

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento

ISSN 1676 - 1340
Outubro, 2005

**Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária para o Brasil,
Agrotis segetum (Lepidoptera, Noctuidae)**

República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Luis Carlos Guedes Pinto
Presidente

Silvio Crestana
Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Ernesto Paterniani
Helio Tollini
Marcelo Barbosa Saintive
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Silvio Crestana
Diretor Presidente

José Geraldo Eugênio de França
Kepler Euclides Filho
Tatiana Deane de Abreu Sá
Diretores Executivos

Embrapa Recursos Genéticos e Bioteconologia

José Manuel Cabral de Sousa Dias
Chefe-Geral

Maurício Antônio Lopes
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Isabel de Oliveira Penteado
Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios

Maria do Rosário de Moraes
Chefe-Adjunto de Administração

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 104

**Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária
para o Brasil, *Agrotis segetum* (Lepidoptera, Noctuidae)**

Maria Regina Vilarinho de Oliveira
Shirley Franx Silva
Karen Regina Vilarinho
Paulo Roberto Queiroz
Rose Monnerat
Cássia de Oliveira Hiragi
Kenya Carla Cardoso Simões
Daniel Carlos Almeida
Luzia Helena Corrêa Lima

Brasília, DF
2005

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) –

Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3348-4739 Fax: (61)

3340-3666 TUTUTU<http://www.cenargen.embrapa.br>UUUTTT

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Maria Isabel de Oliveira Penteado*

Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: *Arthur da Silva Mariante*

Maria Alice Bianchi

Maria de Fátima Batista

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Editoração eletrônica: *Maria da Graça S. P. Negrão*

1^a edição

1^a impressão (2005):

SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO	9
MATERIAIS E MÉTODOS	11
<i>Insetos</i>	11
<i>Obtenção de perfis eletroforéticos.....</i>	13
<i>Perfil molecular</i>	12
<i>Reações de RAPD-PCR</i>	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
<i>1. Descrição das fichas bioecológicas das espécies de insetos utilizadas nesse trabalho</i>	14
<i>1.1. Agrotis segetum (Denis & Schiffermüller, 1775)</i>	14
<i>1.2. Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797)</i>	19
<i>2. Definições de perfis eletroforéticos</i>	23
CONCLUSÃO	25
AGRADECIMENTOS	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária para o Brasil, *Agrotis segetum* (Lepidoptera, Noctuidae)

Maria Regina Vilarinho de Oliveira¹
Shirley Franx Silva²
Karen Regina Vilarinho³
Paulo Roberto Queiroz⁴
Rose Monnerat⁵
Cássia de Oliveira Hiragi⁶
Kenya Carla Cardoso Simões⁷
Daniel Carlos Almeida⁸
Luzia Helena Corrêa Lima⁹

Resumo

O mundo passa por mudanças no desenvolvimento sustentável da agricultura, na segurança dos alimentos e na comercialização de produtos agropecuários. Medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada de organismos exóticos contribuindo de forma preponderante para sustentabilidade ambiental e do agronegócio brasileiro. *Agrotis segetum* é uma praga de expressão quarentenária para o Brasil. Ela compõe a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. O perfil molecular para

¹ Bióloga, Doutora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: vilarin@cenargen.embrapa.br

² Graduanda Geografia, Estagiária, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: shirley@cenargen.embrapa.br

³ Bióloga, Mestranda, Departamento de Produção Vegetal, Universidade de Brasília/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. Email: karen@cenargen.embrapa.br

⁴ Biólogo, Doutorando, Departamento de Biologia Animal, Universidade de Brasília/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: queiroz@cenargen.embrapa.br

⁵ Bióloga, Doutora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: rose@cenargen.embrapa.br

⁶ Bióloga, Mestre, Departamento de Biologia Animal, Universidade de Brasília/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970.

⁷ Bióloga, Departamento de Biologia - UNICEUB/ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970.

⁸ Graduando Biólogo, Estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970.

⁹ Bióloga, Doutora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Caixa Postal 02372, CEP 70849-970. E.mail: luzia@cenargen.embrapa.br

essa praga foi determinado por meio de RAPD-PCR. O protocolo molecular otimizado deverá ser aplicado quando da suspeita ou interceptação da praga no país, contribuindo para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento de um banco de marcadores moleculares baseados em RAPD para insetos exóticos. A técnica de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) se baseia na amplificação do DNA gerando simplicidade e rapidez a baixos custos ao mesmo tempo em que facilita a identificação de uma praga quarentenária.

RAPD-PCR fingerprinting to the quarantine pest to Brazil, *Agrotis segetum* (Lepidoptera, Noctuidae)

ABSTRACT

The world goes by changes in the sustainable development of the agriculture, in the safety of the food and in the commercialization of agricultural products. Quarantine measures play important parts contributing to obstruct the entrance of exotic organisms in a preponderant way to environmental sustainability and Brazilian Agrobusiness. *Agrotis segetum* is a pest of quarantine expression to Brazil. It composes the biological "Collection of Reference of Exotic Insects" of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology. The molecular profile for that pest was determined through RAPD-PCR. The optimized molecular protocol should be applied to test all imported commodities suspicious of being infested with pests, contributing to the products quarantine actions and to the establishment and development of a molecular markers bank based on RAPD for exotic insects. The technique of RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA) is based on the amplification of DNA generating simplicity, efficiency and at the same

INTRODUÇÃO

O mundo passa por mudanças no desenvolvimento sustentável da agricultura, na segurança dos alimentos e na comercialização de produtos agropecuários. A sociedade busca pela segurança biológica do meio onde vive. Associado a esses fatores tem o desenvolvimento do país, no qual uma concentração de esforços tenta reduzir perdas agrícolas ocasionadas por pragas que são introduzidas no país. Hoje, a bem da necessidade de crescer e alimentar o Brasil e o planeta, busca-se reduzir as perdas em níveis próximos de zero, por meio do aperfeiçoamento do processo de manejo, que vai desde a escolha de variedades e ponto de colheita, até o seu depósito em silos ou armazéns (Oliveira et al., 2005).

Um dos elementos críticos nesse processo de sustentabilidade, eficiência e segurança no contexto da globalização da economia é o movimento de organismos ou espécies invasoras exóticas (EIE), de uma região para outra, em função do comércio, transporte, trânsito e turismo. Bioglobalização se refere ao deslocamento de organismos de uma região para outra, inadvertida ou intencionalmente, levando a prejuízos incalculáveis. Vários exemplos podem ser dados sobre o impacto da entrada de pragas exóticas na agricultura brasileira e mundial (Oliveira et al., 2005).

De acordo com a FAO (2002), praga é qualquer espécie, raça ou biótipo de vegetais, animais ou agentes patogênicos, nocivos aos vegetais ou produtos vegetais. Praga quarentenária é um organismo de expressão econômica potencial para a áreaposta em perigo e onde ainda não está presente, ou se está não se encontra amplamente distribuída e é oficialmente controlada (FAO 2002). Entende-se também como sinônimo de pragas quarentenárias, as espécies exóticas (EE), cuja definição é: espécies ou subespécies ou grupos táxons inferiores, introduzidos fora de seu habitat natural ou presente distribuição geográfica; inclui qualquer parte de tais espécies como gametas, ovos ou propágulos que possam sobreviver e subsequentemente reproduzir, e por espécies invasoras exóticas (EIE), uma espécie exótica cuja introdução e ou dispersão ameaça a diversidade biológica (CBD, 2002).

Dentro dessa perspectiva, a Estação Quarentenária de Germoplasma Vegetal – EQGV, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, tem como uma de suas atribuições, a estruturação de uma “Coleção biológica de referência de insetos exóticos”. A elaboração de informes bioecológicos da praga considerando a abordagem de prevenção de entrada da praga no país associado à determinação do perfil molecular de RAPD-PCR (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso) contribui para a concretização de ações quarentenárias e no estabelecimento e desenvolvimento futuro de um banco de marcadores moleculares. Isso permitirá a identificação rápida e segura de uma praga exótica ser interceptada em um ponto de entrada no país, colaborando para a adoção de medidas quarentenárias e fitossanitárias de forma mais eficiente.

Agrotis segetum integra a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da EQGV. Ela consta da lista de pragas quarentenárias para o Brasil e é uma praga polífaga e de ampla dispersão geográfica. Ela faz parte do grupo de lagartas-roscas pertencente à Família Noctuidae, porque no seu estágio imaturo, tem o hábito de cortar a base das hastes de plântulas e de ficar protegida no subsolo das áreas de cultivo e, à medida que avança a fase imatura, suas larvas se movimentam, fazendo túneis e danificando raízes. Ela está associada a solos férteis e muito cultivados (Jones & Jones, 1974; Bowden et al., 1982, citados por Oliveira, 1988). A sua via-de-ingresso pode ser feita por meio da parte aérea das plantas ornamentais.

Para efeito de determinação do perfil molecular de *A. segetum* nesse trabalho, *Spodoptera frugiperda* (Smith) foi utilizada como espécie-padrão. Essa praga é uma das principais pragas do arroz e milho, no continente americano. Ela é vulgarmente conhecida como a lagarta-do-cartucho do milho ou lagarta-militar e é considerada a mais importante praga do milho no país. O seu ataque ocorre em todos os estádios de desenvolvimento do milho, podendo causar perdas de até 39% (Williams & Prates, 2003), dependendo, principalmente, do estádio da cultura em que ocorre o ataque (Valicente & Cruz, 1991; Cruz, 1995 citados por Bogorni & Vendarmim, 2003). Nagoshi & Meagher (2004), relaciona duas raças para essa espécie, a raça do arroz e a do milho.

A metodologia de trabalho constará da elaboração das fichas biológicas de *Helicoverpa armigera*, considerando a abordagem de prevenção de entrada da praga no país e de *S. frugiperda*, pela expressão econômica que ela representa para as culturas de milho e arroz no país. Também terá como objetivo determinar o perfil molecular por meio de RAPD, para essa espécie, de forma a subsidiar as medidas quarentenárias que por ventura necessitarem ser aplicadas para essa espécie quarentenária que integra a coleção biológica de referência de insetos quarentenários, se houver interceptação ou introdução da praga no país.

MATERIAIS E MÉTODOS

Insetos

Os insetos utilizados nesse trabalho foram, *S. frugiperda* e *A. segetum*.

S. frugiperda foi utilizada como espécie-padrão para a determinação do perfil molecular utilizando-se o RAPD-PCR. Larvas de terceiro instar, em número de cinco, foram coletadas na “Colônia de criação de insetos” da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Essa colônia foi estabelecida em 1990 e é constituída de populações da Embrapa Milho e Sorgo, originárias da cultura do milho. A fase imatura é mantida em dieta artificial conforme estabelecido por Schmidt et al. (2001). A criação das larvas foi realizada em ambiente com temperatura constante de $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h.

O material analisado de *A. segetum* foi cedido pelo Instituto de ARC-Grain Crops, em Potchesfstrroom, África do Sul, por meio do Dr. Johnnie van den Berg. Utilizou-se para análise parte de larva de *A. segetum* e parte de indivíduo adulto de *A. segetum*.

Perfil molecular

O procedimento utilizado para a obtenção de perfis moleculares de *A. segetum*, foi otimizado com base no protocolo previamente estabelecido para *Helicoverpa armigera* (Lima et al., trabalho no prelo).

Os insetos foram submetidos à maceração e em seguida, adicionou-se 500 μ L de tampão de extração (Tris-HCl 10mM pH 8, EDTA 1mM, Triton X-100 0,3% e Proteinase K 60 μ g.mL $^{-1}$), incubando-se por 30min a 65°C. Em seguida, adicionou-se 500 μ L de fenol/clorofórmio/álcool isoamílico (25:24:1) e as fases foram homogeneizadas em vortex por 5s. Após a homogeneização, o material foi centrifugado por 10 min a 10.000g e a 10°C. A fase aquosa foi então transferida para um novo tubo plástico, repetindo-se a etapa anteriormente descrita.

O DNA foi precipitado pela adição de 30 μ L de NaCl 5M e 1mL de etanol absoluto incubando-se por 2h a – 20°C. Após centrifugação a 10.000g por 10 min a 10°C, o DNA precipitado foi lavado duas vezes com 500 μ L de etanol 70%, seco à temperatura ambiente, ressuspenso em TE 0,1X (Tris-HCl 1mM pH 8, EDTA 0,1mM) e armazenado a –20°C. Para as análises de RAPD, utilizou-se o DNA da larva de *A. segetum* diluído 100X e do indivíduo adulto de *A. segetum* e de *S. frugiperda* diluídos 50X em TE 0,1X.

Reações de RAPD-PCR

Para os estudos de caracterização molecular, utilizou-se 5 μ L do DNA diluído (100ng) em 30 μ L de uma reação de RAPD-PCR, contendo 3,0 μ L de tampão 10X (Amersham), 0,6 μ L de dNTP's 10mM, 1,2 μ L de um primer 10 μ M de seqüência aleatória da Operon Technologies, Inc. (Tabela 1), 0,3 μ L de enzima *Taq* DNA polimerase (Pharmacia) na concentração de 2,5U. μ L $^{-1}$ e 24,9 μ L de água milliQ destilada. Após a adição do DNA, as reações foram cobertas com óleo mineral.

Tabela 1 – Primers usados nas reações de RAPD-PCR.

Primer	Seqüência (5' → 3')
OPA-03	AGT CAG CCA C
OPA-04	AAT CGG GCT G
OPA-10	GTG ATC GCA G
OPA-11	CAA TCG CCG T
OPA-13	CAG CAC CCA C
OPA-18	AGG TGA CCG T
OPR-01	TGC GGG TCC T
OPR-02	CAC AGC TGC C
OPR-04	CCC GTA GCA C
OPR-08	CCC GTT GCC T

Obtenção de perfis eletroforéticos

As amplificações foram efetuadas em termociclador (PTC 100 MJ Research) programado para 45 ciclos, contendo uma etapa inicial de desnaturação de 3 min a 94°C. Cada ciclo foi constituído de uma etapa de desnaturação de 1 min a 93°C, anelamento por 1 min a 35°C e extensão por 2 min a 72°C. Após os ciclos, foi realizada uma etapa de extensão final de 5min a 72°C. Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose 1,5% submerso em tampão TBE 1X (Tris-borato 9mM e EDTA 1mM), fotografados e arquivados no sistema de fotodocumentação (Eagleeye). Em todos os géis, marcadores de massa molecular (Ladder 100 bp - GIBCO) foram usados para a determinação do tamanho dos fragmentos amplificados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Descrição das fichas bioecológicas das espécies de insetos utilizadas nesse trabalho

1.1. *Agrotis segetum* (Denis & Schiffermüller, 1775)

Posição Taxonômica

Classe: Insecta

Ordem: Lepidoptera

Família: Noctuidae

Sinonímia

Scotia segetum Schiffermüller

Euxoa segetum

Nomes Vulgares

common cutworm

gusano cortador

noctuelle des moissons

turnip moth

winter moth

mariposa do aipo

Plantas Hospedeiras

- Allium cepa* (cebola), Alliaceae (Boettcher, 1992)
- Allium porrum* (alho-porró), Alliaceae (Boll & Ravn, 1993)
- Arachis hypogaea* (amendoim), Fabaceae (Eeden et al., 1994)
- Asparagus* sp. (aspargo, Liliaceae) (Tarasco, 2001)
- Aster* sp. (aster), Asteraceae (Fritzsche et al., 1991)
- Beta vulgaris* (beterraba) Chenopodiaceae (Boll & Ravn, 1993; Mrowczynski et al., 2003)
- Beta vulgaris* var. *saccharifera* (beterraba), Chenopodiaceae (Ugur et al., 1987; Jakubowska, 2003)
- Brassica campestris* var. *toria*, Brassicaceae (Kalra, 1992) (Wu et al., 1992)
- Brassica carinata* (couve-da-Etiópia), Brassicaceae (Kalra, 1992)
- Brassica juncea* (mostarda-de-folha), Brassicaceae (Kalra, 1992)
- Brassica napus* (canola), Brassicaceae (Kalra, 1992)
- Brassica napus* var. *oleifera* (colza/canola), Brassicaceae (Gong et al., 1993)
- Brassica oleracea* var. *botrytis* (couve-flor), Brassicaceae (Hachler, 1992)
- Brassica oleracea* var. *capitata* (repolho), Brassicaceae (Ugur et al., 1987; Walangululu & Mushagalusa, 2000)
- Capsicum* spp., Solanaceae (Zufarova & Kislitsina, 1991)
- Capsicum annuum* (pimentão), Solanaceae (Nikolov & Davidkova, 1988)
- Chenopodium album*, Chenopodiaceae (Wu et al., 1992)
- Cichorium intybus* (chicoria amarga), Asteraceae (Taraborrelli et al., 1989)
- Cichorium endivia* (chicória), Asteraceae (Lopez Robles & Hague, 2003)
- Cucumis melo* (melão), Cucurbitaceae (EPPO, 2004b)
- Cucurbita pepo* (abobrinha), Cucurbitaceae (EPPO, 2004b)
- Cynara scolymus* (alcachofra), Asteraceae (Ortu & Putzolu, 1998)
- Daucus carota* (cenoura), Apiaceae (Esbjerg, 2003)
- Fragaria ananassa* (morango), Rosaceae (Benuzzi & Antoniacci, 1995)
- Glycine max* (soja), Fabaceae (Ismukhambetov & Karbozova, 1992)
- Gossypium* spp. (algodão), Malvaceae (Khushbaktova, 1995)
- Gossypium hirsutum* (algodão), Malvaceae (EPPO, 2004a)
- Hibiscus cannabinus* (cânhamo brasileiro), Malvaceae (Zufarova & Kislitsina, 1991)

Hordeum vulgare (cevada), Poaceae (Mohyuddin, 1996; Mrowczynski et al., 2003)

Lactuca sativa (alface), Asteraceae (Hachler, 1992; Boll & Ravn, 1993)

Lycopersicon esculentum (tomate), Solanaceae (Zufarova & Kisliksina, 1991; Verma & Verma, 2002)

Malus pumila (maçã), Rosaceae (Dickler & Steuerwald, 1997; Ciglar & Baric, 1998)

Medicago sativa (alfafa), Fabaceae (Hansson et al., 1990; El Mergawy et al., 2003)

Mentha sp., Lamiaceae (Ramesh Chandra, 2004)

Nicotiana spp. (tabaco), Solanaceae (Vasilev, 1987)

Nicotiana tabacum (fumo), Solanaceae (Sannino, 2005)

Oryza sp., Poaceae (Jana et al., 1993)

Phaseolus vulgaris (feijão), Fabaceae (Parisi & Ranalli, 1997)

Prunus persica (pêssego), Rosaceae (Ciglar & Baric, 1998)

Pyrus communis (pêra), Rosaceae (Ciglar & Baric, 1998)

Secale cereale (centeio), Poaceae (Loginov, 2003)

Sesamum indicum (gergelim), Pedaliaceae (Zumreoglu & Akbulut, 1988)

Solanum tuberosum (batata), Solanaceae (Boll & Ravn, 1993; Jakubowska; Mrowczynski et al., 2003)

Spinacia oleracea (espinafre), Chenopodiaceae (Ugur et al., 1987)

Trifolium alexandrium (trevo de Alexandria, Fabaceae) (El Mergawy et al., 2003)

Trifolium repens (trevo branco, Fabaceae) (Zhao PeiBao et al., 2004)

Triticum sp., Poaceae (Wu et al., 1992)

Triticum aestivum (trigo), Poaceae (Mohyuddin, 1996; Zubachev et al., 2001)

Zea mays (milho), Poaceae (Zufarova & Kisliksina, 1991; Hachler, 1992; David & Decoin, 1999; Hachler et al., 2001)

Distribuição Geográfica

África:

África do Sul (Eeden et al., 1994)

Costa do Marfim (Vanucci et al., 1992)

Egito (El Mergawy et al., 2003)

Etiópia (Kravtchenko, 1992)

República Democrática do Congo (Walangululu & Mushagalusa, 2000)

Zimbábue (LaForest et al., 1999)

Ásia:

Azerbaijão (Kulieva, 1997)

Cazaquistão (Ismukhambetov & Karbozova, 1992)

China

Shandong (Zhao PeiBao et al., 2004)

Shanxi (Wang & Zhang, 1988)

Hunan (Li et al., 1993)

Índia (Kalra, 1992; Verma & Verma, 2002)

Malásia (Ishibashi & Choi, 1992)

Myamar (Morris & Waterhouse, 2001)

Paquistão (Mohyuddin, 1996)

Turquia (Zumreoglu & Akbulut, 1988)

Uzbequistão (Zufarova & Kislitsina, 1991; Khushbaktov, 1995)

Europa:

Alemanha (Dickler & Steuerwald, 1997)

Armênia (Hansson et al., 1990)

Bulgária (Nikolov & Davidkova, 1988; Hansson et al., 1990)

Croácia (Ciglar & Baric, 1998)

Dinamarca (Boll & Ravn, 1993; Esbjerg, 2003)

Espanha (Lopez Robles & Hague, 2003)

França (Alsácia) (David & Decoin, 1999; Barnay et al., 2001)

Hungria (Nowinszky, 1999)

Itália (Parisi & Ranalli, 1997; Ortú & Putzolu, 1998; Tarasco, 2001)

Macedônia (Vasilev, 1987)

Moldova (Ram et al., 1995)

Noruega (Kobro, 1991)

Polônia (Jakubowska; Mrowczynski et al., 2003)
Portugal (Marques et al., 1999)
Reino Unido (Wickramasinghe et al., 2004)
República Tcheca (Hrudova, 2005)
Romênia (Brudea & Rosca, 1992)
Rússia (Loginov, 2003; Korganova, 2004)
Suécia (Esbjerg, 2003)
Suíça (Genebra) (Hachler, 1992; Hachler et al., 2001)
Ucrânia (Zubachev et al., 2001; MROWCZYNSKI et al., 2003)

Via-de-ingresso

Folha, caule e raiz.

Sintomas

As larvas danificam a brotação do algodão, fazem buracos, cortam as raízes ou talos próximos a raiz e às vezes consomem a parte aérea do broto. Durante períodos de pico populacional as larvas podem destruir completamente os brotos (Khamraev & Davenport, 2005). *Agrotis segetum* e *Agrotis ipsilon* atacam o tabaco após o transplante, cortando o caule ao nível do solo (Sannino, 2005).

Detecção

Por viver no solo, onde se alimenta nas mudas de vários vegetais e de muitas outras plantas, *Agrotis segetum* é difícil de controlar. Geralmente é detectado somente quando as plantas já estão muito danificadas (El Salamouny et al., 2003).

Expressão Econômica

Por ser uma praga polífaga, qualquer vegetal poderá servir como alimento, em qualquer período do ano. Os efeitos da alimentação podem ser cosméticos ou até a destruição completa de plântulas pelo corte na base da haste. Uma amostragem de largata-rosca no Reino Unido revelou que essa é a espécie mais comum, encontrada em uma grande variedade de culturas causando grande impacto nas áreas de produção, como por exemplo, em beterraba, alface e repolho, no período correspondente a julho a outubro (Oliveira, 1988). Em Israel o ataque da praga ocorre no período de maio a junho mas as principais perdas ocorreram entre abril e junho, nas áreas de produção de citros, maçã, oliveira, uva, milho, tabaco, batata, berinjela, cenoura e repolho (Oliveira, 1988).

Medidas Quarentenárias

O maior risco de introdução desta praga em regiões onde ainda não existe é a partir da entrada de larvas ou pupas em plantas hospedeiras e partes de plantas ornamentais, como arranjos florais (Commonwealth of Australia, 1996). Nos portos e aeroportos, as brotações, as folhas novas, os frutos em desenvolvimento e outras partes de vegetais, principalmente de plantas ornamentais, devem ser cuidadosamente examinados, com o auxílio de lupas de bolso (x30). Em caso de suspeita, o material deve ser tratado imediatamente. Recomenda-se que todas as plantas hospedeiras e parte destas, bem como outro tipo de material de propagação, sejam provenientes de sementeiras ou locais livres da praga e quando importadas, estejam acompanhadas de um Certificado Fitossanitário, bem como sejam fumigados antes do envio. O Certificado Fitossanitário deve especificar o tratamento realizado no material vegetal.

1.2. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)

Posição Taxonômica

Classe: Insecta

Ordem: Lepidoptera

Família: Noctuidae

Sinonímia

Laphygma frugiperda

Noctua frugiperda

Phalaena frugiperda

Nomes Vulgares

fall armyworm

gusano cogollero

lagarta-do-cartucho

lagarta-do-cartucho do milho

lagarta-dos-arrozais

lagarta militar

Plantas Hospedeiras

Arachis hypogea (amendoim), Fabaceae (Meagher & Mitchell, 2001)

Brassica oleracea var. *capitata* (repolho), Brassicaceae (Armstrong, 1994)

Gossypium hirsutum (algodão), Malvaceae (Fernandes et al., 2002)

Oryza sativa (arroz) Poaceae (Didonet J. et al.; IAPAR, 2001; Busato et al., 2005)

Zea mays (milho) Poaceae (Evans & Stansly; Vanegas, 1990; Gonzalez et al., 1994; Lopez & Reyes, 1995; Silva et al., 2000; Jose Fernandez et al., 2001; Pinango et al., 2001; Garcia et al., 2002; Bastos et al.; Bleicher et al.; Guerreiro et al.; Kuniyoshi et al.; Vargas & Bobadilla, 2003; Giaveno et al.; Nagoshi & Meagher, 2004; Busato et al., 2005)

Saccharum officinarum (cana-de-açúcar), Poaceae (Badilla Fernandez, 2002)

Triticum aestivum (trigo) Poaceae (Gomez & Avila, 2001)

Distribuição Geográfica

América Central e Caribe

- Cuba (Jose Fernandez et al., 2001)
- Costa Rica (Badilla Fernandez, 2002)
- Honduras (Kuniyoshi et al., 2003)
- Nicaragua (Vanegas, 1990)
- Porto Rico (Armstrong, 1994)
- Trinidad e Tobago (Vignes, 1991)

América do Norte

- Estados Unidos (Nagoshi & Meagher, 2004)
- México (Rojas et al., 2004)

América do Sul

- Argentina (Giaveno et al., 2004)
- Bolívia (Lopez & Reyes, 1995)
- Brasil
 - Ceará (Bleicher et al., 2003)
 - Espírito Santo (Fanton, 1990)
 - Mato Grosso (Gomez & Avila, 2001)
 - Mato Grosso do Sul (Favero et al., 2000; Fernandes et al., 2002)
 - Minas Gerais (Bastos et al., 2003)
 - Paraná (IAPAR, 2001)
 - Pernambuco (Gonzalez et al., 1994)
 - Rio Grande do Norte (Silva et al., 2000)
 - Rio Grande do Sul (Busato et al., 2005)
 - São Paulo (Guerreiro et al., 2003)
 - Tocantins (Didonet J. et al., 2001)
- Chile (Vargas & Bobadilla, 2003)
- Colômbia (Garcia R. et al., 2002)

Equador (Evans & Stansly, 1990)

Guiana Francesa (Silvain & Remillet, 2003)

Venezuela (Pinango et al., 2001)

Europa

Lituânia (Ostrauskas, 2003)

Sintomas

No início do ataque à planta do milho, as lagartas raspam as folhas deixando áreas transparentes. A lagarta se desenvolve e passa a localizar-se no cartucho da planta, destruindo-o. O estádio da planta mais sensível ao ataque é quando esta apresenta de 8 a 10 folhas. Medidas para o controle devem ser realizadas quando 17% das plantas estiverem com o sintoma de folhas raspadas (Cruz et al., 2005).

A lagarta-dos-arrozais, também conhecida como lagarta-do-cartucho do milho ou lagarta-militar (*Spodoptera frugiperda*) existe em todos os Estados do Brasil, é polífaga e tem grande poder de destruição. No arroz irrigado, o período crítico de ataque ocorre entre a emergência das plântulas e a inundação da lavoura, quando as lagartas cortam as plantas rente ao solo, podendo destruir áreas extensas da cultura. A praga pode atacar toda a parte aérea da planta de arroz, sendo mais comum e prejudicial por reduzir a superfície foliar das plantas jovens ou mais desenvolvidas, quando há comprometimento da folha bandeira (Ferreira & Barrigossi, 2005).

Expressão Econômica

Spodoptera frugiperda é considerada a principal praga da cultura do milho no Brasil. Ataca a planta desde a sua emergência até o pendoamento e espigamento. O seu ataque ocorre em todos os estádios de desenvolvimento do milho, podendo causar perdas de até 34% (Willims & Prates, 2003) e dependendo do estádio da cultura, essas perdas podem alcançar até 39% (Bogorni & Vendarmim, 2003; Cruz et al., 2005).

Nagoshi & Meagher (2004), relacionam duas raças para essa espécie, a raça do arroz e a do milho. Busato et al. (2004) e Busato et al. (2005), citam a presença das raças do arroz e milho, no estado do Rio Grande do Sul.

Em condições de laboratório, uma lagarta de *S. frugiperda*, para completar o desenvolvimento na cultivar de arroz irrigado BR Irga 409, precisou, em média, de 20,6 dias, e consumiu 156,7 cm² de folha; os três últimos ínstares larvais foram responsáveis por mais de 90% do total de folhas consumidas. Em arroz novo, antes da irrigação, verificou-se que, em sete dias de alimentação, cada lagarta pode provocar redução de 0,9% na produção de grãos, se for originada dentro da lavoura, e 1,5%, se for migrante (Ferreira & Barrigossi, 2005).

2. Definições de perfis eletroforéticos

Os 10 primers de seqüência aleatória de RAPD produziram padrões de bandeamento diferenciados entre as espécies de lepidópteras analisadas nesse trabalho (Figura 1).

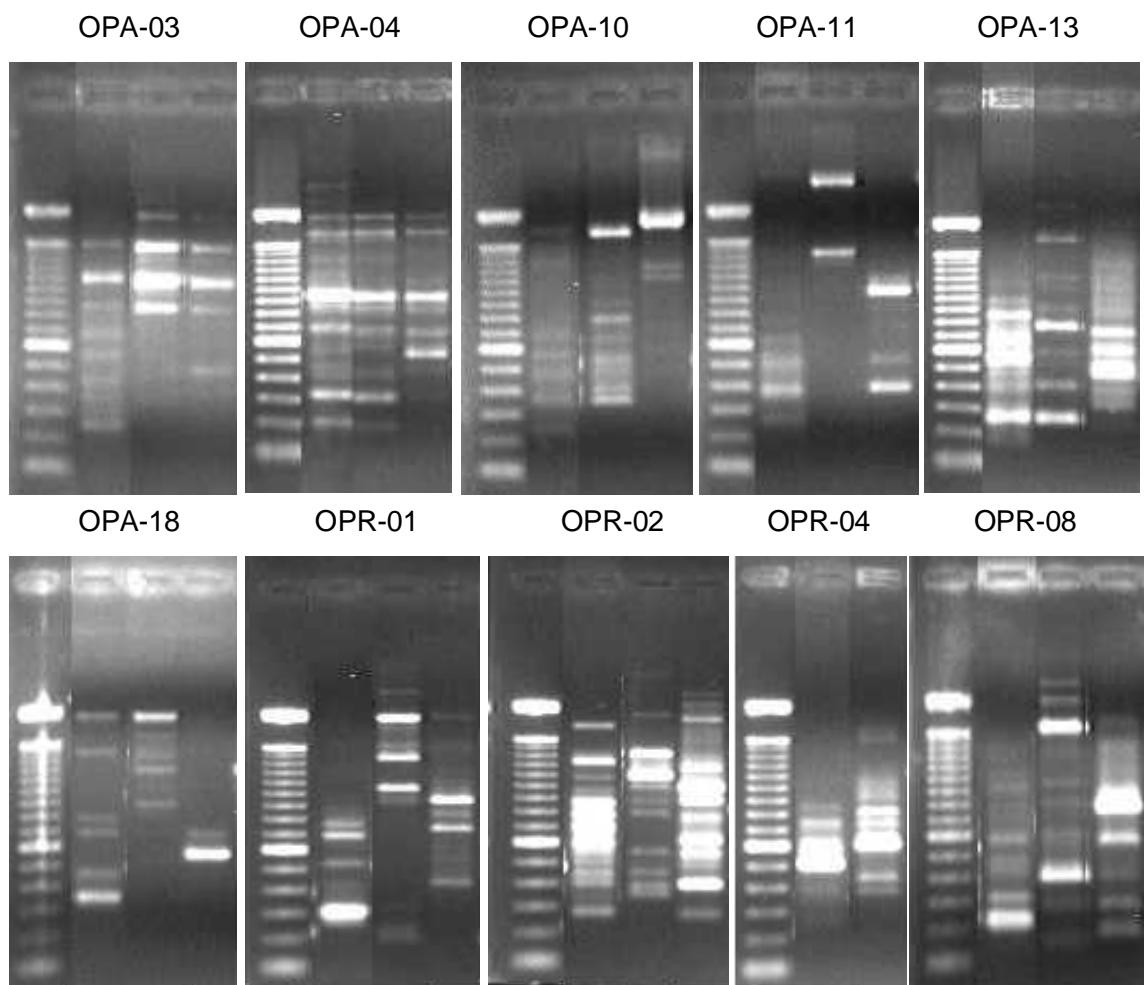


Figura 1 – Perfis de marcadores moleculares obtidos das amostras analisadas com 10 primers de RAPD. Amostras organizadas da esquerda para direita: marcador de massa molecular 100 pb ladder, larva de *A. segetum*, indivíduo adulto de *A. segetum* e larva de *S. frugiperda*.

Quando comparado com o perfil eletroforético produzido pela larva de 3º ínstar de *S. frugiperda*, as amostras de *A. segetum* produziram diferentes padrões de bandeamento. Com o primer OPA-04 observou-se bandas de 200 pb e 320 pb presentes nas amostras de *A. segetum* que não apresentavam correspondência nas amostras de *S. frugiperda*. Resultado similar foi observado com o uso do primer OPA-10. O primer OPA-11 produziu uma banda de massa molecular elevada e encontrada apenas no indivíduo adulto de *A. segetum*. O primer OPA-13 gerou uma banda de 250

pb com potencial de ser explorada como marcador espécie-específico para essa variedade de lepidóptera. O mesmo aconteceu com o primer OPA-18 onde foi observada uma banda de massa molecular elevada, também, com potencial de uso semelhante ao primer OPA-13. Com os primers OPR-01, OPR-02 e OPR-08 foram gerados diferentes perfis de marcadores entre as duas amostras de *A. segetum*. Apenas o primer OPA-03 não apresentou diferenças marcantes entre as duas espécies de lepidópteros.

Estes resultados indicam que a técnica de RAPD pode ser usada a partir de amostras frescas ou conservada em álcool (Lima et al., trabalho no prelo), para a identificação dos lepidópteros em questão. Uma estratégia molecular foi estabelecida para atender a necessidade de se detectar a presença de insetos exóticos nas culturas do Brasil a partir de amostras armazenadas em álcool. Além disso, a partir dos marcadores moleculares gerados por RAPD é possível o desenvolvimento de primers específicos para as espécies de lepidópteras. Essa estratégia foi aplicada por Agusti et al. (1999) que desenvolveram primers específicos para a detecção de *H. armigera* no intestino de possíveis predadores dessa espécie. Dessa forma, os marcadores moleculares obtidos por RAPD mostram-se úteis para o desenvolvimento de várias estratégias no estudo da dinâmica das populações de lepidópteros.

Contudo, o sucesso na obtenção de marcadores moleculares via RAPD é dependente da qualidade do DNA obtido a partir dos tecidos do inseto. A técnica de extração utilizada nesse trabalho forneceu DNA com qualidade para a análise de lepidópteros utilizando-se primers de RAPD.

CONCLUSÃO

O perfil molecular obtido por meio de RAPD-PCR nesse trabalho indica que o método poderá ser utilizado para elaboração de um perfil padrão de identificação de *A. segetum*. Deverão ser testadas outras espécies correlatas para avaliar a eficiência da identificação molecular desta praga, caso ela venha ser interceptada ou introduzida no

país, permitindo a identificação segura e ações rápidas de quarentena e a elaboração de políticas públicas para pragas quarentenárias.

AGRADECIMENTOS

Dr. Johnnie van den Berg, Instituto de ARC-Grain Crops, Potchesfstrroom, África do Sul, pelo envio das amostras de *A. segetum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUSTI, N, DE VICENTE, M. C. & GABARRA, R. Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of *Helicoverpa armigera*: a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis. *Molecular Ecology* 8, 1467-1474, 1999.

ARMSTRONG, A. M. Additional new records of armyworms (*Spodoptera frugiperda* & *S. exigua*) attacking cabbage in Puerto Rico. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, v, 78, n. 1-2, p. 69-70, 1994.

BADILLA FERNANDEZ, F. A successful biological control program of insect pests in sugar cane in Costa Rica. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 64, p. 77-87, 2002.

BARNAY, O.; HOMMAY, G.; GERTZ, C.; KIENLEN, J. C.; SCHUBERT, G.; MARRO, J. P.; PIZZOL, J.; CHAVIGNY, P. Survey of natural populations of *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). **Journal of Applied Entomology**, v. 125, n. 8, p. 469-477. 2001.

BASTOS, C. S.; GALVAO, J. C. C.; PICANCO, M. C.; CECON, P. R.; PEREIRA, P. R. G. Incidência de insetos filófagos e de predadores no milho e no feijão cultivados em sistema exclusivo e consorciado. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 391-397, 2003.

BENUZZI, M.; ANTONIACCI, L. Recent successes in biological and integrated control strategies on strawberry. **Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura**, v. 57, n. 6, p. 63-65, 1995.

BLEICHER, E.; OLIVEIRA, I. S. R. de; VIDAL NETO, F. das C. Controle da lagarta-do-cartucho do milho usando-se areia como veículo de inseticida. **Revista Ciência Agronômica**, v. 34, n. 1, p. 51-56, 2003.

BOETTCHER, H. Quality changes during storage of onions (*Allium cepa* L.). II. Fresh weight losses. **Nahrung**, v. 36, n. 6, p. 584-594, 1992.

BOLL, P. S.; RAVN, J. P. Database management system for monitoring and warning of turnip moth (*Agrotis segetum*). SP Rapport, n. 7, p. 65-70, 1993.

BRUDEA, V.; ROSCA, I. Identification of the best synthetic pheromones fur use in forecasting and indicating the need for chemical treatment. **Cercetari Agronomice in Moldova**, v. 25, n. 4, p. 95-100, 1992.

BUSATO, G. R.; GRUTZMACHER, A. D.; GARCIA, M. S.; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.; BANDEIRA, J. de M. Exigências térmicas e estimativa do numero de gerações dos biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 4, p. 329-335, 2005.

Busato, G. R.; Grutzmacher, A. D.; Garcia, M. S.; Giolo, F. P.; Zotti, M. J.; Bandeira, J. de M. Exigências térmicas e estimativa do numero de gerações dos biotipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 4, p. 329-335. 2005.

Busato, G. R.; Grutzmacher, A. D.; Oliveira, A. C. de; Vieira, E. A.; Zimmer, P. D.; Kopp, M. M.; Bandeira, J. de M. Magalhaes, T. R. Analise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas as culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 6, p. 709-716. 2004.

CBD. Alien species that threaten ecosystems, habitats or species. In: Conference of the Parties to the Convention on Biological Diversity, n. 6, 2002, The Hague, the Netherlands, UNEP/CBD/COP/6/20, p. 54-60, 2002.

CIGLAR, I.; BARIC, B. Pernicious insects and mites fauna in Croatian orchards. **Entomologia Croatica**, v. 4, n. (1/2), p. 63-69, 1998.

COMMONWEALTH OF AUSTRALIA (Canberra: Australia). **Stem Borers: (Lepidoptera: Pyralidae)**, *Chilo partellus* (Swinhoe, 1885), *C. infurcatellus* (Snellen), *C. auricillius* (Dudgeon), *C. terrenellus* (Pagenstecher). Canberra: AQIS, 1996. Não paginado (Plant Quarantine Leaflet, 83).

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Pragas: pragas da fase vegetativa e reprodutiva. In: CRUZ, I.; VERSIANI, R. P.; FERREIRA, M. T. R. (Ed.). **Cultivo do milho**. Sete Lagoas, Minas Gerais: Embrapa Milho e Sorgo, 2000 (Embrapa Milho e Sorgo, Sistemas de Produção, 1). Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/prvegetativa.htm>>. Acesso em: 13 out. 2005.

DAVID, S.; DECOIN, M. Plant health review 1998. **Phytoma**, n. 513, p. 20-22, 1999.

DICKLER, E.; STEUERWALD, F. Research on the population dynamics of noctuid moths in apple orchards in spring using automatic light traps. **Mitteilungen der**

Deutschen Gesellschaft fur Allgemeine und Angewandte Entomologie, v. 11, n. 1/6, p. 251-254, 1997.

DIDONET, J.; DIDONET, A. P. P.; ERASMO, E. L.; SANTOS, G. R. dos. Incidência e densidade populacional de pragas e inimigos naturais em arroz de terras altas, em Gurupi-TO. **Bioscience Journal**, v. 17, n. 1, p. 67-76, 2001.

EEDEN, C. F. van; RENSBURG, J. B. J. van; LINDE, T. C. de. K. van der. Nature and importance of subterranean insect damage to pre-harvest groundnuts. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 11, n. 2, p. 59-63, 1994.

EL MERGAWY, R.; LI YI; EL SHEIKH, M.; EL SAYED, M.; ABOL ELA, S.; BERGOIN, M.; TIJSSEN, P.; FEDIERE, G. Epidemiology and biodiversity of the Densovirus MIDNV in the field populations of *Spodoptera littoralis* and other noctuid pests. **Bulletin of Faculty of Agriculture**, Cairo University, v. 54, n. 2, p. 269-281, 2003.

EL SALAMOUNY, S.; LANGE, M.; JUTZI, M.; HUBER, J.; JEHLE, J. A. Comparative study on the susceptibility of cutworms (Lepidoptera: Noctuidae) to *Agrotis segetum* nucleopolyhedrovirus and *Agrotis ipsilon* nucleopolyhedrovirus. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 84, n. 2, p. 75-82, 2003.

EPPO. Cotton. **EPPO/OEPP Bulletin**, v. 34, n. 1, p. 57-63, 2004a.

EPPO. Outdoor cucurbits. **EPPO/OEPP Bulletin**, v. 34, n. 1, p. 101-108, 2004b.

ESBJERG, P. Records of budworm in carrots and other root crops. **DJF Rapport, Markbrug**, n. 89, p. 139-141, 2003.

EVANS, D. C.; STANSLY, P. A. Weekly economic injury levels for fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation of corn in lowland Ecuador. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 6, p. 2452-2454, 1990.

FANTON, C. J. Principais pragas das pastagens no Espírito Santo. **Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária**, n. 73, p. 14-21, 1990. (Documentos).

FAO. **Glossary of Phytosanitary Terms.** Reference Standard. Secretariat of the International Plant Protection Convention of the Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. Rome: ISPM Publ. n. 5, 2002.

FAVERO, S.; CONTE, C. de O.; SILVA, M. V. da. Resistência de duas populações de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) a deltametrina. **Ensaio e Ciência: Série Ciências Biológicas, Agrárias, e da Saúde**, v. 4, n. 2, p. 71-80, 2000.

FERNANDES, M. G.; BUSOLI, A. C.; BARBOSA, J. C. Distribuição espacial de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em algodoeiro. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 3, p. 203-211, 2002.

FERREIRA, E.; BARRIGOSSI, J. A. F. Manejo dos principais insetos fitófagos. In: SANTOS, A. B. dos; BIAVA, M. (Ed.). **Cultivo do Arroz Irrigado no Estado do Tocantins**. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. (Embrapa Arroz e Feijão, Sistema de Produção, 3). Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoTocantins/manejo_insetos_fitofagos.htm>. Acesso em 13 out. 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220 pp. 1998.

FRITZSCHE, R.; GEISSLER, K.; SCHLIEPHAKE, E. Results of experiments with granulosis and nuclear polyhedrosis virus preparations in fruits, vegetables and ornamental plants. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**, v. 43, n. 5, p. 92-95, 1991.

GARCIA R., F.; MOSQUERA E., M. T.; VARGAS S., C. A.; ROJAS A, L. Biological, microbiological and physical control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn and other crops in Colombia. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 28, n. 1, p. 53-60, 2002.

GIAVENO, C. D.; PARAVANO, A. S.; CURIS, M. C; PORTMANN, E. Breeding maize for resistance to fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Argentina: genetic and environmental effects. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 434-440, 2004.

GOMEZ, S. A.; AVILA, C. J. **Controle químico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1792), na cultura do trigo**. Mato Grosso do Sul: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. (Embrapa Agropecuária Oeste, Boletim de Pesquisa, 9).

Gong, P. Y.; Wu, K. J.; Li, X. Z. Effect of airbourne SO₂ on performance of the turnip moth, *Agrotis segetum* Schiff. **Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n. 2, p. 209-215, 1993.

GONZALEZ, P. A. de; LEMOS, M. A.; RAMALHO NETO, C. E.; REIS, O. V. dos; TABOSA, J. T.; TAVARES FILHO, J. J. Correlações genéticas, fenotípicas e ambientais em dois ciclos de seleção no milho Dentado Composto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 419-425, 1994.

GUERREIRO, J. C.; BERTI FILHO, E; BUSOLI, A. C. Ocorrência estacional de *Doru luteipes* na cultura do milho em São Paulo, Brasil. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 70, p. 46-49, 2003.

HACHLER, M. The turnip moth *Agrotis segetum* D. & Sch. (Lepidoptera, Noctuidae), pest of large-scale cultivation and market gardening. Observations in French-speaking Switzerland. **Revue Suisse de Viticulture, d' Arboriculture et d' Horticulture**, v. 24, n. 5, p. 261-267, 1992.

HACHLER, M.; BRUNETTI, R.; ROSSER, W. Flight prediction of the turnip moth *Agrotis segetum* D. & Schiff. (Lepidoptera, Noctuidae), a pest of seed corns in the lake of Geneva area. **Revue Suisse d' Agriculture**, v. 33, n. 6, p. 245-252, 2001.

HANSSON, B. S.; TOTH, M.; LOFSTEDT, C.; SZOCS, G.; SUBCHEV, M.; LOFQVIST, J. Pheromone variation among eastern European and a western Asian population of the turnip moth *Agrotis segetum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 5, p. 1611-1622, 1990.

HRUDOVA, E. Nontarget Lepidoptera species found in the pheromone traps for selected tortricid species in 2002 and 2003 years. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, v. 53, n. 1, p. 35-44, 2005.

IAPAR. Arroz irrigado: práticas de cultivo. **Circular Instituto Agronômico do Paraná**, n. 119, 2001.

ISHIBASHI, N.; CHOI, D. R. Possible simultaneous/integrated biological control of soil pests by mixed application of entomopathogenic and fungivorous nematodes. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PLANT PROTECTION IN THE TROPICS, 3., Genting Highlands, Malaysia, 20-23 Mar. 1990. **Proceedings...Malaysia**, v. 6, p. 10-16, 1992.

ISMUKHAMBETOV, Zh. D.; KARBOZOVA, B. E. Experiences in soyabean protection. **Zashchita Rastenii Moskva**, n. 10, p. 23-24, 1992.

JAKUBOWSKA, M. Warning, forecasting and control of cutworm. **Gazeta Cukrownicza**, v. 111, n. 9, p. 279-281, 2003.

JANA, A. K.; CHATTERJEE, M. L.; GHOSH, M. R. Ecology and seasonal incidence of different species of rice ear-cutting caterpillars in West Bengal. **Indian Journal of Plant Protection**, v. 21, n. 1, p. 90-91, 1993.

JOSE FERNANDEZ, T.; JOA, J.; CARIDAD JIMENEZ, A.; LEONIDES DANGER, E.; MELITINA ANDINO, R.; GONZALEZ, N. Biological control of *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) with *Bacillus thuringiensis* Berliner (strain LBT-24) in the province of Granma, Cuba. I. **Centro Agrícola**, v. 28, n. 3, p. 5-10, 2001.

KALRA, V. K. Parasitism of *Agrotis segetum* Denis and Schiff. by *Turanogonia chinensis* Wied. on *Brassica* cultivars in Haryana. **Journal of Insect Science**, v. 5, n. 1, p. 86-87, 1992.

KHAMRAEV, A. Sh.; DAVENPORT, C. F. Identification and control of agricultural plant pests and diseases in Khorezm and the Republic of Karakalpakstan, Uzbekistan. **ZEF Work papers for sustainable development in Central Asia**, n. 8, 2004. Disponível em: <<http://www.khorezm.uni-bonn.de/downloads/WPs/ZEF-UZ-WP08-Khamraev-Davenport.pdf>>. Acesso em 26 set. 2005.

KOBRO, S. Irrigation against cutworm. **Gartneryrket**, v. 81, n. 21, p. 22-23, 1991.

KORGANOVA, N. N. Cutworms. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 7, p. 46, 2004.

KRAVTCHENKO, V. D. Imago activity rhythms of some pest species of Noctuidae in Ethiopia (Insecta: Lepidoptera). **Tropical Pest Management**, v. 38, n. 1, p. 75-76, 1992.

KULIEVA, Kh. F. The effect of juvenile hormone analogue [Altozar 4z] on the activity of esterases in the cotton bollworm [*Helicoverpa armigera*] and the turnip moth [*Agrotis segetum*]. **Izvestiya Akademii Nauk Azerbaidzhanskoi SSR, Biologicheskie Nauki**, n. 4/6, p. 73-76, 1997.

KUNIYOSHI, C. H.; RUEDA, A.; TRABANINO, R.; CAVE, R. Evaluation of the use of pheromones for the control and monitoring of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* in sweetcorn. **CEIBA**, v. 44, n. 1, p. 61-65, 2003.

LaFOREST, S. M.; PRESTWICH, G. D.; LOFSTEDT, C. Intraspecific nucleotide variation at the pheromone binding protein locus in the turnip moth, *Agrotis segetum*. **Insect Molecular Biology**, v. 8, n. 4, p. 481-490, 1999.

LI, F. C.; NIE, G. F.; FENG, Y.; XIA, Z. M. Study on *Hexameris agrotis* Wang et al. - an important natural enemy of cutworms. **Entomological Knowledge**, v. 30, n. 1, p. 40-42, 1993.

LIMA, L.H.C.; QUEIROZ, P.R.; OLIVEIRA, M.R.V. Protocolo de extração de DNA e análise da variabilidade genética de *Hellicoverpa armigera* por meio de RAPD, Brasília,D.F., 13 p. Trabalho não publicado.

LOGINOV, N. G. The basis is cultural control. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 7, p. 6-7, 2003.

LOPEZ ROBLES, J.; HAGUE, N. G. M. Evaluation of insecticides and entomopathogenic nematodes for control of the cutworm *Agrotis segetum* on endive. **Tests of Agrochemicals and Cultivars**, n. 24, p. 22-23, 2003.

LOPEZ, O.; REYES, E. Control of *Spodoptera frugiperda* in maize under irrigated and non-irrigated cropping systems. In: MEMORIAS DE LA REUNION LATINOAMERICANA, 3., Y REUNION DE LA ZONA ANDINA DE INVESTIGADORES EN MAIZ, 16., Cochabamba, Santa Cruz, Bolivia, p. 1071-1081, 1995.

MARQUES, C.; NUNES, A. P.; LURDES ALMEIDA, M. DE; CÉU GODINHO, M. DO; FIGUEIREDO, E.; AMARO, F ; CARVALHO, P.; MEXIA, A. Manual de protecção Integrada em culturas hortícolas protegidas: principais

pragas e auxiliares na Região Oeste. **Manual de protecção Integrada em culturas hortícolas protegidas**: principais pragas e auxiliares na Região Oeste, n. 60. 1999.

MEAGHER, R. L. JR.; MITCHELL, E. R. Collection of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) using selected pheromone lures and trap designs. **Journal of Entomological Science**, v. 36, n. 2, p. 135-142, 2001.

MOHYUDDIN, A. I. Pakistan. In: MILLER, R. H.; MOSER, J. G. (org.). **Sunn pests and their control in the Near East**. Rome: FAO Plant Production and Protection, n. 138, 1996.

MORRIS, H.; WATERHOUSE, D. F. The distribution and importance of arthropod pests and weeds of agriculture in Myanmar. **The distribution and importance of arthropod pests and weeds of agriculture in Myanmar**, p. 73, 2001.

MROWCZYNISKI, M.; WACHOWIAK, H.; BORON, M. Cutworms - a dangerous pest in the autumn of 2003. **Ochrona Roslin**, v. 47, n. 10, p. 24-26, 2003.

NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Behavior and distribution of the two fall armyworm host strains in Florida. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 4, p. 440-449, 2004.

Nagoshi, R. N., Meagher, R. L. Seasonal distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), host strains in agricultural and turf grass habitats. **Environmental Entomology**, v. 33, p. 8810-889. 2004. ISSN 0046-225X.

Nagoshi, R. N., Meagher, R. L. Seasonal distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae), host strains in agricultural and turf grass habitats. **Environmental Entomology**, v. 33, p. 8810-889. 2004. ISSN 0046-225X.

NIKOLOV, N.; DAVIDKOVA, L. The economic threshold of harmfulness of *Agrotis ipsilon* and *Agrotis segetum* in pepper. **Rasteniev"dni Nauki**, v. 25, n. 8, p. 82-88, 1988.

NOWINSZKY, L.; KAROSSY, C. S.; PUSKAS, J. Light trapping of turnip moth (*Scotia segetum* Schiff.) in relation to the duration and changes of Peczely's macrosynoptic weather conditions. **Novenyvedelem**, v. 35, n. 11, p. 555-562, 1999.

OLIVEIRA, M. R. V. de. **The ecology of *Agrotis segetum*, turnip moth (Lepidoptera, Noctuidae) nuclear polyhedrosis vírus and its use as a control agent**. Thesis submitted to the University of Oxford for the degree of Master of Science. 1988. 213p.

OLIVEIRA, M. R. V.; Silva, S. F.; Vilarinho, K. R. Subsídios ao processo de elaboração de plano de contingência: *Trogoderma granarium*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 81 p. – (**Documentos** / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 102-0110; 135).

ORTU, S.; PUTZOLU, F. *Ostrinia nubilalis* and *Helicoverpa armigera* on artichoke in Sardinia (Italy). **Informatore Fitopatológico**, v. 48, n. 9, p. 39-42, 1998.

OSTRAUSKAS, H. Moths caught in pheromone traps for southern armyworm (*Spodoptera eridania* Cr.), fall armyworm (*S. frugiperda* Sm.), and Egyptian cotton leafworm (*S. littoralis* Bsd.) (Noctuidae, Lepidoptera) during 1999-2001 in Lithuania. **Acta Zoologica Lituanica**, v. 13, n. 4, p. 411-424, 2003.

PARISI, B.; RANALLI, P. The principal pests of industrial French beans. **Informatore Agrario**, v. 53, n. 32, p. 52-53, 1997.

PINANGO, L.; ARNAL, E.; RODRIGUEZ, B. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on corn under three tillage systems. **Entomotropica**, v. 16, n. 3, p. 173-179, 2001.

QUEIROZ, P.R., MARTINS, E.S., MONNERATT, R.G., LIMA, L.H.C. Análise da variabilidade de uma população de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidóptera: Noctuidae) por meio de marcadores moleculares RAPD. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 75, 18 p. (2004).

RAM, P.; TSHERNYSHEV, W. B.; AFONINA, V. M.; GREENBERG, S. M. Studies on the strains of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) collected from different hosts in Northern Moldova. **Journal of Applied Entomology**, v. 119, n. 1, p. 79-82, 1995.

RAMESH CHANDRA. Status of medicinal plants with respect to infestation of insect pests in and around Chitrakoot, District-Satna (M.P.). **Flora and Fauna Jhansi**, v. 10, n. 2, p. 88-92, 2004.

ROJAS, J. C.; VIRGEN, A.; MALO, E. A. Seasonal and nocturnal flight activity of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) monitored by pheromone traps in the coast of Chiapas, Mexico. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 4, p. 496-503, 2004.

SANNINO, L. Insect pests of tobacco. **Informatore Fitopatologico**, v. 55, n. 2, p. 7-10, 2005.

SCHMIDT, F.G.V., MONNERAT, R., BORGES, M., CARVALHO, R. Criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos e semioquímicos. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. **Circular Técnica**, 11). 2001.

SILVA, P. S. L. e; DINIZ FILHO, E. T.; GRANJEIRO, L. C.; DUARTE, S. R. Effects of nitrogen rates and deltamethrin application on yields of green ears and grain yield of maize. **Revista Ceres**, v. 47, n. 269, p. 75-87, 2000.

SILVAIN, J. F.; REMILLET, M. Ecology and biology of *Noctuidonema guyanense* (Nematoda, Aphelenchoididae), an ectoparasite of *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae), in French Guiana. **Entomophaga**, v. 38, n. 4, p. 465-474, 1993.

TARABORRELLI, L.; TALAME, M.; PRINCIPE, P.; CORVI,.F. Control of noctuids in horticulture with a bait formulation based on quinalphos. **Difesa delle Piante**, v. 12, n. 1-2, p. 75-80, 1989.

TARASCO, E. Damaging insects in asparagus. **Informatore Agrario**, v. 57, n. 50, p. 36-38, 2001.

UGUR, A.; KANSU, I. A.; KEDICI, R. Investigations of the development of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) in the pupae of *Agrotis segetum* (Denis and Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on various food plants. In: TURKIYE ENTOMOLOJI KONGRESI BILDIRILERI, 1., 13-16 Ekim 1987, Ege Universitesi, Bornova, Izmir, p. 481-490, 1987.

VANEGAS, J. A. Abstracts of theses in the field of entomology at the Institute of Agricultural Science, Nicaragua. **Revista Nicaragüense de Entomología**, n. 13, p. 1-12, 1990.

VANUCCI, C.; LANGE, C.; LHOMMET, G.; DUPONT, B.; DAVOUST, D.; VAUCHOT, B.; CLEMENT, J. L.; BRUNCK, F. An insect antifeedant limonoid from seed of *Khaya ivorensis*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 9, p. 3003-3004, 1992.

VARGAS, H.; BOBADILLA, D. The experimental use of tralomethrin against some Lepidopterous larvae attacking vegetable crops in northern Chile. **IDESIA**, v. 21, n. 2, p. 115-124, 2003.

VASILEV, L. The problem of *Agrotis* (=*Scotia*) *segetum* in Macedonia and the possibilities for control. **Tutun Tobacco**, v. 37, n. 3-4, p. 81-97, 1987.

VERMA, K. S.; VERMA, A. K. Intensity of plant infestation by *Agrotis segetum* in tomato. **Insect Environment**, v. 8, n. 1, p. 16-17, 2002.

VIANA, P. A.; PRATES, H. P. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, vol.62, no.1, p.69-74. 2003. ISSN 0006-8705.

VIANA, P. A.; PRATES, H. P. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, vol.62, no.1, p.69-74. 2003. ISSN 0006-8705.

VIGNES, W. G. des. Monitoring and control of fall armyworm, (*Spodoptera frugiperda*) (J.E. Smith), on corn in Trinidad. **Journal of the Agricultural Society of Trinidad and Tobago**, n. 88, p. 41-46, 1991.

WALANGULULU, J. M.; MUSHAGALUSA, G. N. The major pests of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* subs *sabouda*) in Bukavu and around. **Tropicultura**, v. 18, n. 2, p. 55-57, 2000.

Wang, F. C.; Zhang, S. Y. Studies on *Trichogramma pintoi* (Hym.: Trichogrammatidae): its deuterotokous reproduction, artificial propagation and field releases. **Chinese Journal of Biological Control**, v. 4, n. 4, p. 149-151, 1988.

WICKRAMASINGHE, L. P.; HARRIS, S.; JONES, G.; JENNINGS, V. N. Abundance and Species Richness of Nocturnal Insects on Organic and Conventional Farms: Effects of Agricultural Intensification on Bat Foraging. **Conservation Biology**, v. 18, n. 5, p. 1283-1292, 2004.

WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.

Wu, K. J.; Gong, P. Y.; Li, X. Z. An artificial diet and a method for rearing the turnip moth, *Agrotis segetum* Schiff. (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica**, v. 31, n. 2, p. 121-129, 1992.

Zhao PeiBao; Shi YangSheng; Wang AnMin; Feng Ke. The specific composition and damage of lawn phytophagous insects in northwest Shandong. **Entomological Knowledge**, v. 41, n. 5, p. 472-475, 2004.

ZUBACHEV, S. R.; SHEVCHENKO, S. A.; YANOVSKII, YU. P. Biological method in Cherkashchina. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 7, p. 12, 2001.

ZUFAROVA, N. B.; KISLITSINA, T. I. Identifying noctuid species. **Zashchita Rastenii Moskva**, n. 7, p. 54-55, 1991.

ZUMREOGLU, S.; AKBULUT, N. Investigations on the pests of sesame in the second crop plantations in the Aegean Region. **Turkiye Entomoloji Dergisi**, v. 12, n. 1, p. 39-48, 1988.