

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Biologia

Estudos de fatores bióticos de controle natural em populações  
de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera :  
Noctuidae)

PRAFULBALA NAVIN PATEL

Departamento de Zoologia

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual de Campinas  
para obtenção do título de  
Mestre em Biologia (Ecologia).

Orientador:

Professor Doutor

Mohamed E.M. Habib

Campinas  
1981

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

- Aos meus pais

## Agradecimentos

Ao Dr. Mohamed E.M. Habib, do Departamento de Zoologia (UNICAMP), pela orientação sábia e segura, pelo constante incentivo e pela amizade dedicada em todos os passos deste trabalho.

Ao Dr. Paulo F. Bührnheim, atual coordenador de Pós-Graduação em Entomologia (INPA - Manaus), pelo apoio e compreensão em todos os anos de trabalho durante a sua Chefia do Departamento de Zoologia da UNICAMP.

Ao Dr. Pierre C.G. Montouchet, atual Chefe do Departamento de Zoologia da UNICAMP e Srta. Maria Alice Garcia, Assistente no mesmo Departamento, pela leitura do manuscrito e pela amizade.

Ao Dr. José H. Guimarães, do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, pela identificação dos taquinídeos.

Ao Dr. Edwin I. Hazard, do laboratório de pesquisas de insetos nocivos ao homem e animais, Gainesville, Florida, EUA, pela identificação dos microsporídeos.

Ao Dr. Donald M. MacLeod, do Instituto de manejo de pragas florestais, Sault Ste. Marie, Ontario, Canadá, pela identificação do fungo Nomuraea rileyi.

Ao Dr. Robert W. Carlson, do laboratório de entomologia sistemática, Beltsville, Maryland, USDA, pela identificação dos icneumonídeos.

Ao Dr. Luiz De Santis, da Faculdade de Ciências Naturais e Museu, Argentina, pela identificação de outros grupos de microhimenópteros.

Agradeço também a Catarina Neuza de Almeida Ramos e Rosa Yukiko Kawaguchi, pela datilografia da tese, Telma Eli- ta Sebastiana Pedro Candido, ao estagiário Carlos Eduardo de Santos e a outros funcionários do Departamento de Zoologia, pela ajuda durante o trabalho.

A todos os colegas do Departamento de Zoologia da Unicamp, que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao meu marido, pela compreensão e apoio durante este trabalho.



	Página
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO . . . . .	23
4.1 Estudos de laboratório . . . . .	23
4.1.1 Biologia de <u>Spodoptera frugiperda</u> . . . . .	23
4.1.2 Biologia de <u>Campoletis flavicincta</u> . . . . .	32
4.1.3 Protozoose em larvas de <u>Spodoptera frugiperda</u> causada por <u>Vairimorpha necatrix</u> (Microsporida, Nosematidae) . . . . .	48
4.1.4 Susceptibilidade de larvas de <u>S. frugiperda</u> ao fungo entomopatogênico <u>N. rileyi</u> . . . . .	58
4.2 Estudos de campo . . . . .	65
4.2.1 Insetos parasitos . . . . .	65
4.2.2 Ocorrência de doenças infecciosas . . . . .	70
A. Ocorrência natural de <u>Aspergillus parasiticus</u> . . . . .	71
B. Ocorrência natural de <u>N. rileyi</u> . . . . .	76
5. CONCLUSÕES . . . . .	78
6. RESUMO . . . . .	80
7. SUMMARY . . . . .	82
8. LITERATURA CITADA . . . . .	84

ESTUDOS DE FATORES BIÓTICOS DE CONTROLE NATURAL EM POPULAÇÕES DE Spodoptera frugiperda (J.E. & SMITH, 1797)

1. INTRODUÇÃO:

As investigações do papel dos diferentes fatores de controle natural em populações de insetos têm merecido ultimamente a atenção de muitos pesquisadores, tanto no campo de entomologia acadêmica, como também sob o ponto de vista aplicado ou econômico.

Em vários casos, para que um ecólogo consiga interpretar a dinâmica populacional de uma determinada espécie de insetos, ele é obrigado, além da análise dos fatores físicos ambientes, a investigar cuidadosamente o papel de certos fatores bióticos responsáveis pelas oscilações demográficas da espécie em questão.

Atualmente, com a deficiência de produção de alimentos que o homem está enfrentando, com a baixa produtividade agrícola em várias regiões do mundo, e com a necessidade de alcançar métodos de controle de pragas mais econômicos, mais eficientes e mais seguros, tornou-se necessária a investigação das espécies pragas sob pontos de vista que não eram considerados antigamente: um desses é o estudo das flutuações de populações de insetos-praga, junto com análise dos fatores que as regulam nas condições de campo. Os fatores biológicos naturais, entre doenças, parasitismo e predação, ocupam um lugar de destaque nos estudos dos fatores de controle natural. Historicamente, vários são

os exemplos de aproveitamento e utilização de agentes biológicos em programas de controle de pragas.

No presente trabalho pretende-se investigar aspectos bioecológicos de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) uma das pragas mais importantes de gramíneas incluindo as plantações de valor econômico no país, em condições de campo e de laboratório, além de avaliar o papel de certos agentes de controle biológico natural de populações de S. frugiperda.

## 2. REVISÃO HISTÓRICA

### 2.1 - Spodoptera frugiperda ( J.E. Smith , 1797)

Spodoptera frugiperda foi descrita em 1797 por Smith & Abbot que já consideraram sua importância como praga de gramíneas. Porém, desde esta época até 1845, esta espécie recebeu pouca consideração, devido à falta de informações concretas sobre os prejuízos por ela causados (Luginbill, 1928). Após 1845 vários trabalhos foram publicados revelando a sua importância como praga e sobre seus surtos populacionais em diferentes regiões dos EUA. Geralmente, os surtos de S. frugiperda ocorrem após chuvas abundantes e tempo úmido. Tais condições são favoráveis não apenas para o crescimento das plantas hospedeiras, mas também para o desenvolvimento desse inseto.

A primeira monografia sobre S. frugiperda foi apresentada por Luginbill (1928), que forneceu dados sobre sua distribuição geográfica na América do Norte. O referido autor considerou essa praga como de origem tropical, uma vez que seus centros de imigração localizam-se nos trópicos, além do fato de não ocorrer nos EUA durante o inverno. A distribuição geográfica na América do Sul e no Brasil foi apresentada por Leiderman e Sauer (1953).

O fenômeno de migração a longa distância nessa espécie foi estudado por Rose et al. (1975), que concluíram que tais migrações são possibilitadas pelas condições climáticas.

Luginbill (1928) e Rose et al. (1975) apoiaram-se no fato de encontrarem com frequência posturas de S. frugiperda em espécies diferentes de plantas, para caracterizarem a polifagia da espécie. Levantamentos de plantas hospedeiras de S. frugiperda foram feitos por vários pesquisadores, tais como

Quaintance (1897), Dew (1913), Moreira (1921), Luginbill (1928), Costa Lima (1950), e Leiderman e Sauer (1953).

O desenvolvimento de S. frugiperda foi estudado por vários autores. Quaintance (1897) fez uma breve descrição de hábitos alimentares e coloração de todos os estágios, larval, pupal e adulto. Dew (1913) revelou que o ciclo de vida de S. frugiperda é muito semelhante ao de outros noctuídeos e que é durante seus últimos dois estádios larvais que essa praga causa os maiores prejuízos nas plantações. Entre os autores que estudaram e apresentaram alguns dados bionômicos do inseto nas plantas hospedeiras, encontram-se Luginbill (1928) e Leiderman & Sauer (1953). Ravelo & Raun (1964) criaram as larvas de S. frugiperda em laboratório, durante 20 gerações em plântulas de milho, em estufa e temperatura mantida a 20°C. Morrill & Greene (1973b) demonstraram que se as larvas recém-eclodidas ficassem em jejum durante 16 a 29 horas não alteravam a taxa de sobrevivência, peso de pupa ou período de desenvolvimento do estágio larval. O desenvolvimento dessa espécie, em meio artificial foi estudado por Randolph & Wagner (1966) e Morrill & Greene (1973b). Estes dois últimos autores também avaliaram a preferência de partes diferentes da planta de milho utilizando como critério a distribuição de larvas na planta (Morrill e Greene 1973a, 1973b). Kasten Jr. et al. (1978) avaliando a eficiência de duas dietas artificiais, concluíram que aquela à base de feijão é a que oferece melhores possibilidades para manter populações desta espécie na ausência do seu hospedeiro natural (folhas de milho).

## 2.2 - Ocorrência de insetos predadores e parasitos.

### inimigos naturais de S. frugiperda

S. frugiperda sofre a ação de muitos inimigos naturais entre insetos entomófagos (parasitos e predadores) e patógenos (bactérias, fungos, vírus e protozoários), que reduzem a sua densidade populacional no campo. Entretanto, até o presente, o controle dessa praga tem sido feito basicamente mediante agentes químicos, sem considerar o potencial de tais inimigos naturais.

Quaintance (1897) salientou a importância de vários inimigos naturais que atuam no controle natural: entre os predadores e parasitos entomófagos, observou principalmente vespídeos e taquinídeos. Outros insetos predadores, como alguns coleópteros, hemípteros e mantídeos foram considerados pelo autor como agentes secundários.

Pierce e Holloway (1912) registraram o parasitismo por Chelonus texanus, parasito ovo-larval, em populações de Heliothis obsoleta e S. frugiperda.

Durante um surto populacional de S. frugiperda, em 1912, na região de Alabama, EUA, encontraram-se 30 inimigos naturais dessa praga, sendo 21 predadores e 9 parasitos (Dew, 1913). Dos predadores, 11 eram coleópteros, 6 himenópteros e 4 hemípteros. Duas espécies mais eficazes da ordem Coleoptera eram Tetracha carolina e Calosoma calidum. Duas espécies mais comuns da família Reduviidae foram observadas predando larvas. Das vespas solitárias, indicadas como eficientes na predação, eram mais freqüentes Polistes canadensis e Pelopeus comentarius. Entre os 9 parasitos, 4 eram dípteros e 5 himenópteros. Nemoreae leucaniae (Tachinidae) e Sarcophaga georgiana (Sarcophagidae) foram mais comuns entre os dípteros. Os himenópteros parasitos pertenciam a

duas famílias, Braconidae e Ichneumonidae. Eniscopilus pengatus (Ichneumonidae) foi considerada como a espécie mais efetiva. Além de parasitos e predadores entomófagos, foram observados vários pássaros e anuros predando as larvas de S. frugiperda (Dew, 1913).

Allen (1921), citou a ocorrência, em abundância, de um parasito de família Bombylidae, Antrax lucifer na região do Missisipi, EUA, atacando lagartas de S. frugiperda.

Smith (1921) observou dois dípteros parasitando S. frugiperda com frequência no campo (Estado de Kansas, EUA).

Luginbill (1928) citou que os surtos populacionais de S. frugiperda ocorrem quando os inimigos naturais dela são reduzidos por alguma razão, permitindo desta forma, que a praga proliferare atingindo altas densidades populacionais. Os parasitos de S. frugiperda citados pelo referido autor, no sul dos EUA foram Ophion bilineatus Say, Sagaritis dubitatus Cress., S. oxylus Cress., Neopristomerus appalachianus Viereck, Enichospilus purgatus Say, da família Ichneumonidae; Chelonus texanus Cress., Apanteles marginiventris Cress., Meteorus autographae Mues., M. laphygmae Vier., M. vulgaris Cress., Rogas terminalis Cress., R. laphygmae Viereck, da família Braconidae e Trichogramma minutum Riley e Euplectrus comstockii How., E. platyhyphenae How., Brachymeris robusta Cresson, Spilochalcis femorata Fab., e S. vittata Ashmead, da Superfam. Chalcidoidea Winthemia gradupustulata Tachinidae foi um dos dípteros frequentemente encontrados. Dos predadores mais importantes citados, foram Calosoma calidum (Col., Carábidae) e Apateticus maculiventris (Hemiptera, Pentatomidae).

Thomson (1946), no "Catálogo de parasitos e predadores de insetos pragas", salientou vários invertebrados parasitos e predadores de Spodoptera frugiperda em diferentes países.

Leiderman e Sauer (1953) encontraram no Brasil, na região de Campinas, o parasito Acroglossa sp. (díptero) e entre os predadores, encontraram Polybia atra e P. occidentalis scutellaris. Silva et al. (1968) apresentaram uma relação de parasitos e predadores de S. frugiperda que ocorrem no Uruguai, Paraguai, Argentina e Brasil. Entre os parasitos e predadores encontrados no Brasil estão: Amblyteles sp., Eiphosoma vitticole Cress. 1865, Ophion flavidus (Brullé, 1846) (Ichneumonidae); Iphiaulax tucumanus (Bréthes, 1913) e Chelonus texanus Cresson, 1872 (Braconidae), Trichogramma koehleri Blanchard, 1927 (Trichogrammatidae); Euplectrus platyhypenae How., 1880 (Eulophidae); Brachymeria ovata (Say, 1824) (Chalcididae); Lespesia sp., Archytas incasanus TT., 1912, A. incertus (Macquart, 1851), Prophryno sp. e Pseudokea sp., (Tachinidae). Os predadores citados foram Polybia atra Sauss., P. scutellaris (White, 1841) (Vespididae), Alcaeorrhynchus grandis (Dallas, 1851), (Pentatomidae) e Labidura riparia (Dallas, 1773) (Dermaptera, Labiduridae).

Palomino (1965), numa investigação sobre parasitismo em S. frugiperda no campo em La Molina (Peru), encontrou três taquinídeos, Archytas marmoratus (Towns) e 2 espécies do gênero Winthemia.

Morey (1971) afirmou que, entre vários noctuídeos, S. frugiperda é um dos hospedeiros favoritos de Campoletis flavicincta (= C. grioti) no Uruguai.

### 2.3 - Biologia de Campoletis flavicineta (= C. grioti)

De acordo com Carlson (1972) Campoletis flavicineta foi descrita sob vários nomes como Limneria flavicineta Ash., (1890), Amorphota nocturna Viereck (1905); Limnerium perdistinctus Viereck, 1905; L. (Campoletis) prodeniae Viereck, 1911; Sagaritis modestus Viereck, 1925; S. trochanteralis Viereck, 1925, 1926; S. twinai Viereck, 1925, 1926. O mesmo autor também considera C. grioti como provável sinonímia de C. flavicineta (R. Carlson, com. pes.). O nome C. perdistincta foi muitas vezes colocado erradamente para C. sonorensis (Cameron); que é o sinônimo de C. websteri (Carlson, 1972).

De acordo com Noble e Graham (1966), C. sonorensis (= C. perdistinctus) é distribuído em regiões temperadas e subtropicais da América do Norte, mas Carlson (1972) apresentou sua distribuição geográfica desde Toronto, Ontario e Cowichan Bay (Ilhas de Vancouver), Colúmbia Inglesa no Norte até Montevidéu, Uruguai, na América do Sul.

A mesma espécie tem vários hospedeiros Lepidópteros, especialmente da família Noctuidae. Wene (1943) mencionou que C. sonorensis foi muito abundante como parasito de Heliothis virescens (F) na Virgínia; de dois campos de fumo examinados, um desses mostrou mais do que 50% de parasitismo, alcançando até 94%.

Noble e Graham (1966) durante o estudo do comportamento de C. sonorensis como parasito de H. virescens, determinaram, em estudo preliminar, de laboratório, que C. sonorensis não tinha preferência entre H. virescens e H. zea ambas pragas importantes de algodoeiro.

A morfologia, desenvolvimento e comportamento de estágios imaturos do parasito Campoletis sonorensis foram estudados por Wilson e Ridgway (1975).

Morey (1971) considerou C. flavicineta como parasito mais eficaz de S. frugiperda e outras espécies hospedeiras igualmente importantes no Uruguai.

Carlson (1972) constatou entre os hospedeiros mais importantes de S. flavicineta: Heliothis zea, Spodoptera frugiperda, S. ornithogali, S. eridania e Pseudaletia unipuncta; conseguiu também criar satisfatoriamente o parasito em Pieris rapae, Ostrinia nubilalis, Udea rubigalis, Agrotis ipsilon, Dargida provincineta e Lacinipolia stricta.

Ainda que C. flavicineta tenha vários hospedeiros e seja conhecido como um dos parasitos importantes de larvas de noctuídeos, as principais informações à seu respeito vêm de trabalhos de Morey (1971), que estudou brevemente a biologia e o comportamento dos adultos dessa espécie em laboratório e Noble & Graham (1966) que estudaram o comportamento reprodutivo de S. sonorensis como parasito de Heliothis virescens.

#### 2.4 - Ocorrência de doenças em Spodoptera frugiperda

As larvas de S. frugiperda, como a maioria dos insetos, sofrem doenças infecciosas naturais como micoses, bacterioses, viroses e protozooses.

Chapman e Glaser (1915) foram os primeiros a registrar a ocorrência de virose em larvas de S. frugiperda em condições de campo e de laboratório. A doença foi detectada por Allen (1921) que relacionou a epizootia com as condições climáticas da região do Mississippi.

Garcia (1979) isolou VPN, pela primeira vez no Brasil, de larvas de S. frugiperda. A autora estudou detalhadamente a sintomatologia externa, a histopatologia em tecidos infectados e avaliou os níveis de susceptibilidade do inseto e a virulência do agente indicando a possibilidade de utilização do vírus no controle microbiano de S. frugiperda.

Além de vírus de VPN, Steinhaus e Marsh (1963) detectaram a presença de vírus de granulose em larvas de S. frugiperda.

Em relação à micose, o fungo Nomureae rileyi ataca as larvas desta praga na Colúmbia (Steinhaus e Marsh, 1963), N. rileyi e Aspergillus flavus também na Colúmbia (Tomas e Poinar, 1973) e Nomureae rileyi no Brasil (Patel e Habib, 1980b).

No Brasil, Garcia e Habib (1978) isolaram Aspergillus parasiticus de adultos mortos de S. frugiperda; Esses mencionaram que o fungo não possui a capacidade fisiológica suficiente para causar a morte de larvas.

Bacterioses em larvas de S. frugiperda causadas por Aerobacter aerogenes, Ervinia sp., Serratia marcescens e Pseudomonas aeruginosa na Colômbia e no Uruguai foram registrados por Tomas e Poinar(1973). Garcia (1979) observou a ocorrência de P. aeruginosa em populações de S. frugiperda em laboratório e no campo, no Brasil.

Patel e Habib (1980a) registraram a ocorrência de protozoose causada por Vairimorpha necatrix em larvas de S. frugiperda em condições de campo e de laboratório.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 - Manutenção e biologia de S. frugiperda em laboratório

Para iniciar a criação de S. frugiperda em laboratório, as larvas foram coletadas em campos de milho, na região de Campinas, S.P., e criadas individualmente até o estágio adulto, sob condições não controladas de temperatura e umidade relativa.

Para a obtenção de ovos, montaram viveiros utilizando-se recipientes de vidro de 20cm de altura por 20cm de diâmetro, cobertos com gaze. No interior destes viveiros colocaram-se, como substrato para pouso e oviposição das mariposas, plântulas ou folhas de milho com suas bases imersas em pequenos vidros com água. Diariamente, os adultos emergidos eram colocados nestes cristalizados, sendo as folhas com ovos substituídas por outras frescas.

Os ovos eram colocados em frascos de 14cm de altura e 8cm de diâmetro, tampados com papéis de filtro e alumínio perfurado. Após a eclosão, as larvas eram criadas em grupos nesses frascos, até o fim do 2º estágio larval. Quando o comportamento de canibalismo se acentuava, as larvas eram separadas e criadas em frascos de 8cm de altura e 3,5cm de diâmetro, onde empupavam e metamorfoseavam-se em adultos.

As larvas eram alimentadas com folha de milho e os adultos com solução de mel de abelha a 10%.

Diariamente, os vidros de criação eram limpos e a alimentação renovada.

Esta criação geral foi mantida durante todo o período da realização do presente trabalho e serviu como fonte de larvas para

todos os estudos de laboratório aqui apresentados.

Para o estudo de biologia, larvas recém-eclodidas foram criadas individualmente em vidros (3cm de altura e 2cm de diâmetro), devidamente numerados e tampados com chumaço de algodão. Após o 3º estágio, as larvas foram transferidas para vidros maiores (8cm de altura e 3.5cm de diâmetro) com seus respectivos números e também tampados com chumaço de algodão.

As larvas foram alimentadas com as partes tenras da folha de milho; os vidros eram limpos e a alimentação substituída diariamente.

Para observações de atividades reprodutivas, os casais foram separados, colocando-se cada casal da mesma idade num frasco numerado (14cm de altura e 7,5cm de diâmetro), contendo um vidro pequeno com uma plântula de milho para receber os ovos e para os adultos pousarem. Esses vidros foram tampados com gaze, sobre a qual diariamente foi colocado um pedaço de algodão embebido com solução de mel de abelha a 10%, como fonte de alimento para os adultos.

### 3.2 - Manutenção e Biologia de Campoletis flavicincta em Laboratório

A criação de estoque de C. flavicincta foi iniciada a partir de coletas de larvas de S. frugiperda do campo. Em vários casos, foram coletadas pupas do parasito, encontradas junto com o tegumento do hospedeiro morto.

Os adultos do parasito, emergidos no laboratório, foram acasalados e separados em casais mantidos em vidros (8 cm por 3,5 cm de diâmetro) tampados com gaze, sobre a qual se colocava um pedaço de algodão embebido em solução acucarada a 10%.

As fêmeas fecundadas foram colocadas em recipientes de vidro (20cm de altura e 20cm de diâmetro) onde receberam larvas dos 3 primeiros estádios do hospedeiro. Cada recipiente recebem duas fêmeas de parasito e 200 larvas hospedeiras. De acordo com as observações preliminares, estabeleceu-se um período de contacto de 6 horas, entre a fêmea parasita e as larvas do hospedeiro. Após o contacto, as larvas foram individualizadas em vidros (8cm por 3,5cm de diâmetro) contendo alimento e tampados com chumaço de algodão. Estas larvas receberam o mesmo tratamento anteriormente descrito para a criação geral do hospedeiro.

A criação geral do parasito foi periodicamente alimentada por indivíduos novos coletados no campo. Este procedimento teve por finalidade a manutenção da variabilidade genética do parasito, como também diminuir a reprodução por partenogênese.

Para o estudo da biologia, uma fêmea anteriormente acasalada foi colocada em um recipiente de (10 cm por 14 cm de diâmetro) com 10 larvas de S. frugiperda, de 2º está-

dio. O recipiente de vidro por sua vez, foi tampado com uma placa de vidro.

O tempo exato de oviposição, em cada larva, foi anotado. A larva logo parasitada foi retirada cuidadosamente e substituída por outra não parasitada. Todas as larvas retiradas do recipiente foram individualizadas em vidros (com data, horas, minutos e segundos marcados) com alimento e fechados por chumaço de algodão. Amostras de 5 larvas parasitadas foram tomadas para os intervalos de 12, horas após o parasitismo. Estas larvas foram anestesiadas com éter sulfúrico, fixadas em álcool a 70% e dissecadas para observação do estágio de desenvolvimento do parasito. As amostragens foram tomadas até a formação de casulos.

Ovos e larvas do parasito foram retirados do hospedeiro, medidos, usando-se ocular micrométrica, desenhados com auxílio de lupa binocular estereoscópica e câmara clara e montados em lâminas. As larvas do último estágio e as prepupas, devido ao seu tamanho, não foram montadas em lâminas, mas preservadas em álcool 60%.

Para obtenção de dados sobre oviposição, 7 fêmeas, 2 horas após a emergência, foram acasaladas e utilizadas depois de 24 horas. Diariamente, durante duas horas, 40 larvas de S. frugiperda eram oferecidas para cada fêmea de C. flavicineta. Este processo se repetia durante toda a longevidade do adulto. As larvas parasitadas foram individualizadas em vidros datados e numerados e criados de acordo com a metodologia anteriormente descrita até o estágio adulto.

A mesma metodologia foi utilizada para a obtenção de dados sobre capacidade de distinção da fêmea entre hospedeiros parasitados e taxa de superparasitismo. No final das 2 horas de exposição, todas as 40 larvas eram dissecadas para a observação do número de ovos por hospedeiro, assim total de 756 larvas de S. frugiperda foram oferecidas, dissecadas e examinadas.

Para as observações do tempo de duração da cópula, 20 casais de C. flavicineta foram utilizados.

Para avaliar o efeito do tamanho do hospedeiro no desenvolvimento e no sexo de C. flavicineta, um total de 1.999 larvas dos 4 primeiros estádios de S. frugiperda foi oferecido em vários tratamentos, para fêmeas fecundadas de C. flavicineta.

### 3.3 - Parasitismo em Spodoptera frugiperda no Campo

Para se fazer o levantamento de parasitos em populações de S. frugiperda, a maioria das coletas foram realizadas no município de Campinas, SP. Algumas coletas foram feitas, entretanto, em diferentes municípios do Estado de São Paulo, como: Piraçununga, Leme, Casa-Branca, São João da Boa Vista, Itu, Piedade, Votorantim e Bragança Paulista.

Todas as coletas foram realizadas entre setembro de 1976 e setembro de 1979, durante as épocas de plantio do milho. O número de coletas e a quantidade de larvas coletadas dependiam do grau de infestação nos milharais.

Devido ao hábito canibal, as larvas, ao serem coletadas, foram individualizadas em vidros de 8 cm por 3,5 cm de diâmetro, tampados com chumaço de algodão. O material coletado foi mantido em caixas de isopor até a chegada no laboratório.

Após cada coleta, as larvas foram numeradas e criadas em laboratório, até a emergência de adultos (parasitos nos casos de larvas parasitadas, ou S. frugiperda nos casos de larvas não parasitadas). Os parasitos que emergiam foram fixados e etiquetados.

Os braconídeos foram identificados pelo Dr. Max Fisher, do "Naturhistorisches Museum", Burgring, Áustria; os icneumonídeos, pelo Dr. R.W. Carson do "Insect Identification and Beneficial Insect Introduction Institute", Beltsville, Maryland, EUA;

outros himenóperos pelo Dr. Santis da "Facultad de Ciencias Naturales Y Museo", La Plata, Argentina; e, os taquinídeos, por Dr. José Guimarães do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brasil.

### 3.4 - Ocorrência de doenças em populações de Spodoptera frugiperda

No decorrer deste trabalho, as larvas que morreram foram examinadas para a determinação da causa. Desta forma, foram identificadas as doenças causadas por vírus de poliedrose nuclear (VPN), bacteriose causada por Pseudomonas aeruginosa, micose causada por Nomureae rileyi e Aspergillus parasiticus e protozoose causada por Vairimorpha necatrix.

O presente estudo restringiu-se à observação de micoses por N.rileyi, A. parasiticus e protozoose causada por V. necatrix. As primeiras ocorriam no campo, enquanto que a segunda ocorria em laboratório.

### 3.4.1 - Micose causada por Nomuraea rileyi

Após a análise inicial dos sintomas, as lagartas não totalmente mumificadas, foram isoladas em vidros, tampados com algodão e mantidas à temperatura do laboratório, até a ocorrência de esporulação. As larvas mumificadas já cobertas com esporos, foram guardadas a seco, em vidros fechados com tampas de plástico, lacrados com parafina, embrulhados em papel alumínio e guardados na geladeira a 8-10°C.

Para se avaliar a virulência do fungo, aplicar os postulados de Koch e determinar a sequência dos sintomas, foram infectadas, por contato, larvas de S. frugiperda com suspensões de concentrações variáveis em "tween 80", usando-se microsseringa. Tanto os tratamentos, como as testemunhas, foram mantidos sob condições normais de temperatura e U.R. de laboratório.

As observações foram anotadas diariamente adotando-se os critérios de Steinhaus (1963), Habib & Andrade (1977) e Habib (1978b).

O isolamento do fungo foi feito em tubos de ensaio e placas de Petri com meio completo (Azevedo e Costa, 1973).

A identificação do fungo foi confirmada pelo Prof. Donald M. MacLeod, micologista do "Canadian Forestry Service, Insect Pathology Research Institute", Sault Ste. Marie, Ontario, Canada.

### 3.4.2 - Micose causada por Aspergillus parasiticus

As larvas de S. frugiperda coletadas no campo foram criadas individualmente, esperando a emergência dos parasitos. A micose foi observada em pupas dos parasitos C. texanus e C. flavicincta e em larvas parasitadas de S. frugiperda.

Ovos e larvas de S. frugiperda foram artificialmente infectados em laboratório com A. parasiticus. As infecções foram feitas por contacto, utilizando esporos antes do contacto com os parasitos. Utilizaram-se C. texanus e C. flavicincta como agentes inoculadores. Posteriormente, avaliou-se a ocorrência de micose nas larvas hospedeiras e nos seus parasitos.

O fungo foi isolado em tubos de ensaios e placas de Petri com meio Ágar Nutriente. As temperaturas e umidades relativas foram registradas diariamente durante a realização deste trabalho.

Foram examinadas 489 larvas coletadas no campo. Para testes de laboratório, foram oferecidos 300 ovos a C. texanus e 31 larvas (2º estágio) a C. flavicincta.

O fungo foi identificado, utilizando-se a chave de Raper & Fennell (1965) e comparado com o fungo isolado por Garcia & Habib (1978).

### 3.4.3 - Protozoose

No caso de protozoose, as larvas demonstrando os sintomas patológicos foram fixadas em solução de Bouin acético. Para os estudos histopatológicos foram utilizadas técnicas básicas de histologia para microscopia ótica.

Para o estudo de sintomatologia seguiram-se os parâmetros indicados por Steinhaus (1963) e Habib (1978b).

A identificação do microsporídeo foi confirmada pelo Dr. Hazard, Protozoologista do "Insects Affecting Man and Animals Research Laboratory", Florida, EUA, como Vairimorpha necatrix (Kramer, 1965), Protozoa: Microsporida.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Estudos de Laboratório

4.1.1 - Biologia de Spodoptera frugiperda

Estágio de ovo

As atividades sexuais e reprodutivas de S. frugiperda são noturnas, como da maioria dos noctuídeos. As fêmeas desta espécie depositam os seus ovos em massas, em forma de camadas superpostas (2 a 4 camadas), cobertas por escamas e secreções glândulares adesivas da própria fêmea (fig. 1). O mesmo fenômeno foi observado por Dew (1913), Luginbill (1928) e Leiderman & Sauer (1953). Em condições de laboratório, a fêmea colocou os ovos em qualquer superfície da folha de milho sem mostrar preferência. As coletas de campo também não revelaram qualquer preferência de superfície para a oviposição. Por outro lado, Leiderman & Sauer (1953) mencionaram que a fêmea de S. frugiperda deposita os ovos, preferencialmente no lado superior da folha.

O tempo de incubação de ovos da 1a. geração foi de 2 dias, sob condições médias de 27,50°C (max), 24,25°C (min) e 75,61% U.R. O tempo de incubação do mesmo estágio na 2a. geração foi de 3 dias sob condições médias de 25,60°C (max), 21,97°C (min) e 68,65% U.R. Luginbill (1928) mencionou que o período de incubação depende basicamente das condições de temperatura, enquanto que a U.R. desempenha um papel secundário.

Luginbill (1928) obteve uma duração média de 5,28 dias para a incubação de ovo com um mínimo de 2 dias durante o verão e de 10 dias durante o inverno.

#### Estágio larval (fig.2)

As larvas, logo após a eclosão, alimentam-se do conteúdo dos seus ovos; em seguida, começam o seu deslocamento e alimentam-se dos parênquimas das folhas tenras. Este hábito alimentar das larvas jovens, que se manifesta durante os primeiros dois estádios, foi observado também por Dew (1913) e Leiderman & Sauer (1953). Os dados do presente trabalho indicam que a larva de S. frugiperda passa por 6 estádios. O canibalismo foi observado a partir do 3º estágio. O tempo de duração dos estádios larvais e do estágio larval total encontra-se na tabela 1. As condições médias de temperatura e de umidade relativa durante a 1a. geração foram de 28,09°C e 71,49% U.R.; enquanto que durante a 2a. geração foram de 24,54°C e 69,31% U.R.

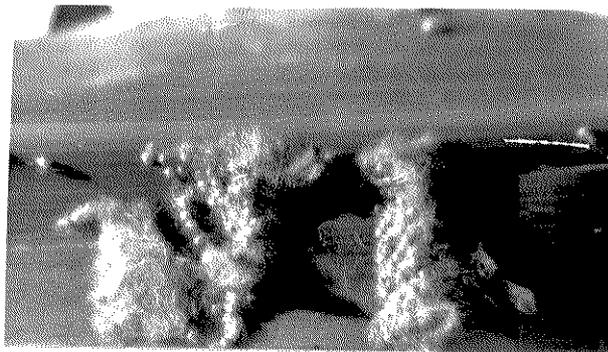


Fig. 1: Massas de ovos de S. frugiperda (2x)

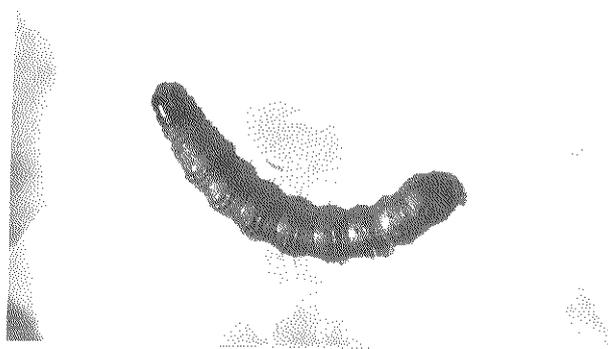


Fig. 2: Larva do 69º estágio de S. frugiperda (tamanho natural)

Tabela 1

Duração em dias dos diferentes estádios larvais e do estágio larval total de S. frugiperda em duas gerações

Estádio	1a Geração					2a Geração						
	n <sup>(*)</sup>	$\bar{x}$	$\pm$	e.p.	Max.	Min.	n <sup>(*)</sup>	$\bar{x}$	$\pm$	e.p.	Max.	Min.
1♀	129	1,67	$\pm$	0,072	3	1	54	1,69	$\pm$	0,083	04	01
2♀	128	1,66	$\pm$	0,053	4	1	54	2,14	$\pm$	0,067	03	01
3♀	126	1,42	$\pm$	0,057	4	1	54	2,19	$\pm$	0,070	04	01
4♀	125	1,78	$\pm$	0,047	3	1	53	2,51	$\pm$	0,106	04	01
5♀	122	2,03	$\pm$	0,048	4	1	45	3,16	$\pm$	0,078	04	02
6♀	118	3,20	$\pm$	0,056	5	2	41	5,32	$\pm$	0,107	08	04
Larval total	118	11,68	$\pm$	0,143	16	10	41	16,80	$\pm$	0,106	18	14

(\*) = n♀ de indivíduos

Os dados da tabela 1 indicam que o desenvolvimento larval é mais rápido nas altas temperaturas e, conseqüentemente, mais lento nas temperaturas baixas, coincidindo com dados de vários autores, como Luginbill (1928) e Habib (1977). A temperatura média foi de 28,09°C para a 1a geração e 24,54°C para a 2a.

#### Estágio pupal

No fim do estágio larval, a lagarta pára de se alimentar, perde peso, diminui de tamanho e se transforma em pré-pupa (fig.3). A fase de pré-pupa durou em média 1,04 dias, durante a primeira geração, e 1,17 dias, na segunda geração. Leiderman & Sauer

(1953) registraram 2 a 3 dias como duração desta fase. O inseto, em seguida se transforma em pupa (fig. 4), um estágio que durou em média 9,2 dias na 1a. geração e 13,44 dias na 2a. geração (detalhes na tabela 2). No campo, este estágio ocorre na camada superficial do solo ou entre o folheto; no laboratório, entre folhas de milho mastigadas com fio de seda. A diferença no tempo de desenvolvimento entre duas gerações, tanto no estágio de pupa como em qualquer outro estágio evolutivo, está relacionada com a diferença de temperatura e umidade relativa das duas gerações. Dew (1913), Luginbill (1928) e Leiderman & Sauer (1953) obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho.

A viabilidade do estágio de pupa foi relativamente alta durante as 2 gerações (96,43% na 1a; 95,12 na 2a). Parra et al. (1971) obtiveram 80% de viabilidade nas pupas mantidas em condições de temperatura ambiente.

Tabela 2

Duração em dias do estágio pré-pupal e pupal de S. frugiperda em duas gerações

Estádio	1a Geração					2a Geração						
	n(*)	$\bar{x}$	$\pm$	e.p.	Max. Min.	n(*)	$\bar{x}$	$\pm$	e.p.	Max. Min.		
Pré-pupa	112	1,04	$\pm$	0,020	2	1	41	1,17	$\pm$	0,069	3	1
Pupa	108	9,20	$\pm$	0,078	11	7	39	13,44	$\pm$	0,141	16	12

(\*) = número de indivíduos

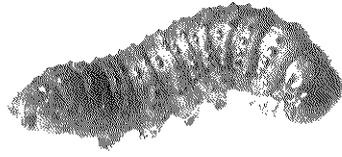


Fig. 3: Pré-pupa de S. frugiperda  
(2x)

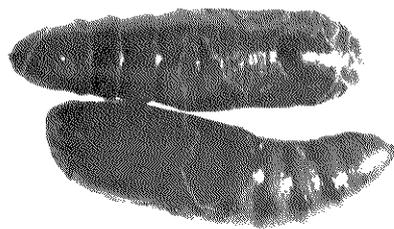


Fig. 4: Pupa de S. frugiperda  
(2x)

### Estágio adulto

A longevidade dos machos de S. frugiperda em condições de laboratório foi em média 13,26 dias na 1a. geração e 15 dias na 2a. geração. Não houve diferença significativa entre a longevidade de machos e de fêmeas (detalhes na tabela 3). A duração dos períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição das duas gerações encontra-se na tabela 4.

O número de ovos colocados por fêmea, durante o período de oviposição, variou de 11 a 3.126 ovos, com uma média de 1.793 ovos/ fêmea na 1a. geração (28,09°C e 71,49% U.R.) e, 1.013 ovos/ fêmea na 2a. geração (24,54°C e 69,31% U.R.). Os resultados de Luginbill (1928) e Leiderman & Sauer (1953) são próximos dos obtidos no presente trabalho, enquanto que os valores obtidos por Dew (1913) são bem inferiores, com intervalo de 160 a 700 ovos/fêmea.

Durante os primeiros 4 dias de oviposição, a fêmea de S. frugiperda depositou a maioria dos seus ovos (média de 87,72% com um mínimo de 76% e um máximo de 100%). Este fato juntamente com os dados sobre a dinâmica populacional no campo, tem valor importante nos estudos de criação, liberação e utilização de parasitos de ovos desta praga.

A figura 5 mostra a porcentagem de ovos colocados por dia durante o período de oviposição, calculados a partir de 20 fêmeas acasaladas.

Tabela 3

Longevidade e ciclo total em dias: machos e fêmeas acasalados de S. frugiperda

SEXO	n <sup>(*)</sup>	LONGEVIDADE			CICLO TOTAL			
		$\bar{x}$	$\pm$ e.p.	Max. Min.	$\bar{x}$	$\pm$ e.p.	Max. Min.	
<u>1a geração</u>								
Machos	20	13,26	$\pm$ 0,772	22	8	35,63	$\pm$ 0,689	41 31
Fêmeas	20	13,25	$\pm$ 0,948	21	7	36,30	$\pm$ 0,950	43 29
<u>2a geração</u>								
Machos	16	15,00	$\pm$ 1,969	34	4	50,50	$\pm$ 1,814	65 38
Fêmeas	17	16,65	$\pm$ 1,286	28	8	49,77	$\pm$ 1,462	63 40

(\*) = número de espécimes

Tabela 4

Períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição: fêmeas de S. frugiperda

GERAÇÃO	n <sup>(*)</sup>	PRÉ-OVIPOSIÇÃO		OVIPOSIÇÃO		PÓS-OVIPOSIÇÃO				
		$\bar{x}$	$\pm$ e.p. Inter- valo	$\bar{x}$	$\pm$ e.p. Inter- valo	$\bar{x}$	$\pm$ e.p. Inter- valo			
1a.	20	2,75	$\pm$ 0,190	4-12	5,45	$\pm$ 0,600	1-14	5,55	$\pm$ 0,759	1-14
2a.	17	5,59	$\pm$ 0,777	2-15	6,06	$\pm$ 0,825	1-12	5,00	$\pm$ 1,000	1-13

(\*) = número de espécimes

Ciclo Total:

O ciclo total de S. frugiperda durou em média 36 e 50 dias nas duas gerações respectivamente (tabela 3). Dew (1913) e Luginbill (1928) revelaram resultados semelhantes aos do presente trabalho.

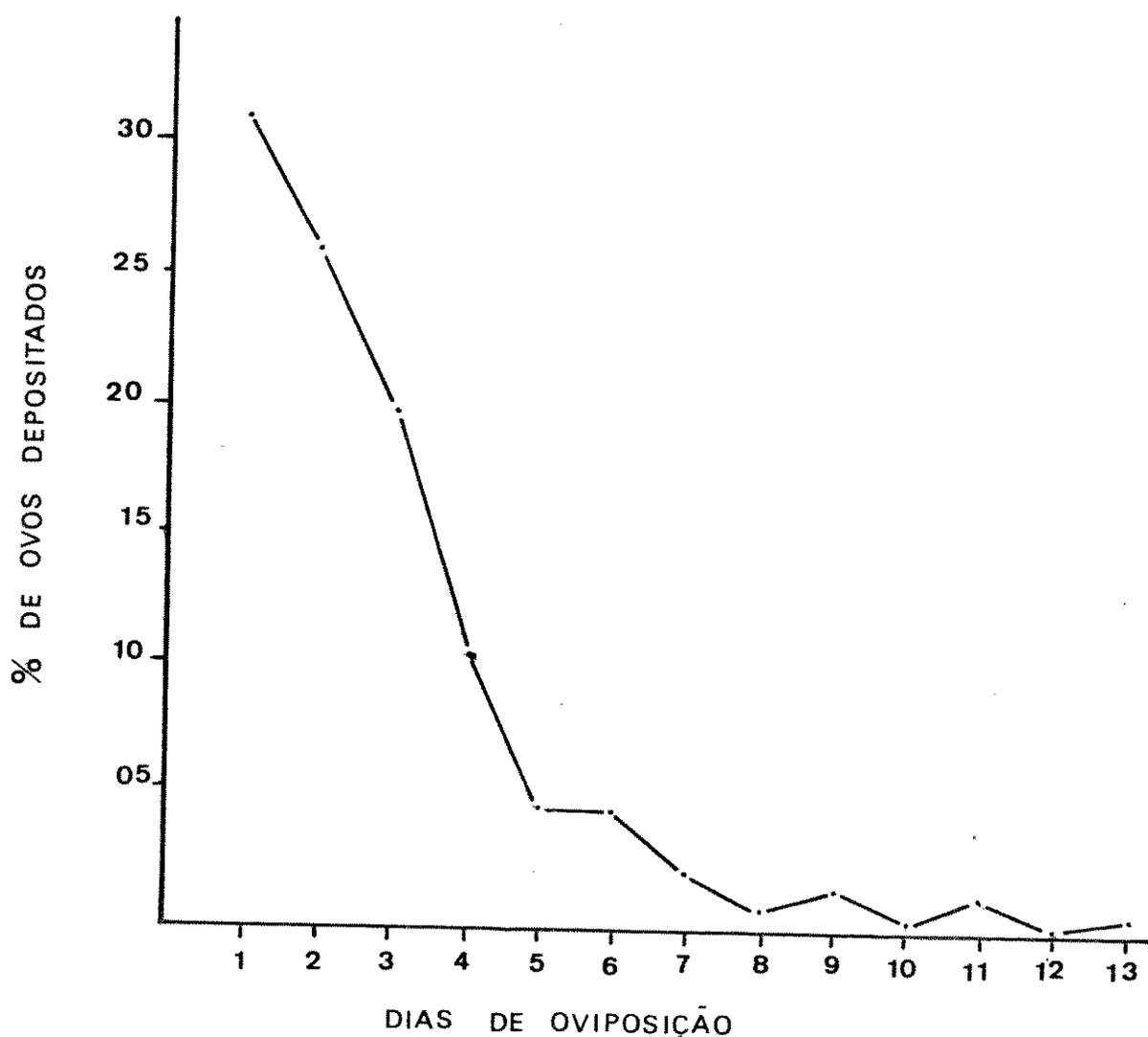


Fig. 5: Frequência de oviposição em fêmeas de S. frugiperda.

#### 4.1.2 - Biologia de Campoletis flavicineta

##### Estágio de ovo

Os ovos de C. flavicineta são tipicamente himenopte-  
riformes com as extremidades arredondadas (fig. 6-A).

A coloração dos ovos dessa espécie, logo após a de-  
posição, é castanha clara, adquirindo a tonalidade mais escu-  
ra algumas horas depois. Dentro do gênero Campoletis e até nu-  
ma dada espécie deste gênero, parece haver diferenças quanto  
à coloração da cório. Morey (1971) cita que a coloração de  
ovos de C. flavicineta é acinzentada, o que não coincide com  
as observações do presente trabalho. Entretanto, a mudança  
gradual de coloração durante o período de incubação,  
parece ser uma constante em muitos grupos. No gênero Campole-  
tis, por exemplo, de acordo com Wilson & Ridgway (1975), os  
ovos de C. sonorensis são de coloração branca translúcida no  
momento de oviposição, passando a marron translúcida poucas  
horas depois, aproximando-se muito do observado no presente  
trabalho.

O período de incubação de ovos da maioria dos icneu-  
monídeos, de acordo com Clausen (1972), é relativamente curto.  
No presente trabalho este período foi relacionado apenas com  
a temperatura do laboratório (tabela 5), e não com umidade re-  
lativa, devido ao fato dos ovos serem colocados  
internamente no hospedeiro e das diferenças de umidade observa-  
das durante o período (tabela 5) serem relativamente pequenas e

provavelmente não chegarem a alterar fisiologicamente as larvas de S. frugiperda.

Em alguns icneumonídeos endoparasitos, os ovos aumentam em tamanho durante o período de incubação, devido à absorção de água. Este aumento de tamanho não é tão pronunciado quanto o que se observa em ovos de braconídeos (Clausen, 1972). Em C. flavicineta este fenômeno manifestou-se de maneira pouco pronunciada (fig. 6-B). Dados de comprimento e largura médios de ovos deste parasito encontram-se na tabela 6. Wilson & Ridgway (1975) revelaram valores superiores aos do presente trabalho para ovos de C. sonorensis.

Poucas horas antes da eclosão, foi observado que o embrião de C. flavicineta apresentava-se nitidamente diferenciado com as glândulas salivares bem desenvolvidas (Fig. 6-C), e os seus movimentos eram facilmente observados com auxílio de lupa binocular. A eclosão ocorria, na maioria das vezes, por rompimento de uma área circular numa das extremidades do cório. Porém, em alguns casos, a eclosão ocorria por simples rachaduras longitudinais do mesmo.

Tabela 5

Período de incubação de ovos de C. flavicineta, com os respectivos períodos, temperaturas e umidades relativas médias

<u>PERÍODO (HORAS)</u>	<u>ÉPOCA</u>	<u>TEMP.</u>	<u>U.R.</u>
48	Dez. 1978	23,70	79,20
60	Out. 1979	22,98	75,65
76	Mai 1979	18,30	75,63
96	Julho 1979	20,30	73,70

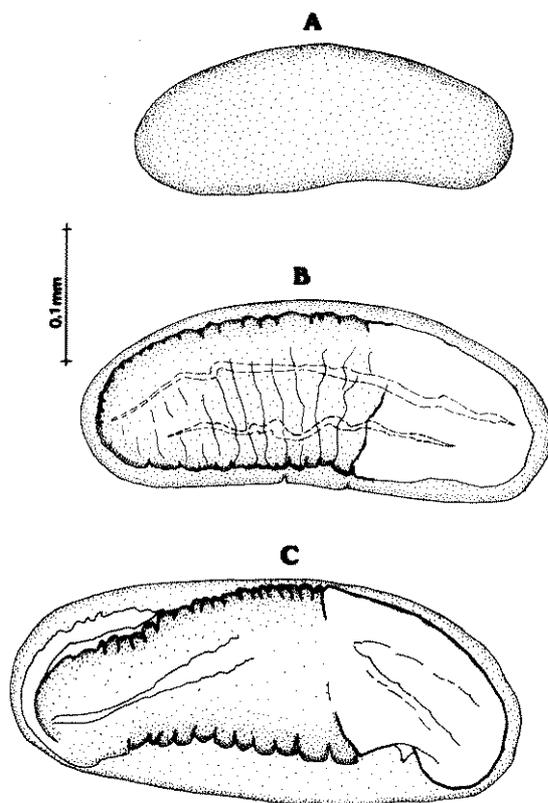


Fig. 6: Estádio de ovo de C. flavicineta

A - Ovo recém colocado

B - Embrião em desenvolvimento

C - Embrião desenvolvido

### Estádio larval

Foi observado que a larva de C. flavicineta passa por 4 estádios larvais antes de emergir do corpo do seu hospedeiro, para se transformar em pupa. De acordo com Clausen (1972) e DeBach (1964), os icneumonídeos passam por 3 a 5 estádios larvais dependendo da espécie. Wilson & Ridgway (1975) determinaram 5 estádios para C. sonorensis.

Tempo de duração e dimensões dos 4 estádios de C. flavicineta, observados no presente trabalho, encontram-se na tabela 6.

A larva recém-eclodida é achatada lateralmente, com o último segmento abdominal projetado posteriormente numa cauda longa, estreita e fina. O comprimento dessa cauda corresponde à metade do comprimento da larva do 1º estágio (fig. 7).

A coloração da larva, durante os primeiros 3 estádios, é branca translúcida adquirindo a cor creme no último estágio. Nos primeiros 3 estádios, as glândulas salivares não são facilmente visíveis.

A partir do 2º estágio, a cauda praticamente desaparece, atingindo apenas 1/10 do comprimento da larva (fig. 8). Também a partir do mesmo estágio, a larva adquire o formato cilíndrico, evidente no 3º estágio (Fig. 9).

Morfológicamente (fig. 10), os vestígios das pernas torácicas aparecem nas larvas do 4º estágio. Também a determinação do sexo pode ser feita neste mesmo estágio, onde já se evidenciam os três pares de orifícios genitais na fêmea

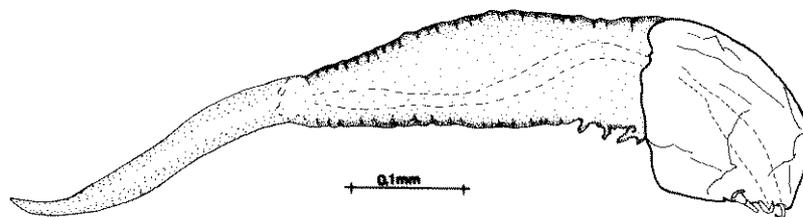


Fig. 7: 1ª estãdio larval de C. flavicineta

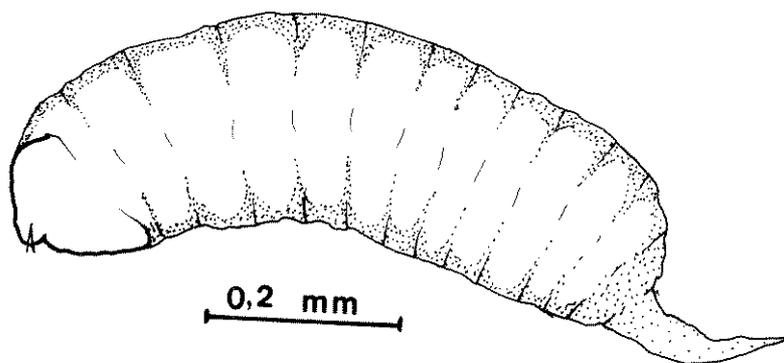


Fig. 8: 2ª estãdio larval de C. flavicineta

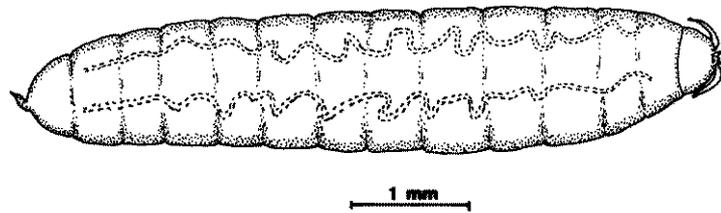


Fig. 9: 3<sup>o</sup> estágio larval de C. flavicineta

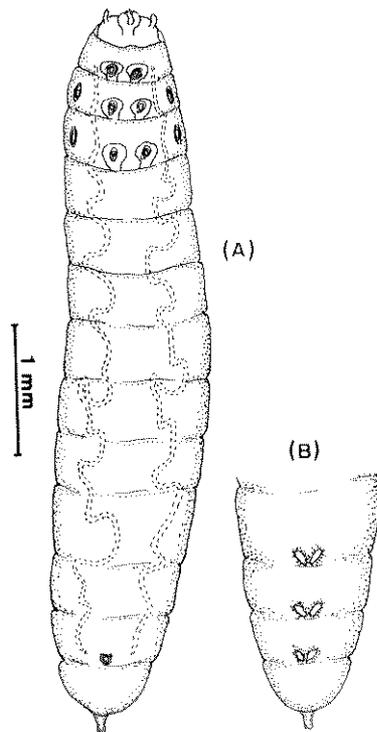


Fig. 10: 4<sup>o</sup> estágio larval de C. flavicineta

(nos 10º, 11º e 12º segmentos); enquanto que no macho, observa-se apenas um par de orifícios no 12º segmento (fig. 10)

A larva desse parasito, durante o seu último estágio, ocupa praticamente todo o espaço interno do corpo do seu hospedeiro. Sob lupa binocular, em larvas intactas do último estágio, foram localizadas as duas glândulas salivares extendidas lateralmente ao longo do corpo, até o último segmento abdominal. Esta larva quando termina o seu desenvolvimento, emerge perfurando ventralmente o tegumento da região posterior do abdome da larva hospedeira.

#### Estágio de pré-pupa e pupa (fig. 11)

Logo após a emergência do corpo do hospedeiro, a larva de C. flavicineta começa a secreção dos fios de seda para a formação do seu casulo, abrigo no qual se transforma em pupa.

O processo de construção de casulo também foi observado por Wilson & Ridgway (1974).

A diferenciação do corpo da pré-pupa em cabeça e abdome torna-se evidente neste estágio, coincidindo com as descrições de Wilson & Ridgway (1975).

O tempo de duração do estágio de pré-pupa, com as respectivas dimensões em milímetros, encontram-se na tabela 6.

Os estágios de pré-pupa e pupa considerados conjuntamente demoraram uma média de  $8,24 \pm 0.437$  dias ; o estágio pré-pupal durou apenas 12 horas.

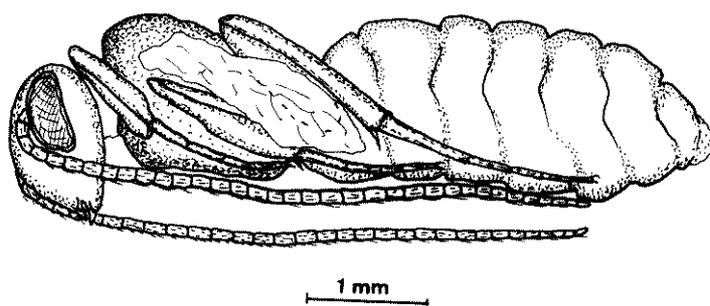


Fig. 11: Pupa de C. flavicincta

Tabela 6

Duração (horas) e dimensões (mm) de alguns estágios evolutivos de C. flavicincta, em condições de 30°C e 75% de U.R.

Estágio	n (*)	Duração	Corpo		Comprimento Cauda $\bar{x}$	Cabeça	
			Comprimento $\bar{x}$	Largura $\bar{x}$		Comprimento $\bar{x}$	Largura $\bar{x}$
Ovo	22	48	0,34 ± 0,005	0,13 ± 0,002	-	-	-
Intervalo			0,31 - 0,37	0,12 - 0,14			
Estágio larval 1º estágio	16	48	0,99 ± 0,800	0,24 ± 0,021	0,53 ± 0,030	0,17 ± 0,003	0,20 ± 0,010
Intervalo			0,53 - 0,41	0,11 - 0,35	0,31 - 0,75	0,15 - 0,20	0,13 - 0,24
2º estágio	19	48	2,62 ± 0,164	0,71 ± 0,046	0,23 ± 0,021	0,30 ± 0,011	0,40 ± 0,014
Intervalo			1,57 - 3,71	0,44 - 0,98	0,14 - 0,37	0,24 - 0,40	0,33 - 0,52
3º estágio	11	36	5,12 ± 0,185	1,17 ± 0,039	0,14 ± 0,009	0,34 ± 0,017	0,49 ± 0,019
Intervalo			4,09 - 5,89	0,92 - 1,41	0,09 - 0,16	0,28 - 0,44	0,40 - 0,58
4º estágio	10	24	8,14 ± 0,302	1,84 ± 0,102	-	0,51 ± 0,089	0,83 ± 0,115
Intervalo			7,23 ± 10,08	1,45 - 2,42		0,29 - 0,94	0,54 - 1,40
Pré-pupa	07	12	6,48 ± 0,188	2,23 ± 0,055	-	-	-
Intervalo			5,80 - 7,20	2,0 - 2,40			

(\*) = número de exemplares

Estágio adulto (fig. 12)

#### A- Acasalamento

As observações do presente trabalho indicam que C. flavicineta não apresenta período de maturação sexual; os adultos logo após a emergência, estão totalmente aptos para o corte e o acasalamento. A ausência de tal período é comum entre vários parasitos entomófagos (DeBach, 1964). A fêmea não aceitava acasalamento com macho quando a diferença de idade era maior do que 3 dias. O mesmo fato foi observado por Morey (1971). A fêmea, normalmente acasalava-se apenas uma vez. Porém, em alguns casos, observaram-se acasalamentos consecutivos e de curta duração. A cópula teve duração média de  $4,38 \pm 0,25$  minutos com um máximo de 7,04 e um mínimo de 3,1 minutos (observações de 20 casais).

O comportamento de corte do macho desta espécie é mais evidente do que o da fêmea. Este comportamento foi detalhadamente descrito por Morey (1971) para a mesma espécie e por Gangrade (1964) para uma espécie asiática.

#### B- Partenogênese

As fêmeas de C. flavicineta, várias vezes, reproduziram-se por partenogênese. A prole, neste caso, consistiu somente de machos. Este fenômeno, além de ocorrer em fêmeas virgens, também manifestou-se em fêmeas acasaladas. Partenogênese nesta espécie também foi observada por Morey (1971).

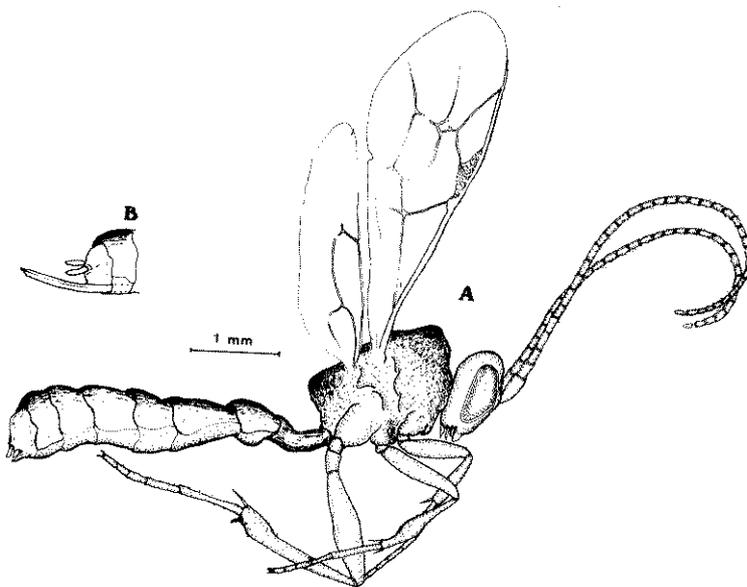


Fig. 12: Adulto de C. flavicineta

A - macho

B - fêmea

Os fatores intrínsecos e extrínsecos que determinam o sexo nos himenópteros parasitos foram discutidos por Flanders (1946) e DeBach (1964). No presente trabalho, a quantidade de larvas hospedeiras oferecidas e o tamanho, foram os fatores mais importantes que determinaram o sexo de C. flavicineta.

### C- Superparasitismo

O presente estudo revelou que C. flavicineta é um parasito solitário. Porém superparasitismo ocorreu, em alguns casos, sob condições de laboratório. O fator principal desse acontecimento foi o pequeno número de larvas hospedeiras oferecidas/fêmea; esse fato nunca foi observado sob condições de campo. Apesar da ocorrência de superparasitismo em laboratório, as fêmeas revelaram alta capacidade de distinguir entre larvas parasitadas e não parasitadas, obtendo-se uma média de superparasitismo de apenas 18%, com um mínimo de 13% e um máximo de 28,7%.

A competição intraespecífica é provavelmente a razão da emergência de apenas um indivíduo parasito por larva superparasitada, desde que o recurso disponível apenas possa sustentar um indivíduo de parasito. Este fato foi muitas vezes comprovado quando ocorreu desenvolvimento de duas ou mais larvas dentro de um hospedeiro e resultou na morte destas antes de completarem o desenvolvimento larval.

#### D - Longevidade e atividades de reprodução

A longevidade de fêmeas provenientes de pupas coletadas no campo foi marcadamente maior que a de fêmeas obtidas em laboratório (tabela 7). Porém, não houve diferença no caso dos machos.

Tabela 7

Longevidades de adultos de C. flavicineta de laboratório e do campo e condições de temp. e U.R. nestes ambientes

	Macho			Fêmea			Temp.	U.R.
	$\bar{x}$	$\pm$ e.p.	Inter.	$\bar{x}$	$\pm$ e.p.	Inter.	$\bar{x}$	$\bar{x}$
Laboratório	8,86	$\pm$ 0,622	1 - 14	9,36	$\pm$ 1,015	5 - 14	26,06	65,39%
Campo	8,6	$\pm$ 1,523	1 - 16	18,33	$\pm$ 3,081	1 - 44	23,38	72,40%

A reprodução foi diretamente afetada pelo estágio de desenvolvimento da larva hospedeira. O presente estudo revelou que o segundo e o terceiro estádios larvais de S. frugiperda são os mais adequados para o desenvolvimento de C. flavicineta. Devido ao pequeno tamanho das larvas do 1º estágio do hospedeiro, a maioria dos indivíduos do parasito sofriam morte precoce sem atingir o estágio adulto (Detalhes no item E).

As larvas do quarto estágio, por outro lado, pela capacidade de defesa, dificultava sempre a oviposição da fêmea parasita. A região posterior da larva hospedeira representa o sítio preferido para a oviposição do parasito. De

497 larvas parasitadas e dissecadas logo após a oviposição, 83,1% foi parasitada nesta região. Por outro lado, não houve diferença significativa entre a oviposição na região mediana do corpo (8,65%) e na região torácica (8,25%).

Sob condições de laboratório, a fêmea de C. flavicincta depositava de 40 a 242 ovos com uma média de 146,43 ovos por fêmea. O período de oviposição correspondia praticamente à longevidade da fêmea. Esta última informação coincide com os dados obtidos por Morey (1971).

E - Efeitos do tamanho do hospedeiro no desenvolvimento e no sexo de C. flavicincta

As larvas dos 4 primeiros estádios de S. frugiperda foi oferecido, em vários tratamentos, para fêmeas fecundadas de C. flavicincta para determinar o efeito do tamanho do hospedeiro sobre o desenvolvimento e o sexo do parasito.

Os dados apresentados na tabela 8 confirmam a inadequação do primeiro estágio larval do hospedeiro, como substrato para o parasito. Sucesso de parasitismo, ou seja desenvolvimento até estágio de pupa do parasito, em larvas hospedeiras do primeiro estágio, atingiu apenas 33,4%, com viabilidade de pupas de 66,67%. Por outro lado, o segundo estágio do hospedeiro resultou em 61,8% de sucesso e 77,16% de viabilidade de pupas. O terceiro estágio do hospedeiro, de acordo com dados na tabela 8, ocuparia o segundo lugar, pois resul-

tou em 46,55% de sucesso com 83,12% de viabilidade. Apesar da alta viabilidade de pupas produzidas em larvas de 4º estágio (88,49%), o sucesso de parasitismo foi de apenas 41,12%.

Considerando a razão sexual como parâmetro, as larvas de S. frugiperda do quarto estágio seriam ideais para o desenvolvimento de C. flavicincta, pois houve uma proporção sexual mais satisfatória para a reprodução da geração seguinte (1:1,4). Os parasitos provenientes do quarto estágio larval apresentaram tamanho maior do que os de quaisquer outros estádios oferecidos. Por outro lado, o segundo estágio larval do hospedeiro, com este parâmetro, ocuparia o último lugar (razão sexual de 1:22). Estes resultados coincidem com observações de vários autores, tais como Shevirev (1913), Salt (1940) e DeBach (1964) para outras espécies de himenópteros parasitos de larvas.

A razão sexual de C. flavicincta do material coletado do campo era praticamente equivalente a do parasito desenvolvido de quarto estágio de S. frugiperda (1:1).

#### Tabela 8

Duração dos estágios larval, pupal e razão sexual de C. flavicincta mantidos em diferentes estádios de S. frugiperda

Estádio Hospedeiro	Total larvas oferecidas	Total casulos	Porcentagem de casulos	Estágio larval $\bar{x}$	Estágio pupal $\bar{x}$	Razão Sexual $\text{♀}:\text{♂}$
1º	154	051	33,2	8,53 ± 0,193	6,24 ± 0,098	1:4,7
2º	680	416	61,18	7,94 ± 0,046	6,93 ± 0,040	1:22
3º	827	385	46,55	8,79 ± 0,065	7,07 ± 0,049	1:38
4º	338	139	41,12	9,86 ± 0,030	6,79 ± 0,051	1:1,4

### Ciclo total

Sob condições de laboratório, de temperatura média de 26,06°C e 65,39% de U.R., as fêmeas de C. flavicineta de moraram em média 23,43 ± 1,021 dias e os machos 22,59 ± 0,598 dias para completarem o seu ciclo de vida.

4.1.3 - Protozoose em larvas de Spodoptera frugiperda causada por Vairimorpha necatrix (Microsporida, Nosematidae)

#### Sintomas externos

As larvas que sofreram a protozoose não apresentaram sintomas tão evidentes, quanto os que decorrem de virose e bacteriose.

O começo da doença foi detectado pela coloração rosada no lado ventral do corpo, especialmente entre os esternos. As larvas demonstraram falta de apetite e ligeira flacidez quando comparadas com as sadias. Nesta fase inicial, em casos de infecções altas, as larvas quase não se alimentavam e mostravam flacidez mais intensa; a coloração tornou-se fortemente rosada e as larvas pararam totalmente de se alimentar e finalmente morreram. As alterações pós-mortais eram mais lentas no seu progresso, do que nas viroses ou bacterioses. O tegumento nunca se desintegrou e não foi detectado cheiro desagradável como no caso de virose e bacteriose. Após as primeiras horas desta fase, as larvas mortas ficam pretas, revelando alterações rápidas nos tecidos.

Nas infecções baixas, algumas larvas escapavam da morte e se alimentavam normalmente; outras tornavam-se bastante túrgidas e nestas a coloração continuou ligeiramente rosada e manchas brancas apareceram. Estas manchas são conseqüentes de aglomerações do tecido adiposo infectado, mais visíveis no lado ventral da larva. As larvas infectadas

apresentavam o tegumento transparente. A sintomatologia geral de infecções por microsporídeos descrita por Steinhaus (1963) coincide com a presente descrição. Em casos de infecções baixas, algumas lagartas conseguiram empupar e os adultos emergiam normalmente, porém de tamanho menor. Na geração seguinte ( $F_1$ ) a doença manifestou-se novamente, provavelmente devido a uma transmissão transovogênica, caso comum em várias outras espécies do gênero Vairimorpha (Steinhaus, 1963; Brooks, 1968.).

#### Histopatologia:

##### Intestino médio

Devido ao fato da infecção por microsporídeo ocorrer por via oral, o intestino médio da larva de S. frugi - perda representou o primeiro sítio de alterações histológicas causadas por V. necatrix.

No início da infecção, foi observado rompimento parcial da membrana peritrófica. A invasão inicial do patógeno dentro das células epiteliais, causou algumas anormalidades caracterizadas por agrupamento de números variáveis destas células. Afastamento e separação da musculatura circular (Fig. 13a), vacuolização e desintegração do citoplasma e início de condensação de cromatina nos núcleos, também foram observados nesta fase inicial. Essas alterações podem explicar a falta de apetite ou até da retenção alimentar

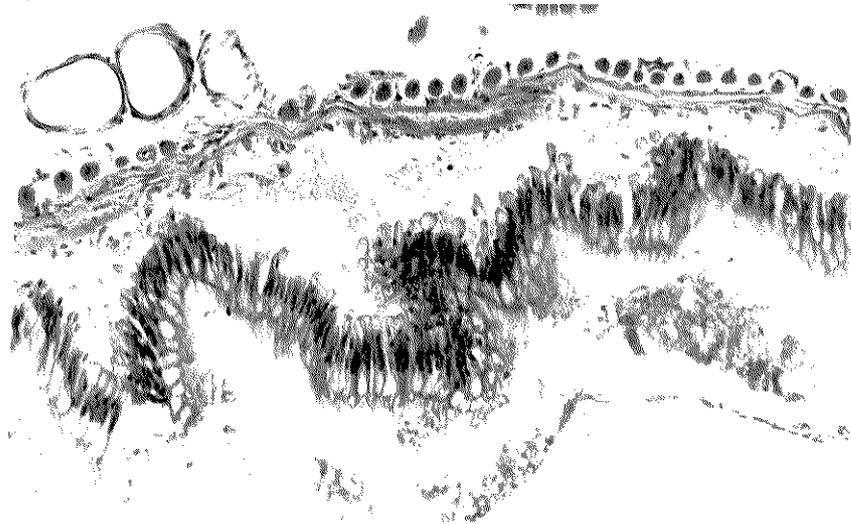


Fig. 13-a: Efeitos iniciais de infecção por V. necatrix no intestino médio de lagartas de S. frugiperda

3967/BC

observadas nas larvas doentes. A intensidade destes sintomas aumentava de acordo com o desencadeamento da doença.

Em fases mais avançadas, rompimento da membrana celular do epitélio, abundância do microsporídeo no citoplasma, destruição de várias células e espalhamento dos componentes na luz intestinal, foram observados antes do início da migração do microsporídeo para outros órgãos e tecidos.

As migrações do patógeno ocorriam em forma de aglomerados saindo da parede intestinal para a cavidade do corpo. Tais aglomerações foram encontradas envolvidas por tecidos, provindo provavelmente do inseto hospedeiro (fig. 13b). Perda de capacidade regenerativa do epitélio intestinal foi detectada pela ausência das pequenas células regenerativas, responsáveis por este fenômeno (Habib, 1978 a).

#### Tecido adiposo:

De acordo com Wigglesworth (1972) e Habib (1978a) o tecido adiposo das larvas de Lepidoptera é composto por dois tipos de células. O primeiro ocupa a região entre o tegumento e os músculos longitudinais, enquanto que o segundo circunda os vários órgãos e sistemas na cavidade do corpo. O primeiro tipo ocorre em pequenos números de células adiposas, enquanto que o segundo consiste de aglomerados grandes dessas células formando corpos adiposos.

Foram observadas várias alterações histológicas nesse tecido. Nos corpos adiposos infectados pelo microsporídeo, além da enorme quantidade do patógeno ocupando todo

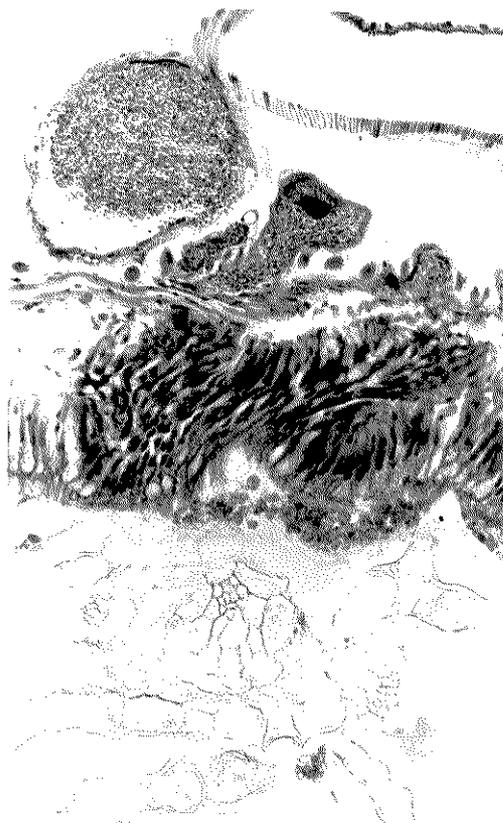


Fig. 13-b: Migração de V. necatrix para a cavidade de corpo em larvas de S. frugiperda

o citoplasma (Fig. 14A), houve rompimento da membrana conectiva e desintegração das paredes das células adiposas. Esmagamento deste tecido revela quantidades grandes de esporos (Fig. 14B). Os núcleos e as gotículas de lipídeos foram totalmente destruídas pela infecção. O tecido adiposo não infectado, nas larvas doentes, sofre diminuição de volume e evidente emagrecimento (Fig. 14C), desintegração da membrana conectiva e das paredes das células e agrupamento de cromatina nos núcleos. Este aspecto patológico revela a ocorrência de distúrbios fisiológicos, acompanhados por consumo alto da energia acumulada no tecido adiposo, embora não tenha sido invadido pelo agente etiológico.

#### Músculos:

A musculatura das larvas de S. frugiperda apresentou alterações histológicas causadas pela infecção. Rompimento e desintegração foram detectados no sarcolema, os feixes musculares perderam as ligações internas entre as fibras musculares, mostrando rachaduras. Microsporídeos foram observados circundando o feixe muscular e, às vezes, separando-o do sarcolema (Fig. 15). As alterações na musculatura da larva, principalmente nos músculos longitudinais, dorsais e ventrais explicam a razão da flacidez observada externamente nas larvas doentes.

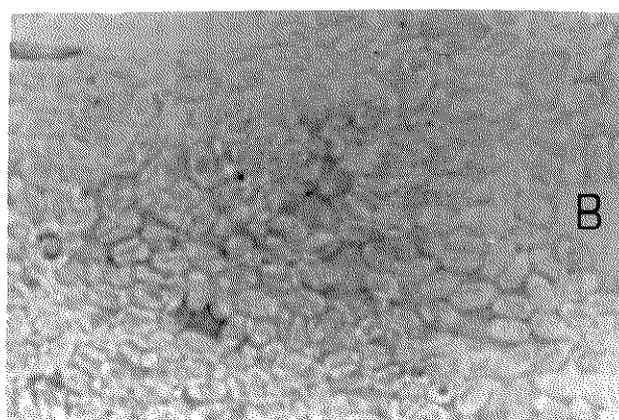
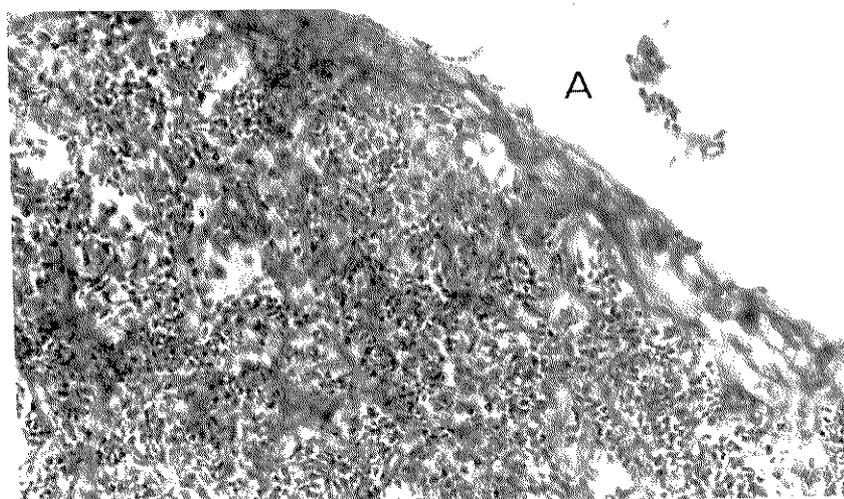


Fig. 14: Patologia de tecido adiposo de S. frugiperda

A - Tecido infectado

B - Esporos de V. necatrix

C - Tecido magro doente

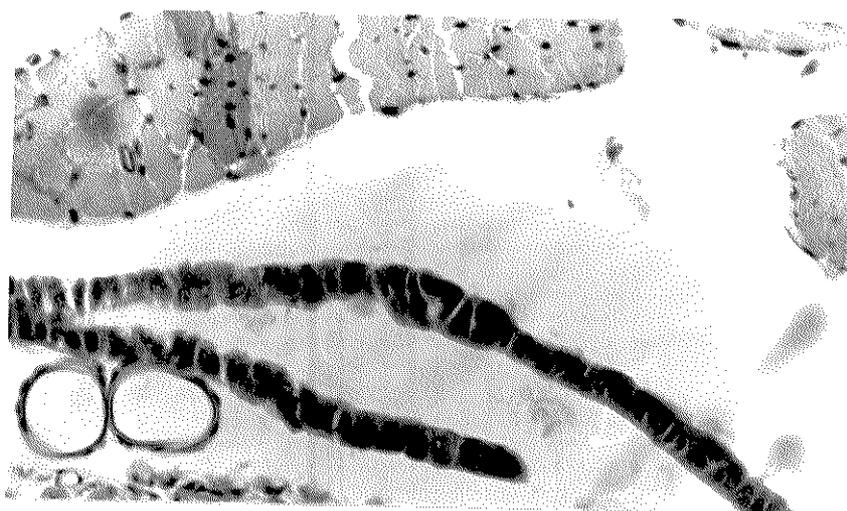


Fig. 15: Músculos de S. frugiperda afetados  
por V. necatrix

Gânglio nervoso:

As alterações histológicas observadas no sistema nervoso de larvas de S. frugiperda infectadas por V. necatrix devem ter surgido como efeito indireto da doença, através de alterações fisiológicas; pois não foi detectada a presença do patógeno nos tecidos deste sistema.

Desintegração do Neurolema, separação entre as células nervosas larvais, imaginárias e condensação de cromatina foram os sintomas mais salientes (Fig. 16). O neuropila não demonstrou qualquer anormalidade.

Epiderme:

As células epiteliais do tegumento, devido à infecção, sofreram nítidas alterações tais como diminuição do citoplasma, revelando aspecto achatado, desintegração das suas paredes celulares e aglomerações na cromatina do núcleo (Fig. 17). Estas alterações epidérmicas explicam a razão da relativa transparência do tegumento e a facilidade de observar os aglomerados do tecido adiposo infectado, através das manchas brancas.



Fig. 16: Ganglio nervoso de S. frugiperda afetado por V. necatrix

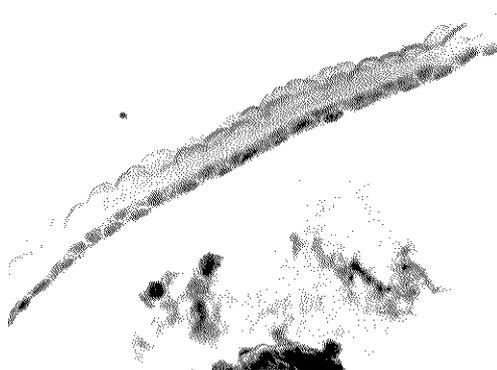


Fig. 17: Epiderme de larva de S. frugiperda afetado por V. necatrix

4.1.4 - Susceptibilidade de larvas de S. frugiperda ao fungo entomopatogênico, Nomuraea rileyi (Farlow) Samson

Devido ao alto índice de ocorrência da micose causada por N. rileyi em larvas de S. frugiperda, no campo, foram realizados estudos de sintomatologia e de susceptibilidade, em lagartas infectadas por este fungo no laboratório.

Sintomatologia:

Com doses próximas a 100.000, conídeos/larva, houve desencadeamento da doença que permitiu a seguinte descrição sintomatológica.

Após aproximadamente 48 horas da infecção, as larvas começaram a mostrar os primeiros sintomas, através de pequenas manchas escuras na região da aplicação (o lado dorsal do corpo). Porém, larvas tratadas continuaram ativas e com alimentação normal. A partir do 3º dia, as larvas pareciam menos ativas e com apetite reduzido. No 4º dia, sob as condições de laboratório (27°C; 66,5% U.R.), diminuíram sensivelmente os movimentos e as atividades, e as larvas pararam de se alimentar. Nesta última fase, ocorreu um endurecimento do corpo e iniciou-se a paralisia da parte posterior do corpo. O tegumento adquiriu coloração rosada e a paralisia atingiu o corpo inteiro. Em seguida, ocorreu a morte (no 5º dia nas larvas pequenas; no 6º nas larvas grandes).

A larva morta, de corpo rígido ou sólido, fixada ou na planta ou na parede do recipiente, começa então a mumificar-se, aproximadamente 24 horas após a morte. O fungo começa a emergir nas regiões membranosas e dos espiráculos, principalmente da porção posterior do corpo da larva (Fig. 18a). Larvas recém mumificadas adquirem a cor branca por causa do crescimento micelial e dos conídeos recém formados (Fig. 18b). As larvas totalmente mumificadas e cobertas pelo fungo começam, entre 24 a 48 horas, a mostrar a coloração verde clara característica de N. rileyi, com esporulação densa (Fig. 19).

Estas descrições coincidem com as de Steinhaus (1963); Allen et al. (1971); Kish e Allen (1976, 1978); Mohamed e Sikorowski (1977) e Habib e Andrade (1977).

#### Susceptibilidade:

Neste estudo foram feitos vários bioensaios, com aplicações tópicas (por contacto), em larvas de 3º e 4º estádios, com números de 30 a 50 larvas por dose. Doses de  $1,11 \times 10^5$  e  $1,16 \times 10^5$  esporos/larva foram usadas para o 3º e o 4º estádios respectivamente.

A mortalidade acumulada devida a infecção por N. rileyi, corrigida de acordo com Handerson e Tilton (1955), encontra-se na tabela 9 e na fig. 20.

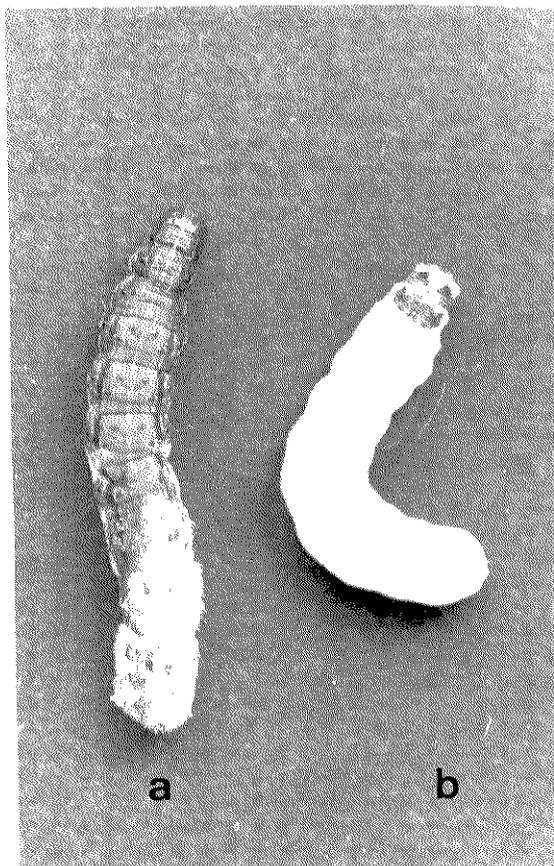


Fig. 18: Larvas de S. frugiperda infectadas por N. rileyi

a- início de emergência do fungo

b- total emergência do fungo

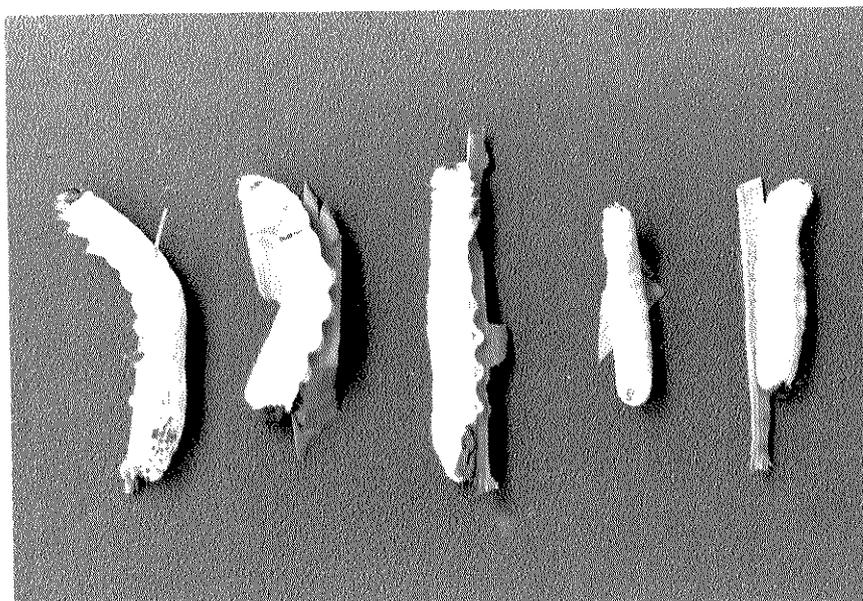


Fig. 19: Larvas mumificadas por N. rileyi  
de S. frugiperda

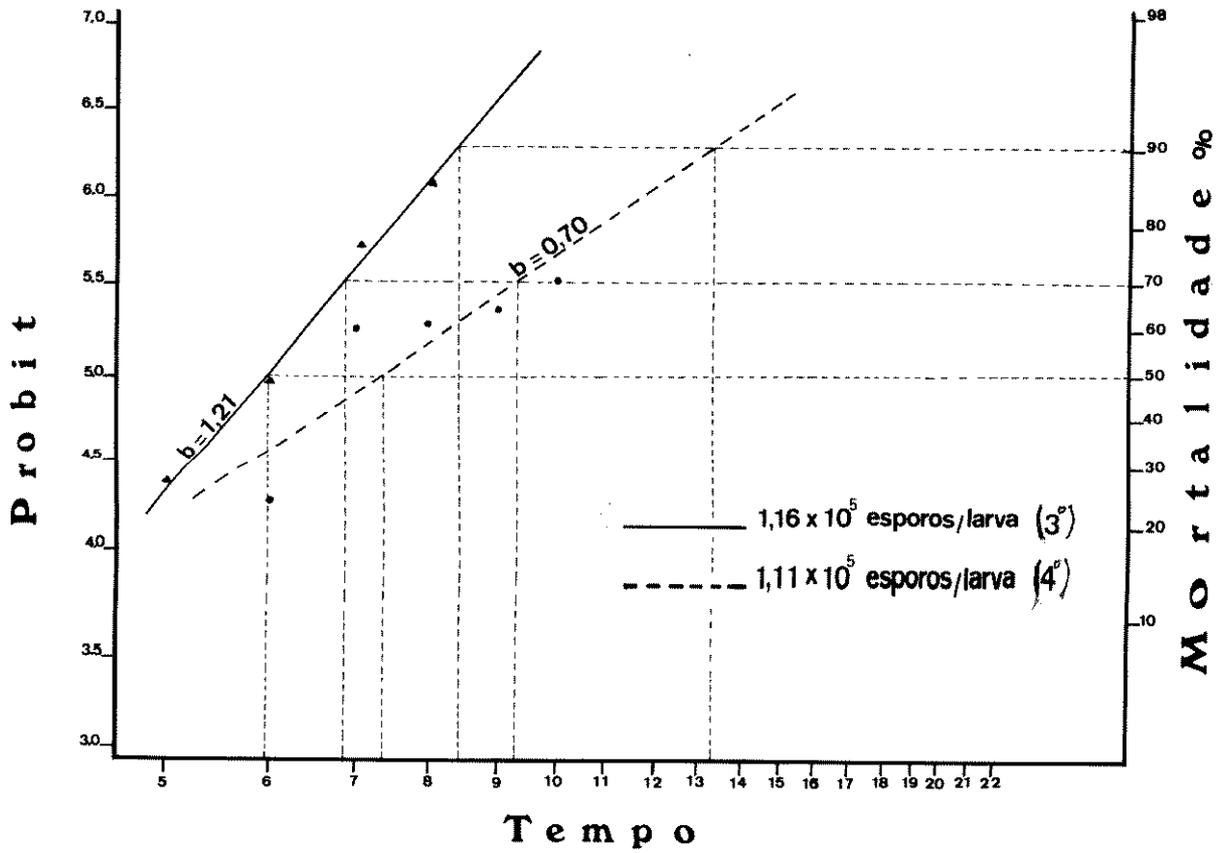


Fig. 20 : Susceptibilidade de larvas de *S. frugiperda* ao *N. rileyi* (scala probit. log.) (Tempo em dias)

Tabela 9

Mortalidades acumuladas de larvas de S. frugiperda quando submetidas a tratamento com Nomuraea rileyi

Dias	Mortalidade	
	3º estágio 1,16x10 <sup>5</sup> esp./larva	4º estágio 1,11x10 <sup>5</sup> esp./larva
5º	26,09	-
6º	48,50	22,86
7º	76,59	60,00
8º	85,95	61,58
9º	-	64,53
10º	-	70,44

Calculando as doses usadas em relação ao peso médio das larvas tratadas (3º: 0,14 g; 4º 0,18 g), pode se dizer que as de 3º estágio receberam uma média de 792,86 esporos/mg, enquanto que do 4º receberam 644,44 esporos/mg.

O tempo letal médio (TL<sub>50</sub>) para as larvas de 3º estágio (Fig. 19) foi de 6 dias; enquanto que o TL<sub>50</sub> para as do 4º estágio foi de 7,4 dias. Este resultado não indica maior susceptibilidade nas larvas de 3º estágio, pois receberam dose maior de N. rileyi. A relação entre as doses é exatamente a relação entre os dois TL<sub>50</sub> (81:100), o que significa que a susceptibilidade é igual nos dois estádios larvais de S. frugiperda.

Na Fig.20, observa-se diferença entre as inclinações (b) das retas correspondentes aos 2 estádios tratados

(3♀ : 1,2; 4♀ : 0,69-). Esta diferença pode ser causada pela variabilidade genética e a heterogenidade fisiológica entre os indivíduos; pois os testes foram feitos com indivíduos da 2<sup>a</sup> geração de laboratório, e que não houve número suficiente de gerações para conseguir indivíduos fisiologicamente mais homogêneos, que é conseguido em média, em condições de laboratório a partir da 6a. geração (Parra, J.R.P. 1981 - Comun. Pess.)

#### 4.2 - Estudos de Campo

Durante o presente trabalho, foram feitas investigações com a finalidade de avaliar o papel de alguns inimigos naturais.

Levantamentos de insetos parasitos (himenópteros e dípteros) foram feitos em alguns municípios do Estado de São Paulo, durante períodos diferentes dos anos 1976 a 1979.

Das doenças detectadas no campo, apenas as micoses causadas por Aspergillus parasiticus e por Nomuraea rileyi foram investigadas.

##### 4.2.1 - Insetos parasitos

Os diferentes estágios evolutivos das espécies fitófagas são normalmente atacados por uma série de insetos entomófagos, tanto parasitos como predadores (DeBach, 1964, Huffker e Messenger, 1976, Copel e Mertins, 1977).

Em relação a S. frugiperda, o levantamento qualitativo de parasitos em vários municípios de São Paulo, feito no presente trabalho, revelou a ocorrência de várias espécies entre parasitos de ovo e de estágio larval. O parasitismo larval abrange um número relativamente grande de espécies que variam quanto ao estágio parasitado. Este conjunto de parasitos com os seus diversos hábitos, fornecem interações (hospedeiro-parasito) que teriam um eficiente papel no controle biológico natural de populações de S. frugiperda.

A tabela 10 mostra vários parasitos, emergidos em

laboratório, de material coletado em milharais no município de Campinas além de outros no mesmo Estado de São Paulo.

Entre os parasitos mais abundantes, Campoletis flavicincta (Hymenoptera, Ichneumonidae) e Archytas incertus (Diptera, Tachinidae) foram os mais encontrados nas regiões de coleta.

De acordo com Carlson (1972) e Guimarães (1977), Heliothis zea e H. virescens são considerados como hospedeiros alternativos de C. flavicincta e A. incertus. Este fenômeno teria um papel importante na manutenção destes dois parasitos, no campo, durante a ausência de S. frugiperda. H. zea ataca espigas de milho numa fase de desenvolvimento da planta em que normalmente S. frugiperda não mais ocorre. H. virescens é uma lagarta da maçã de algodão, e este último é plantado na época de milho de verão. Assim, acredita-se que estas espécies fitófagas podem exercer um papel indispensável para sustentar populações dos parasitos mencionados acima, durante a ausência do seu hospedeiro natural.

Tabela 10

Percentagens de ocorrência de parasitos em larvas coletadas no município de Campinas (1-11) e em outros locais do Estado de São Paulo (12)

Coletas	n'	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Ano	Mês	S. frugiperda coletadas	Parasitadas	C. flavicincta	Ophion flavicincta	Eiphosoma vitticoli	Chelonus texanus	Apanteles sp	Tachinidae	Pristomerus spinator	não identificados
1.	1976; X, XI, XII	036	36,11	69,23	-	-	-	-	30,77	-	-
2.	1977; I, II, III	032	12,50	-	25,00	-	-	-	75,00	-	-
3.	1977; IV, V, VI	051	09,16	78,26	-	-	-	21,74	-	-	-
4.	1977; VII, VIII, IX	038	13,15	40,02	-	-	-	-	60,03	-	-
5.	1977; X, XI, XII	174	15,52	70,37	-	-	22,22	-	03,70	03,70	-
6.	1978; I, II, III	855	27,72	13,08	01,27	09,28	61,18	04,64	10,55	-	-
7.	1978; IV, V, VI	026	30,77	-	-	-	75,00	-	25,00	-	-
8.	1978; VII, VIII, IX	379	13,19	82,00	04,00	-	02,00	-	12,00	-	-
9.	1978; X, XI, XII	126	19,84	52,00	16,00	-	04,00	-	28,00	-	-
10.	1979; I, II, III	068	30,88	61,90	-	-	23,81	-	14,29	-	-
11.	1979; VII, VIII, IX	084	30,77	83,33	-	-	-	08,33	08,33	-	-
12.	1979; I, II, III	678	24,93	33,14	01,18	02,96	28,99	0,59	33,14	-	0,59

A tabela 11 apresenta interações observadas entre algumas espécies de parasitos e as fases de desenvolvimento de S. frugiperda. Tais interações podem oferecer resultados satisfatórios, como fatores bióticos de mortalidade, desde que o campo esteja em condições favoráveis para mantê-las. Na estação experimental da UNICAMP (Deptº de Genética Vegetal), as plantações de milho recebem frequentemente aplicações de inseticida fosforado, paratiom . Os levantamentos do presente trabalho revelaram uma grande diminuição nas populações, tanto de S. frugiperda, como dos seus inimigos naturais, nesses campos. É um dado esperado, principalmente para inimigos naturais que são mais sensíveis aos inseticidas químicos do que as próprias pragas. ( Gaines, 1954., Bartlet, 1958 , Young e Hamm, 1967 , Cate et al., 1972 , Lingren et al., 1972 , e Wilkinson et al., 1975)

Tabela 11

Interações observadas entre algumas espécies de parasitos e as fases do desenvolvimento de Spodoptera frugiperda

Espécies de parasitos	Estágio/ou estágio Hospedeiro atacado	Estágio/ou estágio do hospedeiro, de que o parasito emergiu
<u>C. flavicincta</u>	1º, 2º, 3º, 4º estádios	4º estágio
<u>C. texanus</u>	ovo	4º estágio
<u>O. flavidus</u>	3º, 4º estágio	6º estágio
<u>E. vitticoli</u>	-	5º estágio
<u>Apanteles marginiventris</u>	1º estágio	2º estágio
<u>Apanteles sp.</u>	-	5º estágio
<u>P. spinator</u>	-	4º estágio
<u>Archytas incertus</u>	5º estágio	Pupa
<u>Patelloa similis</u>	-	6º estágio
<u>Winthemia sp.</u>	-	6º estágio, pré-pupa e pupa
<u>Lespesia archippivora</u>	-	6º estágio e pupa

C. flavicineta, o parasito larval mais frequente encontrado nas coletas, sofre ação de três hiperparasitos, porém, em frequências baixas (apenas 1 indivíduo de cada espécie). Esses hiperparasitos são:

- 1) Spilochalcis chapadae Ash. (Hymenoptera Chalcididae)  
encontrada na região de Piraçununga, SP.
- 2) Ceraphron (= Caliceras) sp (Hymn., Ceraphronidae)  
encontrada em Campinas, SP.
- 3) Hermitelini (Hymn., Ichneumonidae).  
encontrada em Leme, SP.

#### 4.2.2 - Ocorrência de doenças infecciosas

Os fatores naturais da mortalidade desempenham um papel importante na regulação de populações de insetos. Além do papel dos insetos entomófagos, a densidade populacional da lagarta dos milharais é, também, regulada por agentes patogênicos. Garcia (1979) isolou o vírus da poliedrose nuclear (VPN) e estudou a sua patogenicidade em lagartas da mesma espécie. Garcia e Habib (1978) estudaram a micose causada por A. parasiticus em lagartas de S. frugiperda.

No presente trabalho, e em condições de campo, foram detectadas micoses causadas por N. rileyi e A. parasiticus, virose causada por VPN, protozoose causada por Vairimorpha necatrix e bacteriose causada por Pseudomonas aeruginosa.

No presente trabalho trata-se apenas de infecções causadas por A. parasiticus e por N. rileyi.

A. Ocorrência natural de Aspergillus parasiticus

Spear

A mortalidade causada por A. parasiticus foi observada pela primeira vez em populações de S. frugiperda coletadas no campo, durante a realização deste trabalho, no verão de 1978, na região de Campinas, SP.

Nesse período, o parasitismo por himenópteros e dípteros em larvas de S. frugiperda, no campo, variou entre 27,73% e 58,77%. A alta taxa de parasitismo foi acompanhada por ocorrência natural de A. parasiticus, atingindo uma média de 13,08% nas larvas parasitadas por Chelonus texanus e 23,53% nas larvas parasitadas por Campoletis flavicincta.

Durante essas investigações os parasitos mais abundantes foram C. texanus, C. flavicincta, Ephosoma viticolli, Archytas insertus, Apanteles marginiventris e Ophion flavidus (tabela 12).

De todas as espécies de parasitos encontradas, A. parasiticus apareceu somente em duas espécies, C. flavicincta e C. texanus. Uma razão deste fato pode ser o fato da grande maioria dos parasitos coletados serem destas duas espécies, não sendo encontrado um número suficiente das outras espécies para que se pudesse verificar a possível ocorrência de A. parasiticus nas suas populações.

Tabela 12

Porcentagens de parasitismo e de micose (A. parasiticus) em larvas de S. frugiperda coletadas do campo, verão, 1978

Parasito	Janeiro		Março	
	Parasitadas	Micose	Parasitadas	Micose
Parasit.total	58,77	-	27,73	-
Hymenoptera				
<u>C.flavicincta</u>	25,37	23,53	03,85	-
<u>O.flavidus</u>	-	-	02,88	-
<u>E.viticolli</u>	-	-	18,27	-
Braconidae				
<u>C.texanus</u>	73,13	14,29	56,73	11,86
<u>A.marginiventris</u>	-	-	6,73	-
Tachinidae				
<u>Archytas insertus</u>	1,49	-		
	Total 114 larvas coletadas		Total 375 larvas coletadas	

As temperaturas e umidades relativas, consideravelmente altas no campo (tabela 13) parecem ter oferecido condições favoráveis para a propagação da micose, coincidindo com as observações de Boyce e Fawset (1947) e Garcia e Habib (1978).

Tabela 13

Médias de temperaturas e umidade relativa durante o verão, 1978 no campo

Mes	Temp. (Max.)	Temp. (Min.)	R.H.
Janeiro	30,63°C	19,74°C	72,02%
Março	30,09°C	19,14°C	71,23%

Steinhaus (1963) e Garcia e Habib (1978) mostraram experimentalmente que A. parasiticus não possui capacidade própria para penetrar no tegumento de insetos. A ocorrência deste fungo somente em larvas parasitadas no campo, revela o papel inicial dos parasitos como agentes inoculadores e dispersores de A. parasiticus em populações de S. frugiperda.

O papel de C. texanus e C. flavicineta como inoculadores desse fungo, foi verificado experimentalmente em laboratório. O fungo foi aplicado por contato em larvas sadias e em ovos, e estes em seguida foram oferecidos a fêmeas acasaladas de C. flavicineta e de C. texanus respectivamente. Embora a micose observada nas larvas parasitadas fosse baixa (19% em C. flavicineta e 8,06% em C. texanus), a micose nunca foi observada nas larvas de testemunha que receberam a mesma aplicação por contato, porém não foram parasitadas.

A fêmea de C. flavicineta deposita ovos na região anterior ou posterior do corpo de seu hospedeiro. O fungo emerge nas larvas infectadas e mortas, das mesmas regiões de oviposição do parasito (fig.21,22).

Embora A. parasiticus possa matar larvas e pupas de C. texanus (fig.23) e C. flavicineta (fig.21, 22, 24), a sua ocorrência em porcentagens baixas não parece ser uma ameaça significativa para esses parasitos. Esse caso é completamente diferente de Entomophthora sphaerosperma sobre os parasitos de Plutella maculipennis (Ullyett e Schonken, 1940; Ullyett, 1947), que reduz drasticamente a população de parasitos, matando-os diretamente no corpo do hospedeiro ou indiretamente, pela redução da população de hospedeiro nas gerações subsequentes do parasito.

Acredita-se que os parasitos C. texanus e C. flavicineta possam ser considerados como agentes adequados para manutenção de A. parasiticus, em condições viáveis no campo; atuam os dois himenópteros na dinâmica populacional de S. frugiperda.

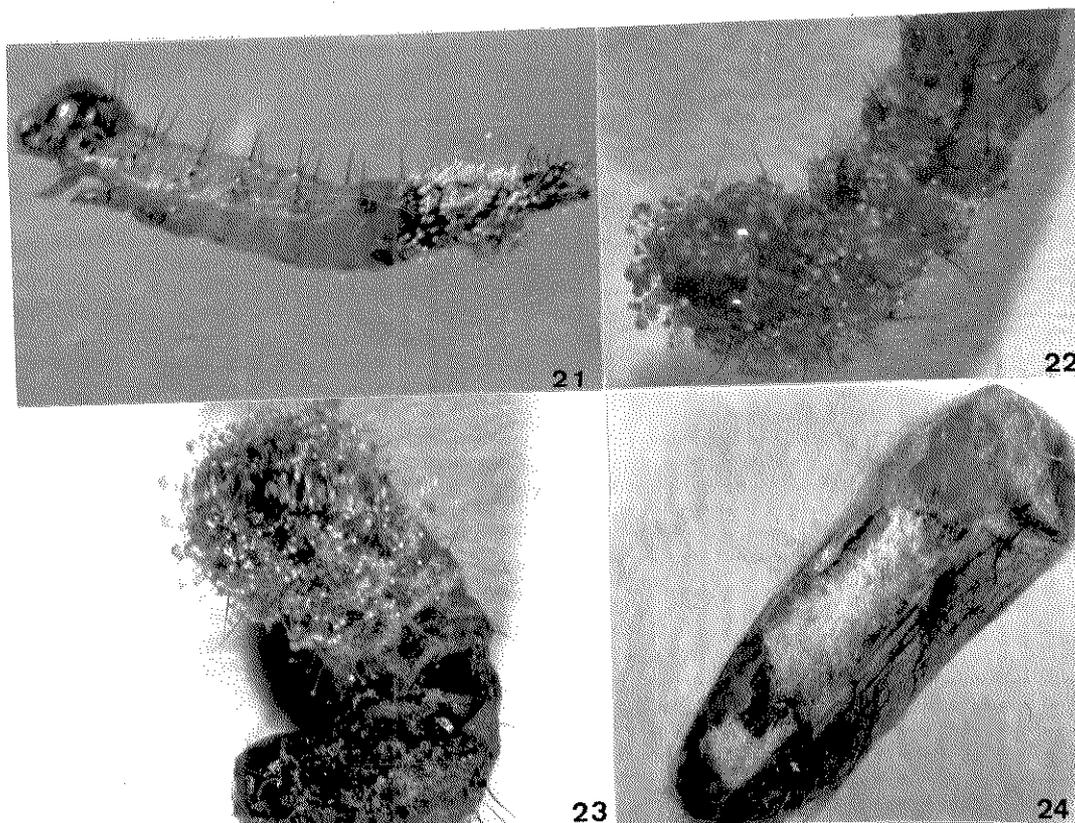


Fig. 21: Infecção por A. parasiticus na região posterior da larva parasitada por C. flavicineta

Fig. 22: Infecção na região anterior da larva parasitada por C. flavicineta

Fig. 23: Infecção por A. parasiticus na larva parasitada por C. texanus

Fig. 24: Pupa de C. flavicineta infectada por A. parasiticus

### B. Ocorrência natural de Nomuraea rileyi

Durante os meses de janeiro e fevereiro de 1979, em coletas quinzenais, foram detectadas infecções por N. rileyi em lagartas coletadas de milharais nos municípios de Leme, Aguaí, São João da Boa Vista e Vargem Grande do Sul. A ocorrência do fungo variou de 5 a 47,37% nas larvas coletadas.

Levando em conta as altas mortalidades em populações de S. frugiperda, causadas tanto por agentes patogênicos como por insetos parasitos, as populações desta praga sofrem portanto, alta redução. Assim é aconselhável proteger e apoiar esses agentes quando se pensar em programas de controle dessa espécie prejudicial.

Acredita-se que tanto as condições macroclimáticas de temperatura e de umidade relativa durante os meses de verão, como também a umidade alta no micro ambiente das lagartas, entre as folhas das plantas, favoreceram consiravelmente a infecção e a propagação da micose. Estas evidências coincidem com as observações de vários autores como DeBach (1958), Steinhaus (1963), Burges e Hussey (1971), Kish e Allen (1978) e Amaral M. E. (1981 com. pessoal).

N. rileyi aparece sempre infectando a lagarta da soja Anticarsia gemmatalis no Brasil. Porém nunca foi Registrado atacando as lagartas de S. frugiperda. Devido ao fato que como essas duas platações, com as suas mesmas exigências nutritivas e climáticas, podem existir em campos vizi

nhos da mesma região, acredita-se que haja uma grande possibilidade de transmissão, quer por vento, quer por agentes bióticos, do patógeno, dos campos de soja para os milharais. Também, considerando a possível persistência deste fungo no solo, em forma de esporos, de um ano para outro, é possível que a fonte da infecção sejam agentes existentes no campo desde plantios de soja do ano anterior. Essas observações coincidem com as de Ignoffo et al. (1977) e Kish e Allen (1978).

## 5. Conclusões

1. As lagartas de S. frugiperda sofrem alto índice de parasitismo no campo. C. flavicineta (Hymenoptera; Ichneumonidae) e A. insertus (Diptera; Tachinidae) foram os mais encontrados durante as coletas. Em algumas amostras, C. flavicineta atingiu até 83% de ocorrência; enquanto que A. insertus chegou até 75% em outras.
2. As populações dessa praga, também são sujeitas à ação de vários entomopatógenos entre virus, bactérias, fungos e protozoas. As larvas de S. frugiperda sofrem epizootias frequentes causadas por N. rileyi, principalmente nas regiões cultivadas com soja. A ocorrência deste fungo em larvas de S. frugiperda nunca foi registrada até o presente. A fonte do fungo neste caso é a lagarta de soja, A. gemmatalis. Assim, a existência de campos de soja próximos aos de milho favorece a transmissão e a manutenção do fungo.
3. Os testes de laboratório indicam que esta praga é suscetível ao fungo N. rileyi. A morte ocorre em média de 6 dias.
4. Também, pela primeira vez foi registrada a ocorrência de protozoose causada por V. necatrix em larvas de S. frugiperda. A incidência da doença ocorreu mais frequentemente nas criações de laboratório.
5. C. flavicineta e C. texanus, além de serem parasitos de S. frugiperda, são inoculadores e dispersores eficientes do fungo entomógeno A. parasiticus.

6. Os fatores bióticos de mortalidade, investigados no presente trabalho, revelam um alto potencial de controle que estimula a sua utilização e manuseio em programas de manejo integrado desta praga.
7. É necessário fortalecer as pesquisas na área de Entomologia Agrícola por investigações em Ecologia Experimental, para que se possa manusear os fatores bióticos de maneira mais funcional..

## 6. Resumo

No presente trabalho, foi avaliado o papel de alguns fatores bióticos de mortalidade como agentes de controle natural de populações de Spodoptera frugiperda, a lagarta dos milharais.

A biologia de S. frugiperda foi estudada no laboratório, como pré-requisito necessário para as interpretações dos fenômenos encontrados no decorrer do trabalho.

Campoletis flavicincta, endoparasito, foi, juntamente com A. incertus um dos dois inimigos naturais de S. frugiperda encontrados mais freqüentemente durante as coletas no campo. A sua biologia foi estudada no laboratório. Os estágios de ovo e de larva ocorrem dentro do corpo da larva hospedeira e duram cerca de 8 dias. Os estágios pré-pupal e pupal ocorrem fora do corpo do hospedeiro e demoram 8 dias. A fêmea desta espécie pode reproduzir-se por partenogênese, neste caso a prole é do sexo masculino. A fêmea deposita uma média de 146 ovos durante o período de oviposição. O efeito do tamanho do hospedeiro no desenvolvimento do parasito foi investigado, e foi verificado como um fator importante na determinação da razão sexual do parasito.

Ainda no laboratório, a patogenicidade de Nomuraea rileyi, um fungo entomopatogênico, foi estudada em larvas de S. frugiperda, e as observações sintomatológicas foram analisadas.

Sintomatologia externa e histopatologia em larvas

infectadas, naturalmente, por Vairimorpha necatrix foram investigadas. Foram determinadas algumas alterações nos tecidos mais afetados.

No campo, levantamentos de insetos parasitos foram feitos em algumas regiões do Estado de São Paulo. C. flavicincta (Hymn., Ich.) e Archytas incertus (Dipt., Tachinidae) foram os mais frequentes nas coletas. Foram encontradas lagartas parasitadas por C. flavicincta e Chelonus texanus (Hymn., Braconidae) e mortas por Aspergillus parasiticus. Experimentos de laboratório revelaram a importância destes dois micro-himenópteros como inoculadores do fungo no campo.

A atuação eficiente dos diferentes inimigos naturais (micro e macro) nas populações de S. frugiperda indica uma grande possibilidade da sua utilização em programas de manejo integrado.

## 7. Summary

In the present work, the role of some biotic mortality factors, as natural controlling agents of populations of Spodoptera frugiperda, a pest of corn, was evaluated.

The biology of S. frugiperda was studied in the laboratory as a necessary prerequisite for the interpretation of the data collected in the course of this work.

Campoletis flavicincta, an endoparasite, was one of the most frequently encountered natural enemies of S. frugiperda during field collections. Its biology was studied in the laboratory. The egg and the larval stages occur inside the host and last on an average 8 days. The prepupal and pupal stages occur outside the host and last on an average 8 days. The female of this species reproduces by parthenogenesis, the offspring being all males. The female deposits on an average 146 eggs during the oviposition period. The effect of host size on the development of the parasite was investigated and was found to be an important factor in determining the sex ratio of the parasite.

The pathogenicity of Nomuraea rileyi, an enthomopathogenic fungus, on larvae of S. frugiperda was also studied in the laboratory. The symptoms observed were noted.

Histopathology and external symptoms in larvae naturally infected by Vairimorpha necatrix were investigated. Some changes in the highly infected tissues were noted.

Field studies of insect parasites of S. frugiperda were made in some regions of the State of S. Paulo. C. flavicineta (Hym., Ich.) and Archytas incertus (Dip. Tach.) were the most frequently encountered parasites in the field. Larvae of S. frugiperda parasitised by C. flavicineta e Chelonus texanus and killed by Aspergillus parasiticus were found in the field.

Laboratory experiments demonstrated the importance of these two micro-hymenopterous parasites as inoculating agents of the fungus in the field.

The efficient action of different natural enemies (micro and macro) in the populations of S. frugiperda indicates a possibility of their use in integrated pest management programs for S. frugiperda.

8. LITERATURA CITADA

Allen, G.E., Green, G.L. e Whitcomb, W.H. 1971

An epizootic of Spicaria rileyi on the velvetbean  
catterpillar, Anticarsia gemmatalis, in Florida.

Fla. Entomol. 54 : 189-91

Allen, H.W. 1921

Notes on a Bombylid parasite and Polyhedral disease  
of the Southern Grassworm.

J. Econ. Entomol. 14 (6) 510-511

Azevedo, J.L. e S.O.P. da Costa 1973

Exercícios práticos de Genética

Editora Nacional, Ed. USP. 288 pp.

Bartlet, B.R. 1958

Laboratory studies on selective Aphicides favoring natural enemies of the Spotted Alfalfa Aphid.

J. Econ. Entomol. 51 (3) 374-379.

Boyce, A.M. e Fawset, H.S. 1947

A parasitic Aspergillus on mealybugs

J. Econ. Entomol., 40 : 702-705.

Brooks, W.M. 1968

Transovarian transmission of Nosema heliothidis in the corn earworm, Heliothis zea

J. Invertebr. Pathol., 11, 510-512.

Burgues, H.D. e Hussey, N.W. 1971

Microbial control of insects & Mites

Academic Press, NY, 861 p.

Carlson, R.W. 1972

Supression of the name Campoletis perdistincta (Hymenoptera: Ichneumonidae) and the identity of species to which the name has been applied.

Ent. News, 83 : 75-82.

Cate, J.R. Jr., Ridgway, R.L. e Lingren, P.D. 1972

Effects of systemic Insecticides applied to  
cotton on adults of an Ichneumonid parasite,  
Campoletis perdistinctus.

J. Econ. Entomol. 65(2) : 484-488.

Chapman, J.W. e Glaser, R.W. 1915

A preliminary list of insects which have wilt,  
with a comparative study of their polyhedra.

J. Econ. Entomol. 8, 140-149.

Clausen, C.P. 1972

Entomophagous Insects

Hafner Publishing Company, New York 661 pp.

Copel, H.C. e Mertins, J.W. 1977

Biological Insect Pest Suppression

Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York.

303 pp.

Costa Lima, A.M. 1950

Insetos do Brasil

6ª Tomo Lepidopteros - 2ª parte

E.N.A.M.A. 420 pp.

DeBach, P. 1958

The role of Weather and Entomophagous Species  
in the Natural Control of Insect Populations.

J. Econ. Entomol. 51(4) : 474 - 484.

\_\_\_\_\_ 1964

Biological Control of Insects Pests and Weeds

Chapman & Hall Ltd. London. 817 pp.

Dew, J.A. 1913

Fall armyworm Laphygma frugiperda (Smith &  
Abbot 1797)

J. Econ. Entomol. 6 : 361-366.

Flanders, 1946

The role of the spermatophore in the mass  
propagation of Macrocentrus ancylivorus

J. Econ. Entomol. 38 : 323-7.

Gaines, R.C. 1954

Effect on beneficial Insects of Several  
Insecticides applied for cotton insect control

J. Econ. Entomol. 47(3) : 543-544.

Gangrade, G.A. 1964

On the biology of Campoletis perdinctus  
(Hymenoptera: Ichneumonidae) in Medhya Pradesh,  
India

Ann. Ent. Soc. Am. 57 : 570-574.

Garcia, M.A. 1979

Potencialidade de alguns fatores bióticos e  
abióticos na regulação populacional de Spodoptera  
frugiperda (Abbot & Smith, 1797) (Lepidoptera,  
Noctuidae).

Tese de Mestrado apresentada à UNICAMP.

Garcia, M.A. e Habib, M.E.M. 1978

Ocorrência do fungo entomógeno Aspergillus pa-  
rasiticus spear em adultos de Spodoptera fru-  
giperda (Abbot & Smith, 1797) (Lepidoptera,  
Noctuidae), mantidos em laboratório.

Anais Da S.E.B. 7(1) : 15-19.

Guimarães, J.H. 1977

Host-Parasite and parasite-host Catalogue of  
South American Tachinidae (Diptera)

Arg. Zool. S. Paulo vol. 28(3) : 1-131.

Habib, M.E.M. 1977

Contribution to the biology of the American  
cotton, leafworm Alabama argillacea (Hub)  
(Lepid., Noctuidae)

Z. Ang. Ent. 84, 412-418.

\_\_\_\_\_ 1978a

Anatomy and histology of the mature larva of  
the American cotton leafworm, Alabama argillacea  
(Hubner, 1818)

Anais Da S.E.B. 7(1) : 7-14.

\_\_\_\_\_ 1978b

A bacterial disease of the American cotton leaf  
worm, Alabama argillacea (Hubner) (Lep., Noctuidae),  
with notes on its histopathological effects.

Z. Ang. Ent. 85, 76-81.

Habib, M.E.M. e Andrade, C.F.S. 1977

Epizootia em larvas de Brassolis sophorae causa  
da por Beauveria bassiana, com estudos de sinto  
matologia e identificação.

Anais da S.E.B. 6(2) : 230-237.

Handerson, C.F. e Tilton, E.W. 1955

Tests with acaricides against the brown wheat mite

J. Econ. Entomol. 48 (2) : 157-161

Huffaker, C.B. and Messenger, P.S. 1976

Theory and Practice of Biological Control

Academic Press New York London 788 pp.

Ignoffo, C.M., Garcia, C., Hostetter, D.L. e Pinnel, R.E. 1977

Laboratory studies of the entomopathogenic  
Fungus Nomuraea rileyi: soilborn contamination  
of soybean seedlings and dispersal of diseased  
larvae of Trichoplusia ni

J. Invertebr. Pathol. 29, 147-152

Kasten Jr., P., Precetti, A.C.M. e Parra, J.R.P. 1978

Dados biológicos comparativos de Spodoptera  
frugiperda (J.E. Smith, 1797) em duas dietas  
artificiais e substrato natural

Rev. Agric., Piracicaba 53 (1-2) : 68-78

Kish, L.P. e Allen, G.E. 1976

Conidia Production of Nomuraea rileyi on  
Pseudoplusia includens

Mycologia 68 : 436:39

1978

The biology and ecology of Nomuraea rileyi and a program for predicting its incident of Anticarsia gemmatalis in soybean

Inst. of Food & Agric. Scs. University of Fla. Gainesville, Florida. 47p.

Leiderman, L. & Sauer, H.F.G. 1953

A lagarta dos milharais (Laphygma frugiperda)  
(Abbot & Smith, 1797)

O Biologico 19(6) : 105-113.

Lingren, P.D., Wolfenbarger, D.A., Nosky, J.B. and Diaz, M.  
Jr. 1972

Response of Campoletis perdinctus and Apanteles marginiventris to insecticides

J. Econ. Entomol. 65(5) 1295-1299.

Luginbill, P. 1928

The fall armyworm

U.S. Dept. of Agric. Washington D.C. tech. Bull.  
34 : 1-91.

Mohamed, A.K.A. e Sikorowski, P.P. 1977

Susceptibility of Heliothis zea larvae to Nomuraea rileyi at various temperatures

J. Invertebr. Pathol. 30, 414-417.

Moreira, C. 1921

Entomologia Agrícola Brasileira

Inst. Biol. Def. Agric., Rio de Janeiro

Bol. nº 1, 241 p.

Morey, C.S. 1971

Biology of Campoletis grioti (Blanchard ) Hymenoptera, Ichneumonidae a parasite of "fall armyworm of corn" Spodoptera frugiperda

Rev. Per. Entom. 14(2) 263-271.

Morril, W.L. & Green, G.L. 1973a

Distribution of fall armyworm larvae. 1. Regions of field corn plants infested by larvae

Environ. Entomol. 2, 195-198.

---

1973b

Distribution of fall armyworm larvae. 2. Influence of biology and behavior of larvae on selection of feeding sites

Environ. Entomol. 2(3), 415-418.

Nobel, L.W. & Graham, H.M. 1966

Behavior of Campoletis perdinctus (viereck)  
as a parasite of the tobacco budworm

J. Econ. Entomol. 59 (5) : 1118-20

Palomino, J.C. 1965

Investigaciones sobre el control biológico del  
"Cogollero" del maiz Spodoptera frugiperda  
(J.E. Smith) y outros noctuideos

Rev. Per. Entomol. 8, 126-131

Parra, J.R.P., Reis, P.R. e Camargo, A.F. 1971

Resistência de milho a Spodoptera frugiperda  
(J.E. Smith) II - Efeito de diferentes tempe-  
raturas sobre a conservação de pupas

Rev. Agric. 46, 32-40

Patel, P.N. e Habib, M.E.M. 1980-a

Protozoose em larvas de Spodoptera frugiperda  
(1797) com observações histopatológicas.

VI Congresso Brasileiro de entomologia

03 a 09 de Fev./1980, Campinas, SP

Patel, P.N. e Habib, M.E.M. 1980-b

Natural occurrence of Nomuraea rileyi in  
populations of Spodoptera frugiperda. (comunicação)

XVI International Congress of Entomology, Kyoto,  
Japan.

Pierce, W.D. e Holloway, T.E. 1912

Notes on the biology of Chelonus texanus Cress.

J. Econ. Entomol. 5 : 425-428.

Quaintance, A.L. 1897

The fall armyworm: Southern grassworm

Fla. Agric. Exp. St. Bull. Nº 40.

Randolph, N.M. e Wagner, P.M. 1966

Biology and Control of the fall armyworm

Report, Texas. A & M University/Texas

Agricultural Exp. Station.

Raper, K.B. & Fennel, D.I. 1965

The Genus Aspergillus

Baltimore, Williams & Wilkins 686 p.

Ravelo, M.A. & Raun, E.S. 1964

Rearing the fall armyworm under greenhous conditions

J. Econ. Entomol. 57(6) : 1000.

Rose, A.H., Silverside, R.H. e Lindquist, O.H. 1975

Migration flight by an aphid Rhopalosiphum maidis  
(Homoptera: Aphidae) and a noctuid Spodoptera fru-  
giperda (Lepidoptera : Noctuidae)

Can. Entomol. (6) : 567-576

Salt, G. 1940

The effects of hosts upon their insect parasites

Biol. Rev. 16 : 239-64

Sherirev, I.J. 1913

The regulation of sex of their offspring by  
female Ichneumonidae

Rev. Appl. Ent. A, 2, 214-215

Silva, A.G., Gonçalves, C.R., Galvão, D.H., Gonçalves, A.

J.L., Gomes, J., Silva, N.N. e Simoni, L. 1968

Quatro catálogo dos insetos que vivem nas plan-  
tas do Brasil seus parasitos e predadores.

Parte 2 - 1ª Tomo

Ministério da Agricultura, Deptº de Defesa, 622 pp.

Smith, R.C. 1921

Observations on the fall armyworm (Laphygma frugi-  
perda) (Abbot & Smith) and some control experiments

J. Econ. Entomol. 14, 300-305

Steinhaus, E.A. 1963

Insect Pathology. An advanced treatise

Vol. 1 - 661 pp, Vol. 2 - 689 pp.

Academic Press, New York - London

Steinhaus, E.A. & Marsh, G.A. 1963

Report of diagnoses of diseased insects 1951-1961

Hilgardia, 33 : 349-490.

Thomson, W.R. 1946

A catalogue of the parasites and predators of  
Insect Pests

Sect. 1 Parasite Host Cat. Part 7 (G-M) 329-330.

Tomas, G.M. & Poinar, G.O. 1973

Report of diagnosis of diseased insects 1962-1972

Hilgardia, 42 : 261-360.

Ullyett, G.C. 1947

Mortality factors in populations of Plutella  
maculipennis curt (Lep., Tineidae) and their  
relation to the problems of control

Union S. Africa, Dept. Agric. Entomol. Mem., 2,  
77-202.

Ullyett, G.C. and Schonken, D.B. 1940

A fungus disease of Plutella maculipennis curt.,  
with notes on the use of entomogenous fungi in  
insect control

Union S. Africa, Dept. Agric. Sci. Bull., 218 : 24p.

Wene, G. 1943

Sagaritis provancheri (D.T.), an important  
parasite of the tobacco budworm

J. Econ. Entomol. 36(2) : 333-334.

Wigglesworth, V.B. 1972

The principals of Insect Physiology

7<sup>th</sup> edition, Chapman & Hall, London 795 pp.

Wilkinson, J.D., Biever, K.D., Ignoffo, C.M. 1975

Contact toxicity of some chemical and biological  
pesticides to several insect parasitoids and  
predators

Entomophaga 20 (1), 113-120.

Wilson, D.D. and Ridgway, R.L. 1974

Cocoon spinning behavior of the parasitoid

Campoletis sonorensis

Environ. Entomol. 3 : 714-7.

Wilson, D.D. and Ridgway, R.L. 1975

Morphology, development, and behavior of the  
immature stages of the parasitoid, Campoletis  
sonorensis (Hymenoptera: Ichneumonidae)

Ann. Entomol. Soc. Am. 68(2) : 191-196.

Young, J.R. and Hamm, J.J. 1967

Reproduction of Trichogramma fasciatum in eggs from  
Tepa sterilized fall armyworm

J. Econ. Entomol. 60(3) 722-724.