

## Impacto da temperatura e fotoperíodo no desenvolvimento ovariano e oviposição de traça-das-crucíferas

Allan Crema<sup>1</sup>; Marina Castelo Branco<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Graduação Biologia, Universidade Católica de Brasília; Estagiário Embrapa Hortaliças; <sup>2</sup>Embrapa Hortaliças, C. Postal 218, 70359-970 Brasília-DF; E-mail: marina@cnph.embrapa.br

### RESUMO

A migração é um fenômeno que pode ocorrer em algumas espécies de insetos e ela geralmente começa quando os ovários não estão desenvolvidos, ou o estão parcialmente. Para traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) já foi observado que a densidade larval afetou o grau de desenvolvimento ovariano. Neste trabalho foi determinado o impacto da temperatura e do fotoperíodo no desenvolvimento ovariano e na oviposição do inseto. Larvas de quarto estágio foram criadas individualmente em placas de Petri à temperaturas de 14 e 25°C e fotofase de 8 e 14 h. As fêmeas recém-emergidas foram mortas em um freezer, dissecadas sob um microscópio e o ovário observado. Para determinar o impacto da temperatura sobre a oviposição do inseto, larvas de quarto estágio foram criadas a temperaturas de 14 e 25°C e, quando os machos e fêmeas emergiram, casais foram colocados individualmente em placas de Petri. Foi determinado o período de pré-oviposição e o número de ovos depositados no primeiro dia. Os resultados mostraram que o grau de desenvolvimento ovariano não foi afetado pela temperatura e fotoperíodo empregados, indicando que estes fatores não afetaram o potencial migratório da espécie. Fêmeas criadas a 25°C depositaram seus ovos dois dias após a emergência enquanto que fêmeas criadas a 14°C o fizeram aos cinco dias, sugerindo que o período de pré-oviposição é aumentado a baixas temperaturas. O impacto destes resultados sobre a migração e dispersão da TDC são discutidos.

### ABSTRACT

#### Impact of temperature and photoperiod on ovarian development and oviposition of the Diamondback Moth

Migration occurs in some insect species, and in many cases it commences when the ovaries are immature. Environmental conditions can affect the rate of ovarian development and oviposition of insects. In the Diamondback Moth (DBM), *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae), the larval density affected the rate of ovarian development. In this work we determined the impact of temperatures and photoperiods on DBM ovarian development and oviposition. Fourth instar larvae were reared individually in Petri dishes at temperatures of 14 and 25°C and photoperiods of 8L:16D and 14L:10D. Emerged females were killed in a freezer and dissected under a microscope. To determine the impact of temperature on DBM oviposition, fourth instar larvae were reared individually in Petri dishes at temperatures of 14 and 25°C and photoperiods of 8L:16D. When the adults emerged, one male and one female were put in a Petri dish and the number of days for oviposition and the number of eggs laid in the first day was recorded. The results showed that the rate of ovarian development was not affected by the employed temperature or photoperiod suggesting that these factors did not affect the migratory potential of the species. Females reared at 25°C and 14°C began to lay their eggs 2 and 5 days after emergence, respectively. There were no significant differences in the number of eggs laid in the first day. The results suggested that oviposition is delayed at low temperatures. The impact of these results on migration and dispersion of DBM are discussed.

**Palavras-chave:** *Plutella xylostella*, repolho, couve-flor, migração.

**Keywords:** *Plutella xylostella*, cabbage, cauliflower, migration.

(Recebido para publicação em 16 de junho de 2003 e aceito em 20 de março de 2004)

A migração é o fenômeno de transferência de uma população de uma região para outra. Neste movimento, que é caracterizado por ser adaptativo e não acidental, os animais percorrem longas distâncias (Johnson, 1969). No caso dos insetos, a migração ocorre de diferentes maneiras, entre as diferentes espécies, podendo ser classificada como obrigatória ou facultativa (Gatehouse, 1994).

A migração obrigatória ocorre freqüentemente nas regiões de clima temperado e está associada à fuga dos insetos às baixas temperaturas do inverno. Nestas regiões, o fotoperíodo é um elemento chave para a indicação do

momento de migração (Southwood, 1977). A migração facultativa está relacionada com alterações no ambiente onde se encontram os insetos, as quais tornam inseguras a sobrevivência destes indivíduos e de sua prole (Southwood, 1977). A escassez de alimentos, a superpopulação e a umidade podem induzir a ocorrência deste fenômeno, como observado para *Spodoptera exempta* na África (Wilson e Gatehouse 1993).

Evidências mostram que a migração é acompanhada por uma série de alterações fisiológicas da estrutura corporal dos insetos. Quando as fêmeas emergem em ambientes desfavoráveis, estas têm o ová-

rio imaturo e uma forte tendência a serem migrantes. Com a chegada a um ambiente favorável, os ovários amadurecem e a oviposição se inicia em poucos dias. Nestes casos, a população pode crescer rapidamente. Por outro lado, quando as fêmeas emergem com os ovários maduros, estes insetos têm uma forte tendência a não serem migrantes. Com condições ambientais favoráveis, estes insetos depositam seus ovos na região onde se encontram ou bem próximos dali, efetuando o que se chama de movimento dispersivo ou trivial (Gatehouse, 1987). Nestes casos a oviposição se inicia em um curto período de tempo (Johnson, 1969).

A traça-das-crucíferas (TDC) é relatada como um inseto migrante. Chapman *et al.* (2002) observaram a migração do inseto da Holanda para o sul da Inglaterra, sendo este transporte realizado por correntes aéreas; Goodwin e Danthararyana (1984) observaram na Austrália um súbito aumento da população nas áreas de cultivo de brássicas e sugeriram que estes insetos eram provenientes de áreas frias. No Canadá, Smith e Sears (1982) observaram anualmente uma invasão de áreas de cultivo de brássicas por TDC, concluindo que estes insetos, transportados pelo vento, eram migrantes do sul dos EUA.

A migração de TDC pode estar associada a alterações fisiológicas no desenvolvimento ovariano. Fêmeas provenientes de ambientes com superpopulação e restrição de alimentos apresentaram ovários imaturos sugerindo que poderiam migrar; por outro lado, fêmeas provenientes de ambientes com baixa população e boa disponibilidade de alimentos, apresentaram ovários maduros, sendo consideradas não migrantes (Hillyer e Thorsteinson, 1969; Castelo Branco e Gatehouse, 1999). Nestas condições favoráveis, a oviposição pode se iniciar em um período de 1 a 3 dias (Harcourt, 1957; Hillyer e Thorsteinson, 1971).

Para melhor compreender os fatores que podem influenciar a migração e oviposição da TDC, este trabalho teve como objetivo analisar o impacto da temperatura e fotoperíodo sobre o desenvolvimento ovariano e o período de pré-oviposição do inseto.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Experimento 1: Separação de larvas macho e fêmea de TDC

Em experimentos onde se objetiva trabalhar apenas com um determinado sexo do inseto, a possibilidade de separação de machos e fêmeas no estágio larval contribui para reduzir os custos e o tempo necessário para a realização dos experimentos. Liu e Tabashnik (1997) observaram que larvas machos de TDC apresentavam uma coloração clara no quinto segmento abdominal, que advinha da presença das gônadas masculinas nesta região, sendo que as lar-

vas fêmeas não apresentavam tal coloração. Assim sendo, como neste trabalho se objetivava obter machos e fêmeas separados, a eficiência do método de Liu e Tabashnik (1997) foi testada.

Inicialmente, pupas e larvas de quarto estágio da praga foram coletadas em repolho, cultivado no campo experimental da Embrapa Hortaliças, em julho de 2002. Os insetos foram criados em laboratório, à temperatura de 25±1°C e fotofase de 14 horas, até a emergência de adultos. Quando isto ocorreu, eles foram liberados em gaiolas contendo folhas de repolho (var. Kenzan) para a obtenção de ovos. Dois dias após o início da oviposição, as folhas com ovos foram transferidas para caixas plásticas, também com folhas de repolho, e mantidas à mesma temperatura e fotofase anterior, até que as larvas atingissem o quarto estágio. Nesta fase, procedeu-se à separação de larvas machos e fêmeas, de acordo com o critério de Liu e Tabashnik (1997); Após a separação, as larvas foram colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro com folhas de repolho (máximo de cinco larvas/placa), até a formação de pupas, as quais foram colocadas individualmente em cápsulas de gelatina. Quando os insetos emergiram, o sexo foi determinado. Foram separadas 27 larvas machos e 37 fêmeas.

### Experimento 2: Avaliação do desenvolvimento ovariano de TDC, quando larvas de quarto estágio foram mantidas em diferentes temperaturas e fotoperíodos

Larvas e pupas de TDC foram coletadas na Embrapa Hortaliças, tendo sido utilizado o mesmo procedimento descrito no experimento 1, até a obtenção de larvas fêmeas. Neste momento, as larvas foram colocadas individualmente em placas de Petri de 5 cm de diâmetro contendo um círculo de folha de repolho, do mesmo diâmetro da placa. Em seguida, foram separadas aleatoriamente de acordo com os tratamentos: 25°C/14h de luz, 25°C/8h de luz, 14°C/14h de luz, 14°C/8h de luz, até a formação de pupas. As folhas de cada placa foram trocadas em intervalos variados, de modo a não ocorrer falta de alimento. No momento em que as pupas se formaram, estas foram colocadas in-

dividualmente em cápsulas de gelatina e mantidas à mesma temperatura e fotofase até a emergência das fêmeas, que foram mortas sob baixas temperaturas e os ovários examinados sob microscópio. Para esse exame foi colocada sobre uma lâmina de vidro uma solução de 0,09% de NaCl e a ela adicionada uma pequena quantidade do corante Neutro Red®, até que a solução se tornasse rosa clara. Em seguida, a fêmea morta foi colocada sobre a lâmina e o abdômen separado do tórax e das asas. O abdômen foi cortado longitudinalmente e o ovário exposto ao corante (Castelo Branco e Gatehouse, 1999). O estágio de desenvolvimento ovariano foi avaliado de acordo com a seguinte escala (Han, 1988): Estágio 0 (ovariolos vazios e pequenos); Estágio 1 (ovariolos maiores, contendo pequenos óocitos vermelhos); Estágio 2 (óocitos vermelhos e de formato retangular); Estágio 3 (óocitos bem desenvolvidos, com um ou mais óvulos amarelos localizados na base do ovário); Estágio 4 (óvulos amarelos presentes na base do ovariolo e no oviduto comum). Fêmeas nos estágios 0; 1 e 2 (ovário imaturo), foram consideradas potencialmente migrantes. Já as fêmeas nos estágios 3 e 4 foram consideradas potencialmente não migrantes (Castelo Branco e Gatehouse, 1999). Para a análise do impacto das diferentes temperaturas e fotoperíodos sobre o potencial migratório da TDC, as fêmeas foram agrupadas em migrantes e não migrantes e os dados obtidos foram analisados através do qui-quadrado, com uma tabela de contingência 2X2 (Gomez e Gomez, 1984). Foram avaliadas o máximo de 20 fêmeas por tratamento.

### Experimento 3: influência de diferentes temperaturas sobre a oviposição de TDC

Larvas de TDC foram coletadas no campo da Embrapa Hortaliças e criadas como descrito no experimento 1, até o quarto estágio. Em seguida, foram separadas por sexo e colocadas individualmente em placas de Petri com folhas de repolho, nas temperaturas de 14 e 25°C e fotofase de 14 horas, até a emergência dos adultos. Quando isto ocorreu, foram formados casais, que foram colocados em placas de Petri de 5 cm de diâmetro,

sem a presença de hospedeiros. Foi avaliado o número de dias para o início da oviposição e o número de ovos depositados nas primeiras 24 horas. Os períodos de oviposição e número de ovos foram submetidos à análise de variância com tamanho de amostras diferentes (Sokal e Rohlf, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimento 1: Separação de larvas macho e fêmea da TDC

Das 27 larvas machos de quarto estágio separadas, foi obtido um índice de acerto de 96%, enquanto que para larvas fêmeas este índice foi de 86%. O método de identificação visual, proposto por Liu e Tabashnik (1997), foi considerado satisfatório para a obtenção de adultos de sexo pré-determinado, e foi empregado nos demais experimentos.

### Experimento 2: Avaliação do desenvolvimento ovariano de TDC, quando larvas de quarto estágio foram mantidas em diferentes temperaturas e fotoperíodos

O desenvolvimento das larvas de quarto estágio até a emergência dos adultos, a 14°C, foi mais lento do que o desenvolvimento das larvas mantidas a 25°C (média de 17 e oito dias, respectivamente), confirmando os resultados obtidos por Koshihara (1986) e Salinas (1986). O desenvolvimento ovariano da traça-das-crucíferas não foi afetado pelo fotoperíodo, quando as larvas foram mantidas em fotofase de 14 h ( $\chi^2=0,182$ ,  $df=1$ ,  $p>0,05$ ) ou 8 h ( $\chi^2=0,06$ ,  $df=1$ ,  $p>0,05$ ). Este também não foi afetado pelo fotoperíodo quando a temperatura foi de 25°C ( $\chi^2=0,359$ ,  $df=1$ ,  $p>0,05$ ) ou 14°C ( $\chi^2=0,051$ ,  $df=1$ ,  $p>0,05$ ). Em todos os tratamentos, mais de 95% das fêmeas tiveram o desenvolvimento ovariano classificado nos graus 3 e 4, indicando que a maior parte destes insetos não estavam fisiologicamente preparados a se retirarem da área onde se encontravam, ou seja, estavam adaptados às diferentes condições de temperatura e de fotoperíodo. Estes resultados confirmam a ampla adaptação da traça-das-crucíferas a diferentes habitats. Na Venezuela por exemplo, o inseto foi encontrado tanto em lugares com temperatura média de 12°C, como nos lo-

**Tabela 1:** Período de pré-oviposição e número de ovos depositados pela traça-das-crucíferas no primeiro dia de emergência. Fêmeas mantidas em temperaturas de 14 e 25°C e fotofase de 16 h. Brasília, Embrapa Hortaliças, 2002.

Tratamento	Período de pré-oviposição (Média± EPM)	Número de ovos (Média± EPM)
25°C	2,6 ± 0,4 a	26,6 ± 4,7 a
14°C	5,7 ± 1,6 b	22,2 ± 3,6 a
CV (%)	22,1	38,6

cais com temperaturas médias de 30°C (Salinas 1986). Desse modo, essas temperatura e fotoperíodo não parecem ser fatores indutores de migração em traças-das-crucíferas, ao contrário da densidade populacional. Um grande número de insetos aglomerados em um só local, gera escassez de alimentos e consequentemente geram um elevado percentual de fêmeas com ovários imaturos, aptas a teoricamente migrarem grandes distâncias (Castelo Branco e Gatehouse, 1997).

As fêmeas mantidas a 14°C apresentaram maior concentração de gotículas de gordura na região abdominal, comparadas as fêmeas que ficaram a 25°C. É possível que a reserva de gordura observada nessas fêmeas, provenientes da temperatura de 14°C, sirva para que: a) os insetos mantenham as suas funções vitais por um período de tempo mais longo. Sarthoy *et al.* (1989) observaram que a 17,6°C, as fêmeas da TDC sobreviveram em média, 20 a 25 dias; já a 26,5°C a sobrevivência foi de apenas 12 dias; b) sirva de “combustível” para os insetos se dispersarem por distâncias maiores. Shirai (1995) verificou que adultos de *P. xylostella* criados a 15°C, apresentavam um período de duração de vôo maior do que adultos criados a 26°C.

### Experimento 3: influência de diferentes temperaturas sobre a oviposição de TDC

As fêmeas mantidas em temperatura mais baixa apresentaram período de pré-oviposição maior do que as fêmeas mantidas à temperatura mais elevada (Tabela 1). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Sarthoy *et al.* (1989), onde fêmeas de traça-das-crucíferas criadas a 17,6°C apresentaram período de pré-oviposição maior do que as fêmeas criadas a 26,5°C. Para outro

lepidóptero, *Cydia pomonella*, o mesmo fenômeno foi observado (Saethre e Hofsvang 2002). O retardamento da oviposição, em temperaturas mais baixas, deve ser um outro fator que contribui para vôos dispersivos mais longos da praga em busca de hospedeiros apropriados. Esta maior capacidade de dispersão a baixas temperaturas pode permitir que os insetos abandonem os locais onde o inverno seja rigoroso, rumo a locais com temperaturas mais favoráveis (Goodwin e Danthanarayana, 1984). Nas regiões montanhosas do Japão, por exemplo, o cultivo comercial de brássicas é realizado apenas no período de maio a outubro, quando as temperaturas são favoráveis ao cultivo de brássicas (Koshinara 1986).

O número de ovos depositados pelas fêmeas no primeiro dia de oviposição não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1), sugerindo que a temperatura não reduz a capacidade inicial de oviposição das fêmeas.

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Geni L. Villas Bôas pela revisão do manuscrito. A Hozanan P. Chaves pelo auxílio nos trabalhos de campo e laboratório.

## LITERATURA CITADA

- CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A.G.; Food availability and larval density affect ovarian development in *Plutella xylostella*. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil*, v.28 n.4, p.611-616, 1999.
- CHAPMAN, J.W.; REYNOLDS, D.R.; SMITH, A.D. RILEY, J.R.; PEDGLEY, D.E.; WOIWOD, I. High-altitude migration of the Diamondback Moth *Plutella xylostella* to the U.K.: a study using radar, aerial netting, and ground trapping. *Ecological Entomology*, v.27, p.641-650, 2002.

- GATEHOUSE, A.G. Migration: a behavioural process with ecological consequences? *Antenna*, v.11, p.10-12, 1987.
- GATEHOUSE, A.G. Insect migration: variability and success in a capricious environment. *Research on Population Ecology*, v.36, p.165-171, 1994.
- GOMEZ, K.A., GOMEZ, A. *Statistical procedures for agricultural research*. 2. Ed. New York: John Wiley & Sons, 1984. 680 p.
- GOODWIN, S.; DANTHANARAYANA, W. Flight activity of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Journal of Australian Entomological Society*, v.23, p.235-240, 1984.
- HAN, E. Laboratory studies on the regulation of migration in the Oriental Armyworm, *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). (Tese doutorado). University College of North Wales. Bangor. Reino Unido. 1988. 212 p.
- HARCOURT, D.G. Biology of the Diamondback, *Plutella xylostella* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae), in Eastern Ontario. II. Life-history, behaviour, and host-relationships. *The Canadian Entomologist*, v.89, p.554-563, 1957.
- HILLYER, R.; THORSTEINSON, A.J. The influence of the host plant or males on ovarian development or oviposition in the diamondback moth *Plutella xylostella*. *Canadian Journal of Zoology*, v.47, p.805-816, 1969.
- HILLYER, R.; THORSTEINSON, A.J. Influence of the host plant or males on programming of oviposition in the diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Canadian Journal of Zoology*, v.49, p.983-990, 1971.
- KOSHIHARA, T. Diamondback Moth and its control in Japan. In: Talekar, N.S.; Griggs, T.D. *Diamondback Moth Management. Proceedings of the First International Workshop*. AVRDC, Taiwan. p.43-53, 1986.
- JOHNSON, C.G. *Migration and dispersal of insects by flight*. ed. Methuen, London. 1969. 763 p.
- LIU, Y.B.; TABASHNIK, B.E.; Visual determination of sex of Diamondback moth larvae. *The Canadian Entomologist*, v.129, p.585-586, 1997.
- SAETHRE, M.G.; HOFVANG, T. Effect of temperature on oviposition behavior, fecundity and fertility in two northern European populations of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, v.31, p.804-815, 2002.
- SALINAS, P.J. Studies on Diamondback Moth in Venezuela with reference to other Latin American countries. In: Talekar, N.S.; Griggs, T.D. *Diamondback Moth Management. Proceedings of the First International Workshop*. AVRDC, Taiwan. p.17-24, 1986.
- SARTHOY, O.; KEINMEESUKE, P.; SINCHAI SRI, N.; NAKASUJI, F. Development and reproductive rate of the Diamondback Moth *Plutella xylostella* from Thailand. *Applied Entomology and Zoology*, v.24, p.202-208, 1989.
- SHIRAI, Y. Longevity, flight ability and reproductive performance of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), related to adult body size. *Research on Population Ecology*, v.37, p.269-277, 1995.
- SMITH, D.B.; SEARS, M.K. Evidence for dispersal of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), into southern Ontario. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, v.113, p.21-27, 1982.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, J. *Biometry*. 3. Ed. W.H. Freeman and Company. New York. 1995. 887 p.
- SOUTHWOOD, T.R.E. Habitat, the template for ecological strategies. *Journal of Animal Ecology*, v.46, p.337-365, 1997.
- WILSSON, K.; GATEHOUSE, A.G. Seasonal and geographical variation in the migratory potential of outbreak populations of the African armyworm moth, *Spodoptera exempta*. *Journal of Animal Ecology*, v.62, p.169-181, 1993.