

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

YURI RENAN ALVES DE LIMA

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO MESÊNTERO DE *Chrysodeixis
includens* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE),
EXPOSTA A *Ricinus communis* L.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS – PR

2019

YURI RENAN ALVES DE LIMA

**ANÁLISE HISTOLÓGICA DO MESÊNTERO DE *Chrysodeixis
includens* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE),
EXPOSTA A *Ricinus communis* L.**

Trabalho de Conclusão do Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Dois Vizinhos, como requisito parcial para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Franchi de Freitas

Co-Orientadora: Prof. Ma. Jheniffer Valmira Warmling

DOIS VIZINHOS - PR

2019



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Coordenação do Curso Ciências Biológicas



TERMO DE APROVAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso nº ____

**Análise histológica do mesêntero de *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858)
(Lepidoptera: Noctuidae), exposta a *Ricinus communis* L.**

por

Yuri Renan Alves de Lima

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado 10 horas do dia 09 de julho de 2019, como requisito parcial para obtenção do título de biólogo (Curso Superior em Ciências Biológicas – Licenciatura, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos). O candidato foi arguido pela banca examinadora composta pelos membros abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Profa. Jucelaine Haas
UTFPR - DV

Profa. Patricia Franchi de Freitas
Orientador
UTFPR – DV

Prof. Claudinei de Freitas Vieira
Setor privado de educação

Profa. Marciele Felippi
Coordenadora do Curso de Ciências
Biológicas
UTFPR – Dois Vizinhos

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”

“Pergunte-se! Esse é o início e o final de TUDO.”
(Autor)

RESUMO

DE-LIMA, Yuri Renan Alves. Análise histológica do mesêntero de *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE), exposta a *Ricinus communis* L. 2019. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

Paralelo ao desenvolvimento agrícola mundial percebe-se o aumento de aparecimento de insetos-praga, destacando-se dentre esses a lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), que tem a soja como principal alvo, influenciando pontualmente na rentabilidade de sua produção. Como consequência, a sociedade científica vem buscando métodos alternativos para o controle desta praga, destacando-se os extratos botânicos, visto que apresentam menores impactos ambientais, e podem atuar causando alterações principalmente no intestino médio (mesêntero) do inseto, danificando sua fisiologia. Dessa maneira, o presente trabalho tem por objetivo analisar histologicamente o intestino médio (mesêntero) de *C. includens* exposta a extratos hidroalcoólicos e frações purificadas de *Ricinus communis*. Foram coletadas três lagartas de 2º ínstar de *C. includens*, aleatoriamente em cada tratamento e testemunhas, sendo uma ao final de 24h, 48h e 72h, as quais haviam sido expostas a CL₅₀ de frações purificadas de *R. communis*. A partir daí as lagartas foram mortas e alocadas em solução fixadora por três horas, sendo após, mantidas em álcool 70%. Seguidamente, estas foram desidratadas e passaram por um processo de infiltração em historesina, posteriormente sendo inclusas em historesina e catalizador. Os blocos obtidos foram cortados em micrótomo rotativo manual EK MICRO 2.1 com espessura de 3 a 4 µm. Os cortes foram montados em lâminas histológicas, corados em Hematoxilina-Eosina, e montados com lamínula e Bálsamo do Canadá, analisados e fotografados sob fotomicroscópio óptico Axiophot – Zeiss para estudo morfológico do mesêntero. O presente estudo mostrou que o intestino médio de (mesêntero) de *C. includens* não apresentou alterações estruturais tanto para as testemunhas água e álcool quanto para as frações purificadas de *R. communis*, Hexano, Acetato de Etila, Diclorometano e Extrato Bruto avaliados em 24, 48 e 72 horas respectivamente, fazendo-se necessário novos estudos investigativos.

Palavras-chave: Falsa medideira; tratamentos; Histologia; mesêntero; efeitos subletais.

ABSTRACT

DE-LIMA, Yuri Renan Alves. Histological analysis of the mesenteric of *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), exposed to *Ricinus communis* L. 2019. 31 f. Graduation in Biological Sciences, Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2019.

Parallel to the world's agricultural development is the increase in the appearance of pest insects, especially the false-moth caterpillar, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), which has soybeans as the main target, influencing in the profitability of its production. As a consequence, the scientific society has been searching for alternative methods to control this pest, highlighting the botanical extracts, since they have lower environmental impacts, and can act causing alterations mainly in the insect's midgut, damaging its physiology. In this way, the present work aims to analyze histologically the middle intestine (mesenteric) of *C. includens* exposed to hydroalcoholic extracts and purified fractions of *Ricinus communis*. Three caterpillars of *C. includens* were randomly collected in each treatment and controls, one at the end of 24h, 48h and 72h, which had been exposed to LC50 of purified fractions of *R. communis*. Thereafter, the caterpillars were killed and allocated in fixative solution for three hours, after which 70% alcohol was maintained. Then, they were dehydrated and underwent a historesin infiltration process, later being included in historesin and catalyst. The obtained blocks were cut in a microtome rotating manual EK MICRO 2.1 with a thickness of 3 to 4 μm . The sections were mounted on histological slides, stained with Hematoxylin - Eosin, and mounted with coverslips and balsam of Canada, analyzed and photographed under Axiophot - Zeiss optical photomicroscope for morphological study of the mesenteric. The present study showed that the middle intestine of *C. includens* did not present structural alterations for both the water and alcohol controls and for the purified fractions of *R. communis*, Hexane, Ethyl Acetate, Dichloromethane and Crude Extract evaluated in 24, 48 and 72 hours respectively, making further research necessary.

Keywords: False medideira; treatments; Histology; mesentero; sublethal effects.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Ciclo de desenvolvimento de *Chrysodeixis includens*, Moscardi *et al.* (2012).....13
- Figura 2: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Testemunhas álcool (TA), 24, 48 e 72 h respectivamente. CC – célula colunar, CG – câmara globosa de célula caliciforme, CCa – célula caliciforme, Ep – epitélio, Retângulo tracejado (A) – músculo longitudinal, Ponta de seta (C) – célula regenerativa.19
- Figura 3: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Testemunhas água (TH), 24, 48 e 72 h respectivamente. BE- Borda em escova, CC – célula colunar, CCa – Célula caliciforme, Ep – Epitélio, Circulo tracejado – Conjunto de célula regenerativas, Retângulo tracejado – Camada de musculo circular.....20
- Figura 4: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Hexano (HE), 24, 48 e 72 h respectivamente.....21
- Figura 5: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Diclorometano (DM), 24, 48 e 72 h respectivamente.22
- Figura 6: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Extrato Bruto (EB), 24, 48 e 72 h respectivamente.23

Figura 7: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Acetato de Etila (AE), 24, 48 e 72 h respectivamente.24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 BIOLOGIA DE <i>Chrysodeixis includens</i>	12
2.2 CONTROLE DE <i>Chrysodeixis includens</i>	14
2.3 ESTUDO HISTÓLOGICO DO MESÊNTERO	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

Simultâneo ao crescimento agrícola mundial nota-se um aumento populacional de insetos-praga, sendo as culturas de feijão, algodão, girassol, e principalmente a soja as mais atingidas (CZEPAK; ALBERNAZ, 2015). Dentre os insetos-praga dessas culturas, destaca-se a lagarta falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae), a qual tem capacidade desfolhadora, influenciando diretamente a rentabilidade e qualidade da produção, desde a germinação até a colheita (CZEPAK; ALBERNAZ, 2015).

Seu hábito polífago e sua ampla distribuição geográfica, atrelado às aplicações calendarizadas e indiscriminadas de produtos fitossanitários sintéticos, bem como ao hábito do inseto de permanecer na parte abaxial da folha, permitiram a proliferação de populações resistentes e a eliminação de inimigos naturais, acarretando perdas agrícolas, tornando-a a principal praga desfolhadora da soja no Brasil (CARVALHO; FERREIRA; BUENO, 2012; CZEPAK; ALBERNAZ, 2015).

Conseqüentemente, a sociedade científica, tendo em vista uma melhor contenção dessas ocorrências, vem utilizando-se de métodos alternativos de controle por meio de extratos botânicos e óleos essenciais, os quais apresentam menores impactos ao meio ambiente (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Tais extratos botânicos e óleos essenciais possuem diferentes metabólitos secundários, que expostos a organismos promovem a manifestação de efeitos subletais, como efeitos comportamentais ou fisiológicos, controlados por ações neuro-hormonais em indivíduos que sobrevivem à exposição de alguma substância deletéria comprometendo sua reprodução, longevidade, e atuando na má formação estrutural e alongamento ou diminuição de fases do desenvolvimento (SAITO *et al.*, 2004; DESNEUX; DECOURTYE; DELPUECH, 2007; VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Entretanto, são escassos os relatos a respeito da interferência de extratos de *Ricinus communis* sobre a histofisiologia do canal alimentar de *C. includens*. Sendo este, a área de contato entre esses insetos e o meio ambiente o qual é foco de diversas pesquisas para se controlar o ataque de insetos praga (CHAPMAN, 1998; LEVY *et al.*; 2004), especialmente a região do mesêntero que tem como função, absorção e secreção de enzimas (células colunares), homeostase iônica (células

caliciformes), função endócrina (células endócrinas) e na renovação do epitélio (células regenerativas) (CHIANG *et al.*; 1986).

Alterações no canal alimentar, principalmente na região do mesêntero, podem afetar o crescimento e desenvolvimento dos insetos, bem como todos os eventos fisiológicos dependentes da alimentação adequada, de sua absorção e transformação no sistema digestório (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000), sendo a histologia o modo mais empregado na identificação de tais anormalidades celulares e teciduais.

Tal análise apresenta-se como uma ferramenta de grande utilidade em diagnósticos de efeitos agudos e crônicos de agentes nocivos, sendo considerado um importante biomarcador, permitindo constatar os efeitos da exposição a diversas substâncias/agentes, químicos e biológicos, o que possibilita avaliar as alterações patológicas ocorridas no espécime (VAN DER OOST *et al.*, 1996; AKAISHI *et al.*, 2004).

A enorme gama de possibilidades para utilização da análise histológica na identificação de impactos ambientais está relacionada a sua colocação interposta no espectro de complexidade biológica bem como ao surgimento de variações no espécime em curto e médio prazo dependente do tempo de exposição e concentração do contaminante (ADAMS *et al.*, 1989; HEATH, 1995)

Essa ferramenta também representa um método relativamente rápido para apontar alterações em diferentes tecidos e órgãos (Johnson, *et al.*, 1993), especialmente Estomodeu, Proctodeu e Mesêntero nos insetos, dando a possibilidade de análise de efeitos letais, subletais e crônicos a agentes químicos e naturais como fitossanitários sintéticos, óleos e extratos naturais (CENGIZ; UNLU, 2003).

Além disto, pode-se constatar o tempo de exposição e em que condições ecossistêmicas os organismos foram expostos através de propriedades histológicas dos órgãos alvos, que apresentarão danos teciduais como resposta a esses agentes químicos e naturais considerados estressores subletais (JOHNSON *et al.*, 1993; SCHMALZ *et al.*, 2002;), logo, objetivou-se analisar histologicamente o intestino médio (mesêntero) de *C. includens* exposto a extratos hidroalcoólicos e frações purificadas de *R. communis*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os lepidópteros constituem uma das ordens mais diversas de insetos, dentre a qual a família Noctuidae destaca-se por sua grande diversidade (GARDINER, 1995). Esta família é considerada o maior grupo de macrolepidópteros constituído por espécies de importância econômica, devido à sua fase larval se alimentar principalmente de culturas anuais, sendo considerados insetos-praga (SILVA *et al.*, 1968; HEPPNER, 1991; HOLLOWAY *et al.*, 1992; GALLO *et al.*, 2002; PASTRANA, 2004; DUARTE *et al.*, 2012).

Noctuidae agrupa 48 subfamílias, com 34 registros confirmados no Brasil, tendo a subfamília Plusiinae, conhecidas como falsas medideira ou mede-palms, recente visibilidade, pela importância econômica atribuída à *C. includens* (Walker, 1857) (MORAES *et al.*, 1991; SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2010).

C. includens possui ampla distribuição geográfica, com ocorrência em todo o continente americano, e em todas as regiões brasileiras produtoras (ALFORD; HAMOND, 1982; MARSARO JUNIOR *et al.*, 2010). Essa espécie possui hábito polífago, alimentando-se de diversas espécies vegetais de importância agrícola e econômica, como soja, algodão, feijão, girassol e algumas hortaliças (BUENO *et al.*, 2007).

2.1 BIOLOGIA DE *Chrysodeixis includens*

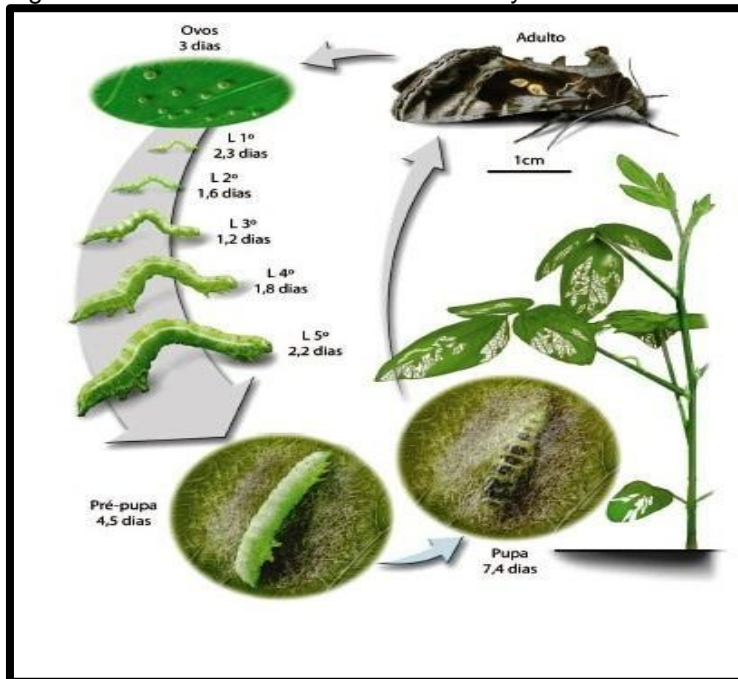
Mariposas da família Noctuidae, possuem diferentes tipos de coloração, como parda, cinza, amarelas e com manchas. Apresentam também ocelos visíveis, antenas filiformes, serreadas e por vezes pectinadas e probóscida desenvolvidas (FUJIHARA *et al.*, 2011).

As lagartas da subfamília Plusiinae, à qual pertence *C. includens*, apresentam dois pares de pernas abdominais e um par anal. Além disso, as fêmeas de lepidópteros dessa subfamília realizam a postura individualmente em vários pontos da planta hospedeira (MELO *et al.*, 2012).

Chrysodeixis includens era nomeada como *Pseudoplusia includens*, no entanto em 2003 foi reavaliada, e atualmente é classificada dentro do gênero *Chrysodeixis*, classificação válida atualmente (GOATER *et al.*, 2003; MOSCARDI *et al.*, 2012). Tal espécie apresenta ciclo de vida com duração de aproximadamente 46

dias, entre esses, três a cinco dias na fase de ovo; 13 a 20 dias na fase larval; sete dias na fase de pupa e 14 dias na fase adulta (Figura 1). (VÁZQUEZ, 1988).

Figura 1: Ciclo de desenvolvimento de *Chrysodeixis includens*, Moscardi *et al.* (2012).



A oviposição é noturna, apresentando ovos com cores que variam do creme claro ao amarelo brilhante, difíceis de perceber por serem pequenos. Entretanto, os ovos adquirem uma coloração mais escura, marrom claro, próximo ao período de eclosão (GALLO *et al.*, 2002; GRIGOLLI, 2015).

A lagarta falsa-medideira possui cor verde claro, contendo várias linhas brancas longitudinais espalhadas sobre o dorso e pontuações pretas, atingindo comprimento aproximado de 40 a 45 mm em seu último estágio larval (Figura 1) (SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2010). Ao final da fase larval, as lagartas iniciam o estágio de pré-pupa, onde observa-se mudanças da coloração para verde amarela uniforme, bem como transformações no sistema hormonal, acarretando parada na alimentação, eliminação do último “pellet” fecal, início da confecção do casulo, perda na movimentação e transformação para pupa (VÁZQUEZ, 1988).

Após o período pupal emergem os adultos que são mariposas que apresentam 35 mm de envergadura, as quais, quando em repouso, se encontram dispostas de forma inclinada, tendo as asas anteriores coloração escura com dois desenhos prateados brilhantes dispostos na parte central de cada asa. As asas

posteriores possuem coloração marrom (GALLO *et al.*, 2002; SOSA-GÓMEZ *et al.*, 2010).

2.2 CONTROLE DE *Chrysodeixis includens*

O uso de inseticidas químicos sintéticos é muito aplicado no controle dos insetos-praga visando minimizar a ocorrência de danos na cultura (Martins; Tomquelski, 2015). Todavia, a utilização exacerbada desses químicos, pode acarretar sérios problemas como a diminuição ou eliminação de inimigos naturais, desequilíbrio ambiental, contaminação e empobrecimento do solo, poluição dos lençóis freáticos e rios levando conseqüentemente a problemas de saúde (BERLITZ; FIUZA, 2005; PAPA; CELOTO, 2007; WIT *et al.*, 2009; KORBES *et al.*, 2010).

Em vista disso esta técnica não tem sido tão eficiente para o controle de *C. includens*, por esta ser mais tolerante aos inseticidas, e ficar menos exposta às pulverizações, devido ao hábito de permanecer na parte inferior da folha (DE GRANDE; VIVAN, 2008). Dessa maneira, a utilização de produtos considerados seletivos é de extrema necessidade a fim de realizar um manejo racional dos organismos-praga, minimizando os danos à cultura, de forma econômica (MOURA; ROCHA, 2006). A utilização de produtos seletivos também possibilita a manutenção e o reaparecimento dos inimigos naturais como predadores e parasitoides nos agroecossistemas, os quais são essenciais na manutenção do equilíbrio ecológico (AVILA; VIVAN; TOMQUELSKI, 2013).

Desta maneira, tem se investigado cada vez mais, métodos alternativos no controle de pragas agrícolas que venham de encontro com os métodos de manejo orgânico e integrado os quais visam otimizar o uso de recursos naturais e socioeconômicos disponíveis, objetivando o desenvolvimento sustentável econômico e ecológico, empregando métodos mecânicos, de controle biológicos e culturais, mas principalmente utilizando produtos naturais à base de plantas em contraste à utilização de materiais sintéticos (BRASIL, 2003). Pois esses compostos vegetais podem inibir diferentes funções fisiológicas, como reprodução, crescimento e alimentação, e dependendo da concentração podem levar a morte (RODRÍGUEZ, 1995; ROEL, 2001). Porém, há poucos estudos sobre a possível ação fitossanitária da maior parte das plantas, fato que ocasiona a necessidade de novas pesquisas

buscando encontrar alternativas de controle natural aos insetos-praga (MACHADO; SILVA; OLIVEIRA, 2007).

Nesse sentido, estudos de Pacheco; López-Olguin (1994) avaliando efeitos fitossanitários do pó de *R. communis* sobre *Sitotroga cereallela* verificou a mortalidade de 56% dos adultos e redução na emergência dos mesmos, comprovando os efeitos positivos de *R. communis*, também encontrados por Warmling (2018), ao aplicar onze extratos de plantas diferentes sobre a cápsula cefálica de *C. includens* observando que *R. communis* obteve o maior percentual de mortalidade corroborando com o encontrado na literatura, que aponta a *R. communis* como uma planta eficaz no controle de um grande número de pragas, como vírus e fungos causadores de doenças na agricultura, formigas, cupins, moluscos, e lagartas desfolhadoras (HENRIQUES, 2011).

2.3 ESTUDO HISTÓLOGICO DO MESÊNTERO

Diversos estudos realizados em diferentes ordens de insetos, demonstram a importância do mesêntero nesses grupos para a absorção alimentar, trocas iônicas, bem como na entrada de fitossanitários, microrganismos, toxinas e na liberação hormônios reguladores de processos fisiológicos (DOW, 1986; LEHANE; BILLINGSLEY, 1996).

Nos insetos em geral, o mesêntero é constituído por uma camada epitelial colunar subjacente internamente a uma camada de fibras musculares estriadas circulares e outra camada de fibras longitudinais na parte externa (CHAPMAN, 1998). O epitélio do mesêntero é revestido internamente pela membrana peritrófica na maior parte dos insetos (LEHANE; BILLINGSLEY, 1996; TERRA, 2001). Nos Lepidópteros, tal membrana é separada ao longo do mesêntero por células colunares, impedindo que a borda estriada destas, esteja em contato direto com o alimento, permitindo apenas a passagem de enzimas digestivas em direção ao lúmen do mesêntero, possibilitando a absorção de compostos oriundos da digestão (DE PRIESTER, 1971; TERRA, 1988; HOPKINS; HARPER, 2001).

Na maior parte dos insetos, o epitélio se apresenta com quatro tipos celulares: o endócrino, regenerativo, colunar e o cálice (LEHANE; BILLINGSLEY, 1996). As células colunares (as mais abundantes no mesêntero) tem função de produção enzimática bem como absorção de produtos digestivos e metabólitos, este último

realizado em conjunto às células caliciformes (assim denominadas por apresentarem uma invaginação da membrana plasmática apical, formando um cálice), também envolvidas no processo de homeostase iônica (LEHANE; BILLINGSLEY, 1996; CHAPMAN, 1998; TERRA *et al.*, 2006).

As células regenerativas podem ser observadas em grupos (nidi), pares ou até mesmo isoladas, as quais repõem as células epiteliais estando situadas na base do epitélio, da mesma forma que as células endócrinas, mas diferentemente, estas possuem uma enorme quantidade de grânulos citoplasmáticos e fazem o controle hormonal do peristaltismo e digestão bem como do desenvolvimento e reprodução (ENDO *et al.*, 1983; DOW, 1986; CRUZ-LANDIM *et al.*, 1996; LEHANE; BILLINGSLEY, 1996; SERRÃO; CRUZ-LANDIM, 1996; SEHNAL; ZITNAN, 1996; CAVALCANTE; CRUZ-LANDIM, 1999).

Diferentes estudos relacionados à descrição estrutural do mesêntero de insetos Lepidópteros como: *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lep.: Pyralidae), *Manduca sexta* L. (Lep.: Sphingidae), *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) (J. E. Smith) e *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) indicam que a morfologia e o arranjo epitelial pode ser desigual por toda a extensão do mesêntero (PINHEIRO *et al.* 2003, LEVY *et al.* 2004, PINHEIRO *et al.* 2006). Sabe-se também que o desenvolvimento e crescimento bem como as diferentes funções fisiológicas do inseto podem sofrer alterações dependendo de sua alimentação, assimilação e transformação desta no sistema digestório (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho faz parte de um projeto de mestrado do Programa de Pós Graduação em Agroecossistemas (PPGSIS) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos (UTFPR-DV), intitulado “Efeitos letais e subletais de extratos vegetais alcoólicos sobre *C. includens* (WALKER, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae)”, o qual em um 1º experimento testou o efeito letal de extratos de onze espécies vegetais diferentes a 10%, sobre *C. includens*, visando identificar a planta com maior índice de mortalidade. Tendo o extrato da espécie *R. communis* apresentado o maior nível de letalidade. O mesmo foi selecionado e fracionado com diferentes solventes extratores (hexano, diclorometano e acetato de etila), e testados nas concentrações 10; 5; 2,5; 1,25 e 0,625%, sendo aplicado sobre a capsula

cefálica de lagartas de 2° ínstar de *C. includens*, com o auxílio de uma micropipeta de 1 a 10 μ , apresentando um percentual de mortalidade de 56,66%. A partir dos resultados encontrados determinou-se a Concentração Letal Média (CL₅₀) para cada solvente, apresentando os respectivos resultados: Hexano (CL₅₀ - 2,0%); Diclorometano (CL₅₀ - 5,8%); Acetato de etila (CL₅₀ - 4,7%); Extrato bruto (CL₅₀ - 5,0%). Em um 3° experimento, a partir da Concentração Letal Média de cada solvente foram preparadas as respectivas concentrações, sendo estas aplicadas sobre a capsula cefálica de lagartas de 2° ínstar de *C. includens* com o auxílio de uma micropipeta de 1 a 10 μ , sendo utilizadas para cada tratamento e testemunhas, 43 repetições (WARMLING, 2018).

Para a elaboração de presente estudo, dentre essas 43 repetições de cada tratamento, foram coletadas três lagartas de 2° ínstar de *C. includens* aleatoriamente, sendo uma ao final de 24h, 48h e 72h de exposição a *R. communis*. Após, as lagartas foram mortas com o auxílio de uma agulha de seringa descartável sendo feito um furo na parte anterior e posterior das mesmas. Seguidamente, estas foram postas em um recipiente com tampa contendo 2 mL de solução fixadora paraformoldeido 4% em tampão fosfato a 0,1 M, onde permaneceram por 3 horas. Decorrido o tempo necessário, os espécimes foram alocados em novo recipiente com álcool 70%, para conservação (MORISHITA, 2003).

Em continuidade, os espécimes foram desidratados em série crescentes de álcool etílico 70%, 80%, 90%, 100% com trocas de 10 minutos em cada concentração. A seguir, o material foi infiltrado em solução de Histo-resina JB-4 (Polysciences) e álcool etílico 100%, na proporção 1:1 *overnight* em geladeira, sendo posteriormente colocadas em Histo-resina 100% a 4°C, por uma semana. Ao término desse tempo a inclusão foi realizada em moldes plásticos com Histo-resina e endurecedor para que ocorresse a polimerização (MORISHITA, 2003).

Os blocos de histo-resina foram montados em suportes de madeira, trimados e cortados em micrótomo rotativo manual EK MICRO 2.1, com cortes de 3 a 4 μ m de espessura. Os cortes foram colocados em lâminas histológicas, previamente limpas, gelatinizadas e secas, sobre gotas de água destilada em placa aquecida a 35 C°. Para observação morfológica, os cortes foram corados com Hematoxilina-Eosina, montados em Bálsamo do Canadá, com observação e registro fotográfico em fotomicroscópio óptico Axiophot – Zeiss, buscando avaliar, possíveis alterações morfológicas no mesêntero, como formato celular irregular, rompimento da

membrana peritrófica, alta vacuolização citoplasmática, alongamento de células e microvilosidades bem como sua degradação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cortes histológicos semifinos do mesêntero de larvas de segundo ínstar de *C. includens* revelaram que são formados por um epitélio simples sustentado em duas camadas musculares, sendo a externa disposta longitudinalmente e a interna circularmente (Figs. 1A, e 3C). No epitélio foram identificados apenas três tipos celulares: células regenerativas (CR – Figs. 2C e 3B), colunares (CC – Fig. 2A) e caliciformes (CCa – Fig. 2A) distribuídas por toda sua estrutura. O que corrobora com os estudos de Jordão *et al.* (1999), Cristofolletti *et al.* (2001), Pinheiro *et al.* (2003); Levy *et al.* (2004) e Sousa (2009), que relatam que a camada epitelial para insetos da Ordem Lepidoptera podem mostrar-se simples ou pseudo-estratificado, composto por quatro tipos de células, sendo as colunares as mais presentes, as quais possuem uma borda em escova (BE – Fig. 3A), bastante característica, com seu núcleo variando o posicionamento de central a apical. Entretanto, para o presente trabalho, a não visualização de células endócrinas no mesêntero de *C. includens* nas análises em microscopia de luz, está em conformidade com os estudos de Montuenga *et al.* (1989), Jimenez; Gilliam (1990) e Pinheiro *et al.* (2008) que demonstraram que tais células não são visualmente identificadas na microscopia de luz pelas técnicas rotineiras, havendo a necessidade de análises ultra estruturais e imunohistoquímicas.

Figura 2: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Testemunhas álcool (TA), 24, 48 e 72 h respectivamente. CC – célula colunar, CG – câmara globosa de célula caliciforme, CCa – célula caliciforme, Ep – epitélio, Retângulo tracejado (A) – músculo longitudinal, Ponta de seta (C) – célula regenerativa.

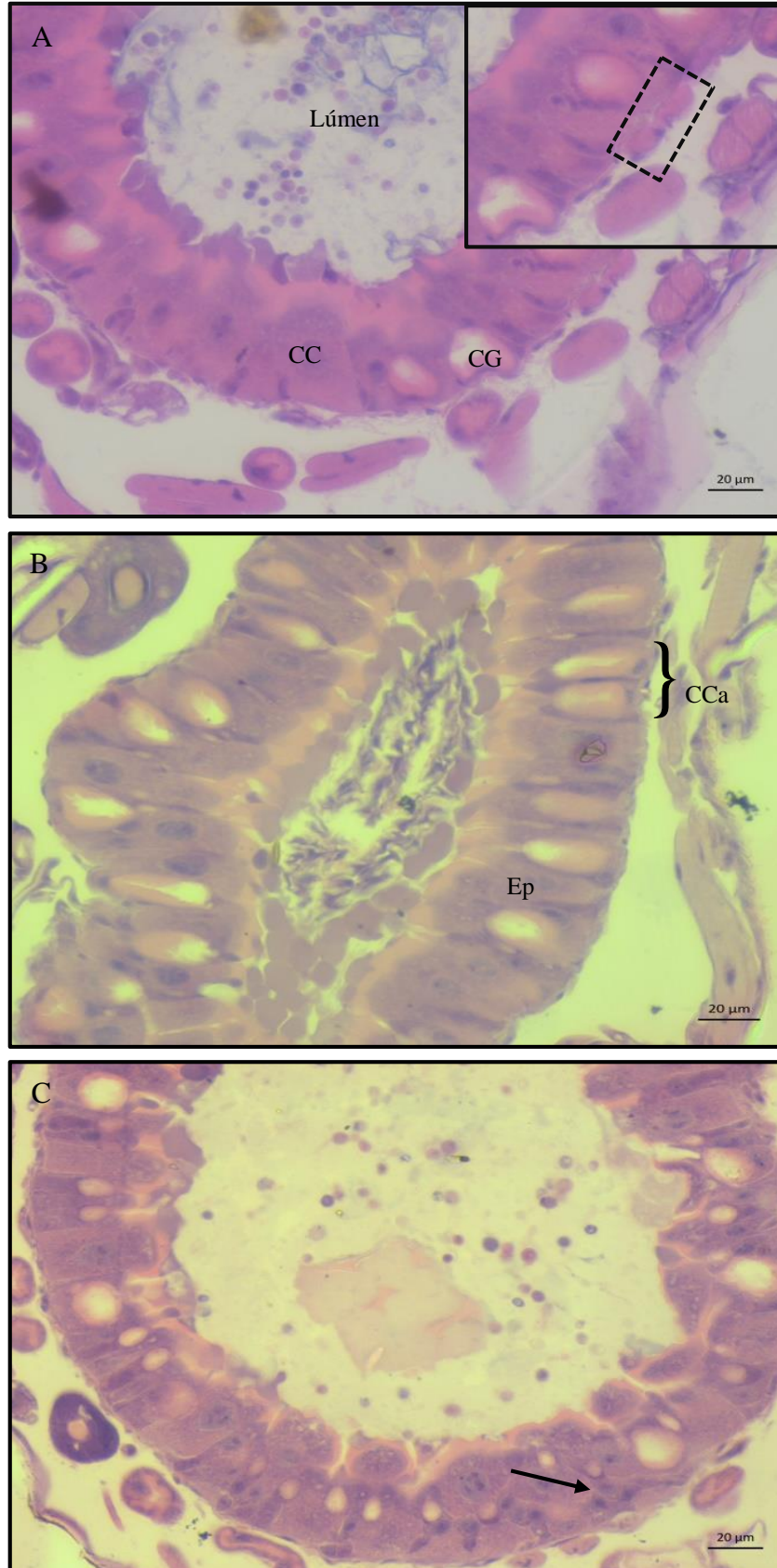


Figura 3: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Testemunhas água (TH), 24, 48 e 72 h respectivamente. BE- Borda em escova, CC – célula colunar, CCa – Célula caliciforme, Ep – Epitélio, Circulo tracejado – Conjunto de célula regenerativas, Retângulo tracejado – Camada de musculo circular.

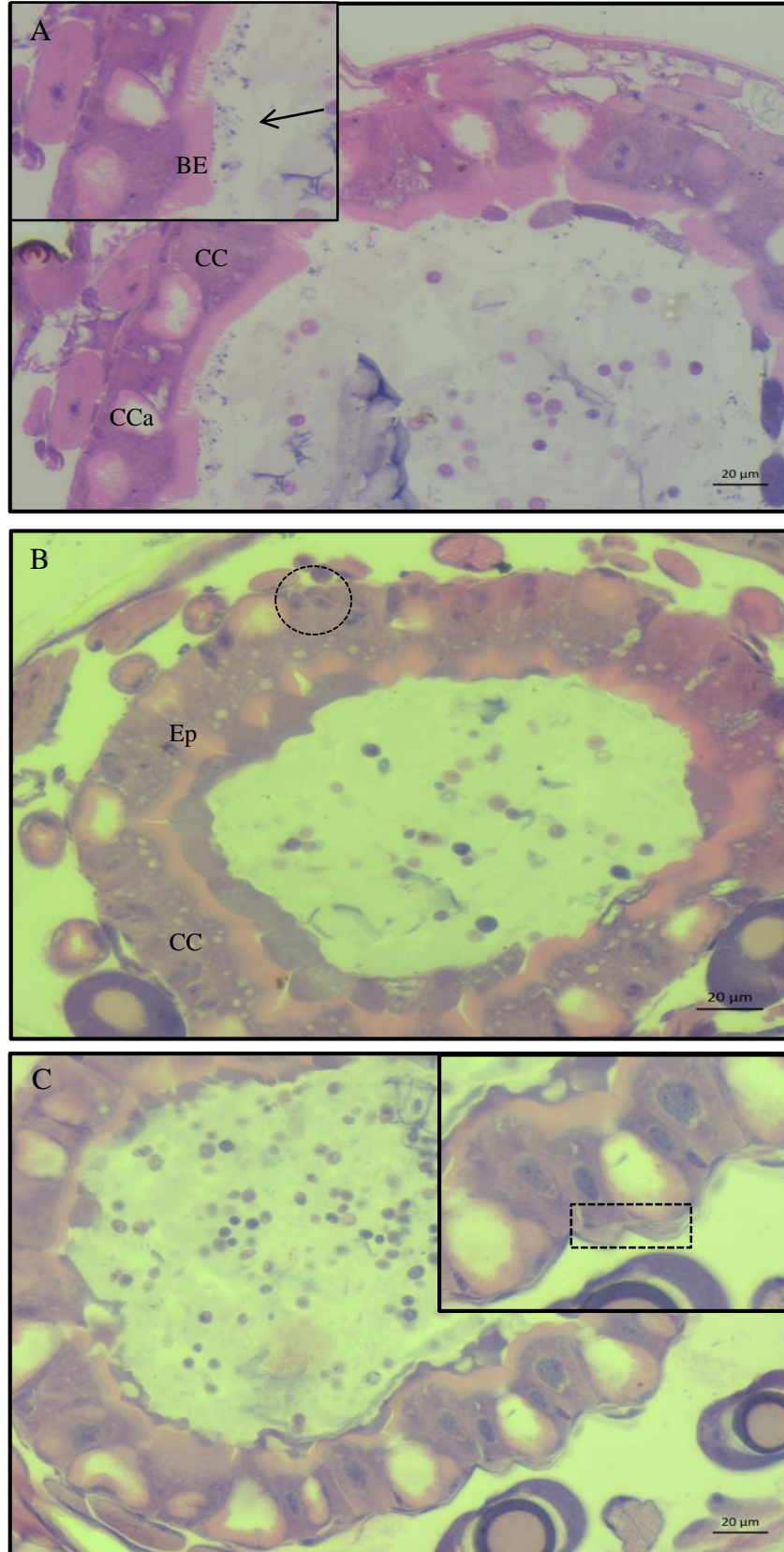


Figura 4: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Hexano (HE), 24, 48 e 72 h respectivamente.

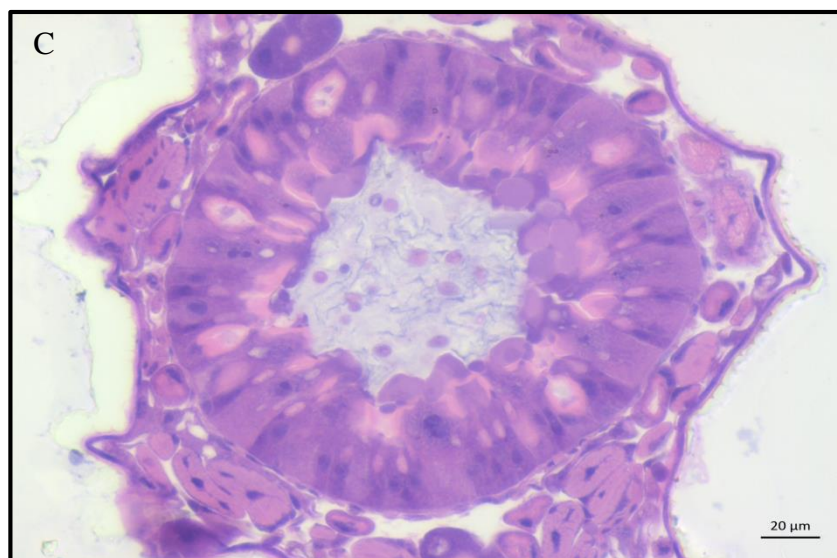
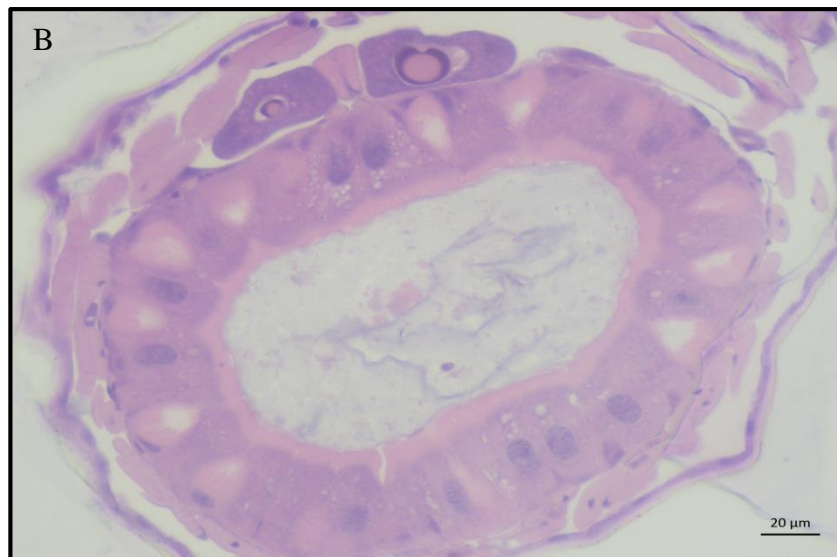


Figura 5: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Diclorometano (DM), 24, 48 e 72 h respectivamente.

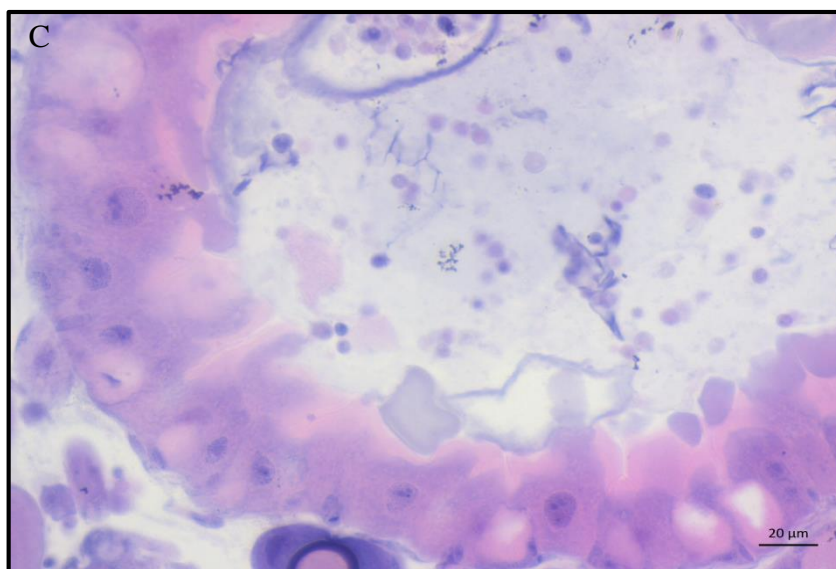
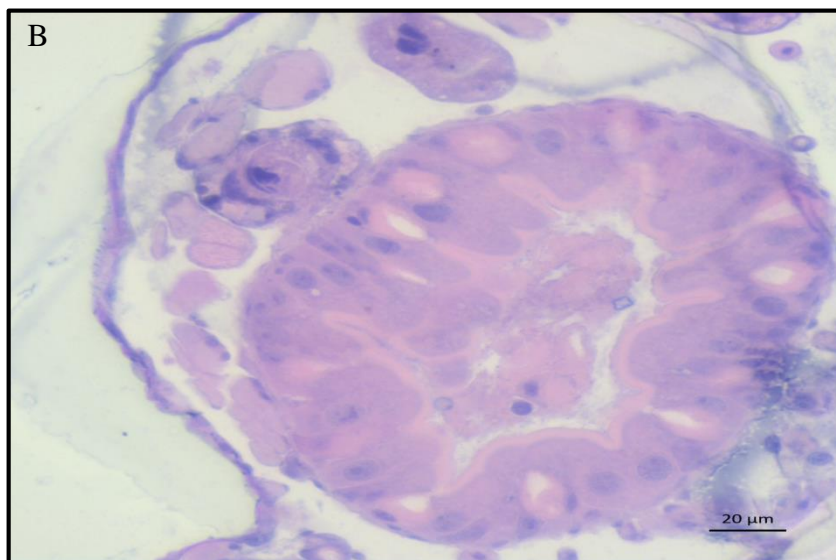
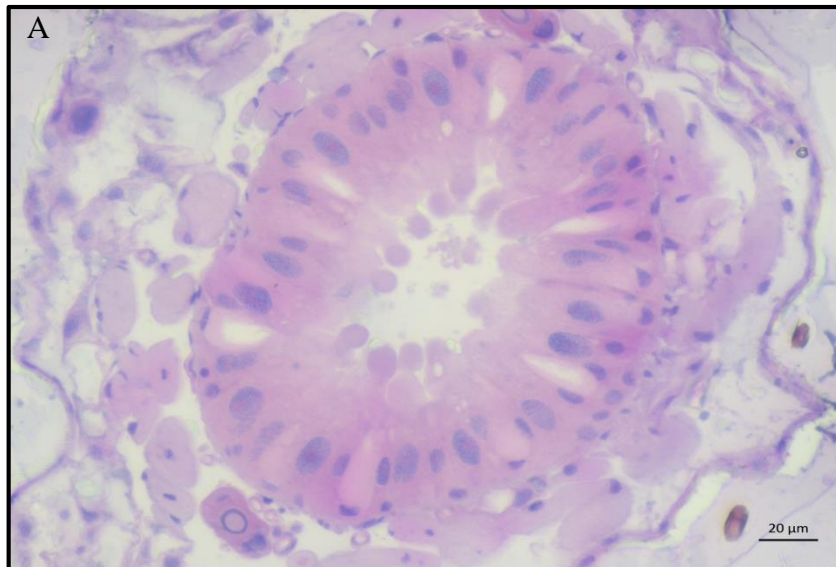


Figura 6: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Extrato Bruto (EB), 24, 48 e 72 h respectivamente.

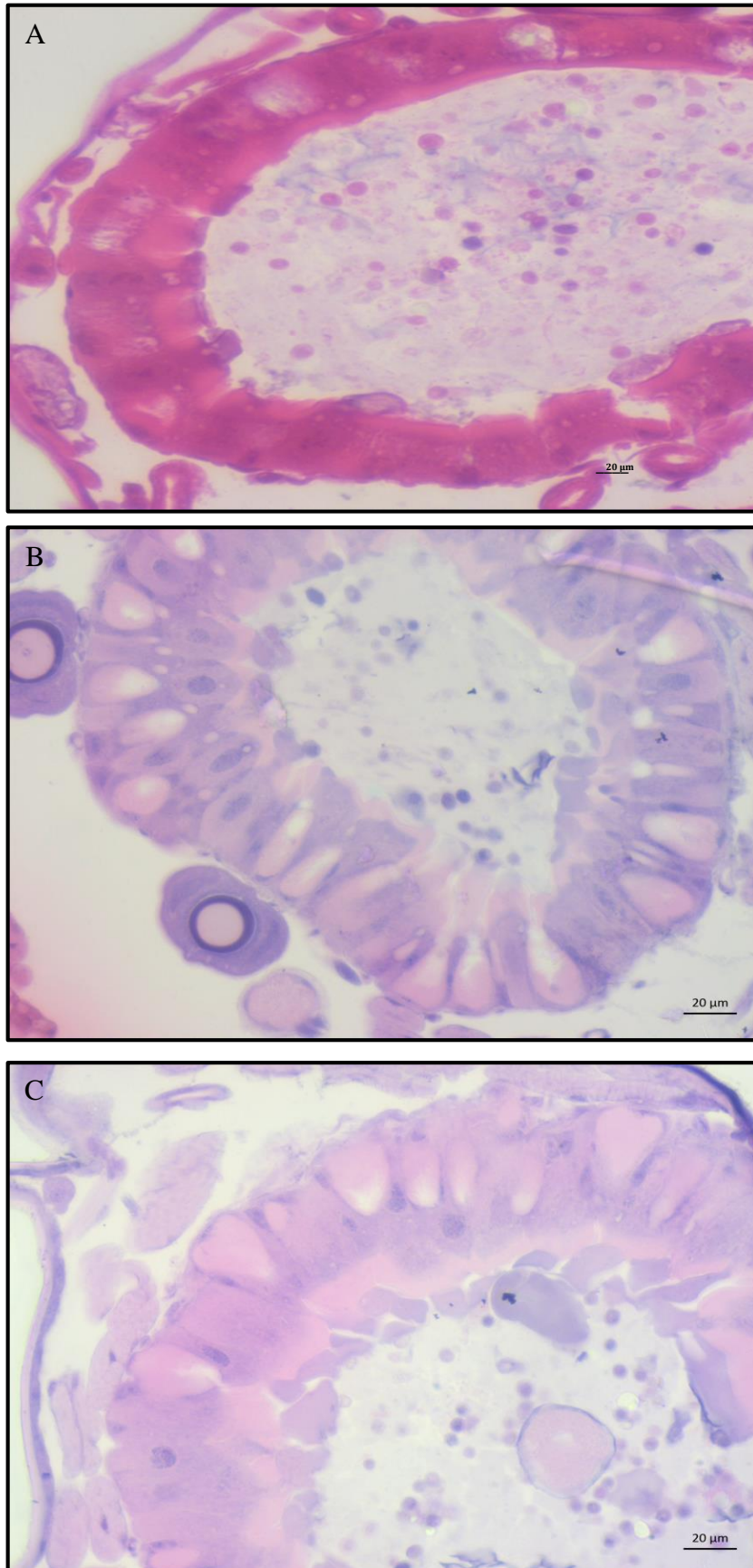
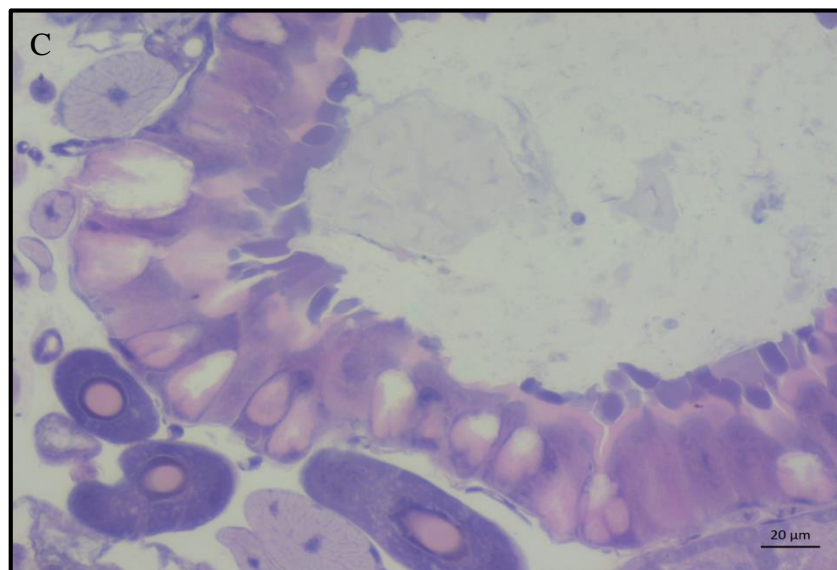
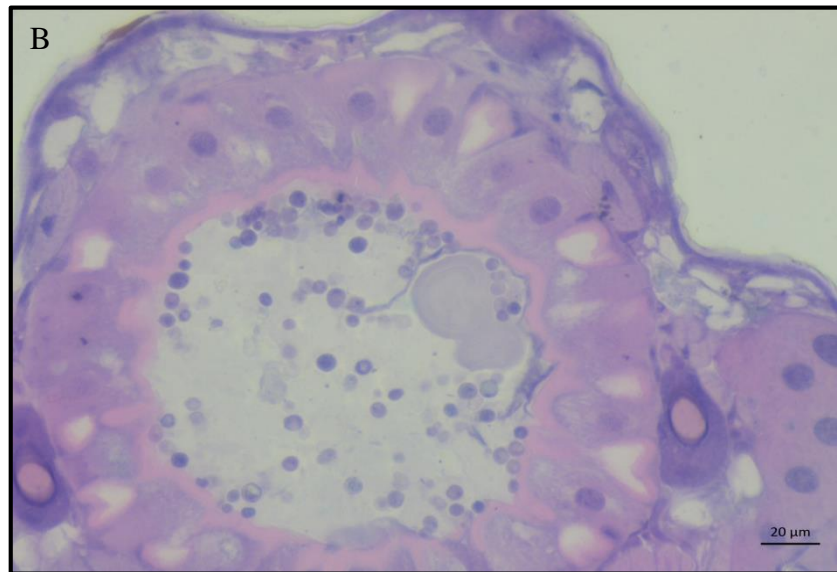
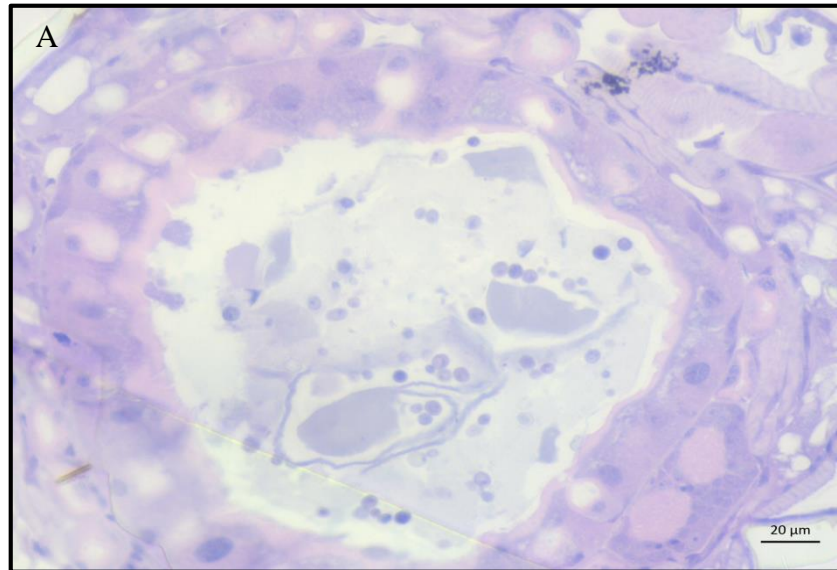


Figura 7: Cortes transversais de *C. includens* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) na região do mesêntero, coradas com Hematoxilina-Eosina. A, B e C – Acetato de Etila (AE), 24, 48 e 72 h respectivamente.



Possíveis variações histológicas no mesêntero das lagartas, promovidas pela aplicação dos extratos Hexano, Acetato de Etila, Diclorometano e Extrato Bruto nos respectivos tempos de 24, 48 e 72 horas alimentadas com dieta artificial Greene *et al.* (1976), modificada por Hoffmann-Campo *et al.* (1985), não foram observadas, o que difere de Baldo (2018) que realizou análise histopatológica do intestino médio (IM) de lagartas *C. includens*, as quais foram alimentadas com dieta artificial e inoculadas em vírus de poliedrose nuclear, apresentando alterações epiteliais, como aumento na espessura celular quando comparada ao grupo controle, bem como proliferação de células colunares, borda estriada mais extensa e rompimento da membrana peritrófica e camada muscular (musculo longitudinal + circular).

Já as lagartas alimentadas com folhas de algodão e soja, após a inoculação com o vírus, apresentaram uma total desorganização da camada epitelial e camada muscular, não permitindo a correta identificação celular bem como o adensamento da membrana peritrófica.

Do mesmo modo, Correia *et al.* (2009) analisando o mesêntero de lagartas de 3º instar de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), pertencente a mesma família, alimentadas com folhas de milho tratadas com nim (formulação comercial Neemseto®) por submersão, encontrou alterações morfológicas que variaram de acordo com o tempo de exposição como células delgadas e alongadas, não sendo possível distinguir os tipos celulares, ausência da borda em escova ou projeções para o lúmen.

Tal resposta pode estar ligada ao fato dos extratos atingirem outros locais do canal alimentar do inseto como o estomodeu e proctodeu, os quais o presente estudo não abrangeu. Outra justificativa que pode estar vinculada a essa resposta é a metodologia empregada no presente trabalho, na qual aplicou-se o extrato sobre a cápsula cefálica da lagarta de *C. includens* sem a ingestão, diferentemente de Baldo (2018), que pulverizou ChinNPV (vírus entomopatogênicos) em dieta artificial, folhas de algodão e soja disponibilizadas para lagartas de *C. includens*, ou Correia *et al.* (2009), que utilizou folhas de milho tratadas com nim (formulação comercial Neemseto®) por submersão oferecidas a lagartas de da mesma família, tendo os dois estudos apresentado anormalidades estruturais no mesêntero.

5 CONCLUSÃO

O intestino médio (mesêntero) de *C. includens* não apresentou alterações estruturais tanto para as testemunhas água e álcool quanto para as frações purificadas de *R. communis*, Hexano, Acetato de Etila, Diclorometano e Extrato Bruto avaliados em 24, 48 e 72 horas respectivamente, podendo isto estar atrelado à metodologia utilizada na qual se aplicou extratos e frações purificadas sobre a cápsula cefálica da lagarta, sem a ingestão.

Outra hipótese está relacionada a absorção dos solventes orgânicos pelos poros do exoesqueleto da própria *C. includens*, não atuando diretamente sistema digestório da lagarta, mas sim em seu sistema nervoso central que controla todas as funções do inseto.

Com isso, faz-se necessário mais estudos investigativos como análises histoquímicas do estomodeu, proctodeu e sistema nevo central por meio de diferentes análises e metodologias como o PAS (Periodic acid-Schiff) para análise histológica e Ensaio Cometa (EC - "Single Cell Gel Electro-phoresis"), para análise genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, S. M.; SHEPARD, K. L.; GREELEY JR, M. S.; JIMENEZ, B. D.; RYON, M. G.; SHUGART, L. R.; MCCARTHY, J. F., 1989. The use of biondicators for assessing the effects of pollutant stress on fish. **Marine Environmental Research**, v. 28 (4), p. 459-464.

AKAISHI, F. M.; SILVA DE ASSIS, H. C.; JAKOBI, S. C. G.; EIRASSTOFELLA, D. R.; ST-JEAN, S. D.; COURTENAY, S. C.; LIMA, E. F.; WAGENER, A. L. R.; SCOFIELD, A. L.; OLIVEIRA RIBEIRO, C. A., 2004. Morphological and neurotoxicological findings in tropical freshwater fish (*Astyanax* sp.) after waterborne and acute exposure to water soluble fraction (WSF) of crude oil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 46 (2), p. 244-253.

ALFORD, A.R.; HAMMOND JUNIOR, A. M. Plusiinae (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Louisiana soybeans ecosystems as determined with loop lure baited traps. **Journal of Economic Entomology**, v. 75, p. 647-650, 1982.

BALDO, G. R. **Interações de folhas de soja e algodão com a atividade do vírus de poliedrose nuclear de *Chrysodeixis includens***. 2018. 99 f. Tese (Doutorado) – Agronomia, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

BERLITZ, D.L.; FIUZA, L.M. *Bacillus thuringiensis* e *Melia azedarach*: aplicações e interações no controle de insetos-pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 35, p. 66-72, 2005.

BRASIL. Portal da Legislação. LEI nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003. **Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências**. Disponível em: <<http://www4.planalto.gov.br/legislacao>>. Acesso em: 24 Jan. 2018.

BUENO, R.C.O.F.; PARRA, J. R.P.; BUENO, A.F.; MOSCARDI, F.; OLIVEIRA, J.R.G.; CAMILLO, M.F. Sem barreira. **Revista Cultivar**. Pelotas, v. 93, n. 9, p. 12-15, 2007.

CARVALHO, L.C.; FERREIRA, F.M.; BUENO, N.M. Importância econômica e generalidades para o controle da lagarta falsa-medideira na cultura da soja. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer- Goiânia, v.8, n.15, p.1021, 2012.

CAVALCANTE, V. M.; CRUZ-LANDIM, C.. 1999. Types of cells present in the midgut of the insects: **A review Naturalia (Rio Claro)**, v. 24, p. 19-40.

CENGIZ, E. I.; UNLU, E., 2003. Histopathology of gills in mosquito fish, *Gambusia affinis* after long-term exposure to sublethal concentration of malathion. **Journal of Environmental Science and Health**, part B. v. 38, p. 581-589.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 4th ed, Cambridge University Press, Cambridge, 788P., 1998.

CHAPMAN, R.F. 1998. **The insects: Structure and function**. 4ª ed. Cambridge, Harvard University Press, 770p.

CHIANG, A. S.; YEN, D. F.; PENG, W. K. Defense reaction of midgut epithelial cells in the ricemoth larva (*Corcyra cephalonica*) infected with *Bacillus thuringiensis*. **J Invertebr Pathol**, v. 47, p. 333-339, 1986.

CORREIA, A. A.; WARDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A.A.C.; OLIVEIRA, J.V.; TORRES, J.B. Morfologia do Canal Alimentar de Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Alimentadas com Folhas Tratadas com Nim. **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 083-091, 2009.

CRUZ-LANDIM, C.; SILVA-DE-MORAES, R. L. M.; SERRÃO, J. E.. 1996. **Ultrastructural aspects of epithelial renewal in the midgut of adult worker bees (Hymenoptera: Apidae)**. Computational Biology and Chemistry, v. 1, p. 29-40.

- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C. Manejo Avançado. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, n. 1800, p. 06-10, 2015.
- DE GRANDE, P.E.; VIVAN L.M. **Pragas da soja**. In: Tecnologia e Produção: Soja e Milho 2011/2012. FUNDAÇÃO MT, 2012. p.155-206.
- DE PRIESTER, W. 1971. Ultrastructure of the midgut epithelial cells in the fly *Calliphora erythrocephala*. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 36, p. 783-805.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J.M. The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.
- DOW, J.A.T. 1986. **Insect midgut function**. Adv. Insect Physiol. V. 19, p. 187-328.
- DUARTE, M.; MARCONATO, G.; SPECHT, A.; CASAGRANDE, M. LEPIDOPTERA. In: RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R.; CARVALHO, C. J. B., CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2012. 625-682p.
- ENDO, Y.; SUGIHARA, H.; FUJITA, S.; NISHIITSUTSUJI-UWO, J.. 1983. Kinetics of columnar and endocrine cells in the cockroach midgut. **Biomedical Research**, v.4, p. 51-60.
- FUJIHARA, R.T.; FORTI, L.C.; ALMEIDA, M.C.de; BALDIN, E.L.L. **Insetos de importância econômica: Guia ilustrado para identificação de famílias**. Botucatu: Editora FEPAF, 2011, 391 p.
- 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.; J. D. VENDRAMINI. **Entomologia Agrícola**. 10.ed. São Paulo: Fealq, 2002. 920p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GARCÍA, A.A. Productos de origen vegetal útiles para el combate de plagas, en maíz almacenado. In: Simposio internacional sobre substancias de origem vegetales y minerales en el combate de plagas,1.; simposio nacional sobre substancias de origem vegetales y minerales en el combate de plagas,4., Acapulco,1998. **Memorias**. Acapulco: SME,1998. p.100-106.
- GARDINER, B. O. C. The very first light-trap, 1565? **Entomologist Record**, v. 107, p. 45-46, 1995.
- GOATER, B.; RONKAY, L.; FIBIGER, M. Noctuidae Europeae. **Soro: Entomological Press**, 2003. v.10, 452 p.
- GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, p. 487-488, 1976.
- GRIGOLLI, J. F. J. **Pragas da soja e seu controle**. In: Tecnologia e produção de soja 2014/2015. Cap. 6, 2015.1-26p.
- HEATH, A. G. **Water Pollution and Fish Physiology**. 2nd Ed. Lewis Publishers, 1995.
- HENRIQUES, A. Nutrição e controle de pragas e doenças com folhas de mamoneira. **Agro Ecológico: Informativo Técnico do Sindicato dos Trabalhadores em Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais**, n. 1, p. 3, fev., 2011.
- HEPPNER, J. B. Faunal regions and the diversity of lepidoptera. **Tropical Lepidoptera**, v. 2, p. 1-85, 1991.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, E.B; MOSCARDI, F. **Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*)**. EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa da Soja. Londrina, Documentos 10, 21p, 1985.

- HOLLOWAY, J. D.; J. D. BRADLEY & D. J. CARTER. 1992. **Field guides to insects of importance to man**. 1. Lepidoptera. London, the natural history Museum, 263 p.
- HOPKINS, T.L.; HARPER, M. S.. 2001. Lepidopteran peritrophic membranes and effects of dietary Wheat Germ Agglutinin on their formation and structure. **Archives of insect biochemistry and physiology**, v. 47, p. 100-109.
- JIMENEZ, D.; GILLIAM, M.. 1990. Ultrastructure of the ventriculus of the honey bee, *Apis mellifera* L.: cytochemical localization of acid phosphatase, alkaline phosphatase, and non specific esterase. **Cell and Tissue Research**, v. 261, p. 431-443.
- JOHNSON, L. L.; STEHR, C. M.; OLSON, O. P.; MYERS, M. S.; PIERCE, S. M.; WIGREN, C. A.; MCCAIN, B. B.; VARANASI, U., 1993. Chemical contaminants and hepatic lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) from the northeast coast of the United States. **Environmental Science and Technology**, v. 27 (13), p. 2759-2771.
- KORBES, D.; SILVEIRA, A.F. da; HYPOLITO, M.Â.; MUNARO, G. Alterações no sistema vestibulo coclear decorrentes da exposição ao agrotóxico: revisão de literatura. **Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 146-152, 2010.
- LEHANE, M. J.; BILLINGSLEY, P. F.. 1996. **Biology of the insect midgut**. London, Chapman & Hall, 486p.
- LEVY, S. M.; FALLEIROS, A. M. F.; GREGÓRIO, E.A.; ARREBOLA, N. R.; TOLEDO, L.A.. 2004. The larval midgut of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): light and electron microscopy studies of the epithelial cells. **Brazilian Journal of Biology**, V. 64, p. 633-638.
- LEVY, S. M.; FALLEIROS, A. M. F.; MOSCARDI, F., GREGÓRIO, E. A., TOLEDO, L. A. Morphological study of the hindgut in larvae of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). **NeotropEntomol**, v. 33, p. 427-431, 2004.
- MACHADO, L.A.; SILVA, V.B.; OLIVEIRA, M.M. de. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**. São Paulo, v.69, n.2, p.103-106, 2007.
- MARSARO JUNIOR, A.L.; PEREIRA, P.R.V. da S.; SILVA, W.R. da; GRIFFEL, S.C.P. Flutuação populacional de insetos-praga na cultura da soja no estado de Roraima. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**. Curitiba, v. 8, n. 1, p. 71-76, 2010.
- MARTINS, G.L.; TOMQUELSKI, G.V. Eficiência de inseticidas sobre *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, p. 25-31, 2015.
- MELO, G.A.R. de; CARVALHO, J.B. de; CASARI, S.A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia**. Ribeirão Preto: Holos, editora, 2012, 810 p.
- MONTUENGA, L.M.; BARRENECHEA, M.A.; SESMA, P.; VÁSQUEZ, J.J.. 1989. Ultrastructure and immunocytochemistry of endocrine cells in the midgut of desert locust, *Schistocerca gregária* (Forsk.). **Cell and Tissue Research**, v. 258, p. 577-583.
- MORDUE (LUNTZ), A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neemtree *Azadirachta indica*: its action against insects. **AnSocEntomol Brasil**, v. 29, p. 615-632, 2000.
- MORISHITA, R. **Estudo das interações entre ovócitos e células foliculares no ovário da aranha-marrom, *Ixosceles intermedia***. 2003. 107 f. Dissertação (Mestrado) - programa de Pós-graduação em biologia celular e molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba (PR), 2003.
- MOSCARDI, F.; BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN CAMPO, C.B.; POMARI, A.F.; CORSO, I.C.; YANO, S.A.C. **Artrópodes que atacam as folhas da soja**. In:

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Ed.). Soja – Manejo Integrado de Pragas e outros Artrópodes praga. Brasília, DF: Embrapa, 2012. Cap. 4, p. 213-309.

PACHECO, Y.S.Y.; LÓPEZ-OLGUIN, J.F. Combate de Sitotroga cerealella (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) em maiz armazenado à nível de laboratório usando polvos vegetales. In: CONGRESSO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA, 29., Monterrey, 1994. **Memorias**. Monterrey: SME, 1994, p.256.
PAPA, G.; CELOTO, F.J. **Lagartas na soja. São Paulo, 2007**. Disponível em: <<http://www.ilhasolteira.com.br/colunas/index.php?acao=verartigo&idartigo=1189090532>>. Acesso em: 25 Jan. 2018.

PASTRANA, J. A. **Los lepidópteros argentinos: sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios**. Buenos Aires: Sociedad Entomológica Argentina, 2004. 350p.

PINHEIRO, D.O., QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; GREGÓRIO, E. A.. 2008. Morphological regional differences of epithelial cells along the midgut in *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) larvae. **Neotropical Entomology**, V. 37, p. 413-419.

PINHEIRO, D.O.; SILVA, R.J.; GREGÓRIO, E. A. 2006. Morphometry of the Midgut epithelium of *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1974 (Lepidoptera) parasitized by *Cotesia flavipes* Cameron, 1891 (Hymenoptera). **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 93, p. 60-62.

PINHEIRO, D.O.; SILVA, R.J.; QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; GREGÓRIO, E. A.. 2003. Morphometric study of the midgut epithelium in larvae of *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, p.453-459.

RODRÍGUEZ, H.C. **Efeito de extratos aquosos de Meliaceae no desenvolvimento de Spodoptera frugiperda** (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). 1995. 100p. Tese (Doutorado em Entomologia) – ESALQ/USP, Piracicaba, 1995.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**. Vol. 1, N. 2, Mar. 2001.

SAITO, M.L.; POTT, A.; FERRAZ, J.M.G; NASCIMENTO, R.S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista Ecotoxicol e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p. 1-10, 2004.

SCHMALZ, W. F., HERNANDEZ, A. D., WEIS, P., 2002. Hepatic histopathology in two populations of the mummichog *Fundulus heteroclitus*. **Marine Environmental Research**, v. 54, p. 539-542.

SEHNAL, F.; ZITNAN, D.. 1996. **Midgut endocrine cells**, p.55-78. In M.J. Lehane & P.F. Billingsley (eds.), *Biology of the insect midgut*. London, Chapman & Hall, 486p.

SERRÃO, J. E.; CRUZ-LANDIM, C.. 1996. Ultrastructure of midgut endocrine cells in workers of stingless bee (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Iheringia Serie Zoologia**, v. 81, p. 151-156.

SILVA, A. G. A.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES, J.; SILVA, M. N.; SIMONI, L. de. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil: seus parasitos e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968, 622p.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO, I.C.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 2010. 90 p. (Embrapa – CNPSo. Documentos, 269).

SOUSA, M. E. C. de. **Análise morfológica e ultra-estrutural do mesêntero de Alabama argillacea (Hubner) (Lepidoptera : Noctuidae) frente à toxina Cry1Ac**. 2009. 66 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

TERRA, W. 1988. Physiology and biochemistry of insect digestion: An evolutionary perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 21, p. 675-734.

TERRA, W.R. 2001. The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. **Archives of insect biochemistry and physiology**, v. 47, p. 47-61.

TERRA, W.R.; COSTA, R. H., FERREIRA, C.. 2006. Plasmic membranes from insect midgut cells. **Annals of The Brazilian Academy of Sciences**, v. 78, p. 255-269.

VAN DER OOST, R.; GOKSARYR, A.; CELANDER, M.; HEIDA, H.; VERMEULEND, N. P. E., 1996. Biomonitoring of aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). II Biomarkers: pollution-induced biochemical responses. **Aquatic Toxicology**, v. 36, p. 189-222.

VÁZQUEZ, W.C. **Biologia comparada de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificiais e efeito de um vírus de poliedrose nuclear na sua mortalidade e no consumo da área foliar da soja**. 1988. 164 f. Tese (Mestrado) – Curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1988.

VIZZOTO, M.; KROLOW, A.C.; WEBER, G.E.B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Documento: Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, n. 316, p. 7-15, 2010.

WARMLING, J. V. **Efeitos letais e subletais de extratos vegetais alcoólicos sobre *Chrysodeixis includens* (WALKER, 1858) (Lepidoptera: noctuidae)**. Dois Vizinhos: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2018. 81 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2018.

WIT, J.P.; KIEVITSBOSH, R.A.; BETTIOL, W. **Integração de métodos físicos e biológicos para o controle de doenças e pragas em lírios e espatifilo**. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. Biocontrole de doenças de plantas: usos e perspectivas, Embrapa:Jaguariuna-SP, Cap 22, 2009. 330-335p.