anos.

Ao laboratório de Biologia de Insetos, onde desenvolvi a pesquisa com o excelente auxílio e colaboração da técnica e amiga Neide G. Zério e do professor José Roberto Parra. Ao Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, onde realizei meus estágios docente e disciplinas, em nome de José Maurício Bento.

À instituição: Centro Nacional de Energia Nuclear pela concessão de bolsa durante o doutorado.

A equipe do Laboratório de Radiobiologia e Ambiente – LRA: Aline, Diogo, Juliana, Dâmaris, André, Cristina, Edson e Valter por todo apoio, AMIZADE, companheirismo e ajuda sem os quais seria impossível realizar este trabalho.

Agradeço aos funcionários do CENA que colaboraram com toda atenção e carinho durante todo doutorado, em nome de Paulo, Gilson, Marília.

Agradeço todas as professoras e funcionárias do CCIn (Centro de Convivência Infântil), sem as quais eu não teria a mesma paz e tranquilidade para realizar meu trabalho.

Em especial, agradeço a minha mãe Jânia Tânia de Queiroz Haddad, meu esposo Fernando Giovannetti de Macêdo e minha irmã Georgea Queiroz Haddad, e minha madrinha Linda Haddad, por tantos incentivos, por tanto carinho, por tanta compreensão, a família é a base para todo trabalho realizado com êxito, conseguimos ter a paz de espírito e a disposição suficiente para seguir em frente.

Ao meu filho George Augusto Haddad de Macêdo, que chegou de surpresa junto com o doutorado, e mudou completamente o meu espírito, com o nascimento dele tudo se tornou mais fácil, por conta da enorme felicidade que ele me proporciona dia a dia.

“É melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.” (Theodore Roosevelt)

RESUMO

HADDAD, G. Q. **Perspectiva de utilização da Técnica do Inseto Estéril para lagarta da maçã *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) e lagarta do velho mundo *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do algodoeiro como um método alternativo de controle.** 2017. 77 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

Desde a década de 50, os cientistas tem utilizado radiação ionizante para esterilizar insetos, que são liberados na natureza para acasalar, mas sem nenhuma descendência. Conhecida como a técnica do inseto estéril (TIE), este método de controle de inseto vem tradicionalmente utilizando radiações ionizantes para esterilizar os insetos, sendo uma técnica que não gera resíduo, e pode agir em sinergia com as demais técnicas dentro do manejo integrado de pragas. O Brasil por vários anos vem lutando contra o aumento de pragas, introduzindo novas táticas e técnicas dentro dos programas de MIP, para driblar a resistência dos produtos químicos, como: diminuir os resíduos dos agrotóxicos; para algumas culturas importantes do o nosso país, temos um largo espectro de pragas ocorrendo do início ao fim da colheita, uma delas é a cultura do algodoeiro e dentre as pragas chave dessa cultura, temos algumas lagartas extremamente importantes, entre elas *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera*. Essas espécies são parecidas morfológicamente, sendo a segunda identificada a poucos anos aqui no Brasil. Ainda não há trabalhos no Brasil utilizando TIE como ferramenta adicional para lepidópteros, portanto objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito de doses de radiação gama nas diferentes fases do ciclo evolutivo de *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera*, bem como avaliar a esterilidade na geração P e a capacidade de competição dos insetos irradiados com os não irradiados. A fase pupa foi a que apresentou um melhor resultado, pois com 75 Gy atingiu a esterilidade em *Heliothis virescens* e 100 Gy esterilizou *Helicoverpa armigera*, portanto contemplou a fase e a dose escolhida para avaliar a competição entre os insetos irradiados e os insetos normais de ambas as espécies. E tanto *Heliothis virescens* como *Helicoverpa armigera* apresentaram um resultado satisfatório, pois os insetos irradiados conseguiram reduzir significativamente a viabilidade dos ovos na proporção de 9: 1: 1.

Palavras-chave: *Heliothis virescens*, *Helicoverpa armigera*, Técnica do inseto estéril.

ABSTRACT

HADDAD, G. Q. **Perspective of using the sterile insect technique for Tobacco Budworms *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) and Cotton Bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton crop as an alternative method of control.** 2017. 77 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017.

Since the 1950s, scientists have used ionizing radiation to sterilize insects, which are released in nature to mate, but without any progeny. Known as the sterile insect technique (TIE), this method of insect control has traditionally used ionizing radiation to sterilize insects, a technique that does not generate residues, and can act in synergy with the other techniques within integrated pest management. For several years, Brazil has been fighting against the increase of pests, introducing new tactics and techniques within the IPM programs, to overcome the resistance of chemical products, such as: reducing the residues of agrochemicals; For some important crops of our country, we have a wide spectrum of pests occurring from the beginning to the end of the harvest, one of them is the cotton crop and among the key pests of this crop, we have some extremely important caterpillars, among them *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera*. These species are morphologically similar, the second being identified a few years ago in Brazil. There are still no studies in Brazil using TIE as an additional tool for Lepidoptera, therefore the purpose of this study was to evaluate the effect of doses of gamma radiation in the different phases of the evolutionary cycle of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera*, as well as to evaluate the sterility in generation P and the ability of insects to irradiate with non-irradiated insects. The pupal phase presented the best result because 75 Gy achieved sterility in *Heliothis virescens* and 100 Gy sterilized *Helicoverpa armigera*, therefore it contemplated the phase and dose chosen to evaluate the competition between the irradiated insects and the normal insects of both species. Both *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera* presented a satisfactory result, as the irradiated insects managed to significantly reduce the viability of the eggs in a ratio of 9: 1: 1.

Keywords: *Heliothis virescens*, *Helicoverpa armigera*, Sterile insect technique.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
Referências	33
3. Efeitos da radiação gama para todas as fases do ciclo evolutivo de <i>Heliothis virescens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> visando o seu controle	39
Resumo	39
Abstract	39
4. Introdução.....	40
5. Material e Métodos.....	42
6. Resultados e Discussão.....	46
7. Conclusões.....	60
Referências	60
8. Competição entre o cruzamento de machos estéreis de <i>Heliothis virescens</i> e <i>Helicoverpa armigera</i> com fêmeas férteis das respectivas espécies.....	64
Resumo	64
Abstract	64
9. Introdução.....	65
10. Material e Métodos.....	68
11. Resultados e Discussão.....	70
12. Conclusão	73
Referências	74

1. INTRODUÇÃO

Desde 1950, os cientistas usam radiação ionizante para esterilizar insetos, que são liberados na natureza para acasalar, mas sem nenhuma descendência. Conhecida como a técnica do inseto estéril (TIE), este método de controle de inseto tem tradicionalmente utilizando radiações ionizantes para esterilizar os insetos. Porém nessa mesma década, no estado de São Paulo, inseticidas organofosforados eram utilizados em escalas crescentes, principalmente nas plantações de algodão, os resultados eram considerados excelentes para a agricultura, todavia, seu uso indiscriminado aliado à elevada toxicidade desses produtos, torna essa prática nociva tanto para espécie humana como para o meio ambiente.

Atualmente os insetos pragas estão se tornando difíceis de controlar de maneira eficaz, quando usamos métodos tradicionais como biocidas e inseticidas, além da resistência induzida, temos também as áreas de refúgio, assim como insetos que passam parte do seu ciclo dentro do fruto. Podemos considerar um avanço fundamental, para alcançar um controle eficaz e ambientalmente benigno, a introdução da técnica do inseto estéril com mecanismos seletivos e específicos para espécie, onde o controle é obtido através da liberação de machos estéreis, esta técnica é citada frequentemente como um método autocida de controle de insetos, a qual se consiste na liberação de insetos esterilizados através da radiação gama que irão competir com indivíduos da mesma espécie da população selvagem pela copula resultando em cruzamentos estéreis. Teoricamente este método é aplicável a qualquer espécie de inseto que se reproduza sexualmente, entretanto o maior potencial dessa técnica é sua utilização para pragas que são altamente prejudiciais a agricultura ou a saúde pública e que de um modo geral requerem um uso mais intensivo de inseticidas Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2005), um inseto estéril é definido como um inseto, resultado de um tratamento apropriado, que é incapaz de produzir proles viáveis.

Segundo Arthur, Machi e Mastrangelo (2016) uma população de estéril é uma população extinta. Esta técnica oferece muitas vantagens, dentre elas, ser uma tecnologia sustentável e que não causa resistência como o controle químico e uma das principais é usar o acasalamento natural da praga com a própria praga pela seleção natural (KRAFSUR, 1998; KLASSEN; CURTIS, 2005).

O primeiro trabalho nesta área de pesquisa foi realizado por Hunter (1912) que irradiou *Sitophilus oryzae* (L.) caruncho do arroz, com raios-X emitido por uma ampola, não obteve resultado satisfatório isso porque a radiação emitida não foi suficiente para causar dano algum ao inseto.

Mas quatro anos mais tarde, Runner (1916) usando também uma ampola que emitia raios X conseguiu esterilizar o caruncho do fumo em fardo *Lasioderma serricorne* (F.). Como essa época era conturbada socialmente e a humanidade se preocupava demais com o desenvolvimento de armas com objetivo de alcançar vitórias nas guerras que se desenrolavam, estes conflitos, fizeram com que o trabalho de Runner fosse esquecido por algum tempo.

Foi aproximadamente na metade da década de 1950, com explosão da primeira bomba atômica que as pesquisas realmente ingressaram neste campo. Foram dois centros de pesquisa, um na Inglaterra, o grupo de Tecnologia de Irradiação, do Laboratório de Pesquisas de Wantagge e, outro nos Estados Unidos, o Grupo de Pesquisadores de Métodos de Controle de Insetos de Produtos Armazenados, do Laboratório de Pesquisas de Savannah, que mais trabalharam neste sentido. Lançaram as bases para as pesquisas futuras, em outros países, pois é sabido que a ecologia das pragas é específica para cada clima, podendo ocasionar importantes modificações, principalmente nas doses necessárias para ocasionar a completa esterilização. São principalmente a temperatura e a umidade que variando de região para região podem induzir nas espécies de insetos alterações na viabilidade genética que chegam a ocasionar diferentes radiosensibilidade (RUNNER, 1916).

Ao contrário dos inseticidas atualmente em uso, normalmente agindo de modo tóxico sobre o sistema nervoso, aparelho digestivo ou respiratório, as radiações ionizantes não têm locais específicos de ação, agindo sobre todas as células. Os núcleos celulares, porém são normalmente muito mais radiosensíveis que o citoplasma, sendo que células em divisão, como as do sistema reprodutor são muito mais susceptíveis que as somáticas. As radiações induzem mudanças moleculares em nível de cromossoma, sendo que desta forma causam mutações genéticas. A recombinação dos cromossomos é bastante afetada, pois a falta ou deslocamento dos genes impossibilitam o pareamento. Assim há uma demora na divisão celular induzindo distúrbios fisiológicos.

Baixas doses de radiação causam esterilização pela indução de dominantes letais, quer seja nos óvulos quer nos espermatozoides inibindo a formação normal do ovo ou divisões celulares subsequentes. Doses elevadas causam a morte das células somáticas, na proporção da dose administrada, sendo que as doses letais são bem maiores podendo às vezes chegar a até 5 kGy, esta radioresistência está relacionada com o alto número e tamanho dos

cromossomos e centrômero difuso como cita Arthur (1982) quando irradiou *Sitotroga cerealella* traça do milho, determinou que a dose letal foi de 4,75 kGy para adultos dessa espécie de inseto.

No Brasil, o primeiro trabalho com uso de irradiação, visando o controle de pragas foi realizado por Gallo (1960) que irradiou pupas de *Diatraea saccharalis* (F.) e *Ceratitis capitata* (Wied.).

Além disso, a TIE pode agir em sinergia com outras técnicas do manejo integrado de pragas que têm como alvo diferentes fases do ciclo evolutivo de uma espécie praga, (CARPENTER; BLOEM; HOFMEYR, 2004), tais como biopesticidas por exemplo *Bacillus thuringiensis* (Bt), e confusão sexual (SUCKLING; BROCKERHOFF, 2010). Atualmente mais de 300 espécies já foram submetidas para estudos de irradiação visando controle de pragas, desinfestação de mercadorias em quarentena, radioecologia (ARTHUR et al., 2015).

O Brasil, por vários anos, vem lutando contra o aumento de pragas, introduzindo novas táticas e técnicas para driblar a resistência dos produtos químicos, como: diminuir os resíduos dos agrotóxicos; para algumas culturas importantes do o nosso país, temos um largo espectro de pragas ocorrendo do início ao fim da colheita, uma delas é a cultura do algodoeiro. Segundo o departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), nas últimas três safras, com volume médio de 1,7 milhão de toneladas de pluma, o país se coloca entre os cinco maiores produtores mundiais de algodão, ao lado de países como China, Índia, EUA e Paquistão.

O Brasil é o terceiro país exportador de algodão e o primeiro em produtividade em sequeiro. O cenário interno também é promissor: somos o quinto maior consumidor, com quase 1 milhão toneladas/ano (USDA). Atualmente São Paulo se encontra entre os principais estados brasileiros produtores de algodão, sendo eles Mato Grosso do Sul, Bahia, Paraná, Goiás, Minas Gerais e Piauí. No entanto frequentemente são relatados os custos com uso de inseticidas como sendo os mais onerosos para a produção do algodão e dentre as pragas chave dessa cultura, temos algumas lagartas extremamente importantes, entre elas *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera*. Essas espécies são parecidas morfológicamente, sendo a segunda identificada há poucos anos aqui no Brasil, e a separação dessas espécies requer um taxonomista bem treinado, os danos são imensuráveis tanto na cultura do algodoeiro como nas demais culturas de importância agrícola, soma-se a isto ao fato das lagartas da maçã e lagarta-do-velho-mundo ser um alvo de difícil acesso uma vez que, pode ficar longos período dentro da maçã do algodoeiro demandando maiores doses de inseticida que por sua vez, potencial de impacto destes produtos no meio ambiente tem repercutido

negativamente na comunidade científica. Fica clara a necessidade de estabelecer um mecanismo de controle para essas lagartas de forma eficiente sem, contudo causar danos ao meio ambiente.

Ainda não há trabalhos no Brasil utilizando TIE como ferramenta adicional para lepidópteros, portanto objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito de doses de radiação gama nas diferentes fases do ciclo evolutivo de *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera*, bem como avaliar a esterilidade na geração P e a capacidade de competição dos insetos irradiados com os não irradiados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O avanço da tecnologia e o aumento da produtividade permitiram o Brasil a passar de importador para um dos principais exportadores de algodão, tornando uma das mais importantes culturas anuais, devido o seu valor econômico e social, embora, ao longo dos últimos anos este cenário sofreu inúmeras transformações, hoje a cultura ocupa lugar de destaque, batendo recordes em produção, principalmente no cerrado onde se produzem fibras de excelente qualidade, com isso a cultura vêm se aprimorando cada vez mais com técnicas avançadas de plantio, aliadas à utilização de cultivares melhor adaptadas para atender o mercado externo e interno.

Entretanto, as expectativas crescentes, inúmeras vezes são limitadas em decorrência dos problemas fitossanitários com destaque para ocorrência de lagartas da subfamília Heliothinae, que inclui diferentes lagartas destrutivas, como a lagarta da maçã (*Heliothis virescens*) praga chave para a cultura do algodoeiro e a espécie *Helicoverpa armigera* que vêm se destacando por atacar algodão e outras culturas.

A lagarta das maçãs possui potencial destrutivo de botões e maçãs, diminuindo a produtividade. O seu ataque favorece a penetração de microrganismos por meio dos orifícios realizados, causando queda prematura ou má abertura dos capulhos (carimã), afetando a qualidade das fibras (DEGRANDE, 1998).

A lagarta *Helicoverpa armigera*, conhecida em alguns países como “a lagarta do velho mundo”, as vias de ingresso da *Helicoverpa armigera* nas plantas são a parte aérea (flor, folha, gemas, fruto/vagem, estruturas reprodutivas e pontos de crescimento). Os estágios imaturos alimentam-se em todos os estágios de desenvolvimento da planta, danificando todas as estruturas. As larvas atacam ramos, flores e cápsulas da semente (CZEPAK et al., 2013).

Um grupo de especialistas da área de entomologia da Embrapa produziu um documento, considerando diferentes aspectos do manejo integrado de pragas (MIP), que devem ser avaliadas para as condições brasileiras. No caso de controle químico, a alternativa mais adequada para o controle de *H. armigera*, é a adoção de um sistema de monitoramento de pragas e o nível de controle com inseticidas para a tomada de decisões. A contagem direta de ovos e lagartas da primeira etapa (fase) é recomendada na Austrália para a cultura do algodão, com uma frequência de duas vezes por semana, ao início da germinação de plantas e até a 30 ou 40% das plantas estão com os botões ou flores abertas (EMBRAPA, 2013).

Tendo em vista os danos consideráveis que essas duas pragas podem causar, uma das estratégias para redução das populações de insetos, sem contaminação ambiental, é o uso da técnica do inseto estéril (TIE).

Objetiva-se com esse estudo determinar as doses de radiação esterilizantes para a lagarta da maçã e lagarta do velho mundo, bem como estabelecer a melhor fase do ciclo de vida e a melhor proporção de indivíduos estéreis necessários para o controle das lagartas no campo.

2.1. Fundamentação teórica

2.1.1. Técnica do inseto estéril

O interesse pela Técnica do Inseto Estéril - TIE começou aproximadamente entre 1937 e 1938, quando Knipling investigava a mosca varejeira *Cochliomyia hominivorax* (Coq.) uma das pragas de animais mais importantes do sul dos Estados Unidos.

Melvin e Bushland (1936) desenvolveram um método para criar esse inseto em meio artificial, composto principalmente de carne e sangue. Knipling imaginou, então, que a combinação de baixa densidade populacional e a habilidade de criar número elevado de insetos poderia tornar possível a criação e liberação de número suficiente de insetos com alguma deficiência genética, que saturariam a população natural, conseguindo-se, dessa maneira, um controle da praga.

Com esse encorajamento Bushland e Hopkins (1953) demonstraram ao fim de poucos meses que era possível esterilizar completamente ambos os sexos da mosca varejeira, determinando qual era a melhor idade para esterilizar os insetos imediatamente antes da emergência dos adultos e que não causava diminuição importante na longevidade dos insetos estéreis. A maior dificuldade foi demonstrar o grau competitivo dos insetos estéreis nas condições naturais. Eles observaram os efeitos de diferentes doses de radiação gama na emergência, longevidade, fecundidade e fertilidade, quando as pupas das moscas varejeiras foram tratadas com diferentes idades, concluíram que as melhores doses de radiação gama estavam acima de 0.05 krad (50 Gy) e a melhor idade era após 5 dias do desenvolvimento pupal, quando os machos irradiados tiveram uma competitividade para o acasalamento semelhante aos normais.

A técnica do inseto estéril é um método de controle biológico que consiste na libertação de grandes quantidades de insetos inférteis numa região. Os insetos libertados são geralmente machos, já que são as fêmeas que provocam danos, através da postura de ovos nas

colheitas agrícolas ou, no caso dos mosquitos, da alimentação com sangue humano. Os machos tornados estéreis por radiação ionizante competem com os machos em estado selvagem pelas fêmeas. Se uma fêmea acasalar com um macho estéril, não terá descendência, reduzindo assim a população da próxima geração.

2.1.2. *Princípio da técnica do inseto estéril*

Modelos teóricos e simples, mas razoavelmente realísticos de crescimento de populações de insetos foram desenvolvidos para se calcular os efeitos para quando a população cresce naturalmente e quando está suprimida pela liberação de insetos estéreis e na integração de dois métodos de controle. Crescimento normal de uma população apresentado pela maioria dos insetos, bem estabelecidas pode ser representado pelo modelo 1.

Tabela 2.1 – Crescimento teórico de uma população hipotética, não controlada, com uma taxa de crescimento de 500% por geração (Modelo 1)

Geração	Número de insetos/unidade de área
P1	1.000.000
F1	5.000.000
F2	25.000.000
F3	125.000.000*
F4	125.000.000*

*Densidade máxima

Há um ponto em que o crescimento da população cessa, pois todos os indivíduos da população alcançam uma densidade máxima, determinada pelas condições do ecossistema.

A taxa de crescimento para cada população é bastante variável, dependendo de diversos fatores. Em populações recentemente estabelecidas, por exemplo, essa taxa é bastante elevada, até que é alcançado um grau de equilíbrio natural com o ambiente. Embora o conhecimento da taxa de aumento normal seja de importância básica para aplicação da TIE, é bastante difícil a sua determinação, mesmo em ambientes bem controlados. No entanto, na ausência de dados exatos, mesmo estimativas grosseiras podem ser utilizadas com relativo êxito.

Como hipótese de trabalho normalmente se utiliza uma taxa de crescimento igual a 500% por geração. No entanto, para alguns insetos essa taxa pode ser bastante mais baixa, para a mosca tsé-tsé, por exemplo, é 200%. Já para outros insetos essa taxa pode ser igual a 1000% ou mesmo 2000% por geração.

2.2. Crescimento de uma população submetida a método convencional de controle

O conhecimento do crescimento da população em condições naturais possibilita uma estimativa dos efeitos dos diferentes métodos de controle.

Tabela 2.2 - Crescimento de uma população de insetos submetida ao controle por inseticidas, ou meios similares (Modelo 2)

Geração	Densidade populacional
P	1.000.000
F1	500.000
F2	250.000
F3	125.000
F4	62.500
.	.
.	.
F18	0

O nível de mortalidade é de 90% por geração e para os insetos que sobrevivem ao tratamento se admite uma taxa de crescimento igual a 500% por geração. Se 90% da população existente é destruída e os 10% sobreviventes aumentam a uma taxa de 500% por geração, então, em cada geração, a população é reduzida à metade. O nível de controle por meios convencionais varia bastante, dependendo de diversos fatores como: espécie, método utilizado, maneira de aplicação, etc. Algumas vezes o controle obtido é bastante abaixo de 90%, em outras pode chegar a praticamente 100%, se bem que é difícil essa hipótese. Na maioria dos casos são necessárias várias aplicações de inseticidas durante cada geração para ser obtido o grau de controle de 90%.

Qualquer nível de controle razoavelmente elevado, se mantido durante várias gerações, tem um efeito drástico na população do inseto em relação a não tratada, como se pode verificar comparando-se os modelos 1 e 2. Se fosse continuado o cálculo para o modelo 2, o nível zero de população só seria obtido na 18^a geração. Se o controle fosse de 99%,

o nível zero seria obtido na 5^a geração. O ponto mais significativo que se deve notar no modelo anterior, é que a taxa de declínio de 50% para a população, permanece constante em cada geração, independentemente do número de insetos presentes. Em condições naturais, entretanto, a taxa de declínio torna-se menor a cada geração, pois certos fatores que regulam o crescimento da população (competição interespecífica, por exemplo) deixam de funcionar após a aplicação do inseticida.

Em condições naturais, os parasitas e predadores representam um fator vital para manter a taxa de crescimento baixa. Se a maioria dos inimigos naturais for destruída com a aplicação de inseticidas, deve-se esperar uma taxa de crescimento 10 vezes maior para os insetos da população tratada e que sobreviveram. Nesse caso, após alguns tratamentos, a população poderá não demonstrar qualquer declínio. Consideramos nestes modelos que cada tratamento de inseticida requer a mesma dose e tem efeito constante na população total, permanecendo constante à taxa de controle de 90%.

Outro ponto de grande importância que deve ser notado no modelo 2 é que os tratamentos convencionais são bastante eficientes, em termos de número de insetos mortos, quando a população natural é alta, mas são ineficientes quando a população é baixa. Na primeira geração, por exemplo, o tratamento matou 900 mil insetos, mas na 4^a geração somente 56 mil, e nas gerações subsequentes o número de insetos mortos torna-se cada vez menor. Próximo ao ponto de extinção da população é necessário um tratamento sobre uma grande área para matar poucos insetos. Esse fato é típico em programas de controle de pragas que envolvem o uso de inseticidas. Nota-se ainda que para diminuir uma taxa de crescimento igual a 500% por geração, a mortalidade deverá ser de, no mínimo, 80% por geração. Se for menor do que este valor a população aumentará, apesar do tratamento.

2.3. Crescimento de uma população submetida à competição com insetos sexualmente estéreis

Serão considerados agora os efeitos teóricos da competição de insetos estéreis liberados em uma população. Consideraremos o caso em que o número inicial de insetos liberados seja suficiente para iniciar um decréscimo na população natural, como no modelo 3.

Tabela 2.3 - Crescimento de uma população de insetos submetida ao controle por liberações substanciais de insetos estéreis competitivos (Modelo 3)

Geração	Densidade populacional		Proporção Estéril:Fértil	Progênie Esperada
	Ins. férteis	Ins. estéreis		
P	1.000000	9.000.000	9:1	100.000
F1	500.000	9.000.000	18:1	26.316
F2	131.625	9.000.000	68:1	1.910
F3	9.535	9.000.000	942:1	10
F4	50	9.000.000	180.000:1	0

Por esse modelo pode ser notado que liberações de insetos estéreis produzem efeito muito mais drástico quando o tratamento inicial tem 90% de efetividade para evitar a reprodução. A primeira liberação de 9 milhões de insetos estéreis teoricamente tem o mesmo efeito que o tratamento inicial com inseticidas, se esse tratamento reduzir em 90% a população. Entretanto, liberações contínuas de insetos estéreis em número igual o inicial, o que corresponderia à mesma "dose", causam um efeito progressivamente maior na redução da taxa de crescimento de cada geração ao contrário do controle convencional. A TIE é ineficiente quando o número de insetos na população é alto, mas bastante eficiente quando é baixo, justamente o oposto do tratamento com inseticida. Esse fato deve ser aproveitado para se integrar os dois métodos de controle.

2.4. Integração do TIE com outros métodos

O modelo 4 representa o efeito teórico da integração dos dois tratamentos, o de inseticidas e TIE, cada um alcançando 90% de controle efetivo quando feitos sobre a primeira geração. Nas gerações seguintes há somente a liberação de insetos estéreis.

Tabela 2.4 - Crescimento de uma população de insetos controlada durante a 1^a pela combinação da TIE e inseticidas, e depois só pela TIE (Modelo 4)

Geração	População inicial	População original reduzida de 90% por inseticidas	Insetos férteis que sobrevivem	Insetos estéreis liberados	Progénie esperada
P	1 000 000	100 000	100 000	900 000	10 000
F1		--	50 000	900 000	2 632
F2		--	13 160	900 000	189
F3		--	945	900 000	0

Como pode ser observado, o modelo indica o grande potencial da utilização de um programa integrado. Analisando-se os modelos 2, 3 e 4 verifica-se que com o sistema convencional é necessária sua aplicação por 18 gerações para redução da população à zero. Com o uso da TIE é necessária a liberação de 45 milhões de insetos estéreis durante um período de cinco gerações. Combinando-se os dois sistemas em um programa integrado, seria possível a eliminação da população com aplicação do método convencional de controle com inseticida e a liberação de 3,6 milhões insetos estéreis por três gerações. Todos os modelos desenvolvidos são hipotéticos, mas com amplos fundamentos teóricos (SGRILLO et al., 1974).

Segundo a IPPC (FAO, 2005), a TIE é definida como método de controle de pragas usando liberações inundativas de insetos estéreis em grandes áreas visando reduzir a fertilidade de uma população selvagem da mesma espécie (DYCK et al., 2005; MASTRANGELO, 2009). Ou seja, a TIE se baseia na criação massiva da praga em meio artificial, esterilização por radiação e liberação de grandes números de insetos estéreis, para que a cópula com indivíduos selvagens resulte em gerações inviáveis, reduzindo o potencial reprodutivo das populações e, quando feitas liberações constantes, chegar à erradicação da praga (MORELLI, 2008). Para garantir a viabilização de um programa de erradicação de um inseto-praga, a aplicação da TIE deve ser realizada principalmente em regiões onde existe isolamento geográfico, sendo efetiva quando aplicada em grandes áreas, tendo em vista a população total da praga e não em pequenos talhões ou propriedades rurais isoladamente. Barreiras fitossanitárias devem ser realizadas, devido ao risco de reinfestações em regiões sem isolamento (DIAS; GARCIA, 2014). A TIE se viabiliza com o uso prévio de técnicas

adicionais em grandes áreas, como o controle químico e o controle biológico inundativo com parasitoides. Além de viabilizar os programas de erradicação e supressão de pragas, a TIE é uma ferramenta valiosa em procedimentos quarentenários, quando visa estratégias de prevenção, contenção e exclusão de espécies pragas (IMPERATO; RAGA, 2015).

A esterilidade sexual pode ser induzida pela exposição dos insetos aos raios gama, danificando os cromossomos presentes no esperma do adulto. Quando os óvulos das fêmeas selvagens são fertilizados com o esperma de machos irradiados, a divisão celular é interrompida e o embrião morre. Quando um número suficiente de machos estéreis é liberado na natureza por algumas gerações, o sucesso reprodutivo da população selvagem pode ser progressivamente reduzido e/ou extinto. A esterilidade pode ser causada por infecundidade nas fêmeas, aspermia ou inativação espermática dos machos, pela incapacidade de acasalar ou mutação letal dominante (MLD) nas células reprodutivas. A esterilidade devido à mutação letal dominante é o tipo de esterilidade usado com sucesso até agora. Os insetos esterilizados podem ser liberados imediatamente após terem sido tratados, pois a irradiação não deixa resíduos nocivos, podendo até mesmo ser realizada com os insetos já embalados para liberação. Estes insetos estéreis são liberados por aviões, helicópteros ou girocópteros (BAKRI; METHA; LANCE, 2005; MASTRANGELO, 2009; IMPERATO; RAGA, 2015).

As espécies de insetos podem variar na sua sensibilidade para a indução de esterilidade por radiação ionizante; por exemplo, menos do que cinco Gy são necessários para esterilizar um Acrididae (Ortópteros) e uma Blaberidae (Dictyoptera), enquanto doses superiores a 200 Gy são na maioria dos casos necessários para esterilizar pupas ou adulto de Lepidópteros (BAKRI; METHA; LANCE, 2005; BAKRI et al., 2005). Contudo, insetos em geral podem ser divididos em dois grupos, dependendo do tipo de cromossomas que eles possuem. Algumas ordens, tais como Lepidoptera e Hemiptera têm cromossomos holocêntricos (Propriedades do centrômero estão distribuídos sobre a totalidade cromossoma (KUZNETSOVA; PETROPAVLOVSKAIA, 1979), que são muito resistentes à radiação e altas doses de radiação ionizante são necessárias para induzir a esterilidade. No entanto, a maioria das ordens de insetos têm cromossomos monocêntricos e são consideravelmente mais radiosensíveis. As doses elevadas de radiação necessária para esterilizar as Lepidopteras podem reduzir a qualidade e, conseqüentemente, a sua utilidade em programas de campo (VREYSEN; ROBINSON, 2011). Assim, aprimoram-se a técnica do inseto estéril com estratégias visando a melhoria da qualidade em programas de campo, como por exemplo, irradiação de pupas, ou subesterilidade.

A lei da Bergonie e Tribondeau, nos mostra que as células que se dividem são mais radiosensíveis, ou seja, as células que têm um elevado índice mitótico como, por exemplo, as células produtivas que são células mais radiosensíveis (CASARETT, 1968).

A radioindução provoca alterações no DNA de células germinativas dos insetos podendo resultar no comprometimento fisiológico dos gametas, aspermia, infertilidade, e até mesmo incapacidade para acasalar. A esterilização também pode ser um resultado da fragmentação em células germinativas, no caso de cromossomos que geram aleatórios dominantes letais, mutações, translocações, deleções, e outras aberrações, o que levará à produção de gametas desbalanceados e morte zigótica. As células somáticas são mais radioresistentes do que as células germinativas, uma vez que são geralmente células diferenciadas, isso explica porque as doses de radiação letais devem ser mais elevadas do que doses esterilizantes (BAKRI; METHA; LANCE, 2005). A regra de Dyar explica as diferenças de sensibilidade à radiação, pois um inseto é bem mais sensível à radiação do que uma bactéria vírus, protozoários, isso porque no caso dos insetos as células se dividem apenas no processo de muda (HUTCHINSON et al., 1997).

Apesar de algumas dificuldades quando se aplica a técnica do inseto estéril em traças, como a esterilização de alta média em doses (geralmente superior a 100 Gy), estudos radiobiológicos já foram realizados em mais de 30 espécies de lepidópteros (BLOEM; BLOEM; CARPENTER, 2005; CARPENTER; BLOEM; MAREC, 2005).

A esterilização também é explorada por um método de controle genético que se baseia essencialmente na transferência de esperma competitivo de machos irradiados liberados com as fêmeas selvagens (VREYSEN; ROBINSON, 2011).

Atualmente, mais ênfase tem sido colocada sobre a qualidade do inseto estéril, principalmente na instalação de criação. Isto combinado com outras novidades, tais como o desenvolvimento de estirpes genéticas, melhor compreensão do impacto da radiação nas espécies rádio-resistentes, tais como Lepidoptera, desenvolvimento do conceito de esterilidade F1, avanços no controle da esterilidade induzida, etc. Assim, aumentando significativamente a eficiência da técnica de insetos estéreis para várias espécies (VREYSEN; ROBINSON, 2011).

2.5. *A Técnica do Inseto Estéril no Brasil*

No Brasil o trabalho pioneiro com uso de irradiação visando o controle de pragas foi realizado por Gallo (1960) que irradiou pupas de *Diatraea saccharalis* (F.) e *Ceratitis capitata* (Wied.) não obteve resultado porque as doses de radiação não foram suficientes para causar os danos desejados (esterilização). Isso realmente veio a ocorrer nove anos mais tarde quando Wiendl (1969) determinou as doses letais e esterilizantes para todas as fases do ciclo evolutivo do caruncho do feijão *Zabrotes subfasciatus* (Boh.).

Segundo Imperato e Raga (2015), A TIE ainda é uma estratégia pouca explorada no Brasil, possivelmente porque exige instituições públicas e privadas interagindo continuamente com o setor produtivo e a sociedade, viabilizando o aporte de recursos em longo prazo. No entanto, o sucesso dessa técnica em todo o mundo incentiva o incremento dos programas oficiais de manejo e erradicação de pragas em agroecossistemas e comunidades rurais e urbanas.

2.6. *A cultura do algodoeiro*

O algodão é a principal fibra natural utilizada como matéria-prima da indústria têxtil mundial (CLEMENT et al., 2015). Todavia, o produto do algodoeiro também pode ser empregado de diversas formas, além da fabricação de produtos têxteis. O caroço, utilizado de forma *in natura* para alimentação animal cujo mercado cresceu expressivamente na última década, ou esmagado, permitindo a elaboração de subprodutos importantes tais como a torta para ração animal e o óleo utilizado pela indústria de gênero alimentício, de combustíveis, entre outras. Por outro lado, é necessário destacar que a importância do algodão não se resume unicamente nas suas diversas formas de utilização, mas também na geração de divisas. O Brasil exportou, de agosto de 2013 a junho de 2014, ou seja, quase totalidade do período da safra 2013/14, cerca de 141 mil toneladas da pluma, gerando um volume de receita para o país da ordem de US\$ 275 milhões (MOTTA, 2014).

A importação e exportação do algodão envolvem cerca de 170 países sendo que apenas 130 deles cultivam áreas significativas para comercialização. Sua importância econômica é destacada pela área destinada ao seu cultivo em países desenvolvidos que representa cerca de 3% da área agrícola. Embora o destaque agrícola, industrial e geração de divisas do algodão apresentem números impactantes no cenário mundial, outros setores da

economia envolvidos direto ou indiretamente também são impulsionados pela produção de algodão dos quais: geração de emprego, segurança alimentar, manutenção da agricultura familiar (países da Ásia) se relatados (FORTUCCI, 2002).

A melhoria continua no rendimento dos cultivos agrícolas têm sido reportada como mecanismo chave para viabilidade econômica da produção (EVANS, 1993), no caso do algodoeiro as pragas constituem-se um dos fatores limitantes para sua exploração, ao passo que tomadas de decisões que visem aumentar e preservar as populações de inimigos naturais dentro do agroecossistema algodoeiro, são ações promissoras, técnica e ecologicamente viáveis, que poderão resultar em grande economia para os cotonicultores, na melhoria da qualidade do meio ambiente e na redução dos problemas de saúde pública decorrentes do uso indiscriminado de produtos químicos (EMBRAPA, 2003). Neste caso, é imprescindível o conhecimento de todas as pragas potencialmente danosas à cultura, bem como as estratégias para manutenção do seu controle abaixo do nível de dano econômico.

2.7. A lagarta da maçã

Heliothis virescens conhecida no Brasil como lagarta das maçãs e *Tobacco budworm* nos países de língua inglesa, é uma Lepidóptera da família Noctuíde (YÉPEZ et al., 1990). O adulto é uma mariposa que apresenta asas anteriores esverdeadas, com três linhas oblíquas (PAPA, 2006). A longevidade das mariposas é relatada em aproximadamente 25 dias quando em condições ambientais favoráveis e 15 dias a 30° C (CAPINERA, 2001). Caracteriza-se pela alta fecundidade e por consequência, alta capacidade reprodutiva, sendo que a fêmea oviposita de 500 a 800 ovos durante sua vida reprodutiva (estimada em oito a dez dias) (MORETI, 1980). Além da alta taxa oviposição esta ocorre de maneira isolada no ponteiro das plantas o que potencializa o nível de dano (PAPA, 2006).

É praga chave da cultura do algodoeiro (GALLO et al., 2002) e reportada na literatura como a principal pelos danos causados (BLANCO et al., 2006; WILLIAMS, 2008). As lagartas se movimentam no sentido descendente das plantas, destruindo botões florais a partir do ponteiro atingindo flores e maçãs nas partes inferiores (PAPA, 2006). No Brasil esse inseto completa até três gerações em um único ciclo do algodoeiro (DEGRANDE, 1998). Possui ampla distribuição no continente americano (YÉPEZ et al., 1990), seu hábito alimentar (polífago) permite o aumento e a persistência de suas populações, possibilitando que a fêmea encontre com facilidade um hospedeiro capaz de sustentar o desenvolvimento larval (FITZ, 1989), pode utilizar de 14 famílias botânicas das quais 99 espécies de plantas são relatadas

como hospedeiras (WALDVOGEL; GOULD, 1990; BLANCO et al., 2007) com destaque para as cultura de interesse agrícola: algodão, tabaco, tomate, girassol, feijoeiro e soja (FITT, 1989) sendo nesta última as recentes infestações tem provocado danos consideráveis (TOMQUELSKI, 2009).

Todas essas características fazem com que a utilização de inseticidas seja utilizada de forma demasiada na tentativa de controle desta praga (ASHFAQ et al., 2010), o que tem causado danos ambientais e resistência dos insetos (MOHYUDDIN et al., 1997).

Cho et al. (2008) relataram que desde 1980 o uso de piretroides tem sido utilizado no controle da lagarta da maçã que conseqüentemente desenvolveu populações resistentes a moléculas deste grupo químico, efeito já relatado por Luttrell et al. (1987).

Na tentativa de reduzir a aplicação de inseticidas no controle a *H. virescens* algumas estratégias de controle desta lagarta foram reportadas na literatura com destaque para os métodos de controle biológico como uso de parasitas de ovos (ANDRADE et al., 2009) larvas (TILLMAN et al., 2004; YOUNG; YEARIAN, 1990) e nos últimos anos tem se intensificado o uso de variedades de algodões geneticamente modificado que expressam a toxina CRY oriunda de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (BLANCO et al., 2009), contudo, o uso destas técnica bem como controle efetivo da praga nem sempre é observado.

Andrade et al. (2009) estudaram o parasitismo de ovos de *Heliothis virescens* por *Trichogramma* spp. e verificaram que as diferentes cultivares de algodão influenciaram na intensidade do parasitismo.

Tillman et al. (2004) na tentativa utilizar parasitoides para transmissão de Ascovirus para lagartas da maçã observaram ineficiência na utilização dos parasitoides utilizados pela quantidade de carga viral que estes transmitiam de modo que controle efetivo das lagartas só foi observado quando aplicaram artificialmente uma significativa quantidade de vírus que recobria toda a lagarta.

Por fim, o uso de cultivares Bt embora sejam eficientes no controle de muitas pragas, tem sido observado diversas espécies de insetos resistentes a proteína CRY (KRUGER et al., 2009; BAGLA, 2010; DOMINGUES et al., 2012).

Segundo Ferré e Van Rie (2002) *Heliothis virescens* é uma das espécies que tem demonstrado potencial de desenvolver elevados níveis de resistência a toxina Cry1Ac em experiências de seleção de laboratório.

Desse modo, o desenvolvimento de uma técnica que controle de forma efetiva a lagarta da maçã sem, contudo causar danos ao meio ambiente e selecione indivíduos mais resistentes ao longo dos anos se faz necessário para manter a produção de algodão de forma satisfatória e rentável ao produtor.

2.8. A lagarta do velho mundo

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) foi relatada pela primeira vez no Brasil, nos estados de Mato Grosso, Goiás, Bahia e Paraná (CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013; TAY et al., 2013); pouco tempo depois foi registrada no Paraguai (SENAVE, 2013) e Argentina (MURÚA et al., 2014). É uma espécie com ampla distribuição geográfica na Europa, Ásia, África e Oceania (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2006). Pertence ao complexo de lagartas da subfamília Heliiothinae e antes de chegar às Américas era considerada praga quarentenária. Três espécies de lagartas da subfamília Heliiothinae *Heliiothis virescens*, *Helicoverpa zea* e *Helicoverpa armigera*, estão sendo observadas causando danos a varias culturas dentre as quais o algodão merece destaque.

Seus ovos são colocados de forma isolada e preferencialmente à noite sobre talos, folhas, frutos e flores. No primeiro e segundo instares as lagartas são pouco móveis, medindo de 1,4 mm a 4 mm, com a cor variando de branco-amarelada a marrom-avermelhada, com cápsula cefálica que vai de marrom-escura a preta. No quarto instar, a espécie apresenta no primeiro segmento abdominal o formato de “sela”, por causa da presença de tubérculos abdominais escuros e visíveis (CZEPAK; VIVAN; ALBERNAZ, 2013).

Já no sexto instar, pode chegar a 34 mm, com cor que varia de acordo com sua alimentação, predominando do amarelo-palha ao verde com listras marrons na lateral do tórax, abdômen e cabeça. O ciclo completo de seu desenvolvimento é em torno de 30 dias e varia com a alimentação e com as condições climáticas (GUEDES et al., 2013).

A mariposa chega a ovipositar em torno de 1.000 ovos e a eclosão ocorre entre cinco e sete dias após a postura (EPPO, 1981). As mariposas fêmeas de *H. armigera* apresentam asas dianteiras amareladas, enquanto as dos machos são cinza-esverdeadas com uma banda ligeiramente mais escura no terço distal e uma pequena mancha escurecida no centro das asas, em formato de rim.

Outra característica detectável nas lagartas desta espécie diz respeito à textura do seu tegumento, que se apresenta com aspecto levemente coriáceo, diferindo das demais espécies de Heliothinae que ocorrem no Brasil (CZEPAK; VIVAN; ALBERNAZ, 2013).

A lagarta *H. armigera* é considerada uma das principais pragas agrícolas no mundo, e diante da incidência generalizada no Brasil e do risco de perdas causadas pelo seu ataque, verificou-se que as maiores intensidades de danos econômicos causados por lagartas de *H. armigera* estão nas culturas de algodão, milho, soja, feijão, tomate e sorgo podendo se alimentar de folhas e hastes dessas plantas, mas tem preferência pelas estruturas reprodutivas como botões florais, frutos, maçãs, espigas e inflorescências, causando deformações ou podridões nestas estruturas ou até mesmo a sua queda (ÁVILA, 2013).

Na safra 2014/2015 encontramos ataques severos da *Helicoverpa armigera* e o que torna a praga preocupante e severa é o fato de possuir alta mobilidade, polifagia e alta taxa de reprodução outro problema agravante ao manejo da praga tem sido também o desenvolvimento da resistência aos inseticidas, fato já documentado na literatura, especialmente em relação à piretroides sintéticos, embora já haja registro de resistência a outros grupos de compostos, como carbamatos e organofosforados (McCAFFERY, 1998; AHMAD et al., 1995).

Devido a essa situação em momento nenhum no passado se falou tanto do controle biológico em grandes culturas como a soja e milho contra uma praga, o monitoramento e a agilidade na tomada de decisões passou a ser diferencial entre os bem-sucedidos, o sistema agrícola e pragas passaram a ter uma visão mais holística, deixou de lado a praga da cultura e sim a praga do sistema agrícola.

Referências

- ARTHUR, V. **Influencia da temperatura antes e apos a radiação gama em *Zabrotes sulfasciatus* (Boh., 1833) (Coleoptera, Bruchidae)**. 1982. Dissertação (Mestrado) - Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1982.
- AHMAD, M.; MCCAFFERY, A. R. Resistance to insecticides in a Thailand strain of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 81, n. 1, p. 45-48, 1988.
- ANDRADE, G. S.; PRATISSOLI, D.; TORRES J. B.; BARROS, R.; DALVI, L. P.; ZAGO, H. B. Parasitismo de ovos de *Heliothis virescens* por *Trichogramma* spp. pode ser afetado por cultivares de algodão pode ser afetado por cultivares de algodão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 569-573, 2009.
- ASHFAQ, M.; NOOR-UL-ANE, M.; ZIA, K.; NASREEN, A.; HASAN, M. The correlation of abiotic factors and physico-morphic characteristics of (*Bacillus thuringiensis*) Bt transgenic cotton with whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) and jassid, *Amrasca devastans* (Homoptera: Jassidae) populations. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 5, p. 3102-3107, 2010.
- ÁVILA, C. J.; VIVIAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) e nos sistemas de produção agrícolas**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. (Circular Técnica, 23).
- BAGLA, P. Hardy cotton-munching pests are latest blow to GM crops. **Science**, Washington, DC, v. 327, p. 1439, 2010.
- BAKRI, A.; METHA, K.; LANCE, D. R. Sterilizing insects with ionizing radiation. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique**. Principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 233–268.
- BAKRI, A.; HEATHER, J.; HENDRICH, J.; FERRIS, I. Fifty years of radiation biology in entomology: lessons learned from IDIDAS. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 98, p. 1–12, 2005.
- BUSHLAND, R. C.; HOPKINS, D. E. Sterilization of screw-worm flies with X-rays and gamma rays. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 46, p. 648-656, 1953.
- BLANCO, C. A.; SUMERFORD, D.; LÓPEZ JUNIOR, J. D.; HERNÁNDEZ, G. Mating incidence of feral *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) males confined with laboratory-reared females. **Journal of Cotton Science**, Memphis, v. 10, n. 2, p. 105-113, 2006.

BLANCO, C. A.; PERERA, O. P.; BOYKIN, D.; ABEL, C.; GORE, J.; MATTEN, S. R.; RAMÍREZ-SAGAHON, J. C.; TERAÑ-VARGAS, A. P. Monitoring *Bacillus thuringiensis*-susceptibility in insect pests that occur in large geographies: how to get the best information when two countries are involved. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 95, p. 201-207, 2007.

BLANCO, C. A.; GOULD, F.; VEGA-AQUINO, P.; JURATFUENTES, J. L.; PERERA O. P.; ABEL, C. A. Response of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strains to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac incorporated into different insect artificial diets. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 102, n. 4, p. 1599-1606, 2009.

BLOEM, K. A.; BLOEM, S.; CARPENTER, J. E. Impact of moth suppression/eradication pro-grammes using the sterile insect technique or inherited sterility. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 677-700.

CAPINERA, J. L. **Tobacco nudworn *Heliothis virescens* (Fabricius) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)**. Gainesville: Univers, 2001. 7 p. (EENY – 219). Disponível em: <<http://www.edis.ifas.ufl.edu>> Acesso em: 03 fev. 2015.

CARPENTER, J. E.; BLOEM, S.; HOFMEYR, J. H. Acceptability and suitability of eggs of false codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from irradiated parents to parasitism by *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biological Control**, San Diego, v. 30, p. 351-359, 2004.

CARPENTER, J. E.; BLOEM, S.; MAREC, F. Inherited sterility in insects. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 115-146.

CASARETT, A. P. **Radiation biology**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1968.

CHO, A. J.; PARK, B. S.; LIM, A. C.; PARK, C. Y. C.; HUR, D. J. H.; HONG, E. S.; BROWN, F. T. M.; CHO, A. S. Kdr allelic variation in a sodium channel gene from a population of South Carolina *Heliothis virescens* (Fabricius). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Suwon, South Korea, v. 11, p. 117–121, 2008.

CLEMENT, J. D.; CONSTABLE, G. A.; STILLER, W. N.; LIU, S. M. Early generation selection strategies for breeding better combinations of cotton yield and fibre quality. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 172, p. 145–152, 2015.

CZEPAK, C.; VIVAN, L. M.; ALBERNAZ, K. C. Praga da vez. **Grandes Culturas - Cultivar**, Pelotas, v. 15, n. 167, p. 20-27, 2013.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, p. 110-113, 2013. DOI: 10.1590/S1983-40632013000100015.

DEGRANDE, P. E. **Guia prático de controle das pragas do algodoeiro**. Dourados: UFMS, 1998. 60 p.

DIAS, N. P.; GARCIA, F. R. M. Fundamentos da técnica do inseto estéril (TIE) para o controle de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae). **O Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 58-62, 2014.

DOMINGUES, A.; SILVA-BRANDÃO, K. L.; ABREU, A. G.; PERERA, O. P.; BLANCO, C. A.; CÔNSOLI, F. L.; OMOTO, C. Genetic structure and gene flow among Brazilian populations of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 105, n. 6, p. 2136-2146, 2012.

DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. **Sterile insect technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. 787 p.

EMBRAPA. **Algodão**: cultura do algodão no cerrado. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2003.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION - EPPO. **Data sheets on quarantine organisms** n° 110: *Helicoverpa armigera*. Paris: EPPO, 1981. (Bulletin, 11).

EVANS, L. T. **Crop evolution, adaptation and yield**. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.

FAO. **Glossary of phytosanitary terms**. Provisional additions. Rome: FAO/IPPC, 2005.

FERRÉ, J.; VAN RIE J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 501-533, 2002.

FITT, G. P. The agroecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, p. 17-52, 1989.

FORTUCCI, P. The contribution of cotton to economy and food security in developing countries. In: CONFERENCE ON COTTON AND GLOBAL TRADE NEGOTIATIONS, 2002, Washington, DC. Washington, DC: International Cotton Advisory Committee, 2002. Disponível em: http://www.icac.org/icac/meetings/cgtn_conf/documents/11_fortucci.pdf.

GALLO, D. Radioisótopos no controle de pragas. **O Solo**, Piracicaba, v. 7, p. 30-31, 1960.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BASTISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMINI, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

HUNTER, W. D. Results of experiments to determine the effects of roentgen ray upon insects. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 5, p. 188-193, 1912.

KLASSEN, W.; CURTIS C. F. History of the sterile insect technique. In: DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique**. Principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 3-36.

KRUGER, M. J.; VAN RENSBURG, J. B. J.; VAN DEN BERG, J. Perspective on the development of stem borer resistance to Bt maize and refuge compliance at the Vaalharts irrigation scheme in South Africa. **Crop Protection**, Guildford, v. 28, p. 684–689, 2009.

KUZNETSOVA, V. G.; PETROPAVLOVSKAIA M. B. Behaviour of holokinetic chromosomes in the spermatogenesis of bugs. **Tsitologiia**, Moscow, v. 18, p. 702–711, 1976.

IMPERATO, R.; RAGA, A. **Técnica do Inseto Estéril**. Campinas: Instituto Biológico, 2015. 16 p. (Documento Técnico, 18). Disponível em: http://www.biológico.agricultura.sp.gov.br/docs/dt/DT_tecnica_inseto_esteril.pdf.

KNIPLING, E. F. **The potential role of the sterility method for insect population control with special reference to combining this method with conventional methods**. Washington, DC: USDA, ARS, 1964. 54 p.

KNIPLING, E. F. Suppression of pest Lepidoptera by releasing partially sterile males: a theoretical appraisal. **Bioscience**, Washington, DC, v. 20, p. 465-470, 1970.

KRAFSUR, E. S. The sterile insect technique for suppressing and eradicating insect population: 55 years and counting. **Journal of Agricultural Entomology**, Clemson, v. 15, p. 303-317, 1998.

LUTTRELL, R. G.; ROUSH A. R. T.; ALI, J. S.; MINK, M. R.; REID; SNODGRASS G. L. Pyrethroid resistance in field populations of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Mississippi in 1986. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 80, p. 985-989, 1987.

MCCAFFERY, A. R. Resistance to insecticides in heliothine Lepidoptera: a global view. **Proceedings of the Royal Society of London B**, London, v. 353, p. 1735-1750, 1998.

MASTRANGELO, T.; PARKER, A. G.; JESSUP, A.; PEREIRA, R.; OROZCO-DAVILA, D.; ISLAM, A.; DAMMALAGE, T.; WALDER, J. M. M. A new generation of x ray irradiators for insect sterilization. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 103, p. 85-94, 2010.

MELVIN, R.; BUSCHLAND, R. C. **A method of rearing *Cochliomyia americana* C. and P. on artificial media**. Washington, DC: USDA, Bureau of Entomology and Plant Quarantine, 1936.

MORELLI DE ANDRADE, R. **Influência da recópula de fêmeas selvagens de *Ceratitis capitata* (Wied., 1824) (Diptera: Tephritidae) na eficiência da técnica do inseto estéril**. 2008. 57 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MOHYUDDIN, A. I.; JILLANI, G.; KHAN, A. G.; HAMZA, A.; AHMAD, I.; MAHMOOD, Z. Integrated pest management of major cotton pests by conservation, redistribution and augmentation of natural enemies. **Pakistan Journal of Zoology**, Lahore, v. 29, n. 3, p. 293-298, 1997.

MOTTA, F. G. Algodão. **Perspectivas para a Agropecuária**, Brasília, v. 2, p. 11-24, 2014.

MURÚA, M. G.; SCALORA, F. S.; NAVARRO, F. R.; CAZADO, L. E.; CASMUZ, A.; VILLAGRÁN, M. E.; LOBOS, E.; GASTAMINZA, G. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 97, p. 854-856, 2014.

PAPA, G. Pragas e seu controle. In: ALGODÃO: pesquisas e resultados para o campo. Cuiabá: FACUAL, 2006. p. 206-239.

HUTCHINSON, J. M. C.; MCNAMARA, J. M.; HOUSTON, A. I.; VOLLRATH, F. Dyar's rule and the investment principle: optimal moulting strategies if feeding rate is size dependent and growth is discontinuous. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 352, p. 113–138, 1997.

KUZNETSOVA, V. G.; PETROPAVLOVSKAIA M. B. Behaviour of holokinetic chromosomes in the spermatogenesis of bugs. **Tsitologiia**, Moscow, v. 18, p. 702–711, 1976.

RUNNER, G.A. Effect of roentgen rays on the tobacco or cigarette-beetle and the results of new form of Roentgen Tube. **Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 6, n. 11, p. 383-388, 1916.

SERVICIO NACIONAL DE CALIDAD Y SANIDAD VEGETAL Y DE SEMILLAS – SENA. **SENAVE en alerta tras ingreso de peligrosa plaga agrícola**. Asunción: ABC Color, 2013. Disponível em: <http://www.abc.com.py/edicion-impresa/economia/senave-en-alerta-tras-ingreso-de-peligrosa-plaga-agricola-629240.html>. Acesso em: 06 nov. 2015.

SGRILLO, R. B.; WIENDL, F. M.; PACHECO, J. M.; WALDER, J. M. M.; DOMARCO, R. E. **A Técnica do Macho Estéril**. Piracicaba: CENA/USP, 1974. 25 p.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; PAULA-MORAES, S. V. de; YANO, S. A. C. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, p. 689-692, 2013.

SUCKLING, D. M.; BROCKERHOFF, E. G. Invasion biology, ecology, and management of the light brown apple moth (Tortricidae). **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 55, p. 285-306, 2010.

TOMQUELSKI, G. V.; MARUYAMA, L.C.T. Lagarta da maçã em soja. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 117, p. 20-22, 2009.

VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S. Ionising radiation and area-wide management of insect pests to promote sustainable agriculture. **Agronomy for Sustainable Agriculture**, Heidelberg, v. 31, p. 233–250, 2011.

WALDER, J. M. M.; COSTA, M. L. Z.; MASTRANGELO, T. A. Produção massal do parasitoide *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico. In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Editora UFLA, 2009. p. 221-235.

WALDVOGEL, M.; GOULD, F. Variation in oviposition preference of *Heliothis virescens* in relation to macroevolutionary patterns of heliothine host range. **Evolution**, Lawrence, v. 44, p. 1326-1337, 1990.

WILLIAMS, M. R. Cotton insect losses – 2007. In: BELTWIDE COTTON CONFERENCE, 2008, Nashville, TN. **Proceedings...** Nashville, TN: National Cotton Council, 2008. p. 927-979.

WILKE, A. B. B.; GOMES, A. C.; NATAL, D.; MARELLI, M. T. Control of vector populations using genetically modified mosquitoes. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 43, p. 869-870, 2009.

WIENDL, F. M. **Alguns usos e efeitos das radiações gama em *Zabrotes subfasciatus* (Boh. 1833) (Col., Bruchidae)**. 1969. 205 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1969.

TAY, W. T.; SORIA, M. F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G. T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave New World for an Old World pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **PlosOne**, San Francisco, v. 8, p. 1-7, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0080134.

TILLMAN, P. G.; STYER, E. L.; HAMM, J. J. Transmission of Ascovirus from *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) by Three Parasitoids and Effects of Virus on Survival of Parasitoid *Cardiochiles nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae). **Environmental Entomology**, College Park, v. 33, n. 3, p. 633-642, 2004.

YÉPEZ, F. F.; CLAVIJO, J.; ROMERO, I. Especies del complejo *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Lepidoptera: Noctuidae) y sus plantas hospederas en Venezuela. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracay, v. 16, n. 1, p. 169-175, 1990.

3. Efeitos da radiação gama para todas as fases do ciclo evolutivo de *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera* visando o seu controle

Resumo

Com o objetivo de estabelecer doses de radiação esterilizante para as fases do ciclo evolutivo do inseto para alcançar a esterilidade foram realizados quatro experimentos com de aplicações da radiação gama proveniente de uma fonte de Cobalto-60. Para cada experimento uma das fases do inseto foi submetida aos tratamentos com radiação (ovos, larvas, crisálidas e adultos). Os tratamentos constituíram de doses de radiação variando de acordo com a fase do inseto, ou seja de (0 e 400 Gy). Os experimentos nas fases de crisálidas e adultos apresentaram resultados doses satisfatórios na de esterilidade de ambas as espécies tanto para *Heliothis virescens* quanto para e *Helicoverpa armigera* para uso em programas de controle autocida. Sendo no primeiro experimento, na fase adulta, a dose foi de 350 Gy e na fase de pupa 75 Gy para *Heliothis virescens*. Já para *Helicoverpa armigera* a dose de 400 Gy foi para adultos e a de 100 Gy para pupa respectivamente, sendo as melhores doses para aplicação da técnica do inseto estéril.

Palavras-chave: controle autocida; lagarta da maçã; algodão; lagarta do velho mundo.

Abstract

In order to establish doses of sterilizing radiation for the phases of the evolutionary cycle of the insect to achieve sterility, four experiments were carried out on the application of gamma radiation from a Cobalt-60 source. For each experiment, one of the phases of the insect was submitted to radiation treatments (eggs, larvae, pupae and adults). The treatments consisted of radiation doses varying according to the insect phase that is (0 and 400 Gy). Experiments in the chrysalis and adult phases showed satisfactory results in the sterility of both species for both *Heliothis virescens* and *Helicoverpa armigera* for use in autocide control programs. Being in the first experiment involving Sendo that for the adult phase the dose was of 350 Gy and in the pupate phase 75 Gy for *Heliothis virescens*. For *Helicoverpa armigera* the dose of 400 Gy was for adults and that of 100 Gy for pupae respectively, being the best doses for the application of the sterile insect technique.

Keywords: autocide control; bollworm; cotton; old world caterpillar.

3.1. Introdução

Algumas espécies de lepidópteras são responsáveis pelos maiores danos causados às culturas dos gêneros alimentício e fibrosa no mundo todo (PETERS, 1988; BLOEM; BLOEM; CARPENTER, 2005). Por esse motivo são alvos de quantidades significativas de inseticidas de largo espectro, prejudicando o controle integrado das pragas e por consequência o meio ambiente. O impacto econômico dessas pragas e suas técnicas atuais de controle incluem a perda de rendimento, acesso reduzido ao mercado e aumento do custo (BRADER, 1979; KLASSEN, 2000; BLOEM; BLOEM; CARPENTER, 2005; PIMENTEL, 2007; NAY; PERRING, 2008).

Com hábito polífago e registro de 99 espécies hospedeiras em 14 famílias botânicas (WALDVOGEL; GOULD, 1990; BLANCO et al., 2007) a lagarta da maçã (*Heliothis virescens* Lepidoptera: Noctuide) é uma das pragas chave do algodoeiro (GALLO et al., 2002) e considerada a mais agressiva pelo seu potencial de dano a cultura (BLANCO et al., 2009; WILLIAMS, 2008), na qual é reportada que 5% de infestação podem causar perdas da ordem de 25% da produção (PAPA, 2006). Por consequência inúmeras aplicações de inseticidas são realizadas na tentativa de controle da *H. virescens* na cultura do algodão, essa prática tem resultado na resistência de alguns agroquímicos que são usados no controle da lagarta (ASHFAQ et al., 2010; CHO et al., 2008; MOHYUDDIN et al., 1997). Este cenário, combinada a eliminação de alguns grupos químicos de inseticidas do mercado, a substituição por produtos mais caros e o crescente apelo ambiental pela restrição no uso de inseticidas tem tornado essa prática insustentável (HENDRICKS; PEREIRA, 2013).

Com várias características similares a lagarta da maçã, temos a ocorrência de outra praga importante na qual foi registrada sua primeira ocorrência no Brasil, trata-se da *Helicoverpa armigera* ou lagarta do velho mundo que também é uma espécie extremamente polífaga, cujas larvas já foram registradas em mais de 60 espécies de plantas cultivadas e silvestres com cerca de 67 famílias hospedeiras, incluindo Asteraceae, Fabaceae, Malvaceae, Poaceae e Solanaceae (FITT, 1989; POGUE, 2004). Além disto, se dispersa com facilidade, pois os adultos são migrantes naturais e apresentam movimento de longo alcance, podendo chegar a 1.000 km de distância e possuindo uma alta fecundidade, chegando a ovipositar 1.500 ovos por fêmea (PEDGLEY, 1985).

Devido a todos os seus aspectos biológicos e fisiológicos que favorecem sua resistência ao controle químico, os agricultores do Brasil começam a aderir com mais facilidade aos controles alternativos e o manejo integrado de pragas. Como por exemplo, uso

de cultivares que reduzam a população da praga; determinação da época de plantio e restrição de cultivos subsequentes; uso de controle biológico; utilização de armadilhas iscas e outros métodos de controle físico, vazio sanitário, adoção de áreas de refúgio no plantio, rotação de cultura, destruição de plantas voluntárias e restos culturais.

Apesar de todas as informações e recursos atuais sobre técnicas e táticas para um manejo sustentável na agricultura, ainda é alarmante a quantidade de produtos químicos de ação praguicida, que são continuamente lançados no mercado e tendo em vista que as espécies de lepidópteros estão entre as pragas mais prejudiciais dos alimentos e fibras em todo o mundo, muitas vezes o manejo chega ser imprudente com grandes quantidades de pulverizações de culturas com inseticidas frequentemente persistentes.

Considerando então o aumento da ocorrência de resistência a esses inseticidas, e os impactos negativos sobre o ambiente e os ecossistemas, a necessidade de táticas de controle que não sejam apenas eficazes, mas também menos poluentes ao meio ambiente estão se tornando cada vez mais presentes. Tanto a técnica do inseto estéril (TIE), quanto à esterilidade herdada (EH) oferecem um grande potencial como táticas de controle adicionais para a integração com outros métodos de controle na gestão de toda a área integrada de pragas (VREYSEN et al., 2016).

3.1.1. Emprego da técnica do inseto estéril

A Técnica do Inseto Esteril - TIE (*Sterile Insect Technique* - SIT) é considerada um tipo de controle autocida ou genético, onde a praga é empregada para seu próprio controle. O uso de insetos estéreis para controlar ou erradicar uma população de inseto, foi uma iniciativa revolucionária na entomologia moderna. A introdução dessa técnica no controle de pragas contribuiu para o desenvolvimento e até mesmo a criação de novas áreas entomológicas, tais como a de criação de insetos em meios artificiais (criação massal), ecologia e simulação populacional, controle de qualidade, dentre outras (GALLO et al., 2002). A técnica ainda apresenta muitas vantagens, incluindo a especificidade de espécie e compatibilidade com outras táticas de controle, dentre eles controle biológico, controle cultural (DYCK et al., 2005).

A TIE consiste na criação, em grande escala, do inseto-praga que se deseja controlar e na liberação semanal desses insetos esterilizados no campo. Os insetos estéreis copulam com os selvagens, mas não geram descendentes. Um dos meios de se aumentar a eficiência da TIE é a liberação de uma população nove a cem vezes maiores de machos estéreis em relação à

população selvagem presente no campo pois aumenta a probabilidade das fêmeas selvagens serem copuladas pelos machos estéreis (KNIPLING, 1955). Pois a eficácia desta técnica depende do equilíbrio da esterilidade e a competitividade (PARKER; MEHTA, 2007).

Estudos sobre radiobiologia de insetos Lepidoptera tem demonstrado que esta ordem é mais resistente à radiação necessitando de doses mais elevadas se comparadas a ordens de insetos consideradas sensíveis (BARKER et al., 2005). A dose utilizada para induzir a esterilidade é de importância primordial em programas envolvendo a liberação de insetos estéreis (ROBINSON et al., 2002).

Dada a necessidade de se obter um método eficiente no controle à lagarta da maçã e lagarta do velho mundo de forma ambientalmente correta, o potencial uso da TIE para esse fim e a falta de estudos específicos, objetivou-se com este trabalho estabelecer doses de radiação que causem a esterilidade de *H. virescens* e *H. armigera* bem como a fase mais susceptível (ovo, larva, crisálida e adulto) do inseto para submetê-lo a radiação gama.

3.2. Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Departamento de Entomologia e Acarologia na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), e os insetos foram irradiados no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), ambos no município de Piracicaba – SP, localizado a 22°43’12”S e 47°38’54”O, com 580 m de altitude.

A criação inicial de *H. virescens* e *H. armigera* foram estabelecidas por insetos do Laboratório de Biologia de Insetos, foram mantidas em dieta artificial a base de feijão e germe de trigo, seguindo as recomendações de Parra (1991) e desenvolvidas em sala climatizada a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

3.2.1. Descrição do experimento

Para atingir os objetivos estabelecidos, foi iniciada uma criação de lagartas da maçã e lagartas do velho mundo, a base de dieta artificial. A criação foi utilizada para determinar as doses esterilizantes dos adultos de ambos os sexos.

O trabalho foi dividido em vários bioensaios cada um com suas particularidades e por isso, separados, para melhor compreensão da metodologia aplicada e resultados obtidos.

3.2.2. Obtenção de material biológico

As lagartas de *Heliothis virescens* utilizadas neste trabalho, procederam de uma criação já existente do Laboratório de Controle Biológico do Departamento de Entomologia e Acarologia. As lagartas de *Helicoverpa armigera* utilizadas neste trabalho foi iniciada no Laboratório de Controle Biológico do Departamento de Entomologia e Acarologia assim que iniciamos a pesquisa.

3.2.3. Procedimentos de irradiação

O primeiro passo foi testar as doses com uma *pré-seleção* onde foram usadas várias (doses) concentrações em cada fase do inseto.

Na experiência preliminar para identificar o intervalo de dose apropriado, larvas e pupas de 5 a 6 dias de idade receberam 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500. Em dose de 200 Gy e acima, todas as larvas e pupas morreram de ambas as espécies. Portanto, foram selecionados seis doses abaixo de 200 Gy.

Para adultos, seguimos o mesmo procedimento e neste caso na dosagem de 500 Gy todos morreram, por isso foram selecionadas doses abaixo de 500 Gy para ambas as espécies.

Em seguida para se estimar uma dose ótima, foram avaliadas as correlações entre as doses, a fertilidade e a competitividade, ou seja, cruzamentos de machos irradiados com fêmeas normais.

Foram também realizados testes para estudos dos efeitos radiobiológicos nas fases do ciclo evolutivo das duas espécies (ovo, larva, pupa e adulto).

3.2.4. Bioensaio com ovos para *H. virescens* e *H. armigera*

Para irradiação, os ovos foram colocados em placas de Petri, sobre o papel filtro. As doses de radiação gama empregadas foram: 0 (controle), 25, 50, 75, 100, 125, 150 Gy, constando em cada dose, aproximadamente 200 ovos e 4 repetições, com aproximadamente 800 ovos por dose (ARTHUR, 1985).

Para a determinação da dose letal de radiação gama, foi realizada a contagem sob um Microscópio estereoscópico (lupa binocular), cinco dias após a oviposição, quando já se consegue distinguir os ovos férteis e inférteis, através do número de ovos que apresentavam o cório aberto, indicando a ocorrência da eclosão de larvas.

A determinação da dose letal foi realizada pela contagem das lagartas eclodidas. A verificação da dose esterilizante foi realizada por meio da geração F1 proveniente de adultos emergidos de ovos irradiados acasalados com adultos normais (macho irradiado x fêmea normal ou vice-versa), o delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com quatro repetições. Os dados dos tratamentos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5 % de probabilidade.

3.2.5. Bioensaios com lagartas e crisálidas para *Heliothis virescens*

Para os ensaios com lagartas e crisálidas da lagarta da maçã, foi utilizada a técnica descrita por Brower (1976); Arthur (1985); Silva et al. (2007); Hallman (2012) adaptada, utilizando vidros de 3,5 cm de altura por 3,5 cm de diâmetro, com tampas plásticas perfuradas, as doses de radiação gama utilizadas foram as seguintes: 0 (controle), 50, 100, 150, 175, 200, 250, 300 Gy. Após a irradiação, essas lagartas e crisálidas foram mantidas em Câmaras incubadoras (BOD's) até a emergência de adultos. Esses adultos foram transferidos para gaiolas constituídas de tubo de PVC e cobertas com tecido voil, para que realizem as posturas, que foram coletadas e após eclosão das lagartas foram transferidas para tubos de vidro contendo dieta artificial, onde se aguardou o desenvolvimento até a emergência dos adultos da geração F1 (Figura 3.1). O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com cinco repetições. Os dados dos tratamentos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5 % de probabilidade.

3.2.6. Bioensaios com lagartas e crisálidas de *Helicoverpa armigera*

Após os resultados obtidos com os experimentos anteriores com as lagartas e pupas de *Heliothis virescens*, foi iniciado o ensaio com lagartas e crisalidas de *Helicoverpa armigera* e então foi adaptado o método de criação por se tratar de uma lagarta mais voraz, também devido à situação climática, portanto para evitar o surgimento de fungos na dieta artificial, utilizamos copos de café descartáveis e tampa de vidro para evitar a fuga dos insetos (Figura 3.2). As doses de radiação gama utilizadas foram as seguintes: 0 (controle), 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300 Gy.

Quando as lagartas e pupas atingiram a fase adulta, foram transferidos para gaiolas constituídas de tubo de PVC e cobertas com tecido voil, para que realizassem as posturas, que foram coletadas e após a eclosão das lagartas e posteriormente transferidas para tubos de vidro contendo dieta artificial, onde se aguardou o desenvolvimento até a emergência dos adultos da geração F1.

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com cinco repetições. Os dados dos tratamentos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5 % de probabilidade.

3.2.7. Bioensaios com adultos para *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera*

Para a realização deste ensaio utilizaram-se primeiramente adultos de 24 horas de *Heliothis virescens*, provenientes da criação mantida em laboratório. Foram utilizados para cada repetição 10 insetos adultos, acondicionados em gaiolas. Para a irradiação foram utilizadas as seguintes doses: 0 (test.), 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400 Gy. Após a irradiação foi mantidos juntos a criação massal. Para ensaios de cruzamentos de machos irradiados com fêmeas normais, foram utilizados machos e fêmeas virgens com idade máxima de 24 horas. Durante a irradiação os insetos foram acoplados em tubos de vidro de 7,5 cm de diâmetro por 15 cm de altura. Logo após foram colocados com o sexo oposto num total de 5 casais por tratamento, com folhas de papel sulfite, para que efetuem a oviposição. Contabilizou-se a mortalidade dos adultos a cada três dias e as folhas com ovos foram removidas para placas de Petri contendo dieta artificial. Posteriormente foi realizada a contagem dos ovos viáveis, inviáveis e emergência da geração F1. Isso foi realizado para se determinar a dose esterilizante do inseto praga. Após a determinação da dose esterilizante para machos foi realizado o teste de atração dos insetos, com cruzamentos em diferentes proporções de insetos irradiados (estéreis) e normais para se determinar se estava ou não ocorrendo acasalamento, avaliando-se então a eclosão das lagartas.

Baseando no bioensaio para adultos de *Heliothis virescens*, conduziu-se o bioensaio para adultos de *Helicoverpa armigera*, portanto as mesmas doses utilizadas no experimento anterior foram aplicadas nessa lagarta: 0 (test.), 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400Gy.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância. Nos casos em que o teste F for significativo a 1 ou 5% de probabilidade, foi aplicado teste de médias a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT.

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Efeitos da radiação gama em ovos para *Heliothis virescens*

É apresentada na Figura 3.1 e na Tabela 3.1, a viabilidade dos ovos de *H. virescens* irradiados com doses crescentes de radiação gama: 25, 50, 75, 100, e 150 Gy. Pelos resultados desse gráfico podemos observar que nos tratamentos com a dose de até 25 Gy houve eclosão de lagartas, a partir dessa dose já não ocorreu a eclosão de lagartas, portanto a dose de 50 Gy foi a letal para os ovos. Para melhor elucidar esse resultado da dose letal para ovos é apresentada a Figura 3.1, onde podemos observar que a mortalidade foi total dos ovos irradiados com 50 Gy. Estando esses resultados de acordo com os de Silva et al. (2006) que verificaram que uma dose de 50 Gy para ovos de *S. catenifer* foi suficiente para induzir uma mortalidade de 100% dos ovos irradiados e com os de Arthur (1985) quando irradiou ovos de *Sitotroga cerealella* e concluiu que uma dose de 125 Gy foi letal para os ovos e com os de Di Piero (2016) quando irradiou ovos de *Ecdytolopha aurantiana* e concluiu que a dose de 50 Gy foi letal para os ovos dessa espécie. Os resultados ficam mais claros na Figura 3.2, onde mostra toda a postura inviável quando irradiados com a dose de 75 Gy.

Figura 3.1 - Viabilidade dos ovos de *H. virescens* irradiados com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60

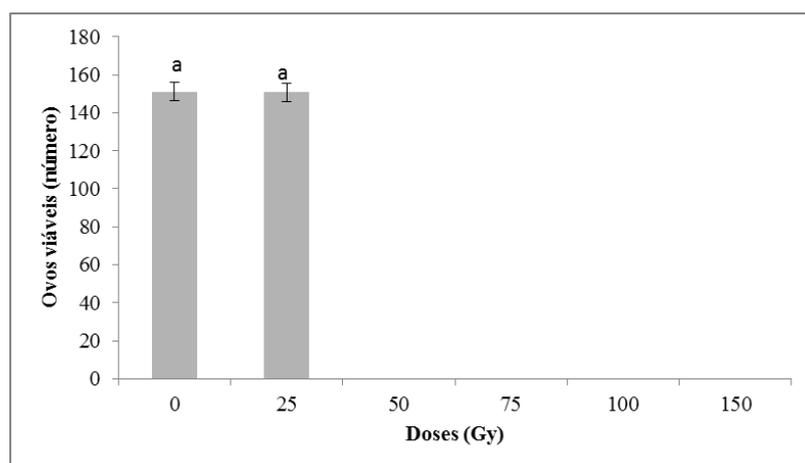


Tabela 3.1 - Viabilidade dos ovos irradiados de *Heliothis virecens* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy) de radiação Gama	Média de ovos viáveis
0	151 a* ± 4,81**
25	150,75 a ± 4,65
50	0 b
75	0 b
100	0 b
150	0 b
<i>F</i>	65
<i>P</i>	<0.001

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.

**± desvio padrão

Figura 3.2 - Ovos de *Heliothis virecens* irradiados com a dose de 75 Gy



3.3.2. Efeitos da radiação gama em ovos para *Helicoverpa armigera*

Constam na Figura 3.3 e na Tabela 3.2, a viabilidade dos ovos de *Helicoverpa armigera* irradiados com doses crescentes de radiação gama: 0 (controle), 25, 50, 75, 100, 125, 150 Gy. Pelos resultados desse gráfico podemos observar que a partir da dose de 50 Gy não houve mais eclosão de lagartas, portanto a dose letal para ovos foi a de 75 Gy. Nas doses menores de 75 Gy, os ovos irradiados apresentavam a cabeça das lagartas formadas, e as lagartas eclodidas não conseguiam se desenvolver, portanto não chegavam até o primeiro e segundo instar e morriam antes dos referidos instares. Na Figura 3.4 pode-se observar os ovos

mortos irradiado com a dose de 75 Gy que foi a letal. Estando esses resultados de acordo com os de Silva et al. (2006) que verificaram que uma dose de 50 Gy para ovos de *S. catenifer* foi suficiente para induzir uma mortalidade de 100% dos ovos irradiados e com os de Arthur (1985) quando irradiou ovos de *Sitotroga cerealella* concluiu que uma dose de 125 Gy foi letal para os ovos, e com os de Di Piero (2016) quando irradiou ovos de *Ecdytolopha aurantiana* e concluiu que a dose de 50 Gy foi letal para os ovos dessa espécie.

Figura 3.3 - Viabilidade dos ovos de *Helicoverpa armigera* irradiados com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60

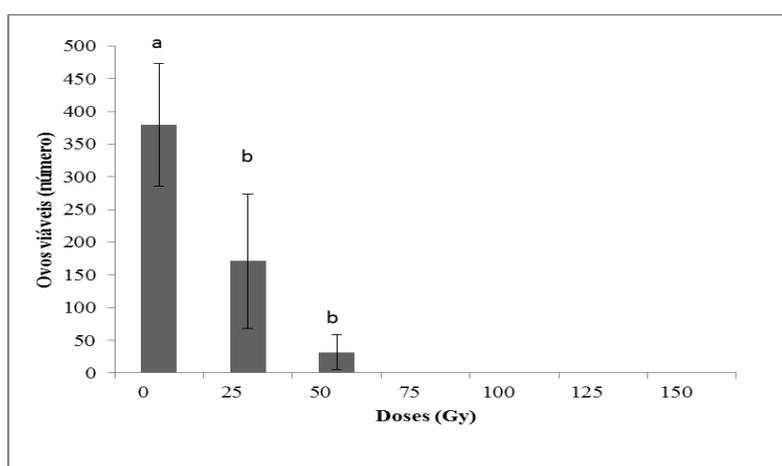


Tabela 3.2 - Viabilidade dos ovos irradiados de *Helicoverpa armigera* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy) de radiação Gama	Média de ovos viáveis
0	398,75 a* ± 187,63**
25	174,25 b ± 205,19
50	29,25 b ± 53,40
75	0 b
100	0 b
150	0 b
<i>F</i>	12,95
<i>P</i>	<0.001

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey. **± desvio padrão

Figura 3.4 - Ovos de *Helicoverpa armigera* irradiados com a dose de 75 Gy



3.3.3. Efeitos da radiação gama em lagartas de *Heliothis virescens*

Constam na Figura 3.5 e na Tabela 3.3 os adultos emergidos de lagartas de *H. virescens* irradiadas com doses crescentes de radiação gama: (50, 100, 150, 175, 200, 250 e 300 Gy). Pelos resultados dessas figuras podemos observar que em todas as doses de radiação gama aplicadas nas lagartas de *H. virescens*, induziram anormalidades. Estas apresentaram alterações morfológicas, atraso no desenvolvimento, movimentos lentos e mortalidade precoce. Foram também detectadas imperfeições na formação e atraso no desenvolvimento da pupa na dose de 150 Gy como podemos observar na Figura 3.6, já no controle o desenvolvimento do estágio de pupa foi normal. Cinco dias após a irradiação observou-se larvas mortas nas doses 150, 200, 250 e 300 Gy. Após 1 semana a partir da dose de 100 Gy não houve mais sobrevivência de lagartas, portanto sendo a dose de 150 Gy foi a letal para as lagartas. Estando esses resultados de acordo com os de Silva et al. (2006) que verificaram que doses de 66,3 e 125,8 Gy foram suficientes para induzirem a dose letal em larvas de *S. catenifer*. E com os de Groppo (1996) que concluiu que, a dose letal de radiação gama para ovos de *Scrobipalpuloides absoluta*, foi a de 70 Gy. E com os de Di Piero (2016) que obteve uma dose de 150 Gy para matar 100% as larvas de *Ecdytolopha aurantiana*.

Figura 3.5 - Adultos emergidos provenientes de lagartas de *H. virescens* irradiados com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60

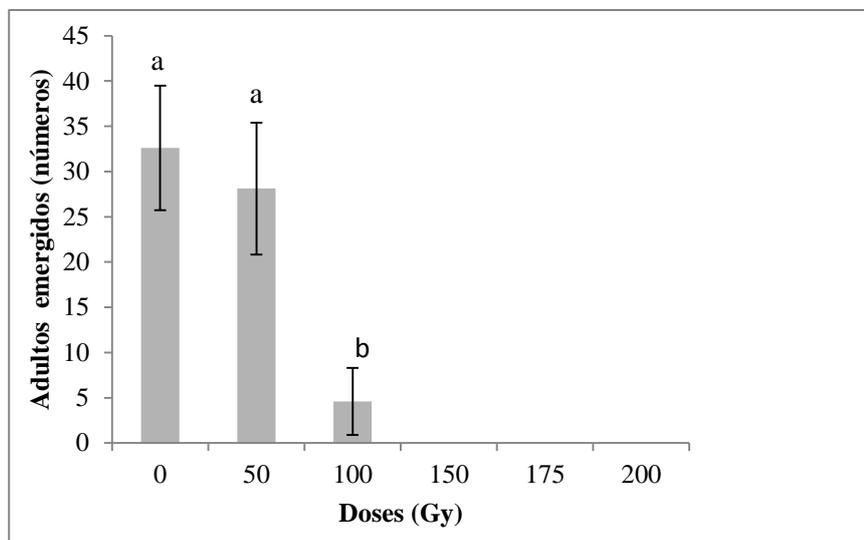


Tabela 3.3 - Emergência de adultos provenientes de lagartas irradiadas de *Heliothis virescens* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy) de radiação Gama	Média de Emergência	Média/F1
0	32,6 a ± 6,8	139,1
50	28,1 a ± 7,2	91
100	4,6 b ± 3,7	0,25
150	0	0
175	0	0
200	0	0
<i>F</i>	75	
<i>P</i>	<0.001	

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey. **± desvio padrão

Figura 3.6 - Lagartas irradiadas de *Heliothis virescens* com dose de 150 Gy



3.3.4. Efeitos da radiação gama em lagartas de *H. armigera*

Pelos resultados expostos na Figura 3.7 podemos observar que todas as doses de radiações aplicadas: (50, 75, 100, 125, 150 Gy) nas lagartas de *Helicoverpa armigera*, induziram anormalidades nas lagartas. Nas doses de 50, 75, 100, 125 e 150 Gy, houve um atraso no desenvolvimento das lagartas. A partir do terceiro instar larval as lagartas apresentaram deformações e posteriormente morreram. Podemos observar na Figura 3.8, o tegumento da lagarta com aspectos de queimadura em toda sua superfície e algumas não completaram a mudança de instar. Em nenhuma das doses de radiação as lagartas conseguiram se transformar na fase de crisálida. Estando esses resultados de acordo com os de Silva et al. (2006) que verificaram que doses de 66,3 e 125,8 Gy foram suficientes para induzirem a dose letal em larvas de *S. catenifer*. E com os de Groppo (1996) que concluiu que a dose letal de radiação gama para ovos de *Scrobipalpuloides absoluta* foi a de 70 Gy. E com os de Di Piero (2016) que obteve uma dose de 150 Gy para matar 100% as larvas de *Ecdytolopha aurantiana*.

Figura 3.7 - Ovos viáveis provenientes de lagartas de *H. armigera* irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60

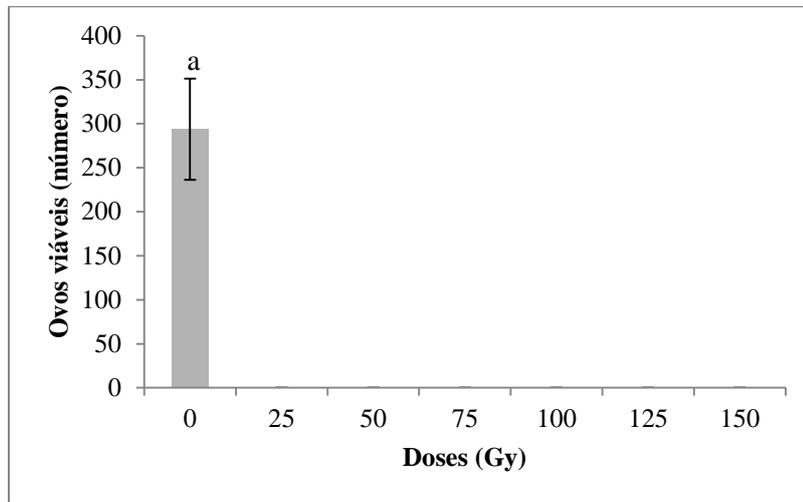


Tabela 3.4 - Emergência de adultos provenientes de lagartas irradiadas de *Helicoverpa armigera* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy) de radiação Gama	Média de Emergência	F1
0	193,8 a ± 57,4	1435,7
25	0	0
50	0	0
75	0	0
100	0	0
125	0	0
150	0	0
<i>F</i>	209	
<i>P</i>	<0.001	

*Letras na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey. **± desvio padrão.

Figura 3.8 - Efeito da radiação em Lagartas de *Helicoverpa armigera* com dose de 100 Gy



3.3.5. Efeitos da radiação gama em pupas de *Heliothis virescens*

Constam na Figura 3.9 e Tabela 3.5, os resultados de ovos viáveis provenientes de adultos emergidos de pupas irradiadas com doses crescentes de radiação gama de: 50, 75, 100, 125 e 150 Gy e fêmeas normais. Pelos resultados obtidos podemos observar que apresentaram diferenças estatísticas entre o tratamento controle e as doses de 50 e 75 Gy. Foi observado nessas doses que os adultos ovipositaram, mas os ovos foram inviáveis e larvas eclodidas apresentaram deformações e anomalias. Porém na dose 75 Gy as larvas que conseguiram se desenvolver normalmente até a fase adulta, e os ovos provenientes desses adultos todos foram inviáveis. Portanto sendo esta dose de 75 Gy a esterilizante para adultos provenientes de pupas irradiadas. A partir da dose de 75 Gy não houve emergência de adultos. Na Figura 3.10 podemos observar os efeitos induzidos pela radiação nas pupas irradiadas com a dose de 150 Gy. Estando esses resultados de acordo com os de Arthur, Machi e Arthur (2016a; 2016b; 2016c) e com os de Di Piero (2016) que obteve uma dose de 400 Gy para matar 100% das pupas de *Ecdytoplopha aurantiana*.

Figura 3.9 - Ovos viáveis provenientes de pupas de *H. virecens* irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60

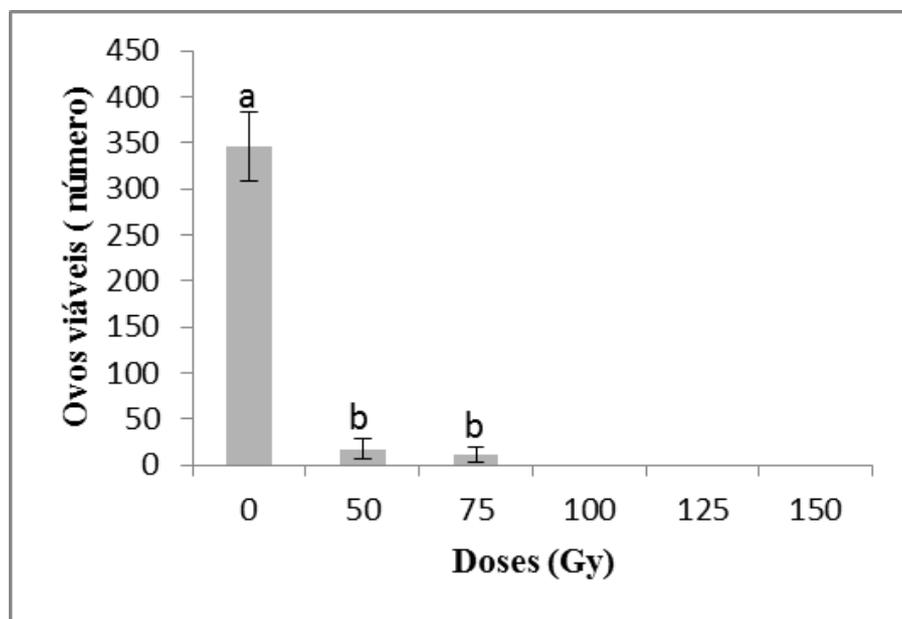


Tabela 3.5 - Média de ovos viáveis provenientes de pupas irradiadas de *Heliothis virecens* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy) de radiação Gama	Média de ovos viáveis
0	342,5 a \pm 36,7
50	175 b \pm 6,8
75	0
100	0
125	0
150	0
F	52
P	<0.001

*Letras na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.** \pm desvio padrão

Figura 3.10 - Efeito da radiação em pupas de *Heliothis virescens* com dose de 150 Gy



3.3.6. Efeitos da radiação gama em pupas de *Helicoverpa armigera*

Pelos resultados da Figura 3.11 e Tabela 3.6, podemos observar que foram semelhantes aos obtidos quando as pupas de *Heliothis virescens* foram irradiadas com doses crescentes de radiação gama. Na dose de 50 Gy os ovos provenientes de adultos irradiados na fase de pupa apresentaram em média apenas 50% de viabilidade. Já na dose de 100 Gy todos os ovos foram inviáveis, portanto essa dose foi considerada a esterilizante para espécie *H. armigera*. Na dose de 125 Gy, houve uma diminuição considerável no número de ovos ovipositados pelas fêmeas e não houve eclosão de lagartas. Já na dose de 150 Gy, as fêmeas não fizeram postura, e nem houve cópula. Porém os insetos alcançaram a idade adulta, mesmo com atraso no desenvolvimento e apresentaram em sua maioria, deformações morfológicas (Figura 3.13). Estando esses resultados de acordo com os de Arthur, Machi e Arthur (2016a; 2016b; 2016c) e com os de Di Piero (2016) que obteve uma dose de 400 Gy para matar 100% das pupas de *Ecdytoplopha aurantiana*.

Park et al. (2015) irradiaram pupas de *Helicoverpa assulta* com 100 Gy, porem 27,27% das pupas produziram adultos normais, produzindo 32 ovos por fêmea, ou seja, com menor dose obtém-se resultados mais satisfatórios, na dose de 75 Gy todos os adultos foram normais e a produção de ovos inviáveis. Já Follett (2008), irradiando pupas de *Amorbia*

emigratella com 90 Gy conseguiu adultos aptos a competição e ovos inviáveis. Portanto a dose encontrada em nosso estudo para esterilizar pupas ficou próxima as doses de outras espécies de lepidópteras.

Figura 3.11 - Ovos viáveis provenientes de pupas de *H. armigera* irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60

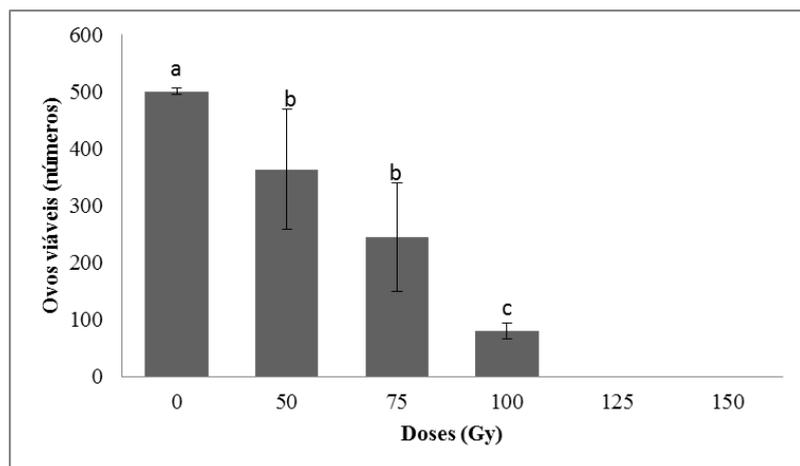


Tabela 3.6 - Média de ovos viáveis provenientes de pupas irradiadas de *Helicoverpa armigera* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy) de radiação Gama	Média de ovos viáveis
0	500,6 a \pm 9,5
50	363,3 b \pm 182,9
75	245 b \pm 164,54
100	0
125	0
150	0
F	14
P	<0.001

*Letras na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.** \pm desvio padrão.

Figura 3.12 - Efeito da radiação gama em pupas de *Helicoverpa armigera* com dose de 125 Gy



3.3.7. Efeitos da radiação gama em adultos de *Heliiothis virecens*

Pelos resultados apresentados na Figura 3.13 e na Tabela 3.7, quando apenas machos foram irradiados com doses crescentes de radiação gama e cruzados com fêmeas virgens da mesma geração, podemos observar que a partir da dose de 300 Gy, ou seja, as doses de 350 e 400 Gy todos os ovos postos pelas fêmeas foram inviáveis, sendo está dose de 350 Gy a esterilizante para machos. Estando esses resultados de acordo com os de Arthur (1985), Arthur, Machi e Arthur (2016a; 2016b; 2016c) e com os de Di Piero (2016) que obtiveram doses semelhantes para algumas espécies de lepidópteros.

Em adultos os resultados estão dentro do esperado, pois a dose de 350 Gy mostrou 100% de ovos inviáveis, ou seja, obteve-se a dose geralmente empregada para essa ordem de insetos, em comparação com as espécies de dípteros, os insetos lepidópteros requerem níveis maiores de radiação ionizante para obter esterilidade e letalidade, segundo Norte e Holt (1971) essas doses são de 200-350 Gy para esterilidade completa. Portanto essa dose é considerada alta, podendo interferir diretamente na competição entre os machos estéreis e machos selvagens no campo.

Figura 3.12 - Número de ovos viáveis oriundos do cruzamentos entre machos irradiados e fêmeas normais de *Heliothis virescens*

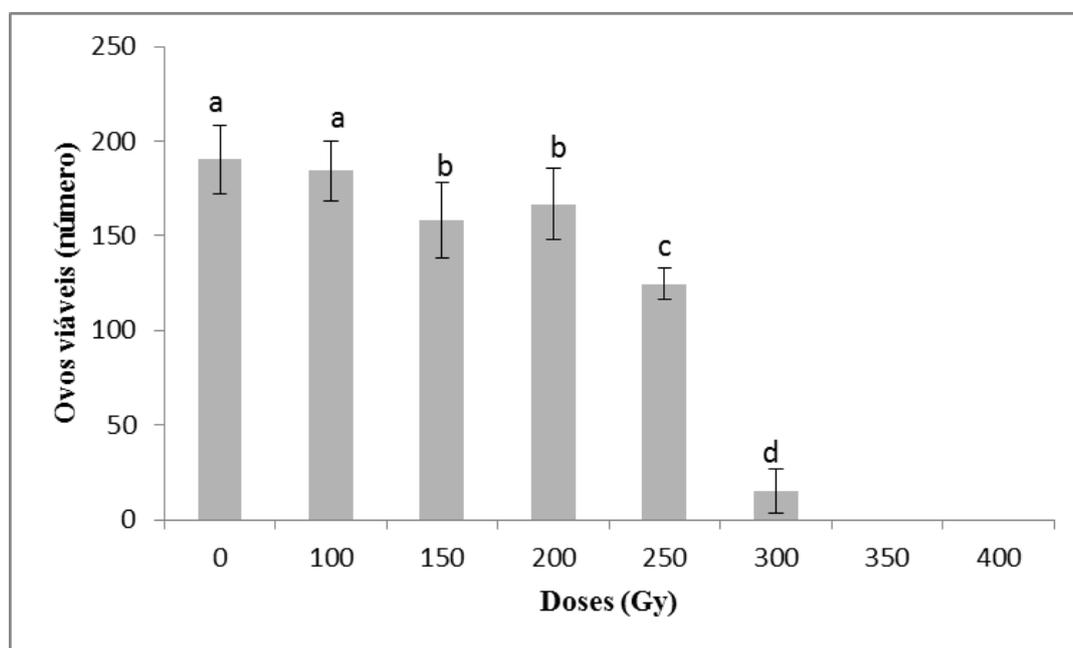


Tabela 3.7 - Média de ovos viáveis provenientes do cruzamento de machos (adultos) irradiados com fêmeas normais de *Heliothis virescens* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy)	Média de ovos viáveis
0 (Mn x Fn)	190,33 a ± 17,84
100 (Mi x Fn)	184,26 a ± 16,06
150 (Mi x Fn)	158,06 b ± 20,02
200 (Mi x Fn)	166,66 b ± 18,92
250 (Mi x Fn)	124,6 c ± 8,07
300 (Mi x Fn)	15 d ± 11,52
350 (Mi x Fn)	0
400 (Mi x Fn)	0

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.

**± desvio padrão

a= Mn Machos normais, b= Fn fêmeas normais, c= Mi machos irradiados

3.3.8. Efeitos da radiação gama em adultos de *H. armigera*

Pelos resultados expostos na Figura 3.14 e Tabela 3.8, quando apenas machos foram irradiados com doses crescentes de radiação gama e cruzados com fêmeas virgens da mesma geração, podemos observar na dose de 350 Gy houve uma redução no numero de ovos

viáveis, já na dose de 400 Gy todos os ovos postos pelas fêmeas foram inviáveis, sendo está a dose a esterilizante para machos. Estando esses resultados de acordo com os de Arthur (1985), Arthur, Machi e Arthur (2016a; 2016b; 2016c) e com os de Di Piero (2016) que obtiveram doses semelhantes para algumas espécies de lepidópteras.

Figura 3.14 - Número de ovos viáveis oriundos dos cruzamentos entre machos irradiados e fêmeas normais de *Helicoverpa armigera*

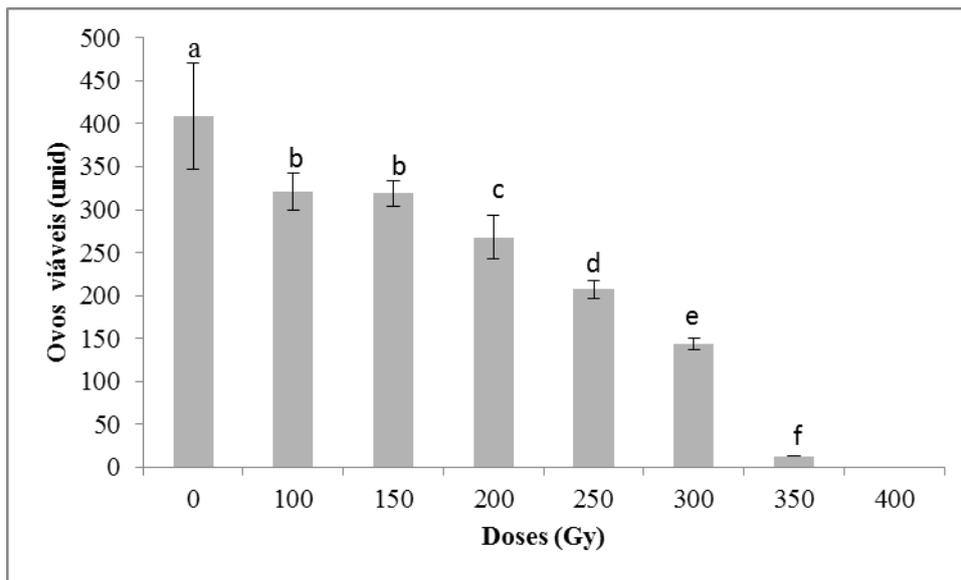


Tabela 3.8 - Média de ovos viáveis provenientes do cruzamento de machos (adultos) irradiados com fêmeas normais de *Helicoverpa armigera* com diferentes doses de radiação gama

Doses (Gy)	Média de ovos viáveis
0 (Mn x Fn)	408,73 a ± 61,32
100 (Mi x Fn)	251,58 b ± 21,32
150 (Mi x Fn)	319 b ± 15,10
200 (Mi x Fn)	267,73 c ± 25,38
250 (Mi x Fn)	207,4 d ± 11,22
300 (Mi x Fn)	143 e ± 10,34
350 (Mi x Fn)	13,06 f ± 6,87
400 (Mi x Fn)	0

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.

**± desvio padrão

a= Mn Machos normais, b= Fn fêmeas normais, c= Mi machos irradiados

3.4. Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que:

Todas as doses de radiação foram letais para os ovos, pois não houve eclosão das lagartas em nenhum dos tratamentos para ambas as espécies.

Lagartas de *H. virescens*, irradiadas apresentaram deformação morfológica, atraso no desenvolvimento e uma redução na população das pupas e a dose de 75 Gy, foi letal.

Para lagartas da espécie *Helicoverpa armigera*, todas as doses de radiação gama foram letais, portanto a menor dose de 25 Gy foi letal para lagartas dessa espécie.

Adultos provenientes de pupas de *Heliothis virescens* irradiadas foram esterilizados com a dose de 75 Gy.

Já adultos provenientes de pupas de *Helicoverpa armigera* irradiadas foram esterilizados com a dose de 100 Gy.

Adultos de *Heliothis virescens* irradiados com a dose de 350 Gy se tornaram estéreis, porém em perfeitas condições para acasalamento.

Adultos de *Helicoverpa armigera* irradiados com 400 Gy se tornaram estéreis sem que o comportamento fosse afetado.

Referências

ARTHUR, V. **Efeitos esterilizantes e letais das radiações gama nas diferentes fases do ciclo evolutivo de *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) em arroz e milho.** 1985. 77 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

ARTHUR, V.; WIENDL, F.M.; AGUILAR, J.A.D. Effect of gamma irradiation on the pupal stage on the fall armyworm parent and of sub 1 generations reproduction. **Acta Journal Nucleatae Sinica**, v.8, n.1, p. 98-101, 1994.

ARTHUR, V. Controle de insetos-praga por radiações ionizantes. **O Biológico**, São Paulo, v. 59, n. 1, p. 77-79, 1997.

ASHFAQ, M.; NOOR-UL-ANE, M.; ZIA, K.; NASREEN, A.; HASAN, M. The correlation of abiotic factors and physico-morphic characteristics of (*Bacillus thuringiensis*) Bt transgenic cotton with whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) and jassid, *Amrasca devastans* (Homoptera: Jassidae) populations. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 5, p. 3102-3107, 2010.

BLANCO, C. A.; PERERA, O. P.; BOYKIN, D.; ABEL, C.; GORE, J.; MATTEN, S. R.; RAMÍREZ-SAGAHON, J. C.; TERAÑ-VARGAS, A. P. Monitoring *Bacillus thuringiensis*-susceptibility in insect pests that occur in large geographies: how to get the best information when two countries are involved. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 95, p. 201-207, 2007.

BLANCO, C. A.; GOULD, F.; VEGA-AQUINO, P.; JURATFUENTES, J. L.; PERERA O. P.; ABEL, C. A. Response of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strains to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac incorporated into different insect artificial diets. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 102, n. 4, p. 1599-1606, 2009.

BLOEM, K. A.; BLOEM, S.; CARPENTER, J. E. Impact of moth suppression/eradication pro-grammes using the sterile insect technique or inherited sterility. In: DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 677-700.

BRADER, L. Integrated pest control in the developing world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 24, p. 225–254, 1979.

BROWER, J. H. Irradiation of pupae of the Indian meal moth to induce sterility or partial esterility in adults. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 69, n. 2, p. 277-281, 1976.

CARPENTER, J. E.; BLOEM, S.; MAREC, F. Inherited sterility in insects. In: DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 115-146.

CHO, A. J.; PARK, B. S.; LIM, A. C.; PARK, C. Y. C.; HUR, D. J. H.; HONG, E. S.; BROWN, F. T. M.; CHO, A. S. Kdr allelic variation in a sodium channel gene from a population of South Carolina *Heliothis virescens* (Fabricius). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Suwon, South Korea, v. 11, p. 117–121, 2008.

DYCK, V. A.; HENDRICHS, J.; ROBINSON, A. S. **Sterile insect technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. 787 p.

FITT, G. P. The agroecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 34, p. 17-52, 1989.

FOLLETT, P. A. Effect of irradiation on *Mexican leafroller* (Lepidoptera: Tortricidae) development and reproduction. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 101, p. 710–715, 2008.

FAO. **International standards for phytosanitary measures**. Guidelines for the export, shipment, import and release of biological control agents and other beneficial organisms (revision adopted at the 7th session of the ICPM, April 2005). Rome: FAO, Secretariat of the International Plant Protection Convention, 2005. (Publication, 3).

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BASTISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMINI, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

HALLMAN, G. J. Generic phytosanitary irradiation treatments. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 81, p. 861-866, 2012.

HENDRICHS, J.; PEREIRA, R. Editorial. Proceedings of a FAO/IAEA coordinated research project on improving sterile male performance in fruit fly sterile insect technique (SIT) programmes. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 137, p. 1, 2013. Suppl. 1.

KLASSEN, W. Area-wide approaches to insect pest interventions: history and lessons. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON AREA-WIDE CONTROL OF INSECT PESTS; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 5., 1998, Penang, Malaysia. **Area-wide control of fruit flies and other insect pests; proceedings...** Pulau Pinang, Malaysia: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. p. 21-38.

KNIPLING, E. F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, p.459-462, 1955.

MOHYUDDIN, A. I.; JILLANI, G.; KHAN, A. G.; HAMZA, A.; AHMAD, I.; MAHMOOD, Z. Integrated pest management of major cotton pests by conservation, redistribution and augmentation of natural enemies. **Pakistan Journal of Zoology**, Lahore, v. 29, n. 3, p. 293-298, 1997.

NORTH, D. T.; HOLT, G. G. Inherited sterility and its use in population suppression of Lepidoptera . In: SYMPOSIUM ON APPLICATIONS OF INDUCED STERILITY FOR CONTROL OF LEPIDOPTEROUS POPULATIONS, 1970, Vienna, Austria. **Proceedings...** Vienna: IAEA, 1971.

PAPA, G. Pragas e seu controle. In: ALGODÃO: pesquisas e resultados para o Campo. Cuiabá: FACUAL, 2006. p. 206-239.

PARKER, A.; METHA, K. Sterile insect technique: A model for dose optimization for improved sterile insect quality. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, p 88-95. 2007.

PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. cap. 2, p. 9-65.

PEDGLEY, D. E. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. **Entomologist's Gazette**, Wallingford, v. 36, n. 1, p. 15-20, 1985.

PETERS, T. M. **Insects and human society**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1988.

PIMENTEL, D. Area-wide pest management: environmental, economic and food issues. In: VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S.; HENDRICHS, J. (Ed.). **Area-wide control of insect pests**. From research to field implementation. Dordrecht: Springer, 2007. p. 35-47.

POGUE, M. G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.

ROBINSON, A. S.; CAYOL, J. P.; HENDRICHS, J. P. Recent findings on medfly sexual behavior: implications for SIT. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 171-181, 2002.

SILVA, L. K. F.; ARTHUR, V.; NAVA D. E.; PARRA, J. R. P. Uso da radiação gama do cobalto-60 visando ao tratamento quarentenário e a esterilização de *Stenoma catenifer* Walsingham (Lep., Elachistidae). **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**, Madrid, v. 33, p. 427-438, 2007.

VREYSEN, M. J. B.; KLASSEN, W.; CARPENTER, J. E. Overview of technological advances toward greater efficiency and efficacy in sterile insect-inherited sterility programs against moth pests. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 99, p. 1-12, 2016. Special issue.

WALDVOGEL, M.; GOULD, F. Variation in oviposition preference of *Heliothis virescens* in relation to macroevolutionary patterns of heliothine host range. **Evolution**, Lawrence, v. 44, p. 1326-1337, 1990.

WIENDI, F. M.; BOVI, O. A.; ARTHUR, V. **Esterilização e efeitos letais de radiação gama em adultos e ovos de *Sifotroga cerea/el/a* (Oliv.)**. Piracicaba: CENA/USP, 1975. 41 p. (Boletim Científico, 28).

WILLIAMS, M. R. Cotton insect losses – 2007. In: BELTWISE COTTON CONFERENCE, 2008, Nashville, TN. **Proceedings...** Nashville, TN: National Cotton Council, 2008. p. 927-979.

4. Competição entre o cruzamento de machos estéreis de *Heliothis virescens* e *Helicoverpa armigera* com fêmeas férteis das respectivas espécies

Resumo

O controle autocida torna-se eficaz a partir do momento em que os insetos tratados conseguem competir com os insetos normais. Uma das maiores dificuldades em uma análise de competição é determinar a dose que consiga levar o inseto a esterilidade e ao mesmo tempo manter todas as suas características fisiológicas necessárias para competir e acasalar com outros insetos. Objetivou-se com esse estudo avaliar a competição entre esses insetos e determinar proporção ideal de insetos estéreis necessários para se conseguir uma quantidade de ovos inviáveis para manter a população abaixo do nível de dano econômico. O trabalho constou de dois experimentos realizados em gaiolas, em blocos inteiramente casualizados, cada um constou cinco tratamentos (0:1:1; 1:1:1; 3:1:1; 6:1:1; 9:1:1) e quatro repetições. Foram avaliadas as competições de cada tratamento, analisando a postura e os ovos viáveis (primeiro experimento) e observação da cópula seguida da abertura de aparelho reprodutor da fêmea para constatar se houve cópula (segundo experimento) sob os mesmos tratamentos. A competição intraespecífica resultou em uma eficácia progressiva, ou seja, quanto maior o número de indivíduos estéreis, maior foi o número de ovos inviáveis. Os insetos estéreis apresentaram uma boa competitividade, quando irradiados na fase de pupa.

Palavras-chave: Técnica do inseto estéril; manejo integrado de pragas; *Helicoverpa armigera*; *Heliothis virescens*; radiação gama.

Abstract

Self-control becomes effective once the treated insects can compete with normal insects. One of the major difficulties in a competition analysis is to determine the dose that can bring the insect to sterility and at the same time maintain all of its physiological characteristics necessary to compete and mate with other insects. The objective of this study was to evaluate the competition between these insects and to determine the ideal proportion of sterile insects necessary to obtain an amount of nonviable eggs to keep the population below the level of economic damage. The work consisted of two experiments in cages, in completely randomized blocks, each consisting of five treatments (0:1:1, 1:1:1, 3:1:1, 6:1:1, 9:1:1) and four replicates. The competitions of each treatment were evaluated, analyzing posture and viable eggs (first experiment) and observation of the copula followed by the opening of the female reproductive system to verify if there was copulation (second experiment) under the same treatments. Intraspecific competition resulted in a progressive efficacy, ie, the higher the number of sterile individuals, the greater the number of nonviable eggs. The sterile insects showed good competitiveness when irradiated in the pupa stage.

Keywords: Sterile insect technique; integrated pest management; *Helicoverpa armigera*; *Heliothis virescens*; gamma radiation.

4.1. Introdução

A implementação bem sucedida da técnica do inseto estéril, baseia-se fundamentalmente na capacidade competitiva e no sucesso do acasalamento entre os insetos irradiados e não irradiados. A competitividade dos insetos esterilizados está ligada a numerosos parâmetros biológicos, tais como a longevidade, o desempenho de vôo, ocupação espacial do habitat, esperma disponível, acasalamento e comportamento. Cada um desses parâmetros pode ser influenciado pelas várias etapas do processo de produção dos machos estéreis.

Os estudos sobre a Radiobiologia de insetos demonstram que Lepidoptera e Homoptera são ordens resistentes à radiação e requerem uma dose de radiação muito mais elevada do que a de outras ordens de insectos classificados como sensíveis à radiação (BAKRI et al., 2005). Uma das principais diferenças entre essas ordens de insetos é que o primeiro grupo tem um centrômero difuso (Holokinética) e o último tem um centrômero localizado (monokinetic). Acredita-se que a diferença de centrômero poderia desempenhar um papel importante na sensibilidade à radiação (CARPENTER et al., 2005). Dentre as Lepidópteras de mais difícil controle está a *Heliothis virescens*, é uma espécie nativa do leste e sudoeste dos Estados Unidos, embora também seja conhecido da Califórnia, Nova Inglaterra, New York, sul do Canadá durante o final do verão. Também ocorre amplamente no Caribe, além de ser uma praga de alto potencial nas maçãs do algodoeiro no Brasil. (CHAPMAN; LIENK, 1981). As fêmeas normalmente produzem de 300 a 500 ovos, mas 1.000 a 1.500 ovos por fêmea foram relatados a partir de larvas cultivadas em dieta artificial (FYE; McADA, 1972).

Mais uma espécie que há pouco tempo vem tomando espaço dentre as espécies de difícil controle, alta resistência e de fácil dispersão é a *Helicoverpa armigera*, uma praga polífaga referenciada como praga de importância econômica no mundo, países como China, Índia, EUA, as perdas estimadas em algodão chegaram a US\$ 1,3 bilhões em 1992 (SHENG, 1993). Foi detectada no Brasil na região da Bahia entre 2012 e 2013 e rapidamente desencadeou uma crise fitossanitária no país, a produtividade reduziu os custos com produtos fitossanitários aumentaram (CZEPAK et al., 2013).

No estado do Mato Grosso um dos maiores produtores do Brasil, grandes perdas econômicas também foram registradas, portanto rapidamente foi implantado um programa de controle integrado de parasitismo de *Helicoverpa armigera* por *Archytas* (Diptera: Tachinidae) nos municípios de Nova Xavantina e Querência com intuito de implantar um

programa de controle que não levasse a resistência e conseguissem começar a mudar a situação (GUERRA et al., 2013).

Esse conceito de controle integrado foi proposto, inicialmente por Stern et al. na Califórnia em 1959, esses autores preconizaram o uso da utilização de inseticidas a fim de não afetar os inimigos naturais das pragas, com o auxílio de outras técnicas de controle, atualmente esse conceito já evoluiu e pode ser considerado como a aplicação da ecologia no controle de pragas, através da associação vantajosa de mais de um método de controle.

Na Entomologia Econômica, a tendência é o uso do controle integrado de pragas, sendo a ecologia fundamental na determinação das populações conforme pode ser sintetizado nos exemplos teóricos e práticos de controle integrado de Knippling (1966). Esses números foram obtidos da seguinte forma:

População sem controle: a razão de aumento é de cinco vezes em cada geração.

Inseticida de 90% de eficiência: com a aplicação do inseticida a população é reduzida em 90%, ou seja, sobram 100.000 insetos, que sofrem um aumento de 5 vezes, resulta 500.000 insetos na geração seguinte.

Variedade resistente: reduz a taxa de aumento (antibiose) em algumas vezes em cada geração. No exemplo foi de 2,5 vezes.

Controle Biológico: prevê uma proporção inicial mínima de 2:1, entre predador e presa para ser eficiente o método. Considerando também que o predador e a praga tenha a mesma taxa de aumento (5 vezes), a descendência é obtida da seguinte maneira: A proporção de 2:1 dá um controle de 50%. Então 50% de 1.000.000 = 500.000 que multiplicado pela taxa de aumento: $500.000 \times 5 = 2.500.000$ indivíduos da praga em F1. Porém o predador também tem taxa de 5 vezes, logo $2.000.000 \times 5 = 10.000.000$. Portanto a predação passa a ter uma proporção de 4:1, e assim por diante.

Já no controle autocida com a utilização do Macho estéril: a técnica prevê uma liberação de machos esterilizados no ambiente na proporção 9 vezes a de machos normais existentes. Nesse caso, na população de 1.000.000 de indivíduos existem 500.000 machos férteis, e liberam-se 4.500.000 machos estéreis por geração. Como a relação de macho estéril para macho fértil é de 9:1, indica que apenas 10% dos cruzamentos serão férteis, ou seja, em cada 10 cruzamentos (9+1), um é fértil. Portanto da geração de 1.000.000, na taxa de cinco vezes, teríamos $5.000.000/10 = 500.000$ em F1.

Contudo, levando em consideração as informações atuais de resistências, polifagia, e facilidade de dispersão, controle biológico, entre as demais alternativas de controle integrado, podemos afirmar que novas técnicas vêm ganhando cada vez mais espaço nos programas de

manejo integrado de pragas. O uso da Técnica do Inseto Estéril vem sendo administrado em outros países como uma tática eficaz nas técnicas integradas de controle, pois é uma tecnologia chamada de amiga do ambiente, colaborando nos esforços para resolver os danos graves e de difícil controle. Nessa técnica temos muitos exemplos bem sucedidos de integração da SIT ou TIE em programas AW-IPM ou MIP contra Lepidopteras (BLOEM; BLOEM; CARPENTER, 2005; CARPENTER et al., 2005). Estes incluem lagarta-rosada *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (EUA), a supressão das lagartas *Cydiapomonella* (L.) no Canadá, *Tha-umatotibia leucotreta* (Meyrick) na África do Sul, traça *Cactoblastis cactorum* (Berg) nos EUA e México, pintado maçã traça *Teia anartoides* Walker na Nova Zelândia (BLOEM; BLOEM, 2000; CONSELHO NACIONAL DO ALGODÃO DA AMÉRICA - NCCA, 2004; ADDISON; HENRICO, 2005; BLOEM; BLOEM; CARPENTER, 2005; 2007; SUCKLING et al., 2005; CARPENTER et al., 2007; HERNANDEZ et al., 2007). Além disso, vários projetos-piloto em campo demonstraram a viabilidade do uso do TIE contra *Lymantria dispar* (L.), lagarta da maçã *Heliothis virescens* (F.), lagarta da espiga *Helicoverpa zea* (Boddie), a broca do milho asiática *Ostrinia furnacalis* (Guene'e) entre outras (BLOEM; BLOEM; CARPENTER, 2005; CARPENTER et al., 2005; MEDIOUNI; DHOUBI, 2007, SIMMONS et al., 2009).

A eficiência da TIE pode ser aprimorada para Lepidoptera por meio da adição de novas ferramentas e métodos para avaliar a qualidade dos insetos criados em laboratório, operações de manutenção e de libertação e por avaliação da eficácia do programa. Estas melhorias poderão diminuir os custos de produção para libertação através do aumento da eficácia em programas MIP. O potencial para melhorar a qualidade dos insetos provenientes de criação massal, sugere novas pesquisas que levariam as aplicações práticas dessa melhoria. O primeiro passo para o aprimoramento da técnica é avaliar as condições morfológicas e fisiológicas do inseto e sua capacidade de competição depois de tratado com a dose estéril. E ao seguir essa premissa, objetivou-se com esse estudo avaliar o efeito da dose estéril na competitividade dos insetos irradiados quando acasalados com insetos normais, bem como observar as possíveis diferenças de comportamento entre os insetos irradiados e não irradiados.

4.2. Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Departamento de Entomologia e Acarologia na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ-USP), e os insetos foram irradiados no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), ambos no município de Piracicaba – SP, localizado a 22°43’12”S e 47°38’54”O, com 580 m de altitude.

A criação inicial de *H. virescens* e *H. armigera* foram estabelecidas por insetos do Laboratório de Biologia de Insetos, mantidas em dieta artificial à base de feijão, germe de trigo, proteína de soja, caseína e levedura (MIHSFELDT; PARRA, 1999) e desenvolvida em sala climatizada a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

4.2.1. Descrição do experimento

Para atingir os objetivos estabelecidos, foi iniciada uma criação de lagarta da maçã, mantida em dieta artificial a base de feijão e germe de trigo, seguindo as recomendações de Parra (1991).

Os insetos obtidos dessa criação na fase de pupa foram separados e somente os machos foram irradiados e posteriormente aguardou-se a emergência dos adultos que foram cruzados com fêmeas normais (virgens).

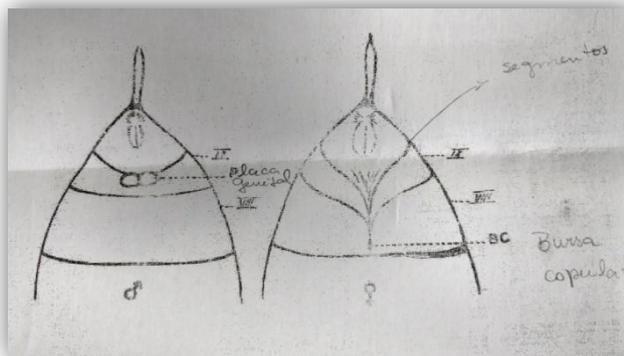
4.2.2. Procedimento de Irradiação

As pupas de *Heliothis virescens* (Figura 4.1) foram primeiramente separadas por gênero (Figura 4.2) e posteriormente os machos, com idade de 5 dias, foram irradiados com a dosagem pré-estabelecida no estudo anterior. Após a irradiação de 75 Gy, os machos retornaram ao laboratório de criação para aguardar a fase adulta.

Figura 4.1 - Pupas de *Heliothis virescens*



Figura 4.2 - Desenho referente a separação por gênero de pupas de Lepidópteros



4.2.3. Formação dos casais

As fêmeas geralmente emergem primeiro que os machos, portanto o primeiro passo foi aguardar a fase adulta de ambos os sexos, em seguida a distribuição foi realizada em gaiola seguindo a metodologia de Knipling (1955) - liberação até 9 vezes maior que a população do estudo, ou seja foi avaliado primeiramente o cruzamentos entre machos irradiados com fêmeas normais em 5 gaiolas constituídas de tubo de PVC e cobertas com tecido voil, para que realizassem as posturas. Para cada gaiola foram colocados os casais para avaliar a capacidade de cópula do macho. Logo em seguida foram montadas as gaiolas de competição, onde continham macho irradiado, com um macho normal e uma fêmea normal, nas seguintes proporções 1:1:1; 3:1:1; 6:1:1; 9:1:1.

4.2.4. *Compatibilidade de cópula*

Após a verificação da postura, de cada gaiola foram retiradas as fêmeas para observar a influência da frequência de cópula, ou seja, para confirmar que os ovos inviáveis eram provenientes da cópula do macho estéril e fêmea normal.

O número de cópulas realizado pelos insetos em competição foi determinado pela verificação do número de espermátóforos presentes na bolsa copuladora das fêmeas após sua morte. Nenhum processo químico foi empregado para a observação dos espermátóforos, pois estes foram facilmente reconhecidos após dissecação das fêmeas utilizando-se microscópio estereoscópico.

Os resultados obtidos são submetidos à análise de variância. Nos casos em que o teste F foi significativo a 1 ou 5% de probabilidade, foi aplicado teste de médias a 5% de probabilidade. Todas as análises serão realizadas utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT.

4.3. **Resultados e Discussão**

O presente estudo relata sobre a competitividade de acasalamento e compatibilidade entre as populações criadas, estéreis e selvagens de *H. virescens* em gaiolas. Houve uma interação significativa através do tempo de acasalamento, ou seja, a capacidade de competição e cópula dos insetos, submetidos ao tratamento, não foram afetadas, pois apresentaram comportamentos idênticos aos demais machos não tratados da mesma geração.

Não foi observado nenhum atraso de desenvolvimento, ou seja, os adultos irradiados emergiram na mesma sequência dos adultos normais.

Consta na Figura 4.3 e Tabela 4.1, a comparação entre as gaiolas do tratamento controle, houve uma redução gradativa de ovos viáveis a partir do acréscimo de insetos irradiados por gaiola, quanto maior o número de insetos irradiados, menor número de ovos viáveis.

A proporção de cópula dos casais formados por machos estéreis e fêmeas normais quando comparados ao número de cópula da gaiola controle foi variável em função da concentração total de machos irradiados por gaiola.

De modo geral, os insetos tratados não apresentaram nenhum sinal de deformidade ou atraso de desenvolvimento quando comparados aos insetos não tratados. Não foi observada também nenhuma alteração na capacidade de competição e cópula.

Estes resultados indicam que a dose de radiação de 75 Gy em pupas está dentro do intervalo que não irá comprometer o desempenho dos insetos tratados. Qualquer efeito negativo devido à radiação seria um resultado de um aumento na dose de radiação, uma vez que o uso de radiação ionizante alta reduz a motivação sexual e desempenho de acasalamento (WELDON, 2005). Lux et al. (2002), por exemplo, relatou que macho irradiado de *Ceratitis capitata* eram menos vigoroso, mais passivos, e menos sexualmente motivado do que não irradiado.

Em premissa pode ser confirmada que uma dose mais baixa de radiação gama na fase pupa, foi o suficiente para induzir uma redução significativa na fecundidade ou completar a esterilidade, indicando especificidade na suscetibilidade à radiação gama. Em contraste com a suposição de que Lepidoptera são mais radioresistente do que outras espécies de insetos (FOLLETT, 2009), o estudo mostra que a dose relativamente baixa de radiação gama pode servir como um tratamento de esterilidade eficaz para *Heliothis virescens*, pois uma dose única de 75 Gy foi o suficiente para esterilizar pupas desta espécie. Doses semelhantes também foram utilizadas no estudo de esterilização da mariposa cigana *Gypsy moth*, pupas dessa mariposa foram irradiadas com 80 Gy, levando a esterilidade dos adultos. O mesmo autor relata o sucesso do programa da técnica do inseto estéril para lagarta rosada *Pectinophora gossypiella*

Sabe-se que a irradiação degrada a qualidade de insetos (LUX et al., 2002; CALKINS; PARKER, 2005). Quanto maior for a dose mais deletério os seus efeitos sobre o inseto alvo, que se manifesta por uma capacidade reduzida, letargia, diminuição do comportamento sexual, confusão para o acasalamento e desempenho reduzido (LUX et al., 2002; CALKINS; PARKER, 2005). Os resultados deste estudo indicam que a e a fase pupal e dose recomendada de 75 Gy não teve impacto negativo sobre *H. virescens* em relação ao seu comportamento de acasalamento.

Em programas de manejo integrado de pragas, que incluem um componente da TIE, geralmente produzem machos que são de qualidade inferior quando comparados aos machos selvagens ou de laboratório (CAYOL, 2000), devido aos efeitos negativos da esterilização por irradiação gama. No entanto, a partir dos resultados deste estudo, onde foram utilizadas as pupas para o tratamento de irradiação com a dose de 75 Gy, sem danos fisiológicos suficiente para alterar o comportamento de acasalamento do macho adulto de *Heliothis viresncens*. Estão, portanto, de acordo com (LUX et al., 2002; RULL et al., 2012) que indicam uma baixa dose de radiação não irá comprometer o desempenho de machos estéreis em programas de macho estéril. No entanto, estudos que mostram a probabilidade de desenvolvimento de

preferências de acasalamento é agravada em condições de laboratório ou criação massal (RODRIGUERO et al., 2002) que impõem intensa antinatural pressões de seleção (IWAHASHI, 1996; MATOS et al., 2000).

Os dados aqui apresentados proporcionam confiança necessária que tanto a espécie *H. virecens* quanto *H. armigera* criados em laboratório podem ser adequadas para o uso em projetos pilotos baseados na TIE. Assim, há espaço para o desenvolvimento de novos estudos e pesquisas para evolução desta técnica como um componente em nosso manejo integrado de pragas no Brasil.

Figura 4.3 - Competição entre os insetos irradiados e não irradiados de *Heliothis virecens*

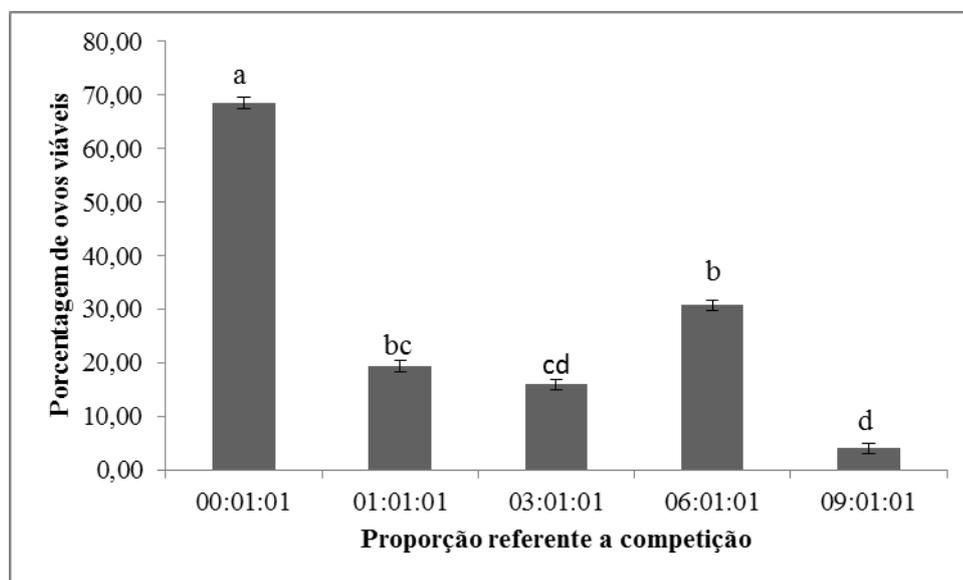
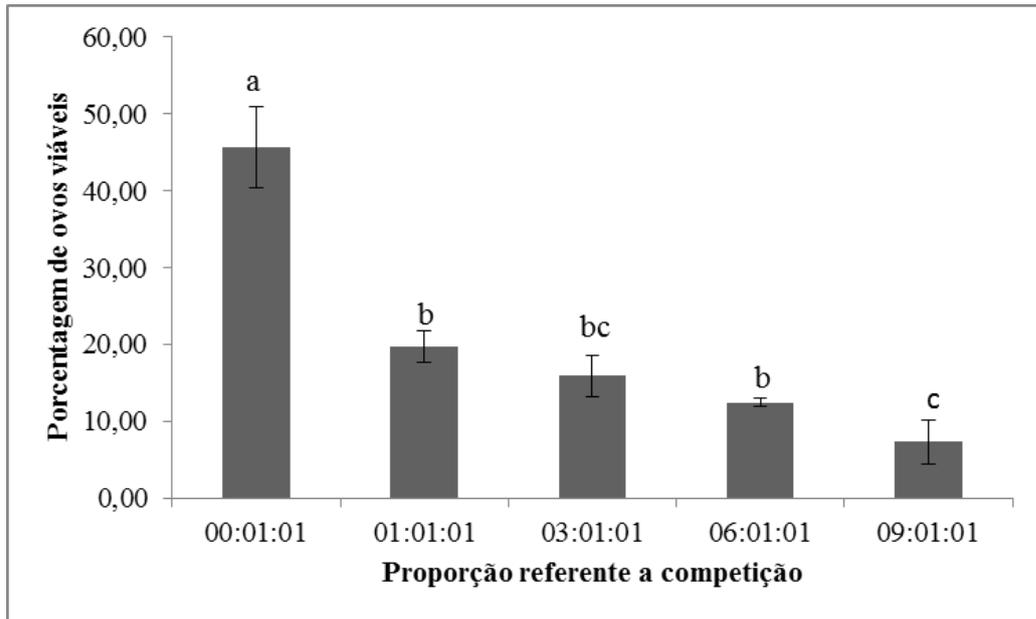


Tabela 4.1 - Resultado do cruzamento, da espécie *Heliothis virecens* com a dose esterilizante de 75 Gy, entre machos irradiados (Mi), machos normais (Mn) e fêmeas normais (Fn) e a média de ovos viáveis provenientes desse cruzamento

Tratamentos (Mi x Mn x Fn)	Dose (Gy)	Médias da viabilidade de ovos
00:01:01	75	68,49 ± 1,6a
01:01:01	75	19,39 ± 10,38bc
03:01:01	75	15,99 ± 2,54cd
06:01:01	75	30,74 ± 1,91b
09:01:01	75	4,01 ± 1,69d

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.

**± desvio padrão

Figura 4.4 - Competição entre os insetos irradiados e não irradiados de *Helicoverpa armigera***Tabela 4.2** - Resultado do cruzamento, da espécie *Helicoverpa armigera* com a dose esterilizante de 100 Gy, entre machos irradiados (Mi), machos normais (Mn) e fêmeas normais (Fn) e a média de ovos viáveis provenientes desse cruzamento

Tratamentos (Mi x Mn x Fn)	Dose (Gy)	Médias da viabilidade de ovos
00:01:01	100	45,67 ±5,23a
01:01:01	100	19,75±2,04b
03:01:01	100	15,90±2,67bc
06:01:01	100	12,46±0,51b
09:01:01	100	7,33±2,90c

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% de significância no teste de Tuckey.

**± desvio padrão

4.4. Conclusão

Para ambas as espécies a proporção crescente da competição foi adequada à quantidade decrescente de ovos viáveis para cada tratamento, ou seja, a melhor proporção apresentada foi a de 9:1:1, onde a viabilidade dos ovos caiu de forma significativa quando comparado ao controle e aos demais tratamentos.

Em cada tratamento houve uma redução gradativa de ovos viáveis até chegar à proporção adequada para ser utilizada em um programa de manejo integrado de pragas.

Referências

- ARTHUR, V.; MACHI, A. R.; ARTHUR, P. B. Irradiation of *Ecdyolopha aurantiana* (Lepidoptera: Tortricidae) pupae in oxygen requires a lower dose to strongly reduce adult emergence and prevent reproduction than irradiation in air. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 99, p. 38-40, 2016.
- ARTHUR, V.; MACHI, A. R.; ARTHUR, P. B. Adult emergence and F1 generation egg and larval production after γ -irradiation of late pupae of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 99, p. 67-68, 2016.
- ARTHUR, V.; ARTHUR, P. B.; MACHI, A. R. Pupation, adult emergence, and F1 egg hatch after irradiation of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) last instars. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 99, p. 59 - 61, 2016.
- BAKRI, A.; METHA, K.; LANCE, D. R. Sterilizing insects with ionizing radiation. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique**. Principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 233-268.
- BLOEM, K. A.; BLOEM, S. SIT for codling moth eradication in British Columbia, Canada. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON AREA-WIDE CONTROL OF INSECT PESTS; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 5., 1998, Penang, Malaysia. **Area-wide control of fruit flies and other insect pests; proceedings...** Pulau Pinang, Malaysia: Penerbit Universiti Sains Malaysia, 2000. p. 207-214.
- BLOEM, K. A.; BLOEM, S.; CARPENTER, J. E. Impact of moth suppression/eradication programmes using the sterile insect technique or inherited sterility. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile Insect Technique**. Principles and practice in areawide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 677-700.
- BLOEM, S.; BLOEM, K. A.; CARPENTER, J. E.; CALKINS, C. O. Season-long releases of partially sterile males for control of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Washington apples. **Environmental Entomology**, College Park, v. 30, p. 763-769, 2001.
- BLOEM, K. A.; BLOEM, S.; CARPENTER, J. E.; HIGHT, S.; FLOYD, J.; ZIMMERMANN, H. Don't let cactus blast us: development of a bi-national plan to stop the spread of the cactus moth *Cactoblastis cactorum* in North America. In: VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S.; HENDRICH, J. (Ed.). **Area-wide control of insect pests**. From research to field implementation. Dordrecht: Springer, 2007. p. 337-344.
- CALKINS, C. O.; PARKER, A. G. Sterile insect quality. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique**. Principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 269-296.

CARPENTER, J. E.; BLOEM, S.; MAREC, F. Inherited Sterility in Insects. In: DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. (Ed.). **Sterile insect technique**. Principles and practice in area-wide integrated pest management. Dordrecht: Springer, 2005. p. 115–146.

CARPENTER, J.; BLOEM, S.; HOFMEYER, H. Area-wide control tactics for the false codling moth *Thaumatotibia leucotreta* in South Africa: a potential invasive species. In: VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S.; HENDRICH, J. (Ed.). **Area-wide control of insect pests**. From research to field implementation. Dordrecht: Springer, 2007. p. 351-359.

CAYOL, J. P. Changes in sexual behavior and life history traits of tephritid species caused by mass-rearing processes. In: ALUJA, M.; NORRIBOM, A. L. (Ed.). **Fruit flies: phylogeny and evolution of behavior**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 843-860.

CHAPMAN, P. J.; LIENK, S. E. **Flight periods of adults of cutworms, armyworms, loopers and others (family Noctuidae) injurious to vegetable and field crops**. New York: Agricultural Experiment Station, 1981. 43 p. 1981. (Agricultural Bulletin, 14).

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. First reported occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, p. 110-113, 2013.

DI PIERO, E. A. **Determinação das doses letais e esterilizantes de radiação gama para todas as fases do ciclo evolutivo de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) bicho-furão-dos-citros, visando seu controle**. 2016. 38 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

FOLLETT, P. A. Generic radiation quarantine treatments: the next steps. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 102, p. 1399–1406, 2009.

FYE, R. E.; MCADA, W. C. Laboratory studies on the development, longevity, and fecundity of six lepidopterous pests of cotton in Arizona. Washington, DC: USDA, 1972. 73 p. (Technical Bulletin, 1454).

GROPPO, A. G. **Efeitos da radiação gama do cobalto -60 nas diferentes fases do ciclo evolutivo da traça do tomateiro *Scrobipalpus absoluta* (Meyrich, 1917) 1996**. 69 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

GUERRA, W. D.; GUERRA, A. L. L. D.; RIBAS, L. N. Ocorrência de *Archytas* (Diptera: Tachinidae) parasitando lagartas de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) em Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 9., 2013, Brasília, DF. Brasília, DF: AMPA, 2013.

HERNANDEZ, J.; SANCHEZ, H.; BELLO, A.; GONZALEZ, G. Preventive programme against the cactus moth *Cactoblastis cactorum* in Mexico. In: VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S.; HENDRICH, J. (Ed.). **Area-wide control of insect pests**. From research to field implementation. Dordrecht: Springer, 2007. p. 345-350.

IWAHASHI, O. Problems encountered during long-term SIT program in Japan. In: McPHERON, B. A.; STECK, G. J. (Ed.). **Fruit fly pests: A world assessment of their biology and management**. Delray Beach: St Lucie Press, 1996. p. 392-398.

KNIPLING, E. F. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 48, p. 459-462, 1955.

LUX, S. A.; VILARDI, J. C.; LIEDO, P.; GAGG, K.; CALCAGNO, G. E.; MUNYIRI, F. N.; VERA, M. T.; MANSO, F. Effects of irradiation on the courtship behavior of medfly (Diptera: Tephritidae) mass reared for the sterile insect technique. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 102-112, 2002.

MATOS, M.; ROSE, M. R.; ROCHA PITE, M. T.; REGO, C.; AVELAR T. Adaptation to the laboratory environment in *Drosophila subobscura*. **Journal of Evolutionary Biology**, Basel, v. 13, p. 9-19, 2000.

MEDIOUNI, J.; DHOUBI, M. H. Mass-rearing and field performance of irradiated carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Tunisia. In: VREYSEN, M. J. B.; ROBINSON, A. S.; HENDRICH, J. (Ed.). **Area-wide control of insect pests**. From research to field implementation. Dordrecht: Springer, 2007. p. 265-273.

MIHSFELDT, L. H.; PARRA, J. R. P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 769-776, 1999.

PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimentos por insetos. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. cap. 2, p. 9-65.

RODRIGUERO, M. S.; VILARDI, J. C.; VERA M. T.; CAYOL, J. P.; RIAL, E. Morphometric traits and sexual selection in medfly (Diptera: Tephritidae) under field cage conditions. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, p. 143-149, 2002.

RULL, J.; ENCARNACIÓN, N.; BIRKE, A. Mass rearing history and irradiation affect mating performance of the male fruit fly, *Anastrepha obliqua*. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 12, p. 45-54, 2012.

SHENG, C. F. Outbreak of *Heliothis armigera* in North China: possible causes and control strategies. In: BELT-WIDE COTTON CONFERENCE, 2008, Nashville, TN. **Proceedings...** Nashville, TN: National Cotton Council, 2008. p. 841-844.

SIMMONS, G.; CARPENTER, G. E.; SUCKLING, G. M.; ADDISON, M.; DYCK, V. A.; VERENSEN, M. J. B. Improved quality management to enhance the efficacy of the sterile insect technique for lepidopteran pest. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 134, p. 261-273, 2009.

STERN, V. M.; SMITH, R. F.; VAN DEN BOSCH.; HAGEN, K. S.; The integrated control concept. **Hilgardia**, Berkeley, v. 29, n. 2, p. 81-101, 1959.

SUCKLING, D. M.; CHARLES, J.; ALLAN, D.; CHHAGAN, A.; BARRINGTON, A.; BURNIP, G.M.; EL-SAYED, A. M. Performance of irradiated *Teia anartoides* (Lepidoptera: Lymantriidae) in urban Auckland, New Zealand. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 98, p. 1531-1538, 2005.

WELDON, C. W. Mass-rearing and sterilization alter mating behavior of male *Queensland fruit fly*, *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae). **Australian Journal of Entomology** 44: 158-163. 2005.