

Determinação do número de instares larvais em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae)

Carvalho Carlos Ecolé, Norivaldo dos Anjos, Miguel Michereff Filho e Marcelo Picanço*

Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000. Viçosa-Minas Gerais, Brazil.
e-mail: nanjos@mail.ufv.br *Author for correspondence.

RESUMO. O presente trabalho teve como objetivo determinar indiretamente o número de instares larvais em *Plutella xylostella*. No Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade Federal de Viçosa, à temperatura de $24,5 \pm 4^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e UR de $70 \pm 5\%$, lagartas foram alimentadas em placas de Petri com folhas frescas de repolho. Diariamente uma quantidade variável de lagartas foi recolhida, fervida e conservada em álcool a 70%. As cápsulas cefálicas de noventa e seis (96) lagartas foram medidas sob lupa estereoscópica. A quantidade de instares e respectiva razão de crescimento foram determinadas pela análise de hipóteses. Na regra de decisão para a seleção da hipótese mais adequada, consideraram-se como pontos de rejeição da hipótese: *i*) a sobreposição dos intervalos de confiança para médias da largura de cápsula cefálica entre instares sucessivos; *ii*) o menor valor do coeficiente de determinação da regressão linear (R^2); e *iii*) a discordância do valor estimado da razão de crescimento (K) em relação ao intervalo de variação de K proposto por Dyar. Lagartas de *P. xylostella* foram agrupadas e os instares descritos considerando-se que as larguras de cápsula cefálica, em média, estariam nos intervalos ($p < 0,05$) 0,15-0,162; 0,227-0,259; 0,361-0,395 e 0,462-0,514 mm para o I, II, III e IV instares, respectivamente. A curva de distribuição multimodal de larguras de cápsulas cefálicas permitiu determinar a existência de quatro instares ($K=1,4$; $R^2= 0,87$). A distribuição dos valores da largura da cápsula cefálica seguiu a regra de Dyar.

Palavras-chave: traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*, Yponomeutidae, biologia de insetos, Microlepidoptera.

ABSTRACT. Number of larval instars in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). The present work was carried out to verify indirectly the number of larvae instars in *Plutella xylostella*. In the Insects Biology Laboratory of Universidade Federal de Viçosa, (temperature $24.5 \pm 4^\circ\text{C}$; 12 hours photophase and $70 \pm 5\%$ RU), larvae were fed in Petri dishes with fresh leaves of cabbage. Daily, they were picked up, boiled and conserved in 70% alcohol. Ninety six (96) cephalic capsules were measured through a magnifying glass stereoscopy. Both number of instars and respective growth rate were evaluated. To reject the hypothesis, the confidence limits for averages of the widths between successive cephalic capsules when overlapping; the lowest value of the linear regression coefficient determination (R^2), and disagreement to estimated value of the growth ratio (K) in relation to K variance proposed by Dyar were assumed. Larvae of *P. xylostella* were grouped and instars were described considering that the cephalic capsules widths in average would be in the intervals ($p < 0.05$) 0.15-0.162; 0.227-0.259; 0.361-0.395 and 0.462-0.514 mm for the instars I, II, III and IV respectively. The multimodal distribution curve of cephalic capsules widths allowed to establish the existence of four instars ($K=1.4$; $R^2 = 0.87$). The value distribution of the cephalic capsule width followed Dyar's rule.

Key words: diamondback moth, *Plutella xylostella*, Yponomeutidae, biology of insects, Microlepidoptera.

A traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (L.) microlepidóptero com grande habilidade de adaptação a diferentes condições climáticas (Catie, (Lepidoptera: Yponomeutidae) é um

1990). Em 1991, este inseto foi o principal problema da cultura do repolho e da couve-flor (Embrapa, 1991). Ataca a cultura em qualquer fase de desenvolvimento, com redução de até 60% na produção comercial (Castelo Branco e Guimarães, 1989).

O seu combate tem sido feito exclusivamente com o uso de inseticidas (Catie, 1990; Talekar e Shelton, 1993). Este uso excessivo de produtos químicos apresenta, além do custo elevado, problemas de resistência da praga aos mesmos, eliminação dos inimigos naturais e riscos de contaminação ambiental (Gallo et al., 1988; Catie, 1990; Talekar e Shelton, 1993). Alternativas para esta situação só seriam possíveis com o desenvolvimento de pesquisas que reduzam estes problemas, tais como resistência de plantas, seletividade de inseticidas, controle biológico (Paula et al., 1995). Para tal, o conhecimento da distribuição dos ínstares dentro da população em dado tempo é fundamental, determinando a eficácia dos agentes biológicos (McClellan e Logan, 1994; Schmdit, 1996).

No geral, lagartas de Lepidoptera apresentam três a cinco ecdises e, na maioria, o crescimento pode ser acompanhado pelas mudanças no tamanho da cápsula cefálica dos indivíduos, a qual cresce em progressão geométrica, aumentando em largura numa razão constante (Dyar, 1890; Borror et al., 1989). Entretanto, há divergências nas informações disponíveis sobre o número de ínstares larvais de *P. xylostella*, comprometendo o avanço dos estudos e a adoção racional das táticas de controle disponíveis. Alguns pesquisadores relataram a ocorrência de três ecdises (Miner, 1947; Bhalla e Dubey 1986; Catie, 1990), enquanto outros mencionaram quatro ecdises correspondentes a cinco ínstares larvais (Talekar et al., 1985). Embora alguns tenham caracterizado cada instar (Moriuti, 1988), nenhum deles relatou a metodologia utilizada para a determinação da quantidade de tais ínstares.

A distribuição de frequência de largura das cápsulas cefálicas tem sido comum e amplamente utilizada na formulação de hipóteses para estimar a quantidade e identificar os ínstares larvais dos insetos (McClellan e Logan, 1994; Schmdit, 1996). Neste caso, a quantidade de ínstares característicos corresponde ao número de agrupamentos homogêneos de picos na distribuição multimodal de larguras da cápsula cefálica, medidas de lagartas coletadas diretamente durante o desenvolvimento pós-embriônico (Parra e Haddad, 1989; Schmdit, 1996). Já a confirmação do número provável de ínstares pode ser estabelecida pelo uso de modelos de regressão linear (Parra e Haddad, 1989; Ambrosano et al., 1997).

Este trabalho teve como objetivo estimar a quantidade de ínstares larvais, visando a subsidiar futuros estudos de biologia e ecologia de *P. xylostella* no Brasil.

Material e métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Adultos coletados em plantios comerciais de repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) foram mantidos em gaiolas teladas (20x20x20cm) sob temperatura média de 24,5±4°C, fotofase de 12 horas e UR de 70±5%. As posturas obtidas foram acondicionadas em placas de Petri (2,5cm de altura x 6cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido. Após a eclosão, as lagartas foram transferidas para novas placas contendo folhas de repolho. Diariamente, com a substituição das folhas, quantidade variável de lagartas foi recolhida, fervida e armazenada em álcool a 70% (Gallo et al., 1988). Foram medidas as cápsulas cefálicas de noventa e seis (96) lagartas armazenadas, através de ocular micrométrica acoplada a um microscópio estereoscópico (20x de aumento). O número de ínstares e a respectiva razão de crescimento foram determinados por meio do modelo matemático com base na regra de Dyar, conforme preconizado por Parra e Haddad (1989). No processo de decisão, visando a selecionar a hipótese mais adequada, considerou-se como pontos de rejeição de hipóteses: *i*) a sobreposição dos intervalos de confiança para médias da largura de cápsula cefálica entre ínstares sucessivos; *ii*) o menor valor do coeficiente de determinação da regressão linear (R^2); *iii*) a discordância do valor estimado da razão de crescimento (K) em relação ao intervalo de variação de K proposto por Dyar (1890). Para a descrição morfológica, foram utilizadas lagartas vivas com dimensões de cápsulas cefálicas dentro do intervalo de confiança estabelecido para cada instar.

Resultados e discussão

Pela análise da curva multimodal de frequências da largura da cápsula cefálica, podem ser observados três a cinco grupos homogêneos de picos e uma tendência geral de incremento geométrico na largura da cápsula cefálica, com o avanço do desenvolvimento das lagartas de *P. xylostella*. Neste sentido, foram analisadas as hipóteses: *i*) fase larval com três ínstares; *ii*) fase larval com quatro ínstares; *iii*) fase larval com cinco ínstares, respectivamente. Para a formulação das hipóteses, considerou-se que algumas lagartas podem apresentar um rápido

desenvolvimento completando-o em apenas três ínstaras. Outro grupo pode apresentar desenvolvimento normal, apresentando quatro ínstaras. Entretanto, pode ocorrer um grupo de lagartas que representem os raros insetos que atingem cinco ínstaras por razões diversas, tais como ocorrência de deficiência alimentar, problemas de manejo durante a ecdise, diferenças sexuais e desvios ocasionais na fisiologia das lagartas (Dube e Chand, 1977; Parra e Haddad, 1989) (Figura 1 e Tabela 1).

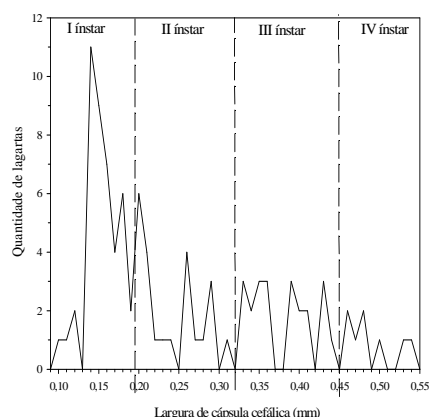


Figura 1. Curva de distribuição multimodal de larguras de cápsula cefálica (mm) de lagartas de *Plutella xylostella*, criadas em condições de laboratório a temperatura de $24,5 \pm 4^\circ\text{C}$, fotofase de 12 horas e UR de $70 \pm 5\%$. Linhas tracejadas na vertical, separam grupos de ínstaras sucessivos, conforme a relevância dos picos da distribuição multimodal. ($n=96$)

A sobreposição entre intervalos de confiança para larguras de cápsula cefálica ocorreu somente na hipótese “cinco ínstaras”, entre o quarto e o quinto ínstaras (Tabela 1), indicando a sua rejeição, uma vez que indivíduos pertencentes a ínstaras diferentes deveriam apresentar larguras de cápsula cefálica diferentes, para as mesmas condições de criação. Por outro lado, a hipótese “quatro ínstaras larvais” resultou em maior coeficiente de determinação ($R^2 = 0,87$) em relação às demais hipóteses, sendo por isto aceita como mais adequada para caracterizar a população de *P. xylostella* amostrada. Para esta hipótese, “quatro ínstaras larvais” foram encontradas a razão de crescimento médio (K) igual a 1,4. Este valor encontrado está dentro da faixa de aceitação (1,1 a 1,9) da regra de Dyar (1890), como mencionado por Parra e Haddad (1989) e Borrór *et al.* (1989). Com este resultado, verificou-se a validade do modelo matemático usado para inferir o número de ínstaras larvais da linhagem brasileira. Assim sendo, lagartas de *P. xylostella* foram agrupadas e os ínstaras foram descritos considerando-se os intervalos de confiança para os respectivos ínstaras larvais (Tabela 1). Lagartas de primeiro ínstar são

levemente descoloridas a branco-leitosas, com cabeça castanho-escuro; as de segundo ínstar, normalmente estão envolvidas por teia, apresentando cápsula cefálica com pintas e manchas escuras, placa protorácica com duas manchas ferruginosas e corpo amarelo-esverdeado. No geral, o seu corpo é coberto por cerdas de quetotaxia e números variáveis.

No terceiro e quarto ínstaras larvais, as larvas são verde-escuro com cabeça castanho-clara, placa protorácica mantendo o aspecto inicial; o corpo mantém a cor amarela a verde-escuro com numerosos pináculos pretos, conforme descrito anteriormente por Moriuti (1988) e Ecolé *et al.* (1997).

O número de ínstaras larvais encontrado está de acordo com o relatado por Miner (1947), Harcourt (1960), Bhalla e Dubey (1986) e Fernández e Alvarez (1988), embora não tenham utilizado a distribuição multimodal de frequência seguida por teste de hipóteses para diferentes ínstaras. Os resultados aqui apresentados diferem de Patil e Pokharkar (1971) *apud* Talekar *et al.* (1985), os quais relataram cinco ínstaras para *P. xylostella*, todavia, estes pesquisadores não mencionaram as condições de criação dos insetos. Os contrastes encontrados no número de ínstaras de *P. xylostella* entre os estudos são oriundos, em parte, da metodologia utilizada na obtenção dos dados de largura da cápsula cefálica (uso de cápsulas cefálicas deixadas pelo inseto *versus* medição direta no inseto), o tamanho da amostra (variando de 10 a 100 indivíduos) e as condições de criação, como nutrição, temperatura ambiental, densidade populacional e número de gerações criadas em laboratório, como relatado para outros lepidópteros (Parra e Haddad, 1989; Schmidt, 1996; McClellan e Logan, 1994). Apesar das divergências entre pesquisadores, Talekar e Shelton (1993), em sua revisão, mostraram maior aceitação para quatro ínstaras larvais em *P. xylostella* e sugerem que diferenças possam surgir em função de adaptações da espécie junto às condições do meio ambiente.

Pelo menos em Lepidoptera, um maior número de ecdises pode ocorrer quando os insetos têm pobre suprimento alimentar (Chapman, 1998). Segundo Parra *et al.* (1977), lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer) podem apresentar seis ínstaras quando alimentadas com folhas de algodoeiro e até 7 ínstaras se forem alimentadas com folhas de soja.

A ocorrência de dimorfismo sexual, biótipos da espécie e parasitismo também podem afetar significativamente o número de ínstaras larvais (Parra e Haddad, 1989; Schmidt, 1996). Para *P. xylostella*, o polimorfismo em larvas ainda não foi devidamente constatado, enquanto que diferenças na biologia do inseto entre biótipos e em diferentes crucíferas hospedeiras são comumente observadas (Talekar e Shelton, 1993).

Tabela 1. Quantidade de ínstar, amplitude e média de largura da cápsula cefálica (mm), Intervalo de confiança (IC) e razão de crescimento (K) de lagartas de *Plutella xylostella* (L.) criadas em laboratório. Temperatura de 24,5±4°C, fotofase de 12 horas e UR de 70±5 %. 1996

Ínstar	Hipóteses								
	3 Ínstares			4 Ínstares			5 Ínstares		
	Amplitude	Média	IC (P<0,05)	Amplitude	Média	IC (P<0,05)	Amplitude	Média	IC (P<0,05)
I	0,10-0,19	0,156	0,150-0,162	0,10-0,19	0,156	0,150-0,162	0,10-0,19	0,156	0,150-0,162
II	0,20-0,44	0,312	0,300-0,324	0,20-0,31	0,243	0,227-0,259	0,20-0,31	0,243	0,227-0,259
III	0,46-0,54	0,488	0,462-0,514	0,33-0,44	0,378	0,361-0,395	0,33-0,44	0,378	0,361-0,395
IV				0,46-0,54	0,488	0,462-0,514	0,46-0,50	0,473	0,459-0,487
V							0,50-0,54	0,534	0,458-0,610
	R ² =	0,76		R ² =	0,87		R ² =	0,77	
	K =	1,6		K =	1,4		K =	1,2	

* K = Calculado a partir de médias obtidas da curva multimodal. Hipóteses = Testadas para a determinação do número de ínstar, partindo-se da curva de distribuição multimodal. R² = Coeficiente de determinação.

Referências bibliográficas

- Abrosano, G.M.B.; Igue, T.; Lourenção, A.L. Determinação do número de ínstar de insetos utilizando modelo de regressão segmentado. *An. Soc. Entomol. Brasil*, 26:371-374, 1997.
- Bhalla, O.P.; Dubey, J.K. Bionomics of the diamondback moth in the North- Western Himalaya in the diamondback management. In: Talekar, N.S.; Griggs, T.D. (Ed.). *DIAMONDBACK MOTH MANAGEMENT - PROCEEDINGS OF THE FIRST INTERNATIONAL WORKSHOP*. Tainan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1986. p.55-61.
- Borror, J.D.; Triplehorn, C.A.; Johnson, N.F. *An introduction to the study of insects*. 6.ed. New York: Saunders College, 1989. 875p.
- Castelo Branco, M.; Guimarães, A.L. Controle da traça-das-crucíferas em repolho. *Horticult. Bras.*, 8:24-25, 1989.
- Centro Agronómico Tropical De Investigación Y Ensenanza (CATIE). Guia para el manejo integrado de plagas del cultivo de repolho. Turrialba, 1990. (Serie técnica. *Informe Técnico*; 150).
- Chapman, R.F. *The insects: structure and function*. 4.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770p.
- Dube, R.B.; Chand, P. Effect of food plants on the development of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Ann. Amer. Entomol.*, 2:139-140, 1977.
- Dyar, H.G. The number of molts of Lepidopterous larvae. *Psyche.*, 5:420-422, 1890.
- Ecole, C.C.; Anjos, N.; Michereff Filho, M. Morfologia e número de ínstar larvais de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16, 1997, Salvador. *Resumos...* Salvador: Editora, 1997. p.63.
- Empresa Nacional de Pesquisa Agropecuária. Programa nacional de pesquisa de hortaliças. Brasília, Embrapa/CNPq, 1991. 50p. *Documentos*, 8.
- Fernández, S.A.; Alvarez, C. Biología de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) polilla del repollo (*Brassica oleracea* L.) en condiciones de laboratorio. *Agron. Trop.*, 38:17-28, 1988.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.C. *Manual de Entomologia Agrícola*. 2.ed. São Paulo: Agronômica ceres, 1988. 649p.
- Harcourt, D.G. Distribution of immature stages of diamondback moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae), on cabbage. *Can. Entomol.*, 92:517-521, 1960.
- Jayarathnam, K. Studies on the population dynamics of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Yponomeutidae) and crop loss due to the pest in cabbage. In: Talekar, N.S. e Griggs, T.D. (Ed.). *DIAMONDBACK MOTH MANAGEMENT - PROCEEDINGS OF THE FIRST INTERNATIONAL WORKSHOP*. Tainan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1986. p. 130-132.
- McClellan, Q.C.; Logan, J.A. Instar determination for the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) based on frequency distribution of head capsule widths. *Environm. Entomol.*, 23:248-253, 1994.
- Miner, F.D. Life history of the diamondback moth. *J. Econom. Entomol.*, 40:581-583, 1947.
- Moriuti, S. Taxonomic notes on the diamondback moth: In: Talekar, N.S. e Griggs, T.D. (Ed.). *DIAMONDBACK MOTH MANAGEMENT - PROCEEDINGS OF THE FIRST INTERNATIONAL WORKSHOP*. Tainan: Asian Vegetable Research and Development Center, 1986. p.83-88.
- Parra, J.R.P.; Haddad, M.L. *Determinação do número de ínstar de insetos*. Piracicaba: Fealq, 1989. 49p.
- Parra, J.R.P.; Precetti, A.A.C.M.; Kasten Jr., P. Aspectos biológicos de *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Lepidoptera-Noctuidae) em soja e algodoeiro. *An. Soc. Entomol. Brasil*, 6:147-155, 1977.
- Paula, S.V.; Picanço, M.C.; Koga, F.H.; Moraes, J.C. de. Resistência de sete clones de couve comum à *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphididae). *An. Soc. Entomol. Brasil*, 24:99-104, 1995.

Schmdit, F.H. Instar discrimination of field-collected larvae through analysis of frequency distribution curves of head capsule widths using the program PeakFit. [S.l.]: Depart. of Agricult. Research paper PNW-RP-492. 1996. 19p.

Talekar, N.S.; Shelton, A.M. Biology, ecology, and management of the Diamondback moth. *Ann. Rev. Entomol.*, 38:275-301, 1993.

Talekar, N.S.; Yang, H.C.; Lee, S.; Chen, B.S.; Sun, L.Y. *Annoted bibliography of diamondback moth*. Shanhua: Asian Vegetable Research and Development Center, 1985. 469p.

Received on February 08, 1999.

Accepted on May 14, 1999.