

Dinâmica hemocitária em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com nim (*Azadirachta indica* A. Juss)

A. A. CORREIA, V. WANDERLEY-TEIXEIRA, Á. A. C. TEIXEIRA, J. V. DE OLIVEIRA, J. B. TORRES

O conhecimento dos mecanismos imunes dos insetos é de grande importância, pois alterações causadas nesses mecanismos podem auxiliar no desenvolvimento do controle de insetos-praga. Assim, neste estudo foram analisadas amostras de hemolinfa de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), visando à caracterização e contagem diferencial dos hemócitos, antes e após o tratamento por ingestão com a formulação Neemseto® à base de nim, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), a fim de detectar em qual concentração ocorrem mínimas alterações imunológicas que possam ser determinantes para o seu controle. A hemolinfa de lagartas de *S. frugiperda* não tratadas e tratadas com nim a 0,5 e 1,0% foi coletada nos intervalos de 48, 96, 144, 192 e 240h após o tratamento e os esfregaços analisados em microscópio de luz. A análise revelou a presença de seis tipos de hemócitos na hemolinfa das lagartas: Adipohemócitos (ADs), Esferulócitos (Es), Granulócitos (GRs), Oenocitóides (OEs), Plasmatócitos (PLs) e Prohemócitos (PRs). As células mais frequentes foram granulócitos e plasmatócitos, respectivamente, para os tratamentos nos intervalos de avaliação. A contagem diferencial dos hemócitos de lagartas de *S. frugiperda* sob influência do nim revelou um efeito dependente da concentração sobre a dinâmica hemocitária. Contudo, apesar da mortalidade e dos efeitos ocorrerem de forma mais expressiva no tratamento com nim a 1,0%, ambas as concentrações estudadas alteraram a imunidade celular das lagartas.

A. CORREIA, V. WANDERLEY-TEIXEIRA, J. V. DE OLIVEIRA, J. B. TORRES. Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, aliceliac@yahoo.com.br

Á. A. C. TEIXEIRA. Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, valeria@dmfa.ufrpe.br

Palavras chave: Resposta imunológica, lagarta-do-cartucho, milho, morfologia, hemolinfa.

INTRODUÇÃO

A extrema proliferação e a diversidade dos insetos, entre outros fatores, pode estar relacionada ao sistema imunológico inato, que representa uma defesa contra partículas e organismos estranhos, sendo composto por barreiras estruturais e fisiológicas (BULET *et al.*, 1999; LAVINE & STRAND, 2002). As barreiras estruturais de natureza física dos

insetos são: a cutícula (exoesqueleto), o canal alimentar e o sistema respiratório, que são bastante eficientes (BULET *et al.*, 1999). Quando essas barreiras estruturais e fisiológicas são rompidas, os agentes estranhos atingem a hemocele desencadeando complexos e interconectados mecanismos humorais e celulares. A resposta humoral consiste da síntese de uma grande variedade de peptídeos antimicrobianos, principalmente pelos

corpos gordurosos e cascatas proteolíticas que, sob ativação conduzem à coagulação da hemolinfa ou melanização, bem como reações intermediárias de oxigênio e nitrogênio (HOFFMANN, 1995). Por outro lado, as defesas celulares referem-se a respostas imunes como fagocitose, nodulação, encapsulação e citotoxicidade, mediadas por hemócitos, células livres circulantes na hemolinfa (SILVA, 2002).

O sucesso das respostas de defesa depende do número e dos tipos de hemócitos envolvidos nesses mecanismos (RUSSO *et al.*, 2001). Contudo, a relativa abundância, a variabilidade de tipos e a atividade funcional dos hemócitos circulantes são conhecidas por variar dentro e entre os estágios de vida de uma espécie de inseto, bem como entre espécies próximas relacionadas (NEGREIRO *et al.*, 2004). A acurada classificação é um importante pré-requisito para o estudo dos hemócitos (LING *et al.*, 2003).

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é a principal praga do milho (*Zea mays* L.) no Brasil e, nos últimos anos, vem aumentando a sua importância em várias áreas cultivadas (CARNEIRO *et al.*, 2004). Devido a diversos efeitos colaterais decorrentes do uso de inseticidas sintéticos, novas alternativas de controle têm sido pesquisadas, como a utilização de plantas com atividade inseticida (SHARMA *et al.*, 2003).

Extratos, pós e óleos de plantas como o nim, *Azadirachta indica* A. Juss têm sido investigados em relação a sua bioatividade sobre várias espécies de insetos. Os resultados demonstram deterrência alimentar, inibição da síntese do ecdisona, redução no crescimento, deformações em pupas e adultos, redução da fecundidade e longevidade de adultos, alterações na capacidade de atração de feromônios, esterilização e inibição de oviposição, diminuição da transmissão de vírus, repelência e mortalidade (ROEL, 2001). Entretanto, os efeitos patológicos dos inseticidas de origem vegetal sobre hemócitos de insetos são bastante escassos (SHARMA *et al.*, 2003). Assim, o presente trabalho teve como

objetivo caracterizar e quantificar os hemócitos de lagartas de *S. frugiperda* antes e após o tratamento com a formulação Neemseto® à base de nim, visando detectar em qual concentração ocorrem mínimas alterações imunológicas que possam ser determinantes para o seu controle.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos insetos. Foram utilizadas lagartas de *S. frugiperda* obtidas da criação estoque do Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), mantidas à temperatura de $25,2 \pm 1,4^\circ\text{C}$, umidade relativa de $67 \pm 0,7\%$ e fotofase de 12h, e alimentadas com folhas de milho.

Instalação dos Bioensaios. Folhas de milho híbrido duplo AG 1051 semeado em casa-de-vegetação, contendo duas plantas/vaso de 5L com solo + húmus de minhoca (proporção 2:1) + 12,13g de N-P-K (formulação 4-14-8) foram empregadas na alimentação das lagartas. Eventualmente, foram semeadas plantas no campo experimental do Departamento de Agronomia da UFRPE. Pedacinhos de folhas de milho (6,0 x 4,5cm) com 20 a 40 dias de idade foram imersos na calda do produto formulado de nim [Neemseto® - 0,5 (5mL/L) e 1,0% (10mL/L)], e em água destilada (testemunha), por aproximadamente cinco segundos, e postos para secar durante 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foram oferecidos como alimento às lagartas de *S. frugiperda* do oitavo dia de idade (3º instar), em placas de Petri de 10cm de diâmetro forradas com papel de filtro umedecido com água destilada, durante 48 horas. Após este período, as folhas foram substituídas, diariamente, por novas folhas não tratadas, até as lagartas atingirem a fase de pupa. Cada tratamento constou de 100 lagartas individualizadas em placas de Petri, das quais foram retiradas 20 lagartas para avaliação da sobrevivência e pupação. As lagartas restantes foram utilizadas para coleta da hemolinfa.

Coleta da hemolinfa para análise morfológica dos hemócitos. Amostras de 5µL de hemolinfa foram coletadas de 10 lagartas por tratamento, nos intervalos de 48, 96, 144, 192 e 240h. Cada lagarta correspondeu a uma repetição, sendo utilizadas 10 repetições/intervalo de tempo/tratamento. A coleta de 5µL de hemolinfa foi feita através de uma incisão na região meso-pleural da lagarta e com o auxílio de uma micropipeta. Em seguida, o material coletado foi colocado sobre uma lâmina microscópica e realizado o esfregaço. Os esfregaços foram fixados em meta-

nol por cinco minutos e submetidos à coloração de Giemsa durante o mesmo período. A análise morfológica dos hemócitos foi realizada, utilizando-se microscópio de luz OLYMPUS BX-49, e as fotografias realizadas em fotomicroscópio OLYMPUS BX-51.

Contagem diferencial dos hemócitos. A contagem dos hemócitos seguiu a metodologia parcialmente modificada de FALLEIROS *et al.* (2003). Em cada repetição (lâmina) foram contadas 300 células em campos aleatórios, utilizando-se objetiva de imersão. A proporção (%) de células (hemócitos) obtida nas

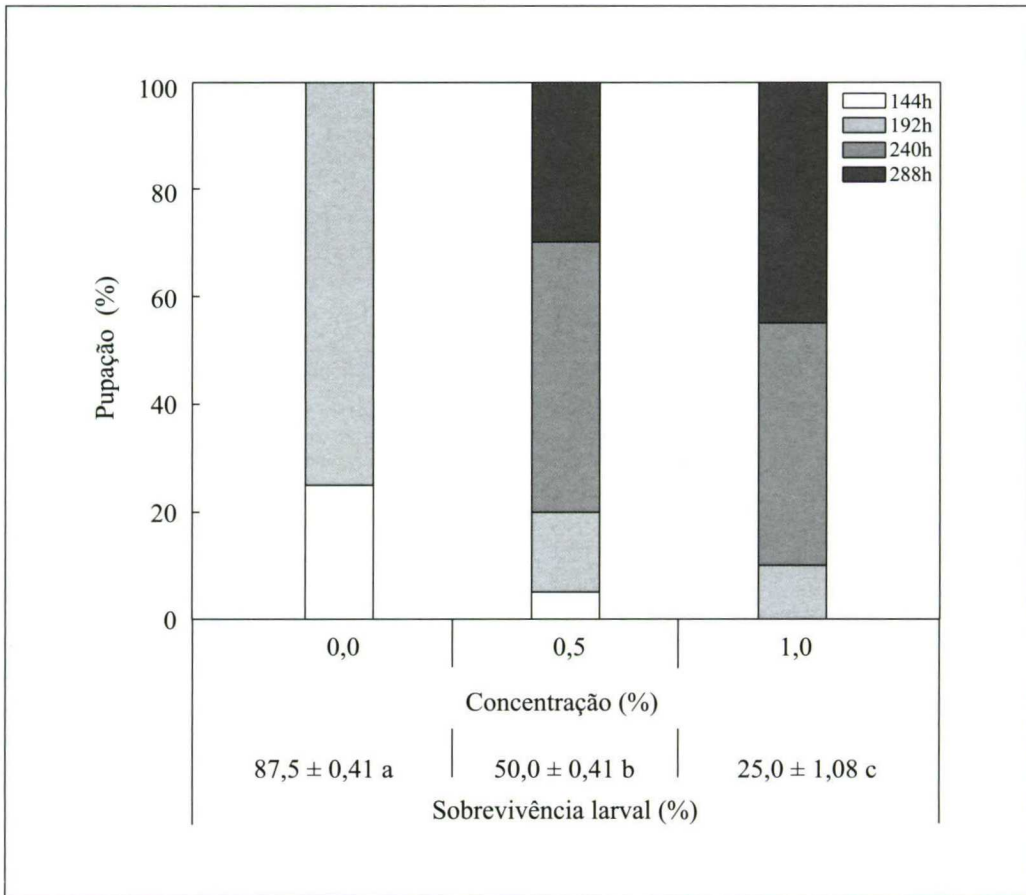


Figura 1. Proporção de lagartas de *S. frugiperda* que atingiram a fase de pupa e respectiva taxa de sobrevivência (Média ± EP), submetidas as diferentes concentrações de nim. Médias indicadas com diferentes letras relativas à sobrevivência larval diferem entre concentrações pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

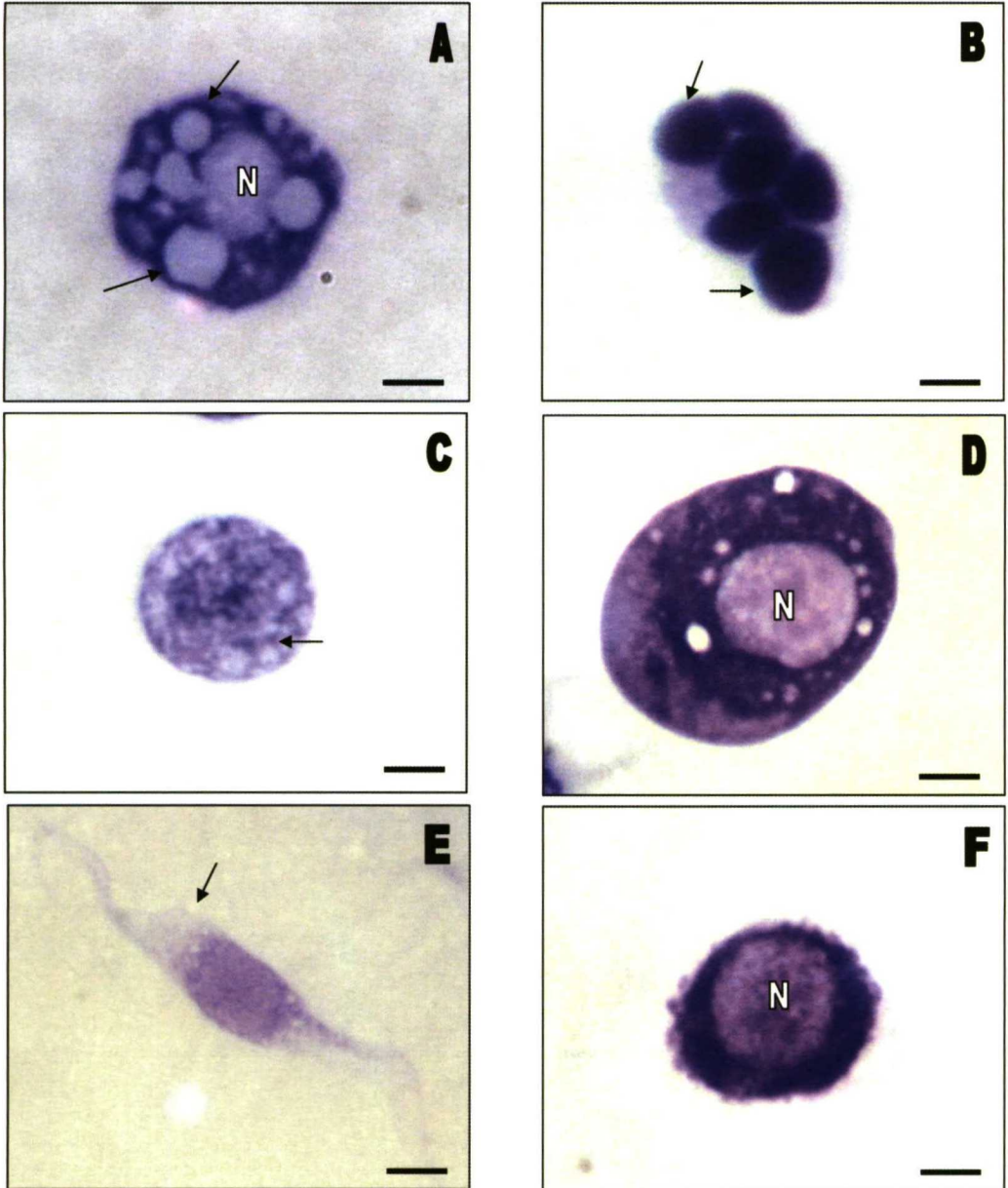


Figura 2. Hemócitos de *S. frugiperda*.

- Adipohemócito** (A) com várias gotículas de lipídios de forma e tamanhos irregulares no citoplasma (setas) próximas ao núcleo (N).
- Esferulócito** (B) com várias vesículas (setas) dispostas irregularmente chegando a mascarar o núcleo.
- Granulócito** (C) grande quantidade de grânulos irregulares pequenos no citoplasma (seta).
- Oenocitóide** (D) caracterizado pelo seu tamanho volumoso com núcleo excêntrico (N).
- Plasmatócito** (E) exibindo prolongamentos citoplasmáticos (seta).
- Prohemócito** (F) apresentando núcleo volumoso (N) deixando o citoplasma restrito a uma pequena faixa periférica. Barras = 10µm.

amostras (repetições) de lagartas de *S. frugiperda* submetidas aos tratamentos foi submetida à análise de variância. No caso de resposta significativa na proporção de hemócitos em função dos intervalos de avaliação após tratamento, os resultados foram submetidos à análise de regressão para a sua interpretação e, sendo selecionadas as equações que melhor representavam à resposta biológica e com base na sua significância (F e P) e maior coeficiente de determinação (R^2). Todas as análises foram conduzidas utilizando o Programa Estatístico SAS (SAS INSTITUTE, 1999-2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação realizada aos dois dias após a instalação do experimento, verificou-se 100% de sobrevivência das lagartas alimentadas com folhas tratadas com nim. No entanto, a partir dos seis dias após tratamento, a sobrevivência variou de 25,0 a 87,5%. A menor sobrevivência ocorreu no tratamento com nim a 1,0% (Figura 1). Todos os tratamentos com nim alongaram a fase larval, cuja duração foi de 20 dias, diferindo da testemunha, onde o desenvolvimento larval foi em torno de 16 dias, observando-se, deste modo, uma resposta concentração-dependente. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por MARTINEZ & VAN EMDEN (2001) em que lagartas do gênero *Spodoptera* apresentaram redução no crescimento, mortalidade e deformidades quando tratadas com o nim.

Desta forma, as alterações observadas na fase larval são representativas da atividade inseticida da azadiractina. Na maior concentração de nim, observou-se ainda, já a partir do intervalo de 48h, deterrência alimentar e anormalidades morfológicas, provavelmente relacionadas à ecdise incompleta ou ausência de ecdise. Muitas lagartas morreram durante a ecdise sem conseguir liberar totalmente a exúvia (que geralmente ficava presa na parte posterior do abdome), enquanto outras lagartas morreram numa fase intermediária entre pré-pupa e pupa. Em relação à não-liberação da exúvia, MORDUE (LUNTZ) & BLACKWELL (1993) mencionaram a

ocorrência de sintomas semelhantes em insetos submetidos a diferentes concentrações de azadiractina, e atribuíram essas alterações à redução na concentração do ecdisona ou atraso na sua liberação na hemolinfa.

De acordo com as análises morfológicas, foram visualizados, em todos os tratamentos, seis tipos de hemócitos (Figura 2) em lagartas de *S. frugiperda*: Adipohemócitos, Esferulócitos, Granulócitos, Oenocitóides, Plasmatócitos e Prohemócitos. Essas células seguiram o mesmo padrão morfológico observado por outros autores para a Ordem Lepidoptera (FALLEIROS *et al.*, 2003; NEGREIRO *et al.*, 2004) fornecendo assim subsídios para uma padronização dessas células. A análise histológica não revelou alterações nessas células quando as lagartas foram tratadas com nim nas diferentes concentrações.

Através da Análise de Regressão foram obtidas equações, de acordo com a significância ($P \leq 0,05$), que explicam o comportamento dos hemócitos ao longo do tempo/tratamento (Quadro 1). Alguns tratamentos não apresentam equações de regressão, pois os percentuais da contagem diferencial dos hemócitos de *S. frugiperda* não se ajustaram ao modelo estatístico.

A dinâmica hemocitária ao longo dos intervalos de avaliação após tratamentos (Figura 3) foi variável para alguns tipos de hemócitos, enquanto outros se mantiveram constantes. A quantidade de adipohemócitos diminuiu significativamente no tratamento com nim a 1,0%. Esta diferença foi observada no intervalo de 48h, o que pode estar relacionado ao gasto das reservas energéticas destas células para reparação dos efeitos ocasionados pela ação do nim (HILLYER & CHRISTENSEN, 2002). Uma vez que, nessa condição a identificação desses hemócitos torna-se difícil, pois há redução no número das gotículas de lipídios. Após o intervalo de 48h, não foram observadas diferenças estatísticas, o que comprova o retorno destas células à morfologia normal.

Houve um aumento proporcional no número médio de esferulócitos na concentração de nim a 1,0%, e uma diminuição na

Quadro 1. Equações para as proporções (%) e respectivos parâmetros de ajuste (F, Teste de Fisher; P, valor da significância e; R², coeficiente de determinação) da contagem diferencial dos hemócitos de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas e não tratadas com nim a 0,5 e 1,0% em função dos intervalos 48, 96, 144, 192 e 240h após tratamento. Temp.: 25,2 ± 1,4°C; UR de 67 ± 0,7% e fotofase de 12h.

Tipos de hemócitos	Tratamentos	Equações	F ^P	R ²
Adipohemócitos	Testemunha	$\hat{y} = 5,535 - 0,021x$	5,39 ^{0,027}	0,16
	Nim 0,5%	$\hat{y} = 3,294 - 0,008x$	8,36 ^{0,005}	0,15
	Nim 1,0%	$\hat{y} = \bar{y} = 1,92$	2,95 ^{0,092}	
Esferulócitos	Testemunha	$\hat{y} = \bar{y} = 12,88$	0,23 ^{0,800}	
	Nim 0,5%	$\hat{y} = 0,997 + 0,317x - 0,001x^2$	3,66 ^{0,033}	0,13
	Nim 1,0%	$\hat{y} = \bar{y} = 24,91$	0,68 ^{0,566}	
Granulócitos	Testemunha	$\hat{y} = \bar{y} = 45,30$	0,65 ^{0,528}	
	Nim 0,5%	$\hat{y} = \bar{y} = 42,27$	2,39 ^{0,081}	
	Nim 1,0%	$\hat{y} = 51,911 - 0,092x$	13,92 ^{0,001}	0,22
Oenocitóides	Testemunha	$\hat{y} = \bar{y} = 2,87$	0,42 ^{0,660}	
	Nim 0,5%	$\hat{y} = \bar{y} = 2,45$	2,28 ^{0,091}	
	Nim 1,0%	$\hat{y} = \bar{y} = 1,65$	1,01 ^{0,395}	
Plasmatócitos	Testemunha	$\hat{y} = -9,933 + 0,689x - 0,003x^2$	8,83 ^{0,001}	0,39
	Nim 0,5%	$\hat{y} = -11,79 + 0,928x - 0,007x^2 + 0,000016x^3$	8,94 ^{<0,001}	0,37
	Nim 1,0%	$\hat{y} = 13,741 + 0,1007x$	13,75 ^{0,001}	0,22
Prohemócitos	Testemunha	$\hat{y} = 37,42 - 0,502x + 0,0022x^2$	10,18 ^{<0,001}	0,43
	Nim 0,5%	$\hat{y} = 23,88 - 0,432x + 0,003x^2 - 0,0000069x^3$	2,9 ^{<0,045}	0,16
	Nim 1,0%	$\hat{y} = 29,019 - 0,603x + 0,0043x^2 - 0,0000095x^3$	12,19 ^{<0,001}	0,44

concentração de 0,5%, acarretando diferença estatística entre os tratamentos no intervalo de 240h. Estes resultados corroboram com SASS *et al.* (1994), que comprovaram o envolvimento destes hemócitos no transporte de componentes cuticulares e remodelação tecidual, uma vez que foi observado que o nim ocasionou danos expressivos na cutícula de lagartas de *S. frugiperda* na maior concentração, afetando o processo de ecdise.

Para os granulócitos, observou-se que nos dois primeiros intervalos de tempo (48 e 96h) não houve diferença estatística entre os tratamentos (Figura 3). No entanto, no intervalo 144h houve uma redução significativa dessas células na concentração de nim a 0,5%, em relação à testemunha. Este fato mostrou que nessa concentração o nim é capaz de interferir na defesa celular, pois RIBEIRO & BREHÉLIN (2006), afirmaram que os granulócitos têm função de reconheci-

mento de partículas estranhas na hemolinfa, estando envolvidos nos processos de fagocitose, detoxificação e remodelação da membrana basal durante a metamorfose.

Numericamente, verificou-se uma redução dos oenocitóides a partir de 96h, nas duas concentrações, em relação à testemunha. Este fato, provavelmente, se deve à lise dessas células, uma vez que, segundo LAVINE & STRAND (2002), esse processo ocorre em função da liberação de fenoloxidasas, que atuam na esclerotização da cutícula, visto que as lagartas mortas apresentaram-se escurecidas.

O número médio de plasmatócitos aumentou gradativamente entre os tratamentos, e os prohemócitos diminuíram. Considerando esta relação, BARDUCO *et al.* (1988), constataram que os prohemócitos são células indiferenciadas, que primeiro transformam-se em plasmatócitos, e após liberação na hemolinfa podem se diferenciar em granuló-

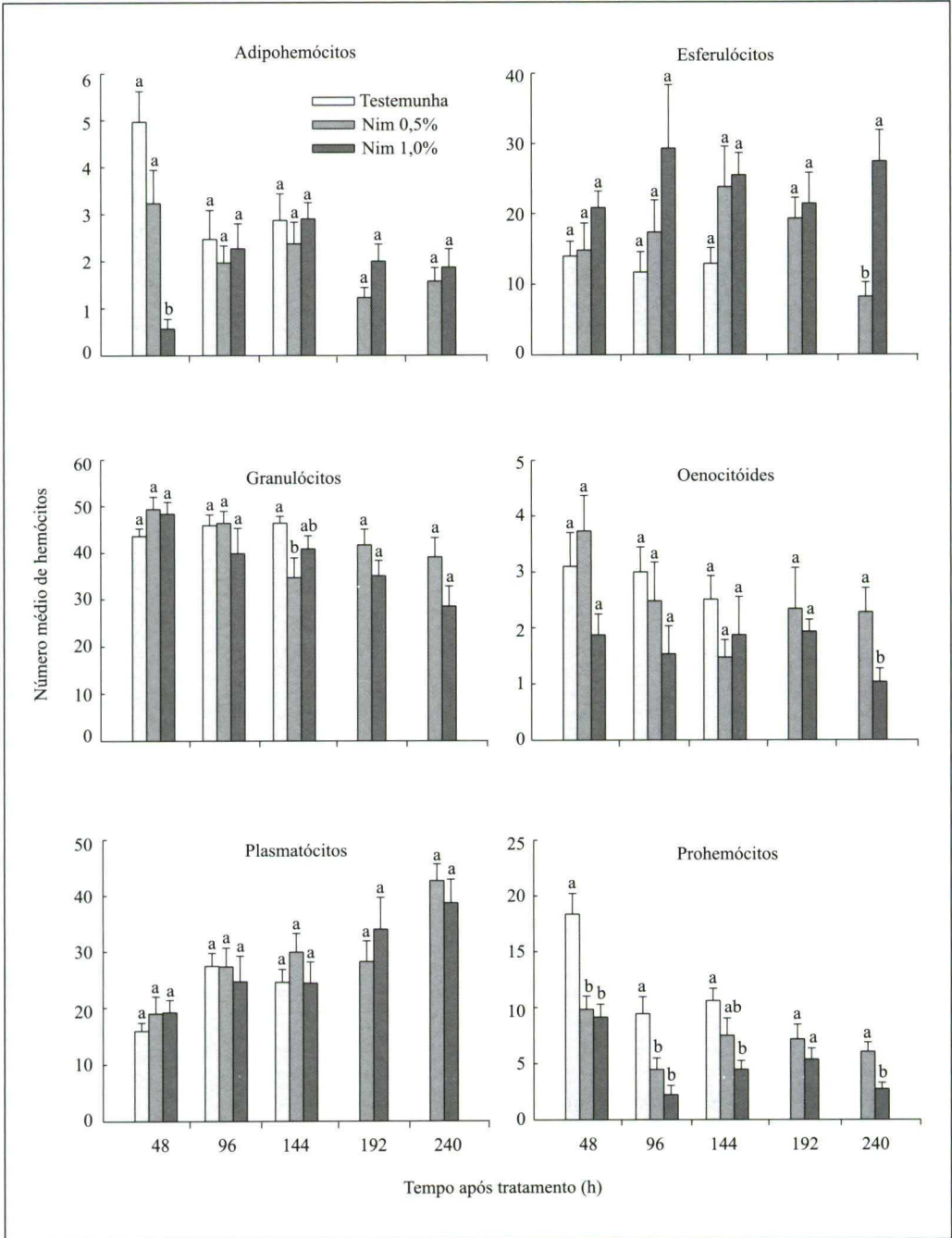


Figura 3. Média (+ EP) da contagem diferencial (%) dos hemócitos de lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas e não tratadas com nim a 0,5 e 1,0% a partir do terceiro ínstar. Médias indicadas com diferentes letras ao longo do tempo diferem entre tratamentos pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Nota-se que os valores na escala do eixo y diferem entre os tipos de hemócitos.

citós, esferulócitos e adipohemócitos. No entanto, o aumento dos plasmatócitos não foi suficiente para impedir as alterações morfológicas ocasionadas pelo nim nas duas concentrações estudadas.

A contagem diferencial dos hemócitos de lagartas de *S. frugiperda* sob influência de nim revelou uma relação concentração-dependente, que foi capaz de afetar a dinâmica hemocitária e provavelmente os eventos endócrinos, contribuindo para a mortalidade e anormalidades morfológicas produzi-

das. Contudo, apesar da mortalidade e dos efeitos ocorrerem de forma mais expressiva no tratamento com nim a 1,0%, ambas as concentrações alteraram a imunidade celular dos insetos. Assim, verificou-se que o uso de nim (Neemseto[®]) na concentração de 0,5% é suficiente para desencadear efeitos desse inseticida nas respostas imunológicas de *S. frugiperda*, contribuindo para redução de doses e aplicação de inseticidas químicos que apresentam problemas aos organismos benéficos e ao meio ambiente.

RESUMEN

CORREIA, A. A., V. WANDERLEY-TEIXEIRA, Á. A. C. TEIXEIRA, J. V. DE OLIVEIRA, J. B. TORRES. 2008. Dinámica hemocitária en larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas con nim (*Azadirachta indica* A. Juss). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 357-365.

El conocimiento de los mecanismos inmunes de los insectos es de gran importancia, pues alteraciones causadas en esos mecanismos pueden auxiliar en el desarrollo del control deplaga de insectos. Así, en este estudio fueron analizadas muestras de hemolinfa de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), para la caracterización y recuento diferencial de los hemócitos, antes y después del tratamiento por ingestión con Neemseto[®] a base de nim, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), afín de detectar en qué concentración suceden mínimas alteraciones inmunológicas que puedan ser determinantes para su control. La hemolinfa de larvas de *S. frugiperda*, tratadas y no tratadas con nim a 0,5 y 1,0%, fue extraída a intervalos de 48, 96, 144, 192 y 240h tras el tratamiento y los analizados con microscopio óptico. El análisis reveló la presencia de seis tipos de hemócitos en la hemolinfa de las larvas: Adipohemócitos (ADs), Esferulócitos (Es), Granulócitos (GRs), Oenocitoides (OEs), Plasmatócitos (PLs) y Prohemócitos (PRs). Las células más frecuentes fueron granulócitos y plasmatócitos, respectivamente, para los tratamientos en los intervalos de la evaluación. El recuento diferencial de los hemócitos de larvas de *S. frugiperda* bajo influencia del nim reveló un efecto dependiente de la dosis sobre la dinámica hemocitária. Con todo, pese a la mortalidad y los efectos que ocurren de forma más llamativa en el tratamiento con nim al 1,0%, ambas concentraciones estudiadas alteraron la inmunidad celular de las larvas.

Palabras clave: Respuesta inmunológica, larva del cartucho, maíz, morfología, hemolinfa.

ABSTRACT

CORREIA, A. A., V. WANDERLEY-TEIXEIRA, Á. A. C. TEIXEIRA, J. V. DE OLIVEIRA, J. B. TORRES. 2008. Hemocytary dynamics of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae treated with neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Bol. San. Veg. Plagas*, **34**: 357-365.

The knowledge of the immune mechanisms of the insects is of great importance because alterations caused in these mechanisms can assist in the insect-pests control development. Thus, the present study analyzed the hemolymph of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae aiming to characterize and to quantify the hemocytes at pre- and post-treatment for ingestion with the Neemseto[®] formulation (*Azadirachta indica* A. Juss), in order to detect in which concentration minimum immunological alterations occur that can be determinative for its control. Samples of hemolymph of untreated and treated larvae with neem at 0.5 and 1.0% concentrations were collected in the intervals of 48, 96, 144, 192 and 240h post-treatment and the smear

analyzed in light microscopy. The analysis showed six types of hemocytes in the larvae of *S. frugiperda* hemolymph: Adipohemocytes (ADs), Spherulocytes (Es), Granulocytes (GRs), Eonocytoids (OEs), Plasmotocytes (PLs) and Prohemocytes (PRs). And, Granulocytes and Plasmotocytes were the most abundant throughout the sampling intervals, respectively. The hemocytes counting in the hemolymph of *S. frugiperda* larvae characterized neem effects on hemocytary dynamics dependent of the concentrations. Despite of mortality and great effects detected with use of neem at 1.0%, both studied concentrations induced alterations on cellular immunity of the larvae.

Key words: Immunological response, fall armyworm, corn, morphology, hemolymph.

REFERÊNCIAS

BARDUCO, M. C., GREGÓRIO, E. A., TOLEDO, L. A. 1988. Hemócitos de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) no período larval, estudo morfológico e quantitativo. *Revista Brasileira de Biologia*, **48** (4): 925-932.

BULET, P., HETRU, C., DIMARCO, J., HOFFMANN, D. 1999. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. *Developmental & Comparative Immunology*, **23**: 329-344.

CARNEIRO, A. A., GOMES, E. A., NONATO, L. F. V., BRITTO, W. M. A., FERNANDES, F. T., CARNEIRO, N. P., GUIMARÃES, C. T., CRUZ, I. 2004. Caracterização molecular de fungos entomopatogênicos utilizados no controle biológico de pragas do milho – *Beauveria bassiana* versus *Spodoptera frugiperda*. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 10p. (Comunicado Técnico, no. 93).

FALLEIROS, A. M. F., BOMBONATO, M. T. S., GREGÓRIO, E. A. 2003. Ultrastructural and quantitative studies of hemocytes in the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **46**(2): 287-294.

HILLYER, J. F., CHRISTENSEN, B. M. 2002. Characterization of hemocytes from the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Histochemistry and Cell Biology*, **117**: 431-440.

HOFFMANN, J. A. 1995. Innate immunity of insects. *Current Opinion Immunology*, **7**: 4-10.

LAVINE, M. D., STRAND, M. R. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **32**:1295-1309.

LING, E., SHIRAI, K., KANEKATSU, R., KIGUCHI, K. 2003. Classification of larval circulating hemocytes of the silkworm, *Bombyx mori*, by acridine orange and propidium iodide staining. *Histochemistry and Cell Biology*, **120**:505-511.

MARTINEZ, S. S., VAN EMDEN, H. F. 2001. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotropical Entomology*, **30** (1): 113-125.

MORDUE (LUNTZ), A. J., BLACKWELL, A. 1993. Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, **39** (11): 903-924.

NEGREIRO, M. C. C., ANDRADE, F. G., FALLEIROS, A. M. F. 2004. Sistema imunológico de defesa em insetos: uma abordagem em lagartas da soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), resistentes ao AgMNPV. *Semina: Ciências Agrárias*, **25**(4): 293-308.

RIBEIRO, C., BREHÉLIN, M. 2006. Insect haemocytes: what type of cell is what? *Journal of Insect Physiology* **52** (5): 417-429.

ROEL, A.R. 2001. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local*, **1**(2): 43-50.

RUSO, J., BREHÉLIN, M., CARTON, Y. 2001. Haemocyte changes in resistant and susceptible strains of *D. Melanogaster* caused by virulent and avirulent strains of the parasitic wasp *Leptopilina boulardi*. *Journal of Insect Physiology*, **47**: 167-172.

SAS INSTITUTE. 1999-2001. SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SASS, M., KISS, A., LOCKE, M. 1994: Integument and hemocytes peptides. *Journal of Insect Physiology*, **40** (5): 407-421.

SHARMA, P. R., SHARMA, O. P., SAXENA, B. P. 2003. Effect of Neem gold on haemocytes of the tobacco armyworm, *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Current Science*, **84** (5): 690-695.

SILVA, C. C. A. 2002. Aspectos do sistema imunológico dos insetos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, **24**: 68-72.

(Recepción: 3 abril 2008)
(Aceptación: 24 julio 2008)