

DESENVOLVIMENTO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PARA ESTUDOS DO EFEITO DE ALELOQUÍMICOS SOBRE *Scrobipalpuloides absoluta* (MEYRICK)

Teresinha A. Giustolin¹, José D. Vendramim¹ e José R.P. Parra¹

ABSTRACT

Development of an Artificial Diet for *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) for Allelochemical Studies

This work was carried out to develop an artificial diet for *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) for future studies on the effects of allelochemicals against this pest. Ten artificial diets, containing different protein sources, were tested. In general, diets that promoted higher larval viabilities registered high levels of adult malformations. Conversely, in diets with low levels of adult malformations, a high larval mortality was observed. Pupal viability was high in all diets tested. Although none of the artificial diets were comparable to the natural one (tomato leaves), a diet containing bean, wheat germ, casein, yeast and soybean as protein sources was satisfactory for studying the effects of allelochemicals on *S. absoluta*.

KEY WORDS: Insecta, artificial diet, tomato, biology.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma dieta artificial para *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) para futuros estudos dos efeitos de aleloquímicos sobre esta praga. Foram testadas 10 dietas artificiais, contendo diferentes fontes protéicas. De modo geral, as dietas que promoveram as maiores viabilidades larvais, também causaram as maiores percentagens de deformação de adultos, enquanto que nas dietas em que ocorreu baixa percentagem de deformação, foram obtidas baixas viabilidades larvais. Todas as dietas, mesmo aquelas com elevada percentagem de adultos deformados, proporcionaram alta viabilidade pupal. Embora, nenhum dos meios tenha proporcionado um desenvolvimento comparável àquele obtido na testemunha (folhas de tomateiro), foi possível selecionar uma dieta contendo, como fonte protéica, feijão, germe de trigo, caseína, levedura de cerveja e proteína de soja como a mais adequada para testes com aleloquímicos e *S. absoluta*.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, dieta artificial, tomateiro, biologia.

Recebido em 11/07/94. Aceito em 16/05/95.

¹Departamento de Entomologia, ESALQ/USP, Caixa postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP.

INTRODUÇÃO

O efeito dos aleloquímicos, presentes em tomateiro, sobre insetos tem sido demonstrado em relação a várias espécies-pragas, como *Manduca sexta* (L.), *Helicoverpa zea* (Bod.), *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Keiferia lycopersicella* (Walls.) e *Spodoptera exigua* (Hbn.) (Dimock et al. 1982, Dimock & Kennedy 1983, Lin et al. 1987, Farrar Junior & Kennedy 1988). Embora a ação dos aleloquímicos possa ser avaliada criando-se o inseto visado em genótipos (plantas) contendo diferentes concentrações destas substâncias, o mais indicado é sua incorporação em dieta artificial, onde seus efeitos podem ser isolados daqueles provocados por fatores físicos ou mesmo outros compostos químicos presentes na planta. No que se refere à *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick), pouco se conhece sobre os efeitos dos aleloquímicos presentes nas plantas hospedeiras dessa praga e, por outro lado, não se dispõe de uma dieta artificial adequada para sua criação. Portanto, o objetivo do trabalho foi obter um meio artificial que possibilitasse avaliar o efeito de aleloquímicos sobre a praga em questão, dentro de um programa de pesquisa que visa estudar as causas químicas de resistência do tomateiro à *S. absoluta*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 10 dietas artificiais em três etapas. Na primeira, foram testadas as dietas de Singh (1983) (dieta I), Goujet & Guilbot (1979) (dieta II), Hensley & Hammond (1968) (dieta III) e Burton (1969) (dieta IV) (Tabela 1), em laboratório mantido à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $40 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. Como testemunha, foram utilizadas folhas de tomateiro da cultivar Santa Cruz Kada AG-373. Na segunda etapa, em que o laboratório foi mantido à $20 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h, foram novamente avaliadas as dietas de Hensley & Hammond (III) e Burton (IV), além de algumas modificações destas, e a dieta de Greene et al. (1976) (V) (Tabela 1). Na dieta III, acrescentou-se ácido linoléico (0,2ml) (dieta VI), com o objetivo de reduzir a deformação das asas dos adultos. Na dieta IV, acrescentou-se sacarose (42,82g) (VII), como fagoestimulante. O tratamento testemunha foi semelhante ao utilizado na primeira etapa. Finalmente na terceira etapa, foram avaliadas três dietas, obtidas a partir da incorporação dos ingredientes da dieta de Hensley & Hammond à dieta de Greene. Os meios testados diferiram entre si quanto ao feijão que foi cozido sem casca (VIII), cozido com casca (IX) e cru (X). O laboratório foi mantido à $24 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas.

As dietas foram preparadas conforme as técnicas descritas por Parra (1979), sendo vertidas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm), tampados com algodão hidrófugo. Este conjunto foi previamente esterilizado em estufa a 100°C por uma hora. Após a colocação das dietas, foi feita nova esterilização, por igual período de tempo, em câmara asséptica modelo PLANALSUCAR (Mendes 1980), procedendo-se, então, à inoculação das lagartas recém-eclodidas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, "inoculando-se" em cada tubo (repetição) três lagartas recém-eclodidas. Nas duas primeiras etapas, foram utilizados 60 tubos e, na última 50 tubos. As folhas de tomateiro (utilizadas como testemunha nas duas primeiras etapas), foram colocadas em tubos de vidro (8,5 cm x 2,5 cm), tendo o pecíolo envolvido por algodão umedecido. Foram mantidas três lagartas por repetição, sendo o alimento trocado a cada dois ou três dias.

Os parâmetros biológicos avaliados foram: duração e viabilidade da fase larval, viabilidade da fase pupal e percentagem de adultos deformados. Nas duas primeiras etapas, avaliou-se também a fecundidade, sendo formados 20 casais de indivíduos normais (para cada tratamento)

Tabela 1. Composição das dietas bases testadas para a criação de *Scrobipalpuloides absoluta*.

Componentes ¹	Dietas				
	I (Singh 1983)	II (Goujet & Guilbot 1979)	III (Hensley & Hammond 1968)	IV (Burton 1969)	V (Greene <i>et al.</i> 1976)
Caseína	59,5 g	-	45,0 g	-	30,0 g
Levedura de cerveja	-	51,0 g	-	50,5 g	37,5 g
Germe de trigo	51,0 g	47,6 g	45,0 g	79,2 g	60,0 g
Proteína de soja	-	-	-	-	30,0 g
Feijão	-	-	-	165,0 g	75,0 g
Farinha de milho	-	95,2 g	-	-	-
Colesterina	8,5 g	-	-	-	-
Ácido linoléico	6,5 ml	-	-	-	-
Sais de Wesson	17,0 g	-	15,0 g	-	-
Mistura vitamínica	34,0 ml	34,0 ml	15,0 ml	-	9,0 ml
Sacarose	51,0 g	-	75,0 g	-	-
Glucose	8,5 g	-	-	-	-
Ágar	42,5 g	34,0 g	30,0 g	20,0 g	23,0 g
Celulose	8,5 g	-	-	-	-
Ácido sórbico	2,7 g	-	-	1,6 g	1,8 g
Ácido ascórbico	-	6,8 g	6,0 g	5,1 g	3,6 g
Ácido benzóico	-	1,7 g	-	-	-
Cloridrato de colina	-	-	1,5 g	-	-
Nipagin	2,5 g	1,4 g	2,2 g	3,1 g	3,0 g
Aureomicina	0,5 g	-	416,7mg	-	-
Tetraciclina	-	-	-	-	113,0mg
Formol 37%	--	-	0,7 ml	-	3,6 ml
Formaldeído 10%	-	-	-	12,5 ml	-
Água destilada	1226,9 ml	156,0 ml	1300,0 ml	1195,0 ml	1200,0 ml
Folhas de tomateiro	-	102,0 g	-	-	-

¹Quantidade suficiente para 100 tubos.

emergidos no mesmo dia. Esses casais eram mantidos em copos plásticos transparentes com formato cônico e medindo 10,0 x 7,5 cm. Na parte inferior do copo era mantida uma tampa de placa de Petri (10,0 x 2,0 cm) e sobre esta era colocado um frasco de vidro com capacidade de 25 ml, contendo água. No interior do frasco, um folíolo de tomateiro era mantido com o pecíolo imerso na água, para servir de substrato de postura. Os ovos eram retirados e contados diariamente, ocasião em que se procedia a renovação dos folíolos.

A duração da fase larval e fecundidade nos diferentes tratamentos foram comparados através do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, enquanto as viabilidades larval e

pupal e a percentagem de adultos deformados foram analisadas, através do teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade (Campos 1979).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira etapa, os valores de duração da fase larval de *S. absoluta* nos quatro meios artificiais variaram de 27,91 a 28,85 dias, sendo superiores à média (13,02 dias) obtida no tratamento testemunha (folhas de tomateiro) (Tabela 2). As viabilidades larvais na dieta III (61,67%) e na testemunha (64,44%) foram significativamente superiores às demais dietas. Na dieta IV a viabilidade encontrada (40%) foi significativamente superior às obtidas nas dietas I (5,55%) e II (11,67%) (Fig. 1). No que se refere à viabilidade pupal, os valores obtidos nas

Tabela 2. Duração da fase larval de *Scrobipalpuloides absoluta* criada em diferentes dietas artificiais nas três etapas da pesquisa.

Dietas ²	Duração (dias) ¹		
	1ª etapa x ± s(x)	2ª etapa x ± s(x)	3ª etapa x ± s(x)
I	28,85 ± 1,51 b	----	----
II	28,41 ± 0,94 b	----	----
III	27,91 ± 0,42 b	35,48 ± 0,51 b	----
IV	28,82 ± 0,59 b	49,41 ± 1,54 d	----
V	----	39,57 ± 0,93 c	----
V	----	46,14 ± 0,70 d	----
VI	----	56,01 ± 1,63 e	----
VII	----	----	30,55 ± 0,79 a
IX	----	----	32,86 ± 0,78 a
X	----	----	31,56 ± 0,66 a
Test.	13,02 ± 0,20 a	18,42 ± 0,34 a	----

¹Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

²I (Singh 1983); II (Goujet & Builbolt 1979); III (Hensley & Hammond 1968); IV (Burton 1969); V (Greene et al. 1976); VI (III + ácido linoléico); VII (IV + sacarose); VIII (III + V com feijão sem casca); IX (III + V com feijão com casca); X (III + V com feijão cru).

dietas II e IV foram semelhantes ao encontrado na testemunha (acima de 80%), e ao valor obtido na dieta III (60,18%). A dieta I não promoveu a emergência de adultos (Fig. 1). A deformação de adultos na dieta III foi bastante elevada (78,67%), não ultrapassando 11%, no entanto, nos demais tratamentos (Tabela 3). Nas três dietas em que foram obtidos adultos, as fecundidades registradas foram semelhantes à obtida na testemunha, variando de 89,67 a

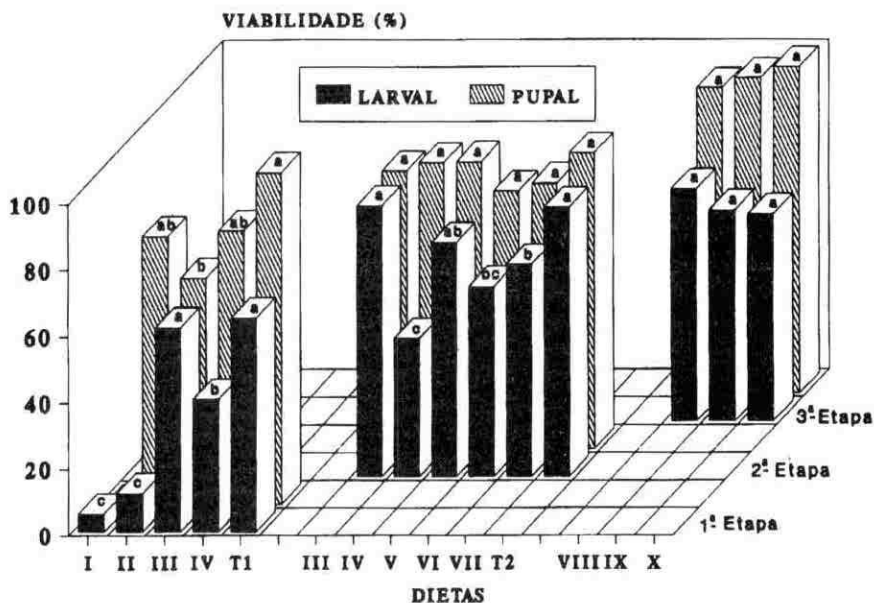


Figura 1. Viabilidade das fases larval e pupal de *Scrobipalpuloides absoluta* oriundas de lagartas criadas em diferentes dietas artificiais, nas três etapas da pesquisa. Médias seguidas de mesma letra dentro de cada etapa e dentro da fase larval e pupal, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

152,08 ovos por fêmea (Tabela 4). Embora nenhuma dieta tenha permitido desenvolvimento semelhante ao obtido nas folhas de tomateiro, a dieta de Hensley & Hammond (III) foi a mais promissora, por apresentar alta viabilidade larval, não obstante a elevada percentagem de adultos deformados. Como o segundo melhor meio artificial, pode ser destacado a dieta de Burton (IV), ainda que a viabilidade larval tenha sido relativamente baixa. As demais dietas foram consideradas inadequadas para a criação de *S. absoluta*.

Na segunda etapa, a duração da fase larval de *S. absoluta* variou entre 18,42 dias (dieta natural) e 56,01 dias (dieta VII). Comparando-se apenas os meios artificiais entre si, constata-se que o mais rápido desenvolvimento das lagartas ocorreu na dieta III, seguida pelas dietas V, VI e IV (Tabela 2). Comparando-se os resultados registrados nas dietas comuns às duas etapas, verifica-se que ocorreu um alongamento da fase larval na segunda etapa (inclusive na dieta natural), o que provavelmente se deveu à menor temperatura ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) em relação àquela empregada na primeira etapa ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Na dieta VII, com sacarose (utilizada como fagoestimulante), o desenvolvimento larval foi mais lento que na IV (sem sacarose). A adição de ácido linoléico (com o objetivo de reduzir a deformação de asas dos adultos) provocou o alongamento da fase larval como pôde ser verificado quando se compararam as dietas VI e III (com e sem ácido linoléico, respectivamente). Com relação à viabilidade da fase larval, os valores obtidos nas dietas III (81,67%) e V (70,55%) foram semelhantes ao obtido na testemunha (81,11%). Nas demais dietas, os valores foram significativamente inferiores aos obtidos na dieta III e na testemunha (Fig. 1). De modo geral, as dietas que proporcionaram

menor duração da fase larval foram justamente aquelas em que se verificou a maior viabilidade dessa fase com exceção da dieta VII, na qual, apesar de ter ocorrido a maior duração da fase larval, registrou-se um valor intermediário de viabilidade. Isto sugere que a sacarose (incluída nessa dieta), apesar de ter alongado o ciclo, permitiu uma maior sobrevivência das lagartas. As viabilidades pupais foram superiores a 75% em todos tratamentos (Fig. 1). A elevada percentagem de adultos deformados na dieta III (85%), constatado nesta etapa, ratificou os dados já obtidos com essa dieta na primeira etapa (Tabela 3). A adição de ácido linoléico objetivando reduzir esse problema não surtiu efeito, obtendo-se nesse caso (dieta VI), uma deformação superior a 77%, valor muito próximo daquele constatado no tratamento sem esse nutriente. Nas demais dietas, a percentagem de deformação foi inferior a 17%. Conforme tinha sido constatado na primeira etapa, também nesta fase a fecundidade das fêmeas foi semelhante à registrada na testemunha em todas as dietas testadas (83,80 a 101,05 ovos por fêmea), com exceção da dieta VI na qual não foi possível a análise de casais devido ao pequeno número de adultos normais obtidos (Tabela 4). Considerando-se os vários parâmetros avaliados, observa-se que a dieta mais adequada nessa segunda etapa, foi a dieta de Greene *et al.* (1976), a qual promoveu um desenvolvimento relativamente rápido das lagartas em comparação às demais dietas artificiais, tendo apresentado, por outro lado, viabilidade larval e percentagem de adultos deformados semelhantes aos valores registrados na testemunha. Já, na dieta de Hensley & Hammond (1968), embora o inseto tenha apresentado, nas fases larval e pupal, uma melhor performance do que na dieta de Greene *et al.* (1976), ocorreu uma elevada percentagem de deformação de adultos.

Tabela 3. Percentagem de adultos deformados de *Scrobipalpuloides absoluta* criada em diferentes dietas artificiais nas três etapas da pesquisa.

Dietas ²	Deformação (%) ¹		
	1ª etapa X ± s(X)	2ª etapa X ± s(X)	3ª etapa X ± s(X)
I	----	----	----
II	0,00	----	----
III	78,67 ± 4,76	85,00 ± 3,27	----
IV	10,53 ± 4,10	12,70 ± 4,23	----
V	----	16,67 ± 3,60	----
VI	----	77,92 ± 4,76	----
VII	----	4,39 ± 2,16	----
VIII	----	----	62,22 ± 0,79
IX	----	----	51,06 ± 0,78
X	----	----	84,51 ± 0,66
Test.	2,41 ± 1,69	5,38 ± 1,99	----

¹As médias não foram analisadas estatisticamente, devido à grande variação nos dados.

²I (Singh 1983); II (Goujet & Guilbot 1979); III (Hensley & Hammond 1968); IV (Burton 1969); V (Greene *et al.* 1976); VI (III + ácido linoléico); VII (IV + sacarose); VIII (III + V com feijão sem casca); IX (III + V com feijão com casca); X (III + V com feijão cru).

Na terceira etapa (em que não se incluiu a dieta natural), os valores de duração da fase larval não diferiram significativamente nos três tratamentos, embora tenham variado de 30,55 a 32,86 dias (Tabela 2). As viabilidades larvais variaram entre 62 e 70% e foram inferiores às registradas (na segunda etapa) nas dietas III e V cuja associação de componentes resultou nas dietas testadas nessa última etapa (Fig. 1). As viabilidades pupais foram superiores a 92% (Fig. 1). A deformação de adultos foi bastante elevada, variando de 51,06% (IX) a 84,51% (X) (Tabela 3).

Tabela 4. Fecundidade de fêmeas de *Scrobipalpuloides absoluta* criadas em diferentes dietas artificiais nas duas etapas da pesquisa.

Dietas ²	N ° de ovos/fêmea ¹	
	1ª etapa x ± s(x)	2ª etapa x ± s(x)
I	----	----
II	121,8 ± 27,87 a	----
III	89,67 ± 22,07 a	86,00 ± 19,88 a
IV	152,08 ± 10,65 a	83,80 ± 11,81 a
V	----	87,58 ± 9,49 a
VI	----	----
VII	----	84,20 ± 7,38 a
Test.	124,38 ± 11,82 a	101,05 ± 9,96 a

¹Médias seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

²I (Singh 1983); II (Goujet & Guilbot 1979); III (Hensley & Hammond 1968); IV (Burton 1969); V (Greene *et al.* 1976); VI (III + ácido linoléico); VII (IV + sacarose); VIII (III + V com feijão sem casca); IX (III + V com feijão com casca); X (III + V com feijão cru).

Baseando-se nos resultados obtidos nas três etapas, conclui-se que a dieta de Greene *et al.* (1976), apesar de não ser ideal para a criação de *S. absoluta* promovendo um alongamento da fase larval (Tabela 2), mostra-se suficientemente adequada para ser utilizada em pesquisas cujo objetivo seja estudar o efeito de aleloquímicos sobre a referida praga, pois permite discriminar o efeito de aleloquímicos para *S. absoluta* (Giustolin 1991). É conveniente salientar que estes tipos de traça (Lep.: Gelechiidae) demoram algum tempo para adaptarem-se ao meio artificial. Desta forma, segundo Singh, P. (informação pessoal) é possível que ao longo das gerações haja uma adaptação à dieta e possam ser conseguidos resultados melhores. Desta forma, embora para o objetivo proposto a dieta tenha sido adequada, devem ser conduzidos estudos para determinar a proporção e balanceamento ideal de nutrientes para este inseto, bem como realizados estudos por gerações sucessivas, uma vez que a presente pesquisa foi realizada por apenas uma geração de laboratório.

LITERATURA CITADA

- Burton, R.L.** 1969. Mass rearing the corn earworm in the laboratory. Washington, USDA/ Agricultural Research Service, 8p. (ARS 33-134).
- Campos, H.de.** 1979. Estatística experimental não-paramétrica. Piracicaba, ESALQ/USP, 343p.
- Dimock, M.B. & G.G. Kennedy.** 1983. The role of glandular trichomes in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *Heliothis zea*. Entomol. Exp. Appl. 33: 263-268.
- Dimock, M.B., G.G. Kennedy & W.G. Willians.** 1982. Toxicity studies of analogs of 2-tridecanone, a naturally occurring toxicant from a wild tomato. J. Chem. Ecol. 8: 837-842.
- Farrar Junior, R.R. & G.G. Kennedy.** 1988. 2-undecanone, a pupal mortality factor in *Heliothis zea*: sensitive larval stage and in plant activity in *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. Entomol. Exp. Appl. 47: 205-210.
- Giustolin, T.A.** 1991. Efeito dos aleloquímicos 2-tridecanona e 2-undecanona, presentes em *Lycopersicon* spp., sobre a biologia da traça-do-tomateiro *Scrobipalpuloides absoluta*. Dissertação de mestrado, ESALQ/USP, Piracicaba, 155p.
- Goujet, R. & R. Guilbot.** 1979. Alimentation artificielle de plusieurs lepidoptères ravageurs du feuillage de pommier. Ann. Zool. Ecol. Anim. 11: 119-124.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson.** 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69: 487-488.
- Hensley, S.D. & A.M. Hammond.** 1968. Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. J. Econ. Entomol. 61: 1742-1743.
- Lin, S.Y.H., J.T. Trumble & J. Kumamoto.** 1987. Activity of volatile compounds in glandular trichomes of *Lycopersicon* species against two insect herbivores. J. Chem. Ecol. 13: 837-850.
- Mendes, A.C.** 1980. Método de criação de parasitos da broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), p. 103-132. In Anais do Congresso Brasileiro de Entomologia, 6, Campinas, 322p.
- Parra, J.R.P.** 1979. Biologia dos insetos. Piracicaba, ESALQ/USP, 383p.
- Singh, P.** 1983. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Ins. Sci. Appl. 4: 357-362.
-