

## Biologia de *Dichelops melacanthus* alimentados com milho *Bt* em diferentes temperaturas.

<sup>1</sup>RODRIGUES, R.B; <sup>2</sup>MIKAMI, A.Y. ; <sup>2</sup>BORTOLOTTI, O.C.; <sup>3</sup>BUENO, A. DE F.; <sup>4</sup>SANZOVO, A. W. S.; <sup>5</sup>POMARI-FERNANDES, A.; <sup>6</sup>SILVA, G.V.; | <sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Cornélio Procópio, CEP: 86300-000, Cornélio Procópio, Paraná, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, Caixa Postal 19020 - CEP: 81531-980, Curitiba, Paraná, Brasil. <sup>3</sup>Embrapa Soja, Caixa Postal 231, CEP: 86001-970, Londrina, Paraná, Brasil. <sup>2</sup>Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Cornélio Procópio, CEP: 86300-000, Cornélio Procópio, Paraná, Brasil. <sup>5</sup> Instituto Agronômico do Paraná, Setor de Entomologia Agrícola, Rodovia Celso Garcia Cid, km 375 86047-902 - Londrina, Paraná, Brasil <sup>6</sup>Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Agronomia, Setor de Fitossanidade, Caixa Postal 19020 - CEP: 81531-980, Londrina, Paraná, Brasil.

### Introdução

O cultivo de plantas geneticamente modificadas conhecidas como plantas *Bt* vem crescendo exponencialmente nos países produtores de milho e algodão (JAMES, 2009), tais plantas podem ser utilizadas como ferramenta adicional nos programas de manejo integrado de pragas (MIP). O milho *Bt* caracteriza-se por ser resistente à alguns lepidópteros, com destaque à *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) devido à expressão da proteína Cry, que em contato com o pH alcalino do intestino da lagarta, atua como inseticida.

As vantagens da utilização dessa tecnologia é a redução do uso de inseticidas, bem como a redução do seu impacto (QAIM, MATHUSCHKE 2005). Pois, no cultivo convencional de milho os lepidópteros são as pragas mais importantes, sendo que através da tecnologia *Bt* não há necessidade de controlar tais pragas utilizando inseticidas, assim, havendo drástica redução de uso dos mesmos no cultivo. Entretanto, a adoção de cultivos *Bt* pode ocasionar o favorecimento da ocorrência de outros insetos-praga, ou seja, insetos que até então apresentavam menor importância nos cultivos convencionais. Tal alteração na dinâmica populacional das pragas já foi observada em cultivos de milho *Bt* favoreceu o crescimento populacional de pulgões (KIM et al. 2012) e cigarrinhas nas lavouras (VIRLA et al. 2010).

O percevejo conhecido como barriga-verde, *D. melacanthus* (DALLAS, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) tem sido citado em culturas de verão como a soja, *Glycine max* (L.) Merrill, desde a década de 70 (PANIZZI et al., 1977). Entretanto, devido as mudanças no cenário agrícola com a implantação do sistema de plantio direto e do cultivo no período da chamada “safrinha” (outono-inverno) houve um favorecimento à ocorrência desse percevejo (CHOCOROSQUI, 2001). Nessas áreas os percevejos encontram abrigo na palhada e se alimentam de restos de sementes maduras caídas no solo, assim conseguindo sobreviver, fato esse que não ocorre no cultivo convencional onde os percevejos são deslocados dos abrigos e mortos pela aração (CHOCOROSQUI, 2001). A ocorrência do percevejo na safrinha demonstra uma adaptação dessa espécie a temperaturas mais amenas.

Como o *D. melacanthus* é uma praga considerada secundária do milho e uma possível mudança de cenário agrícola, como utilização de cultivos *Bt*, aliado ao aumento global da temperatura, poderia favorecer o inseto. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a biologia de *D. melacanthus* em milho *Bt* em diferentes temperaturas.

### Material e métodos

Os estudos foram conduzidos na Embrapa soja (Londrina-PR), a partir de ovos de *D. melacanthus* (Dallas, 1851) provenientes do laborató-

rio de criação de insetos do Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR, Londrina-PR). A criação foi realizada em condições controladas [Temperatura  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR)  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 14 h].

O delineamento experimental utilizado no ensaio de ninfas e adultos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial  $3 \times 2$  [3 temperaturas  $\times$  2 isolinhas de milho (*Bt* e não *Bt*)]. Foram utilizadas câmaras climatizadas ajustadas nas temperaturas de 19, 25 e  $31 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR ( $60 \pm 10\%$ ) e fotofase (14h). O milho utilizado foi o milho *Bt* (Herculex® I) que expressa o gene cry1F e sua isolinha não *Bt*, estes foram cultivados em casa de vegetação dentro de vasos plásticos (8 litros) com substrato esterilizado. Os tratos culturais foram realizados conforme recomendações técnicas da região para a cultura.

### Ninfas

Devido não se alimentarem no 1º instar, o procedimento de individualização foi realizado a partir do 2º instar no qual as ninfas foram separadas em placas de Petri (6 cm de diâmetro), forradas com papel filtro. Para cada indivíduo foi oferecido grãos de milho imaturo e água em um microtubo do tipo Eppendorf® tampado com algodão. Com o uso de uma piceta, as placas foram umedecidas diariamente, para a manutenção da umidade dentro das mesmas. O alimento e a água foram trocados a cada 48 horas juntamente com o papel filtro com o intuito de prevenir contaminação por fungos. Avaliou-se diariamente o desenvolvimento das ninfas até o estágio adulto, registrando-se a mudança de cada instar; e a porcentagem de viabilidade durante cada instar.

### Adultos

No intervalo de 24h após a última ecdise, os percevejos adultos foram pesados (mg) com auxílio de balança analítica e separados por sexo. Após a verificação do peso, os adultos foram separados em caixas plásticas do tipo Gerbox® (duas fêmeas e um macho por Gerbox®). Em cada caixa ofertou-se o alimento (milho *Bt* ou não *Bt*) e a água como descrito anteriormente para as ninfas.

Foram avaliados o peso (mg), fecundidade das fêmeas e viabilidade dos ovos. Para avaliar a viabilidade dos ovos foi realizada a coleta dos mesmos três vezes por semana, com intervalo mínimo de dois dias, e acondicionados em placas de Petri (6 cm de diâmetro) e mantidos nas mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo que os adultos. Foi feita a contagem das ninfas conforme sua eclosão para posteriores cálculos de viabilidade.

### Análise Estatística

Para a biologia das ninfas o número de repetições foi igual a 14, sendo cada repetição composta de 5 placas (1 ninfa/placa). O número de repetições dos adultos foi igual a 10 Gerbox® (2 fêmeas + 1 macho/gerbox). Os dados foram analisados quanto à normalidade (Shapiro e Wilk, 1965) e homogeneidade da variância dos tratamentos (BURR, FOSTER, 1972). Os dados foram submetidos ao teste de variância (ANOVA), e como não houve interação, as médias foram comparadas pelo teste de t (2 tratamentos) ou teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro (SAS INSTITUTE, 2001). Os dados de viabilidade ninfal e de ovos foram transformados utilizando-se a fórmula  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ .

### Resultados e discussão

A interação entre as temperaturas estudadas e as isolinhas de milho não foi observada. O milho *Bt* não afetou a biologia das ninfas de *D. melacanthus*, apresentando desenvolvimento e viabilidade semelhantes ao milho não *Bt*, assim, o mesmo não tem influência sobre a biologia da praga, tanto na fase ninfal como na adulta. Tais resultados corroboram com os observados em *D. melacanthus* alimentados com soja *Bt* (MON 87701  $\times$  MON 89788), os quais não sofreram prejuízos ao se alimentarem da mesma (CRUZ et al., 2003). No entanto, a soja *Bt* possui o gene cry1Ac enquanto que o milho estudado possui o gene cry1F. Os mesmos autores ainda observaram que os ovos oriundos da alimentação de soja *Bt* não afetaram o desenvolvimento do seu parasitoide *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae).

Com relação à temperatura, houve influência desta no desenvolvimento de *D. melacanthus*. O aumento da temperatura acelerou o desenvolvimento ninfal do percevejo. Ninfas acondicionadas a 19 °C tiveram desenvolvimento lento em relação às temperaturas de 25 e 31 °C que não diferiram entre si (Tabela 1).

A viabilidade das fases ninfais foi superior nas temperaturas mais elevadas, a porcentagem de indivíduos que conseguiram alcançar a fase adulta em 25 e 31 °C foi de 67,8 e 72,8%, respectivamente (Tabela 2). Já na temperatura de 19 °C a viabilidade foi de apenas 26,43%, com isso pode-se verificar que em baixas temperaturas há um aumento do tempo de vida de *D. melacanthus*, mas com menor taxa de sobrevivência dos indivíduos. Em trabalho semelhante, Chocorosqui e Panizzi (2002) obtiveram apenas um adulto de *D. melacanthus* na temperatura de 20°C confirmando o efeito adverso da baixa temperatura para o inseto.

Adultos obtidos de ninfas criadas nas temperaturas de 25 e 31°C apresentaram maior peso do que os desenvolvidos a 19°C. Em decorrência de baixa viabilidade das ninfas criadas a 19°C, foi possível apenas a obtenção de 6 casais, os quais nenhum realizou postura de ovos. Desse modo, não se pôde comparar a fecundidade e a viabilidade de ovos (Tabela 3). Inesperadamente, os percevejos alimentados com Soja (*Bt* e não *Bt*) na temperatura de 19°C, observado por Cruz et al., 2003, apresentou viabilidade muito baixa. Os percevejos, diferindo dos resultados obtidos com o milho (*Bt* e não *Bt*), não alcançaram o quarto e quinto instar, bem como o estágio adulto.

Embora previamente relatado principalmente como praga da soja tendo a vagem como fonte de alimento, passou a ser encontrado em tecidos vegetativos de plantas menos preferidas como gramíneas e não cultivadas, esse fato é atribuído a baixa disponibilidade de hospedeiro preferencial. Assim, após a colheita da soja o percevejo permanece no solo nos restos da cultura e posteriormente alimenta-se de milho cultivado em sistema de semeadura direta (PANIZZI et al., 2012). Porém, no estudo foram utilizados grãos de milho, mas a campo tal fato

não se observa já que *D. melacanthus* ataca apenas plântulas de milho (GOMES et al., 2011). O ciclo de *D. melacanthus* em dieta artificial e alimentos naturais (vagens de soja e grãos de milho verde) foi estudado por Panizzi et al., 2007 onde foi observado um índice de sobrevivência e reprodução relativamente bom quando alimentado com grãos de milho verde.

## Conclusão

O milho *Bt* não afetou a biologia de *D. melacanthus* em nenhuma das temperaturas estudadas. Houve melhor desenvolvimento das ninfas de *D. melacanthus* nas temperaturas mais elevadas (25 e 31 °C).

## Referências

BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26 p. (Mimeo Series, 282).

CHOCOROSQUI, V.R. Bioecologia de *Dichelops* (Diceræus) *melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), danos e controle em soja, milho e trigo no Norte do Paraná. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Paraná, 2001.

CHOCOROSQUI, V.R.; PANIZZI, A.R. Influência da Temperatura na Biologia de *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera Pentatomidae) Ciências Agrárias, 2002. v.23. p. 217-220.

CRUZ, Y.K.S.; BORTOLOTO, O.C.; BUENO, A.F.; BARBOSA, G.C.; SILVA, G.V.; BRAGA, K.; POMARI, A.F.; QUEIROZ, A.P.; SANZOVO, A.W.S. Biologia de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com soja *Bt* em diferentes temperaturas. In: **VIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**, Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2013. p.213.

GOMES, M.F.R.; M.F.R.; SALVADOR, J.R.; PEREIRA, P.R.V.S.; PANIZZI, A.R. Injúrias de quatro espécies de percevejos pentatomídeos em plântulas de milho. **Ciência rural**, Santa Maria, 2001. v. 41, n. 7.

JAMES, C. Global status of commercialized biotech/GM Crops: 2009. **ISAAA Brief**, 2009. n. 41. ISAAA, Ithaca, NY.

KIM, Y.H.; HWANG, C.E.; KIM, T.S.; LEE, L.S.; LEE, S. Assessment of potential impacts due to unintentionally released Bt maize plants on non-target aphid *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae). **J Asia Pac Entomol.** 2012 v.15 p. 443-446.

PANIZZI, A.R.; CORRÊA, B.S.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B.; NEWMAN, G.G.; TURNIPSEED, S.G. Insetos da soja no Brasil. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1977. p.20.

PANIZZI, A. R.; DUO, L.J.S.; BORTOLATO, N.M.; SIQUEIRA, F. Nymph developmental time and survivorship, adult longevity, reproduction and body weight of *Dichelops melacanthus* (Dallas) feeding on natural and artificial diets. **Rev. Bras. entomol.**, São Paulo, 2007. vol.51, n.4, pp. 484-488.

QAIM, M; MATUSCHKE, I. Impacts of genetically modified crops in developing countries: A survey. *Quarterly Journal of International Agriculture*. 2005. V. 44 p. 207-27.

SAS Institute, User's Guide: Statistics. Version 6e. Cary, 2001. 201p.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v.52, p.591-611, 1965.

VIRLA, E.G.; CASUSO, M.; FRIAS, E.A. A preliminary study on the effects of a transgenic corn event on the non-target pest *Dalbulus maidis* (Hemiptera: Cicadellidae). *Crop Prot.* 2010. v. 29 p. 635-638.

**Tabela 1.** Desenvolvimento de ninfas de *Dichelops melacanthus* alimentados com milho Bt, em diferentes temperaturas.

Tratamento	Duração das fases ninfais (d)				
	2º instar	3º instar	4º instar	5º instar	Fase ninfal
Milho Bt <sup>1</sup>	8,00 ± 0,75 <sup>ns</sup>	7,64 ± 0,83 <sup>ns</sup>	9,31 ± 0,97 <sup>ns</sup>	10,58 ± 0,85 <sup>ns</sup>	35,53 ± 3,08 <sup>ns</sup>
Milho não Bt	8,35 ± 0,80	7,21 ± 0,74	8,95 ± 0,81	11,11 ± 0,86	35,61 ± 3,11
19 °C <sup>2</sup>	14,8 ± 0,39 a	14,02 ± 0,48 a	16,49 ± 0,69 a	17,48 ± 0,86 a	62,83 ± 1,01 <sup>a</sup>
25 °C	5,45 ± 0,23 b	5,24 ± 0,20 b	6,48 ± 0,27 b	8,23 ± 0,24 b	25,40 ± 0,49 b
31 °C	4,22 ± 0,14 c	3,00 ± 0,18 b	4,43 ± 0,17 b	6,83 ± 0,25 b	18,48 ± 0,46 b
CV (%)	17,49	22,67	25,29	26,28	10,25

Médias ± EPM (Erro Padrão da Média) seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de t 1 e Tukey 2 (p ≤ 0,05). ns não significativo.

**Tabela 2.** Desenvolvimento de ninfas de *Dichelops melacanthus* alimentados com milho Bt, em diferentes temperaturas.

Tratamento	Viabilidade (%) das fases ninfais de <i>Dichelops melacanthus</i>				
	2º instar	3º instar	4º instar	5º instar	Fase ninfal
Milho Bt <sup>1</sup>	83,81 ± 2,57 <sup>ns</sup>	91,90 ± 1,81 <sup>ns</sup>	94,76 ± 1,37 a	86,19 ± 2,50 <sup>ns</sup>	56,67 ± 3,73 <sup>ns</sup>
Milho não Bt	81,90 ± 2,96	90,48 ± 2,28	98,10 ± 0,92 b	84,29 ± 2,85	54,76 ± 4,42
19 °C <sup>2</sup>	77,14 ± 3,81 <sup>ns</sup>	85,00 ± 2,84 a	95,00 ± 1,67 <sup>ns</sup>	69,29 ± 3,33 a	26,43 ± 1,80 a
25 °C	83,57 ± 3,10	92,14 ± 2,14 ab	97,14 ± 1,35	95,00 ± 1,67 b	67,86 ± 3,76 b
31 °C	87,86 ± 2,97	96,43 ± 2,07 b	97,14 ± 1,35	91,43 ± 2,16 b	72,86 ± 3,29 b
CV (%)	23,94	18,01	11,80	17,33	26,06

Médias ± EPM (Erro Padrão da Média) seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de t 1 e Tukey 2 (p ≤ 0,05). ns não significativo.

**Tabela 3.** Peso de adultos, fecundidade e viabilidade de ovos de *Dichelops melacanthus* alimentado com milho Bt e não Bt, em diferentes temperaturas.

Tratamento	Peso adultos (mg)	Fecundidade	Viabilidade de ovos (%)
Milho Bt <sup>1</sup>	38,0 ± 1,4 <sup>ns</sup>	62,22 ± 6,48 <sup>ns</sup>	75,70 ± 4,62 <sup>ns</sup>
Milho não Bt	37,6 ± 2,1	76,75 ± 6,27	83,54 ± 2,93
19 °C	34,0 ± 1,7 a <sup>2</sup>	-	-
25 °C	41,2 ± 1,5 b	70,16 ± 7,73 <sup>ns 1</sup>	79,77 ± 3,83 <sup>ns</sup>
31 °C	38,2 ± 0,9 b	68,81 ± 5,35	79,48 ± 4,16
CV (%)	11,48	37,80	17,84

Médias ± EPM (Erro Padrão Médio) seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de t 1 e Tukey 2 (p ≤ 0,05). ns não significativo.