

Biologia de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com soja Bt em diferentes temperaturas

Cruz, Y.K.S. ¹; BORTOLOTTI, O.C. ²; BUENO, A.F. ³; BARBOSA, G.C⁴; SILVA, G.V⁵; BRAGA, K. ⁶; POMARI, A. F.⁷; QUEIROZ, A.P. ¹; SANZOVO, A. W. S. ¹

¹Universidade Estadual Norte do Paraná, ² Universidade Federal do Paraná, ³Embrapa Soja, ⁴Centro Universitário Filadélfia de Londrina, ⁵Universidade Estadual de Londrina, ⁶Universidade Norte do Paraná, ⁷Universidade de São Paulo- Ribeirão Preto.

Introdução

O percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) é uma praga neotropical importante em diversas culturas na região Sul do Brasil (PANIZZI et al., 2007). A mudança em muitas práticas culturais, como a adoção do sistema plantio direto e cultivo de duas safras (milho e soja) tem favorecido a ocorrência do percevejo barriga-verde (GOMEZ; ÀVILA, 2001).

Essa espécie ocorre em culturas de verão, como por exemplo, o milho e a soja, embora recentemente tenha sido relatada também se alimentando de cereais de inverno. Esse fato tem gerado a dúvida que a praga pode ser favorecida quando se encontra em condições de menores temperaturas climáticas, que é o cenário do cultivo das safrinhas. A relação da temperatura com os insetos é muito importante, pois pode influenciar em seu desenvolvimento, sobrevivência e reprodução (CHAPMAN, 1998). Em termos práticos também pode alterar a dinâmica populacional das pragas, assim como a capacidade de causarem danos às plantas hospedeiras (HADDAD et al., 1999). Porém outros fatores podem influenciar a capacidade de dano da praga, como as características da planta hospedeira. Nesse sentido, atualmente tem ganhado muito espaço o cultivo de plantas transgênicas resistentes à insetos, com a inserção de genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* ao genoma de plantas. O uso da biotecnologia tem algumas vantagens, como a redução de inseticidas químicos, diminuindo assim impactos sobre o meio ambiente, porém não se sabe o impacto que pode apresentar sobre pragas não-alvo (FRIZZAS; OLIVEIRA, 2006). Trabalhos demonstram que o cultivo em larga escala de plantas transgênicas e o conseqüente decréscimo na intensidade do uso de inseticidas para as pragas-alvo podem permitir que determinadas espécies-praga se tornem mais relevantes naquele ambiente agrícola (WU et al., 2005). Assim, o conhecimento da interação das espécies não-alvo (pragas e seus inimigos naturais) da soja com essa nova tecnologia, *Bt*, é de grande importância teórica e prática.

Desse modo, este estudo objetivou avaliar a influência da temperatura sobre os aspectos biológicos de *D. melacanthus*, e foi estabelecido o efeito da soja Bt sobre esta praga.

Materiais e Métodos

Os estudos foram conduzidos de novembro de 2012 a janeiro de 2013 no Laboratório de Parasitoides da Embrapa Soja – Londrina. Os ovos de *Dichelops melacanthus* utilizados para iniciar os estudos foram provenientes do laboratório de criação de insetos do Instituto Agrônomo do Paraná, com sede em Londrina.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com os tratamentos em arranjo fatorial 3 x 2; três temperaturas e duas fontes de alimento, com sete repetições, totalizando 42 parcelas experimentais. Os tratamentos utilizados para avaliar o impacto da temperatura sobre os aspectos biológicos de *D. melacanthus* foram três temperaturas constantes (19°, 25° e 31° ± 2°C), com umidade relativa (60 ± 10 %) e fotofase (14h). A fonte de alimento ofertada foram as cultivares de soja MON 87701 X MON 89788, que expressa a proteína Cry1Ac (soja *Bt*) sua isolinha não Bt A5547 (soja não *Bt*).

Para avaliar o impacto da temperatura e do alimento sobre o desenvolvimento ninfal da praga, cada tratamento foi representado por 70 espécimes, agrupados em sete repetições de 10 indivíduos. Devido ao hábito gregário das ninfas recém eclodidas, o experimento iniciou com ninfas de 2º instar, que foram individualizadas em placas de Petri (6 cm de diâmetro), forradas com papel filtro e um orifício na tampa. Para cada indivíduo foi oferecido uma vagem de soja e um micro tubo de plástico contendo água e tampado com algodão, trocando-se o alimento três vezes por semana. Com o uso de uma piceta, as placas foram umedecidas diariamente, para auxiliar e manter a Umidade Relativa (UR %) dentro das placas. A avaliação do instar, assim como a mortalidade da praga também foi realizada diariamente, até os insetos atingirem a fase adulta.

No intervalo de 24h após a emergência dos adultos, os mesmos foram pesados (mg) em uma balança analítica e separados por sexo. Com os adultos foram formados os casais em caixas plásticas do tipo Gerbox® (no máximo dois em cada caixa), forradas com papel filtro junto com microtubo plástico com água tipo Eppendorf®, fechado com algodão. Em cada caixa ofertou-se vagens frescas de soja, *ad libitum*, trocadas três vezes por semana. O papel filtro dentro das caixas foi trocado sempre que apareceu contaminação por fungo. A coleta dos ovos dos percevejos foi realizada três vezes por semana, com intervalo mínimo de dois dias. Para avaliar a viabilidade dos ovos, estes foram retirados de cada Gerbox® acondicionados em placas de Petri (6 cm de diâmetro) e mantidos nas mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo que os adultos. A partir da primeira postura das fêmeas, procedeu-se a coleta de ovos a cada 48h, para quantificação dos ovos (fecundidade) e estudo da viabilidade dos ovos. Os resultados obtidos foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade e independência dos resíduos, a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo para permitir a aplicação da Análise de Variância (ANOVA). As comparações múltiplas de médias foram realizadas pelo teste de Tukey, ($p \leq 0,05$). O programa estatístico utilizado para a análise dos dados foi o Statistical Analysis System (SAS Institute, 2000).

Resultados e discussão

De forma geral, os resultados obtidos nesse estudo e que estão apresentados na Tabela 1 indicaram que *D. melacanthus* desenvolve-se melhor em temperaturas mais elevadas (entre 25 e 31°C), apenas o efeito de temperatura apresentou resposta significativa, a soja MON 87701 x MON 89788 não tem influência sobre a biologia da praga, tanto na fase ninfal quanto na adulta. Os coeficientes de variação (CV) para os diferentes instares variaram de 3,97 a 34,25 % sendo esta maior variabilidade para o 3º instar.

A fase ninfal do percevejo barriga-verde foi acelerada com o aumento da temperatura, porém isso não refletiu em maior taxa de mortalidade da praga, ou pior desempenho de adultos, o que comprova que mesmo em temperaturas elevadas (31°C) o inseto apresenta capacidade para se desenvolver. O pior desenvolvimento do inseto foi na temperatura de 19°C, quando apenas 0,42% da população inicial atingiram a fase adulta. De forma similar ao presente estudo,

Chocorosqui & Panizzi (2002) verificaram que em temperaturas mais baixas (15 a 20°C) a taxa de mortalidade de *D. melacanthus* é muito elevada, e o inseto não apresenta condições de desenvolver-se nessas temperaturas.

Durante o segundo instar, o tempo de desenvolvimento de *D. melacanthus* na temperatura de 19°C foi aproximadamente três vezes superior do que o observado nas temperaturas de 25 e 31°C (Tabela 1).

Tabela 1. Influência da temperatura sobre a duração da fase ninfal de *D. melacanthus* alimentado com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt. Londrina, 2013.

Temperatura (°C)	Duração (dias) das fases ninfais de <i>Dichelops melacanthus</i>				
	2° instar	3° instar	4° instar	5° instar	Fase ninfal
19	12,84 ¹ ± 0,35 a	15,28 ± 1,45 a	-	-	-
25	4,55 ± 0,25 b	7,18 ± 0,52 b	7,26 ± 0,29 a	9,58 ± 0,18 a	27,50 ± 0,58 a
31	3,76 ± 0,12 c	3,68 ± 0,18 c	3,99 ± 0,22 b	5,44 ± 0,12 b	16,73 ± 0,52 b
Soja Bt	6,97 ± 0,82	6,70 ± 1,08	5,34 ± 0,44	7,36 ± 0,58	22,85 ± 1,56
Soja não Bt	7,14 ± 1,04	8,44 ± 1,22	5,91 ± 0,58	7,66 ± 0,59	21,38 ± 1,60
CV ² (%)	8,63	34,25	17,33	3,97	9,21
GL ³ temp.	2	2	1	1	1
GL cultivar	1	1	1	1	1
GL temp. x cultivar	2	2	1	1	1
F ⁴ temp.	259,46	46,35	74,55	364,13	195,8
F cultivar	0,55	1,04	2,28	2,41	3,62
F temp. x cultivar	2,96	0,09	1,91	0,74	0,01
P ⁵ -valor temp.	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P-valor cultivar	0,46	0,31	0,14	0,14	0,07
P-valor temp. x cultivar	0,07	0,91	0,17	0,4	0,9

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). nsANOVA não significativa. ²CV = Coeficiente de Variação, ³GL = Grau de Liberdade, ⁴F = Estatística F obtido na ANOVA, ⁵P-valor = Valor da Probabilidade da estatística F

A maior duração do instar ninfal pode ser um método de sobrevivência da espécie, em busca de garantir um maior período de sobrevivência através da economia de energia, que seria gasta com a realização da ecdise. Nessa fase, a taxa de mortalidade não diferiu entre as temperaturas (2° instar), assim como também não se verificou diferença entre os espécimes alimentados com soja MON 87701 X MON 89788 e a sua isolinha não Bt. Os coeficientes de variação para a viabilidade variaram entre 7,92 e 36,42 e da mesma forma que a duração da fase ninfal a maior variabilidade ocorreu para 3° instar. Entretanto, deve-se considerar que a taxa de mortalidade foi relativamente elevada em todas as temperaturas (Tabela 2), o que pode indicar que a soja pode não ser uma planta hospedeira que tenha condições ótimas para o desenvolvimento da praga. Chocorosqui & Panizzi (2002) obtiveram resultados semelhantes, com mais de 50% de mortalidade de *D. melacanthus* quando alimentado apenas com soja. Embora a espécie seja uma praga da soja, essa observação permite levantar a hipótese que a dieta restrita, como ofertada em laboratório, pode limitar o desenvolvimento do percevejo barriga-verde, que em condições naturais (agroecossistema), pode alimentar-se de diversas plantas hospedeiras, equilibrando-se nutricionalmente melhor.

No terceiro instar, novamente a duração ninfal a 19°C foi superior em relação às demais temperaturas, entretanto verificou-se uma maior taxa de mortalidade da praga, confirmando o efeito adverso da baixa temperatura para o desenvolvimento do inseto. Observou-se que do 3° ao 5° instar não houve resposta significativa entre as duas maiores temperaturas (Tabela 2).

Tabela 2. Influência da temperatura sobre a sobrevivência ninfal de *D. melacanthus* alimentado com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt. Londrina, 2013.

Temperatura (°C)	Viabilidade (%) das fases ninfais de <i>Dichelops melacanthus</i>				
	2° ínstar	3° ínstar	4° ínstar	5° ínstar	Fase ninfal
19	29,90 ^{1ns} ± 3,04	41,76 ± 10,39 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,42 ± 0,22 c
25	28,57 ± 3,76	85,83 ± 4,93 a	98,07 ± 1,92 a	96,15 ± 2,60 a	17,85 ± 1,55 b
31	38,57 ± 3,29	87,62 ± 4,48 a	97,14 ± 1,94 a	100,00 ± 0,00 a	29,28 ± 2,21 a
Soja Bt	30,47 ± 2,97	77,38 ± 6,30	70,26 ± 10,06	71,05 ± 10,16	16,85 ± 3,29
Soja não Bt	33,80 ± 2,80	66,10 ± 8,25	68,42 ± 10,92	66,66 ± 11,43	14,85 ± 2,52
CV ² (%)	26,14	36,42	7,92	16,02	17
GL ³ temp.	2	2	2	2	2
GL cultivar	1	1	1	1	1
GL temp. x cultivar	2	2	2	2	2
F ⁴ temp.	2,31	13,84	1156,37	293,11	294,74
F cultivar	0,7	1,96	3,43	0,03	0,51
F temp. x cultivar	0,01	1,08	1	1,65	2,19
P ⁵ -valor temp.	0,12	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P-valor cultivar	0,41	0,17	0,07	0,85	0,48
P-valor temp. x cultivar	0,98	0,35	0,38	0,21	0,13

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). nsANOVA não significativa. ²CV = Coeficiente de Variação, ³GL = Grau de Liberdade, ⁴F = Estatística F obtido na ANOVA, ⁵P-valor = Valor da Probabilidade da estatística F

Para as temperaturas 25 e 31°C a taxa de sobrevivência a partir do terceiro ínstar manteve-se sempre acima de 80%. Entretanto, quando considerado o desenvolvimento ninfal no geral, verificou-se que a temperatura de 31°C apresentou uma taxa de sobrevivência superior em relação à 25°C, comprovando a adaptação do inseto a temperaturas mais elevadas.

Isso foi ratificado com o maior peso de adultos observado na temperatura de 31°C (Tabela 3). Entretanto, embora obtido esse peso não se observou diferença nos demais parâmetros adultos, como fecundidade de fêmeas e viabilidade de ovos e as maiores variabilidade (CV) foram encontrados nestas duas variáveis respostas (Tabela 3). De forma similar, também não se verificou alterações nos parâmetros biológicos dos adultos alimentados com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt, confirmando os resultados obtidos durante a fase jovem (Tabelas 1 e 2), quando em nenhum momento verificou-se diferença na longevidade e sobrevivência ninfal do percevejo.

Os resultados reportados na literatura com relação ao impacto direto de culturas *Bt* em organismos não alvo da tecnologia são diversos em função da espécie estudada, o que ressalta a importância desse trabalho desenvolvido para *D. melacanthus* em soja. Resultados semelhantes foram obtidos para outra espécie de percevejo praga, *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae), para a qual não foi verificada diferença na sobrevivência, fecundidade das fêmeas e outros parâmetros biológicos avaliados entre organismos desenvolvidos em algodão *Bt* e não *Bt* na China (Li et al., 2011). Portanto, esses autores concluíram que a ocorrência dessa praga (*A. lucorum*) em condições de campo não tem qualquer relação com o cultivo de plantas *Bt*, pois a abundância da praga foi a mesma em algodão *Bt* e não *Bt*. Resultados opostos foram obtidos para outra espécie de praga, o pulgão *Aphis gossipy* (Hemiptera: Aphididae), que mostrou um melhor desenvolvimento no que diz respeito à quantidade de indivíduos ápteros e alados, que foi maior em plantas não *Bt* comparado a plantas *Bt*. Uma das justificativas para essa diferença é que, provavelmente as plantas *Bt* possam secretar diferentes concentrações de aminoácidos e açúcares, alterando a sua atratividade para os insetos herbívoros.

Tabela 3. Influência da temperatura sobre a biologia adulta de *D. melacanthus* alimentado com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt. Londrina, 2013.

Temperatura (°C)	Parâmetros da fase adulta de <i>Dichelops melacanthus</i>		
	Peso do adulto (mg)	Fecundidade/fêmea a	Viabilidade de ovos (%)
19	-	-	-
25	42,09 ¹ ± 0,96 b	86,33 ^{ns} ± 8,60	60,18 ^{ns} ± 2,25
31	47,43 ± 2,76 a	104,63 ± 19,32	65,22 ± 6,80
Soja Bt	43,69 ± 1,59	89,95 ± 8,88	63,25 ± 4,61
Soja não Bt	45,83 ± 2,78	101,52 ± 19,53	62,14 ± 5,63
CV ² (%)	9,93	44,26	26,42
GL ³ temp.	1	1	1
GL cultivar	1	1	1
GL temp. x cultivar	1	1	1
F ⁴ temp.	5,77	0,71	0,37
F cultivar	0,93	0,3	0,02
F temp. x cultivar	1,83	1,55	0,47
P ⁵ -valor temp.	0,03	0,42	0,55
P-valor cultivar	0,35	0,59	0,89
P-valor temp. x cultivar	0,21	0,24	0,51

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). nsANOVA não significativa. ²CV = Coeficiente de Variação, ³GL = Grau de Liberdade, ⁴F = Estatística F obtido na ANOVA, ⁵P-valor= Valor da Probabilidade da estatística F

Conclusão

Por fim, esse estudo demonstra que *D. melacanthus* desenvolve-se melhor em temperaturas mais elevadas (25 a 31°C) e a sua importância poderá aumentar com o passar dos anos, caso as temperaturas prossigam aumentando. Entretanto, com a entrada da soja Bt, essa tecnologia não terá impacto direto sobre a biologia da praga, porém o que irá ocorrer no agroecossistema ainda é uma incógnita, visto que indiretamente espera-se uma redução no uso de inseticidas nas lavouras, que poderá potencializar a atuação não apenas de seus inimigos naturais como também da própria praga. Desse modo, estudos adicionais em condição de campo devem ser realizados para confirmar o efeito da soja Bt sobre o comportamento do percevejo barriga-verde.

Agradecimentos

Ao pesquisador Dr^o Adeney de Freitas Bueno pela oportunidade de estágio, a equipe do Laboratório de Parasitóides e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por concessão da bolsa.

Referências

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

CHOCOROSQUI, V. R ; PANIZZI, A.R. Influência da temperatura na biologia de ninfas de *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: pentatomidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 2, p. 217-220, 2002.

FRIZZAS, M. R; OLIVEIRA, C.M.,. Plantas transgênicas resistentes a insetos e organismos não-alvo: predadores, parasitóides e polinizadores. **Ciências da Saúde**, v. 4, n. 1 / 2, p. 63-82, 2006.

GOMEZ, S. A.; ÁVILA, C. J. Barriga Verde na Safrinha. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, ed. 26, p. 28-29, 2001. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=536>. Acesso em: 20 de março de 2013.

HADDAD, M. L.; J. R. P. PARRA & R. C. B. MORAES. **Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1999. 29p.

LI, G., FENG, H. ; McNeil JN, LIU, B.; CHEN, P.; QIU, F. Impacts of transgenic *Bt* cotton on a non-target pest, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) (Hemiptera: Miridae), in northern China. **Crop Protection**. v, 30, n.12 p.1573-1578, 2011.

PANIZZI, A. R.; DUO, L. J. S.; BORTOLATO, N. M.; SIGUEIRA, F. Nymph developmental time and survivorship, adult longevity, reproduction and body weight of *Dichelops melacanthus* (Dallas) feeding on natural and artificial diets. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 51, n. 4, dez. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0085-56262007000400013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 25 maio 2013.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. 6 ed. Cary, 2001. SAS Institute, 2001. 291p.

WU, K., MU, W., LIANG, G., GOU, Y. Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of *Bt* cotton in northern China. *Pest Management Science*. v. 61, n.5. p. 491-498, 2005.