

***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 105**

ISSN 1676 - 1340
Outubro, 2005

**Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária para o Brasil,
Hyphantria cunea (Drury, 1773) (Lepidoptera, Arctiidae Arctiinae)**

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 105

**Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária
para o Brasil, *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lepidoptera,
Arctiidae Arctiinae)**

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):

P 426 Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária para o Brasil, *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lepidóptera, Arctiidae Arctiinae) / Maria Regina Vilarinho de Oliveira ... [et. al.]. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005.

33p.;il. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, ISSN 1676-1340 ; 105)

1. *Hyphantria cunea* (Drudy, 1773) (Lepidóptera, Arctiidae Arctiinae) – perfil molecular. 2. RAPD-PCR. 3. Praga quarentenária. I. Oliveira, Maria Regina Vilarinho de. II. Silva, Shirley Franx. III. Vilarinho, Karen Regina. IV. Queiroz, Paulo Roberto. V. Monnerat, Rose. VI. Hiragi, Cássia de Oliveira. VII. Simões, Kenya Carla Cardoso. VIII. Almeida, Daniel Carlos. IX. Lima, Luzia Helena Corrêa. X. Série

SUMÁRIO

Resumo.....	6
INTRODUÇÃO	7
MATERIAIS E MÉTODOS	9
<i>Insetos</i>	9
<i>Perfil molecular</i>	10
<i>Obtenção de perfis eletroforéticos</i>	11
<i>Reações de RAPD-PCR</i>	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
1. <i>Descrição das fichas bioecológicas das espécies de insetos utilizadas nesse trabalho</i>	12
1.1. <i>Hyphantria cunea</i> (Drury, 1773).....	12
1.2. <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797).....	16
2. <i>Definições de perfis eletroforéticos</i>	20
CONCLUSÃO	22
AGRADECIMENTOS.....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

Perfil molecular obtido por RAPD-PCR para a praga quarentenária para o Brasil, *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lepidoptera, Arctiidae Arctiinae)

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 movimento de pessoas, bens de consumo e dos meios de transporte vem favorecendo a dispersão e consequentemente, a globalização de pragas. A introdução e o estabelecimento dessas pragas resultam em perdas para os ecossistemas natural e agrícola, favorecendo impactos econômicos, ambientais e sociais. Medidas quarentenárias desempenham papéis importantes contribuindo para barrar a entrada de organismos exóticos. *Hyphantria cunea* 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 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

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

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.

INTRODUÇÃO

A globalização de pragas paralelamente à da economia mundial tem aumentado em consequência das demandas da sociedade moderna. Esse fato gera problemas difíceis de serem solucionados porque ao se permitir ou facilitar a entrada de pragas exóticas em áreas de produção agrícola e/ou naturais é praticamente impossível a erradicação desses organismos.

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 potencial expressão econômica para a área posta em perigo e onde ainda não está presente, ou se está não se encontra amplamente distribuído e é oficialmente controlado (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 na 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), espécies exóticas cuja introdução ou dispersão ameaçam a diversidade biológica (CONVENTION..., 2002).

De acordo com De Porter e Clout (2005), espécies invasoras exóticas contribuem para a “poluição biológica” porque elas não se diluem com o tempo, ao contrário, suas populações aumentam em número fazendo com que haja um aumento exponencial, tanto em termos de dispersão geográfica quanto em densidade. A prevenção de introdução de espécies exóticas é a primeira e mais efetiva opção em termos de custo-benefício e sob o ponto de vista de custos diretos e indiretos ambientais e econômicos.

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) contribuem 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 ao ser interceptada em um ponto de entrada no país, colaborando para a adoção de medidas quarentenárias e fitossanitárias de forma mais eficiente.

Hyphantria cunea, integra a “Coleção biológica de referência de insetos exóticos” da EQGV. Apesar de não constar da lista de pragas quarentenárias para o Brasil, essa praga é exótica para o país.

Para efeito de determinação do perfil molecular de *H. cunea*, *Spodoptera frugiperda*, 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% (VIANA e PRATES, 2003), dependendo, principalmente, do estádio da cultura em que ocorre o ataque (BOGORNI e VENDRAMIM, 2003). Nagoshi e Meagher (2004a), relacionam duas raças para essa espécie, a raça do arroz e a do milho.

A metodologia deste trabalho consta da elaboração das fichas biológicas de *H. cunea*, 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 tem como objetivo determinar o perfil molecular por meio de RAPD-PCR, para essa espécie, de forma a subsidiar as medidas quarentenárias que por ventura necessitam ser aplicada para essa espécie exótica 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 *H. cunea*.

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 originárias da Embrapa Milho e Sorgo 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 *H. cunea*, fornecido pelo Departamento de Bioresources Development da Universidade de Hiroshima, em Nanatsuka, Shobara, Japão, por meio do Dr. Tadashi Gorni. Utilizou-se para análise parte de larva de *H. cunea*.

Perfil molecular

O procedimento utilizado para a obtenção de perfis moleculares de *H. cunea*, foi modificado com base no protocolo estabelecido para *Helicoverpa armigera* (LIMA et al., trabalho no prelo).

Os insetos foram macerados e em seguida, adicionou-se 500 μL de tampão de extração (Tris-HCl 10mM pH 8, EDTA 1mM, Triton X-100 0,3% e Proteinase K 60 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), incubando-se por 30min a 65°C. Em seguida, adicionou-se 500 μL 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 10min a 10.000g

e a 10ºC. A fase aquosa foi transferida para novo tubo plástico, repetindo-se a etapa anteriormente descrita.

O DNA foi precipitado pela adição de 30µL de NaCl 5M e 1mL de etanol absoluto incubando-se por 2h a – 20ºC. Após centrifugação a 10.000g por 10min a 10ºC, o DNA precipitado foi lavado duas vezes com 500µL de etanol 70%, seco à temperatura ambiente, ressuspenso em TE 0,1X (Tris-HCl 1mM pH 8, EDTA 0,1mM) e armazenado a –20ºC. Para as análises de RAPD, utilizou-se o DNA da amostra de *H. cunea* diluída 100X e de *S. frugiperda* diluída 50X em TE 0,1X.

Reações de RAPD-PCR

Para os estudos de caracterização molecular, utilizou-se 5µL do DNA diluído (100ng) em 30µL de uma reação de RAPD-PCR, contendo 3,0µL de tampão 10X (Amersham), 0,6µL de dNTP's 10mM, 1,2µL de um primer 10µM de seqüência aleatória da Operon Technologies, Inc. (Tabela 1), 0,3µL de enzima *Taq* DNA polimerase (Pharmacia) na concentração de 2,5U.µL⁻¹ e 24,9µL 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	G TG ATC GCA G
OPA-11	C AA TCG CCG T
OPA-13	C AG CAC CCA C
OPA-18	A GG TGA CCG T
OPR-01	T GC GGG TCC T
OPR-02	C AC AGC TGC C
OPR-04	C CC GTA GCA C
OPR-08	C CC 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 3min a 94°C. Cada ciclo foi constituído de uma etapa de desnaturação de 1min a 93°C, anelamento por 1min a 35°C e extensão por 2min 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. *Hyphantria cunea* (Drury, 1773)

Posição Taxonômica

Classe: Insecta

Ordem: Lepidoptera

Família: Arctiidae

Sinonímia

Hyphantria textor Harris

Nomes Vulgares

american fall webworm

american white butterfly

american white moth

bruco americano

chenille à tente estivale

fall webworm

l'ecaille fileuse

lifantria americana

Plantas Hospedeiras

Acer negundo (Aceraceae) (TREMATERRA et al., 1994; MAZZON e MARTINI, 2000; IZHEVSKII, 2002)

Acer sp. Aceraceae (GAZIEV et al., 1999)

Corylus sp. (Betulaceae) (YAMAN et al., 2002)

Diospyros spp. Ebenaceae (GOMI e TAKEDA, 1991)

Diospyros virginiana, Ebenaceae (WILLIAMS et al., 1987)

Ficus carica (figo), Moraceae (GAZIEV et al., 1999)

Fraxinus excelsior (freixo-europeu), Oleaceae (MIKLOS, 1987)

Juglans regia (nogueira), Juglandaceae (GAZIEV et al., 1999; MAZZON e MARTINI, 2000)

Liquidambar styraciflua (liquidambar), Hamamelidaceae (DOWD et al., 1999)

Malus pumila (maçã), Rosaceae (IZHEVSKII, 2002)

Morus alba (amora), Moraceae (TREMATERRA et al., 1994)

Morus nigra (amora preta), Moraceae (TREMATERRA et al., 1994)

Morus sp. Moraceae (GAZIEV et al., 1999; MAZZON e MARTINI, 2000; IZHEVSKII, 2002)

Platanus spp. Platanaceae (TREMATERRA et al., 1994; MAZZON e MARTINI, 2000)
Populus spp. (Salicaceae) (GAZIEV et al., 1999; MAZZON e MARTINI, 2000)
Prunus avium (cereja), Rosaceae (IZHEVSKII, 2002)
Prunus domestica (ameixa), Rosaceae (IZHEVSKII; OLTEAN, 2002)
Salix spp. Salicaceae (MAZZON e MARTINI, 2000)
Sambucus nigra (sabugueiro), Caprifoliaceae (MAZZON e MARTINI, 2000)
Taxodium distichum (cipreste-calvo), Taxodiaceae (ZHOU et al., 1993)
Tilia cordata (tília), Tiliaceae (TREMATERRA et al., 1994)
Vitis sp. (Vitaceae) (ORLINSKII, 1989; JERMINI et al., 1995; GAZIEV et al., 1999)
Vitis vinifera (uva), Vitaceae (DULA et al., 2004)

Distribuição Geográfica

América do Norte

Canadá (GOMI et al., 2004)

Estados Unidos (WILLIAMS et al., 1987; GOMI et al., 2004)

México (CAB..., 1999)

Ásia

Azerbaijão (GAZIEV et al., 1999)

China (SU ZHI et al., 2004)

Coréia (GOMI et al., 2004)

Irã (REZAEI et al., 2003)

Japão (GOMI et al., 2004)

República da Geórgia (LOLADZE et al., 2003)

Turquia (YAMAN et al., 2002)

Europa

Bulgaria (ORLINSKII, 1989)

Croácia (GLAVAS et al., 1997)

Dinamarca (LARSEN, 1995)

França (CHAUVEL, 2000)
Hungria (RIPKA, 2005)
Itália (TREMATERA et al., 1994; MAZZON e MARTINI, 2000)
Moldova (DEREVYANKO, 1991)
Romênia (OLTEAN, 2002)
Rússia (IZHEVSKII, 2002; STORCHEVAYA et al., 2004)
Sérvia e Montenegro (MIKLOS, 1987)
Suíça (JERMINI et al., 1995)

Via-de-ingresso

Folhas (SHETLAR, 2005)

Sintomas

Poucos danos reais são feitos à maioria das árvores. Entretanto, os ninhos podem não ser bem visíveis e múltiplas gerações em verões prolongados podem levar à desfolhação significativa. Grandes teias de seda nos ramos são sinais da presença de *Hyphantria cunea* (Drury) (SHETLAR, 2005).

Detecção

Hyphantria cunea (Drury), é mais freqüentemente descoberta quando a presença de teias de seda nas árvores no final do verão e início do outono são observadas. As lagartas incluem folhas e pequenos ramos em seus ninhos (SHETLAR, 2005).

Expressão Econômica

H. cunea é uma praga economicamente importante para avelã e outras culturas na Turquia, é responsável não somente como praga direta de plantas mas também como perturbador indireto para o homem – presença no ecossistema urbano - especialmente quando invadem as casas ou cobrem os carros estacionados com substância açucarada (YAMAN et al., 2002).

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..., 1996). Nos portos e aeroportos, as brotações, as folhas novas, os frutos em desenvolvimento e outras partes de vegetais, principalmente de plantas ornamentais como os bonsai, 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 sementeiros ou locais livres da praga e quando importadas, estejam acompanhadas de um Certificado Fitossanitário, bem como 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 e MITCHELL, 2001)
Brassica oleracea var. *capitata* (repolho), Brassicaceae (ARMSTRONG, 1994)
Gossypium hirsutum (algodão), Malvaceae (FERNANDES et al., 2002)
Oryza sativa (arroz) Poaceae (DIDONET et al.; INSTITUTO..., 2001; BUSATO et al., 2005)
Zea mays (milho) Poaceae (EVANS e STANSLY, 1990; VANEGAS, 1990; GONZALEZ et al., 1994; LOPEZ e REYES, 1995; SILVA et al., 2000; FERNANDEZ et al., 2001; PINANGO et al., 2001; GARCIA et al., 2002; BASTOS et al., 2003; BLEICHER et al., 2003; GUERREIRO et al., 2003; KUNIYOSHI et al., 2003; VARGAS e BOBADILLA, 2003; GIAVENO et al., 2004; NAGOSHI e MEAGHER, 2004b; BUSATO et al., 2005)
Saccharum officinarum (cana-de-açúcar), Poaceae (BADILLA FERNANDEZ, 2002)
Triticum aestivum (trigo) Poaceae (GOMEZ e AVILA, 2001)

Distribuição Geográfica

América Central e Caribe
Cuba (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 e MEAGHER, 2004b)

México (ROJAS et al., 2004)

América do Sul

Argentina (GIAVENO et al., 2004)

Bolívia (LOPEZ e REYES, 1995)

Brasil

Ceará (BLEICHER et al., 2003)

Espírito Santo (FANTON, 1990)

Mato Grosso (GOMEZ e AVILA, 2001)

Mato Grosso do Sul (FAVERO et al., 2000; FERNANDES et al., 2002)

Minas Gerais (BASTOS et al., 2003)

Paraná (INSTITUTO..., 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 et al., 2001)

Chile (VARGAS e BOBADILLA, 2003)

Colômbia (GARCIA et al., 2002)

Equador (EVANS e STANSLY, 1990)

Guiana Francesa (SILVAIN e REMILLET, 1993)

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, (*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 e 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. As perdas devidas ao ataque da lagarta podem reduzir a produção em até 39% (VIANA e PRATES, 2003), dependendo, principalmente, do estádio da cultura em que ocorre o ataque essas perdas podem alcançar até 34% (BOGORNI e VENDRAMIM, 2003; CRUZ et al., 2005). Nagoshi e Meagher (2004a), relacionam duas raças para essa espécie, a raça do arroz e a do milho. Busato et al. (2004, 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 e 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).

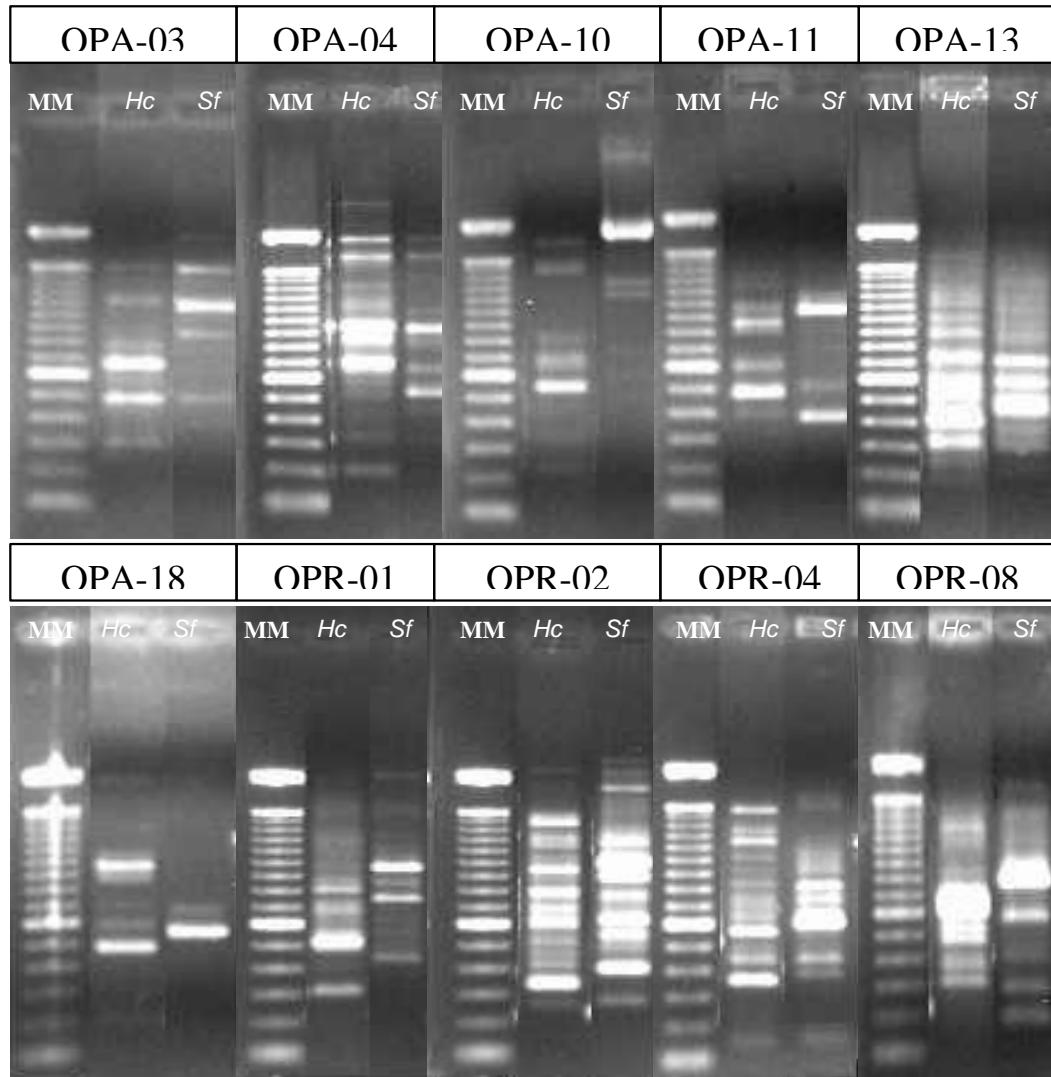


Figura 1 – Perfis de marcadores moleculares obtidos das amostras analisadas com 10 primers de RAPD. Amostras organizadas da esquerda para direita: (**MM**) marcador de massa molecular 100 pb ladder, larva de (**Hc**) *H. cunea* e larva de (**Sf**) *S. frugiperda*.

O perfil eletroforético produzido pela larva de 3º ínstar de *H. cunea* com o primer OPA-03 gerou duas bandas principais de 480 pb e 650 pb não relacionadas com a amostra padrão de *S. frugiperda*. Com o primer OPA-04 diferenciou-se *H. cunea* por três intensos sinais de amplificação variando na faixa de 700 pb a 1000 pb. Utilizando-se o primer OPA-10 obteve-se uma banda de 550 pb não relacionada com a amostra padrão. Provavelmente, esse sinal de amplificação poderá ser usado para a geração de um marcador específico para essa espécie de lepidóptera. O primer OPA-11 originou

três bandas de DNA características na faixa de 600 pb a 900 pb. Os produtos gerados pelo primer OPA-18 também se apresentaram como fortes candidatos para a geração de marcadores específicos para *H. cunea*. O primer OPR-01 duas bandas de 300 pb e 520 pb bem definidas para essa espécie de lepidóptero. Destacou-se nesse trabalho os perfis eletroforéticos gerados pelos primers OPA-13, OPR-02 e OPR-04 como sendo os primers mais polimórficos para a análise de *H. cunea*. Observou-se também que, dentre os primers selecionados para estudo, o primer OPR-08 gerou o mais intenso sinal de amplificação, localizado na faixa de 600 pb a 700 pb.

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 lepidópteras.

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 *H. cunea*. 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. Tadashi Gorni, Departamento de Bioresources Development da Universidade de Hiroshima, em Nanatsuka, Shobara, Japão pelo envio dos espécimes.

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**, Oxford, v. 8, p. 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**, Porto 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**, Turrialba, Costa Rica, n. 64, p. 77-87, 2002.

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**, Santa Maria, Brasil, v. 33, n. 3, p. 391-397, 2003.

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**, Fortaleza, v. 34, n. 1, p. 51-56, 2003.

BOGORNI, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioactivity of aqueous extracts of *Trichilla* spp. On *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) development on maize. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 665-669, 2003.

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**, Brasília, 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**, Londrina, Brasil, v. 33, n. 6, p. 709-716. 2004.

CAB INTERNATIONAL. **Crop Protection Compendium**. Wallingford, UK: CAB INTERNATIONAL, 1999.

CHAUVEL, G. Lepidoptera damaging green spaces, nurseries and urban forests. **PHM Revue Horticole**, n. 416, p. 18-28, 2000.

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

CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY. Alien species that threaten ecosystems, habitats or species. In: CONFERENCE OF THE PARTIES TO THE CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 6., The Hague, 2002, **Proceedings...** The Hague, The Netherlands: UNEP/CBD/COP/6/20, 2002. p. 54-60.

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.cnpmes.embrapa.br/publicacoes/milho/prvegetativa.htm> >. Acesso em: 13 out. 2005.

DE PORTER, M.; CLOUT, M. Biodiversity conservation as part of plant protection: the opportunities and challenges of risk analysis. In: ALFORD, D. V. e BACKHAUS, G. F. (Ed.). Plant Protection and Plant Health in Europe: Introduction and Spread of Invasive Species. **BCPC Symposium Proceedings**, Alton, Hampshire, UK., p. 55-60, 2005. (Monograph Series, n 81).

DEREVYANKO, N. M. Characteristics of the photoperiodic reaction of the fall webworm in the USSR. **Vestnik Zoologii**, n. 3, p. 51-55, 1991.

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.

DOWD, P. F.; LAGRIMINI, L. M.; HERMS, D. A. Tobacco anionic peroxidase often increases resistance to insects in different dicotyledonous species. **Pesticide Science**, v. 55, n. 6, p. 633-675, 1999.

DULA, B.; VOIGT, E.; SZENDREY, L.; MAKÓ, S. Protection of grapes II. **Novenyvedelem**, v. 40, n. 5, p. 251-263, 2004.

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).

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 Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1998. 220 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Glossary of Phytosanitary Terms**: Reference Standard. Rome: Secretariat of the International Plant Protection Convention, 2002. (ISPM Publ., n. 5).

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.

GAZIEV, M. B.; MUSTAFAEVA, T. M.; GYANDZHALIEV, G. A. American white butterfly in Azerbaijan. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 11, p. 33-34, 1999.

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.

GLAVAS, M.; DIMINIC, D.; HRASOVEC, B.; MARGALETIC, J. Pests and diseases in Croatian forest nurseries recorded in 1996. In: ZNANJE ZA GOZD. ZBORNIK OB 50. OBLETNICI OBSTOJA IN DELOVANJA GOZDARSKEGA INSTITUTA SLOVENIJE. Croatia: Slovenian Forestry Institute, 1997. v. 1, p. 245-252.

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).

GOMI, T.; MURAJI, M.; TAKEDA, M. Mitochondrial DNA analysis of the introduced fall webworm, showing its shift in life cycle in Japan. **Entomological Science**, v. 7, n. 2, p. 183-188, 2004.

GOMI, T.; TAKEDA, M. Geographic variation in photoperiodic responses in an introduced insect, *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae) in Japan. **Applied Entomology and Zoology**, v. 26, n. 3, p. 357-363, 1991.

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.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ. (IAPAR). **Arroz irrigado:** práticas de cultivo. Paraná: IAPAR, 2001. (Circular Instituto Agronômico do Paraná, n. 119).

IZHEVSKII, S. S. On the possibility of taking American white moth off the list of quarantine pests. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 12, p. 14-17, 2002.

JERMINI, M.; BONAVIA, M.; BRUNETTI, R.; MAURI, G.; CAVALLI, V. *Metcalfa pruinosa* Say, *Hyphantria cunea* (Drury) and *Dichelomyia oenophila* Haimah., three entomological curiosities or new phytosanitary problems for Tessin and Switzerland? **Revue Suisse de Viticulture, d' Arboriculture et d' Horticulture**, v. 27, n. 1, p. 57-63, 1995.

FERNANDEZ, T. J.; 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. **Centro Agrícola**, v. 28, n. 3, p. 5-10, 2001.

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.

LARSEN, K. List of new Danish 'Macrolepidoptera' since the appearance of Catalogue of the Lepidoptera of Denmark in 1985 (Lepidoptera). **Entomologiske Meddelelser**, v. 63, n. 4, p. 85-92, 1995.

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

LOLADZE, Z. P.; PARTSVANIYA, M. S. H.; LOBZHANIDZE, T. D. American white butterfly in the Republic of Georgia. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 1, p. 30, 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, 1995. Anais... Cochabamba, Santa Cruz, Bolívia: [s.n.], 1995. p. 1071-1081.

MAZZON, L.; MARTINI, S. Fall webworm *Hyphantria cunea* (Dury). Sherwood Foreste ed Alberi Oggi, v. 6, n. 11, p. 27-28, 2000.

MEAGHER JUNIOR, R. L.; 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.

MIKLOS, I. Some defoliators of ash and the effects of defoliation. **Glasnik za Sumske Pokuse**, n. 3, p. 277-286, 1987.

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, 2004a.

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, 2004b.

OLTEAN, I. The incidence of the main pests in the plum orchards of Cluj and Reghin fruit-bearing regions. **Buletinul Universitatii de Stiinte Agricole si Medicina Veterinara Cluj Napoca Seria Agricultura**, n. 57, p. 159-162, 2002.

ORLINSKII, A. D. Development of the bio-method in Bulgaria. **Zashchita Rastenii Moskva**, n. 12, p. 54, 1989.

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.

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.

REZAEI, V.; MOHARRAMPOUR, S.; TALEBI, A. A. The first report of *Psychophagus omnivorus* (Walker) and *Chouioia cunea* (Yang) parasitoid wasps of American white webworm *Hyphantria cunea* Drury (Lep.: Arctiidae) from Iran. **Applied Entomology and Phytopathology**, v. 70, n. 2, p. 137-138, 2003.

RIPKA, G. Recent data to the knowledge of the phytophagous arthropod species of invasive tree and shrub species. **Novenyvedelem**, v. 41, n. 3, p. 93-97, 2005.

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.

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, 2001. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular Técnica, 11).

SHETLAR, D. J. **Fall Webworm Management**. Ohio State Univ. Ext. Factsheet – Entomology. Disponível em: <<http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2026.html>>. Acesso em: 14 out. 2005.

SILVA, P. S. L.; 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. **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.

STORCHEVAYA, E. M.; PRAKH, S. V.; BORODULINA, M. Y. U. A strategy of self-defence in orchard agrocoenoses in the south of Russia. **Zashchita i Karantin Rastenii**, n. 7, p. 19-20, 2004.

SU ZHI; YANG ZHONGQI; WEI JIANRONG; WANG XIAOYI. Studies on alternate hosts of the parasitoid *Chouioia cunea* (Hymenoptera: Eulophidae). **Scientia Silvae Sinicae**, v. 40, n. 4, p. 106-116, 2004.

TREMATERRA, P.; FERRARIO, P.; BINDA, M. Possibilities in the control of *Hyphantria cunea*: studies on sexual pheromones. **Informatore Agrario**, v. 50, n. 21, p. 71-75, 1994.

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.

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.

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**, v. 62, n. 1, p. 69-74, 2003.

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.

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.

WILLIAMS, M. L.; SHEFFER, B. J.; MILLER, G. L.; HENDRICKS, H. J. Control of fall webworm. **Research Report Series Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University**, n. 5, p. 17-24, 1987.

YAMAN, M.; NALCACIOGLU, R.; DEMIRBAG, Z. Studies on bacterial flora in the population of the fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury. (Lep., Arctiidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 126, n. 9, p. 470, 2002.

ZHOU, J.; GOYER, R. A.; LENHARD, G. J. Seasonal occurrence of *Calleida viridipennis* (Say) and *Plochionus timidus* Haldeman (Coleoptera: Carabidae), predators of the fruit tree leafroller, *Archips argyrosila* (Walker), in Louisiana. **Journal of Entomological Science**, v. 28, n. 3, p. 254-262, 1993.