

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

JOSÉ ROMÁRIO DE CARVALHO

**COMPORTAMENTO E DESEMPENHO DE AGENTES DE
CONTROLE BIOLÓGICO SOBRE *Spodoptera eridania*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

ALEGRE, ES
2018

JOSÉ ROMÁRIO DE CARVALHO

**COMPORTAMENTO E DESEMPENHO DE AGENTES DE
CONTROLE BIOLÓGICO SOBRE *Spodoptera eridania*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração Fitossanidade, com ênfase em Entomologia.

Orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

Coorientadora: Prof.^a Dra. Cláudia de Melo Dolinski

Coorientadora: Dra. Débora Ferreira Melo Fragoso

ALEGRE, ES
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)
Bibliotecária: Lizzie de Almeida Chaves – CRB-6 ES-000871/O

C331c Carvalho, José Romário de, 1983-
Comportamento e desempenho de agentes de controle biológico sobre *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) / José Romário de Carvalho. – 2018.
74 f. : il.

Orientador: Dirceu Pratissoli.

Coorientadores: Cláudia de Melo Dolinski ; Débora Ferreira Melo Fragoso.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Pragas – Controle biológico. 2. Pragas agrícolas – Controle. 3. Ecologia agrícola. I. Pratissoli, Dirceu. II. Dolinski, Cláudia de Melo. III. Fragoso, Débora Ferreira Melo. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V. Título.

CDU: 63

JOSÉ ROMÁRIO DE CARVALHO

**COMPORTAMENTO E DESEMPENHO DE AGENTES DE
CONTROLE BIOLÓGICO SOBRE *Spodoptera eridania*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

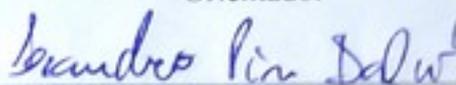
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal, na área de concentração Fitossanidade, com ênfase em Entomologia.

Aprovada em 30 de Janeiro de 2018.

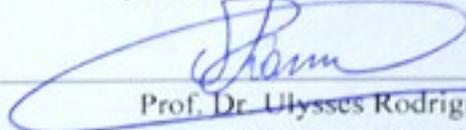
COMISSÃO EXAMINADORA



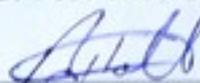
Prof. Dr. Dirceu Pratissoli
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Lenadro Pin Dalvi
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Ulysses Rodrigues Vianna
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Anderson Mathias Holtz
Instituto Federal do Espírito Santo

Aos meus pais, Carmem e José Julio (*in Memoriam*), que apesar de todas as dificuldades impostas em vossas caminhadas me propuseram educação e exemplo de vida para que eu pudesse alcançar mais esta vitória.

À minha esposa Iana, amiga e companheira de todos os momentos, e ao meu filho João Guilherme, que sempre traz nova alegria à minha existência.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por minha existência e por mais essa conquista, pois sem Ele nada somos e só por Ele conseguimos compreender o sentido dos acontecimentos. Sempre foi e sempre será minha fortaleza!

Aos trabalhadores da Seara de Luz de Deus, por todo auxílio e orientações durante minha vida.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), pela oportunidade de realizar este curso.

À minha Família, pelo apoio dado nos momentos difíceis. Em especial, à minha esposa Iana e ao meu filho João Guilherme por sempre acreditarem no meu potencial, por serem o meu farol, mesmo quando eu não estava com os olhos abertos. À minha sogra, Dona Marlene, e ao meu sogro Seu Reginaldo (Didi) que foram e estão sendo pessoas ímpares na minha existência. Aos meus tios Sebastião e Helena, às minhas primas Maria Aparecida e Laiane e aos meus primos Joel e João Batista, agradeço pela atenção e carinho. Amo muito todos vocês!

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de estudos no período de 2014 a 2015.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos no período de 2016 a 2018.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à empresa Koppert Biological Systems, pelo financiamento do projeto.

Ao professor Dirceu Pratisoli, pela oportunidade, orientação, e acima de tudo, pela confiança e pelo carinho e respeito pelo qual teve para comigo e minha família.

À pesquisadora Débora Ferreira Melo Fragoso e à professora Cláudia de Melo Dolinski, pela coorientação, amizade e apoio.

Aos professores, Anderson Mathias Holtz, Leandro Pin Dalvi e Ulysses Rodrigues Vianna, pela disponibilidade de participarem de minha defesa e pelas valiosas sugestões.

Aos professores Alexandre Rosa dos Santos, Anderson Mathias Holtz, Ulysses Rodrigues Vianna, Hugo Bolsoni Zago e à professora Ronara de Souza Ferreira pela amizade, oportunidades e momentos de descontração, dentro e fora do contexto acadêmico.

Aos funcionários e amigos Leonardo Mardgan e Simone Paiva de Araujo por tudo, pelos diálogos, pelos momentos de descontração, pelo ombro amigo e pelos conselhos, vocês são nota mil.

Ao funcionário Carlos Magno Ramos Oliveira pelo apoio nas tarefas de laboratório.

Ao Dr. Victor Luis de Sousa Lima pela amizade, pelos conselhos e momentos de descontração.

Aos estagiários do setor de Entomologia, com os quais tive a oportunidade de conviver e trabalhar (foram muitos – risos), mesmo para aqueles que foram apenas passageiros pelo laboratório ou que não tiveram um tempo de convívio direto, o meu muito obrigado.

Aos pós-graduandos Priscila, Fernando, Julielson, Luis, Laura, Mariana (Bahiana), Luiza, Mariana Almeida, Alexandra, Carlos Eduardo, Gisele, José Henrique pela amizade e momentos de descontração.

Aos meus amigos e auxiliares nos momentos de ansiedade Luciana Américo, Saulo Mateus e Keila Paraizo, por me auxiliarem sempre que necessário.

Às amigas da Dona Idalina Portela, Elaine Cápua e Siomara Orrico e ao amigo Jofre Ribeiro pela amizade de longa data, pelas orações, pelos conselhos, momentos de descontração e trabalhos à caridade, sou muito grato a vocês!

Aos colegas do grupo “Bolsistas CAPES – Facebook” pelos momentos de descontração, pelas “tretas”, pelo compartilhamento de experiências e vivências e pelos diálogos sobre dúvidas generalizadas, o meu muito obrigado!

BIOGRAFIA

JOSÉ ROMÁRIO DE CARVALHO, filho de José Júlio de Carvalho e Carmem Uliana de Carvalho, nasceu em Conceição do Castelo, Estado do Espírito Santo, em 23 de agosto de 1983.

Em outubro de 2004, iniciou o curso de graduação em Agronomia, na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), concluído em agosto de 2009.

Em setembro de 2009, ingressou no curso de Mestrado em Produção Vegetal da UFES, realizando estudos na área de Manejo Fitossanitário de Pragas, defendendo dissertação no dia 06 de dezembro de 2011.

Em março de 2010, iniciou o curso de graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Alegre, concluído em dezembro de 2012.

Em março de 2014, ingressou no curso de Doutorado em Produção Vegetal da UFES, realizando estudos na área de Manejo Fitossanitário de Pragas, defendendo tese no dia 30 de janeiro de 2018.

**COMPORTAMENTO E DESEMPENHO DE AGENTES DE CONTROLE
BIOLÓGICO SOBRE *Spodoptera eridania* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

RESUMO

Spodoptera eridania (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga cosmopolita e voraz, que acomete diversos cultivos de importância econômica, causando prejuízos aos agricultores quando não manejada. Seu manejo usualmente é realizado por meio de métodos químicos utilizando agrotóxicos de amplo espectro, que podem ocasionar problemas ambientais e à saúde dos agricultores e consumidores. Uma alternativa a esse método é o controle biológico. Assim este trabalho estudou o comportamento e a duração da predação de *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) em lagartas de *S. eridania*, e suas implicações em caso de escape da presa; e o desempenho de predação de *P. nigrispinus* sobre lagartas em função da idade do predador, visando compreender seu potencial para utilização em programas de manejo fitossanitário da praga. Além disso, verificou o potencial de 11 espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos (NEPs) pertencentes às famílias Heterorhabditidae (8) e Steinernematidae (3) em lagartas de estádios finais de desenvolvimento. O bioensaio de comportamento (B1) visou definir a região corpórea das lagartas preferida pelo predador e sua implicação no sucesso da predação. O bioensaio de duração de predação considerou os seguintes tempos de predação efetiva: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 min; as lagartas foram retiradas após cada tempo, simulando uma situação de escape da presa. Esse experimento foi realizado de duas formas: com predadores selecionados ao acaso e não repetidos (B2); e com os mesmos predadores nos tempos sucessivos (B3), ambas em condições de laboratório. O bioensaio de desempenho utilizou a metodologia de resposta funcional com medidas repetidas no tempo, buscando compreender a influência da idade do predador sobre seu potencial. Uma análise de sobrevivência foi realizada para verificar se o número de presas afetaria a longevidade do predador. Para o estudo com NEPs foram realizados dois bioensaios em condições de laboratório: de patogenicidade com 20,38 juvenis infectivos cm^{-2} (JI cm^{-2}) (equivalente a 2×10^9 JIs ha^{-1}); e de virulência, com concentrações variando entre 0,04 a 20,38 JIs cm^{-2} . Como arena, foram utilizados potes plásticos (116,89 cm^2), contendo areia esterilizada umedecida, onde foram liberadas lagartas de 6º ínstar de *S. eridania*. As suspensões (NEPs + água destilada) foram aplicadas com pipetador. O bioensaio

de comportamento (B1) revelou que o predador preferiu atacar a região anterior do corpo (cabeça e tórax), o que aumentou o sucesso da predação. A mortalidade das lagartas após a predação efetiva foi crescente com o aumento da duração do tempo de exposição. Para B2 a mortalidade foi de 90% após 64 min de exposição, enquanto que para B3 esse valor foi estimado para o tempo de 16 min. A resposta funcional do tipo II foi observada, tendo o modelo de Holling melhor ajuste aos dados. Os parâmetros eficiência de busca (a) e tempo de manuseio (Th) foram afetados pela idade do predador, sendo Th mais prolongado quando os insetos estão mais velhos. Todavia, estimou-se para *P. nigrispinus* um consumo de 133 lagartas até a idade de 17 dias. O hábito de predação ocorre durante toda a idade adulta do predador. O bioensaio de patogenicidade mostrou que 9 espécies/linhagens foram promissoras, com mortalidade acima de 87%. O Bioensaio de virulência revelou concentrações letais para 50% da população variando entre 0,27 e 3,67 JI cm⁻². *Heterorhabditis mexicana* Hmex(MX4) foi a espécie mais agressiva, com desempenho superior ao das espécies *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7, *Steinernema glaseri* GL, *S. rarum* SJH e *S. carpocapsae* SCN1, com base nos intervalos de confiança. Tais resultados demonstram que *P. nigrispinus* prefere atacar a região anterior da lagarta e a mortalidade das lagartas de *S. eridania* é favorecida em predadores que sofreram interrupção da predação, bem como apresenta um elevado potencial de consumo de lagartas. Além disso, os NEPs são uma alternativa eficiente para o controle de *S. eridania*, sendo *H. mexicana* Hmex(MX4) a espécie mais promissora.

Palavras-chave: Insecta. Controle biológico. Predador. Nematóide entomopatogênicos.

BEHAVIOR AND PERFORMANCE OF BIOLOGICAL CONTROL AGENTS ON *Spodoptera eridania* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT

Spodoptera eridania (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) is a cosmopolitan and voracious pest, which affects several crops of economic importance, causing damage to farmers when not managed. Their management is usually carried out using chemical methods using broad spectrum pesticides, which can cause environmental problems and the health of farmers and consumers. An alternative to this method is biological control. Thus, this work studied the behavior and duration of predation of *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) in *S. eridania* caterpillars, and its implications in case of prey escape; and the predation performance of *P. nigrispinus* on caterpillars according to the age of the predator, in order to understand their potential for use in pest management programs. Furthermore, it verified the potential of 11 species / lineages of entomopathogenic nematodes (EPNs) belonging to the families Heterorhabditidae (8) and Steinernematidae (3) in *S. eridania* caterpillars of late stages of development. The behavioral bioassay (B1) aimed to define the predator's preferred body region of caterpillars and its implication in the success of predation. The predation duration bioassay considered the following times of effective predation: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 128 min; the caterpillars were removed after each time, simulating a prey escape situation. This experiment was carried out in two ways: with predators selected at random and not repeated (B2); and with the same predators at successive times (B3), both under laboratory conditions. The performance bioassay used the methodology of functional response with measures repeated in time, seeking to understand the influence of predator age on its potential. A survival analysis was performed to verify if the number of prey would affect the predator's longevity. For the study with EPNs two bioassays were carried out under laboratory conditions: pathogenicity with 20.38 infective juveniles cm⁻² (IJ cm⁻²) (equivalent to 2 x 10⁹ IJs ha⁻¹); and virulence, with concentrations ranging from 0.04 to 20.38 IJ cm⁻². As the arena, plastic pots (116.89 cm²) were used, containing sterile, moistened sand, where sixth instar larvae of *S. eridania* were released. The suspensions (EPNs + distilled water) were pipetted. The behavioral bioassay (B1) revealed that the predator preferred to attack the anterior region of the body (head and thorax), which increased the success of predation. The mortality of caterpillars after effective predation was increasing with increasing duration of

exposure time. For B2 the mortality was 90% after 64 min of exposure, whereas for B3 this value was estimated for the time of 16 min. The functional response of type II was observed, with the Holling model better fitted to the data. The parameters, search efficiency (a) and handling time (Th), were affected by the age of the predator, being longer Th when the insects are older. However, *P. nigrispinus* was estimated to consume 133 caterpillars up to the age of 17 days. The predation habit occurs throughout the adult age of the predator. The pathogenicity bioassay showed that 9 species/strains were promising, with mortality above 87%. The virulence bioassay revealed lethal concentrations for 50% of the population ranging from 0.27 to 3.67 IJ cm⁻². *Heterorhabditis mexicana* Hmex (MX4) was the most aggressive species, with superior performance to *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7, *Steinernema glaseri* GL, *S. rarum* SJH and *S. carpocapsae* SCN1, based on the confidence intervals. These results demonstrate that *P. nigrispinus* prefers to attack the anterior region of the caterpillar and the mortality of *S. eridania* caterpillars is favored in predators that have suffered interruption of predation, as well as presents a high potential of caterpillar consumption. Furthermore, NEPs are an effective alternative to control *S. eridania*, being *H. mexicana* Hmex (MX4) the most promising species.

Keywords: Insecta. Biological control. Predator. Entomopathogenic nematodes.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE PREDACÃO DE *Podisus nigrispinus* EM *Spodoptera eridania*

- Figura 1. Sucesso e fracasso da predação de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) em função da região do corpo da presa *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae), em condições de laboratório..... 37
- Figura 2. Mortalidade de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da duração da predação efetiva de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae), para predadores selecionados ao acaso e não repetidos (A) e para o mesmo grupo de predadores repetidos (B), em condições de laboratório..... 38
- Figura 3. Lagartas de 3º ínstar de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) intactas e dissecadas dorsalmente após predação de 8 e 64 minutos por *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) (A, B, C e D, respectivamente) e lagartas saudáveis (E e F)..... 39

CAPÍTULO 3 – DESEMPENHO DE *Podisus nigrispinus* PREDANDO LAGARTAS DE *Spodoptera eridania*

- Figura 1. Predação de lagartas de *S. eridania* por *P. nigrispinus*, em função de sua densidade de presas e da idade do predador, em condições de laboratório. N_e : Número de lagartas predadas; N_0 : densidade de lagartas..... 54
- Figura 2. Resposta funcional do tipo II de *Podisus nigrispinus* sobre lagartas de *Spodoptera eridania* em diferentes idades do predador. N_e : Número de lagartas predadas; N_0 : proporção de lagartas..... 58
- Figura 3. Estimativa do número máximo de lagartas de *Spodoptera eridania* consumidas em diferentes idades de *Podisus nigrispinus* em função da idade do predador. Barras (\pm erro padrão) seguidas pela mesma letra não diferem com base nos intervalos de confiança de 95%..... 59
- Figura 4. Curva de sobrevivência (A) e sobrevivência média (B) de *P. nigrispinus* submetidos a diferentes densidades de lagartas de *S. eridania*, em condições de laboratório. Barras (\pm erro-padrão) não diferem entre si pelo teste de LogRank ($p > 0.05$)..... 59

CAPÍTULO 4 – DESEMPENHO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM *Spodoptera eridania*

- Figura 1. Curvas de concentração-mortalidade de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com juvenis infectivos (JIs cm^{-2}) de diferentes espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos. Ponto representa a CL_{50} 72

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3 – DESEMPENHO DE *Podisus nigrispinus* PREDANDO LAGARTAS DE *Spodoptera eridania*

Tabela 1. Resumo da análise de variância da interação entre densidade de lagartas de <i>Spodoptera eridania</i> e idade de <i>Podisus nigrispinus</i> , com correção dos graus de liberdade pelo ajuste de Greenhouse-Geisser.....	54
Tabela 2. Comparação entre os modelos de Roger e Holling para a densidade de lagartas de <i>Spodoptera eridania</i> em diferentes idades do predador <i>Podisus nigrispinus</i>	55
Tabela 3. Parâmetros estimados pelo modelo de Holling para <i>Podisus nigrispinus</i> para densidades de lagarta de <i>Spodoptera eridania</i> em diferentes idades de predador.....	56
Tabela 4. Diferenças dos parâmetros de resposta funcional de <i>Podisus nigrispinus</i> sobre lagartas de <i>Spodoptera eridania</i> em diferentes idades do predador. Na diagonal superior estão as diferenças, enquanto que na diagonal inferior os respectivos p-valores.....	57

CAPÍTULO 4 – DESEMPENHO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM *Spodoptera eridania*

Tabela 1. Espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos utilizados no estudo.....	71
Tabela 2. Mortalidade (média±erro-padrão) de lagartas de 6º ínstar de <i>Spodoptera eridania</i> (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com nematoides entomopatogênicos.....	71
Tabela 3. Concentração-mortalidade de <i>Spodoptera eridania</i> (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com juvenis infectivos (JIs cm ⁻²) de diferentes espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos.....	73

SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 <i>Spodoptera eridania</i> (CRAMER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	15
2.2 CONTROLE BIOLÓGICO.....	16
2.2.1 Insetos Predadores.....	17
2.2.1.1 <i>Podisus nigrispinus</i> (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae).....	17
2.2.2 Nematoides Entomopatogênicos.....	18
REFERÊNCIAS.....	19
CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE PREDACAO DE <i>Podisus nigrispinus</i> EM <i>Spodoptera eridania</i>.....	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	25
1 INTRODUÇÃO.....	26
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3 RESULTADOS.....	30
4 DISCUSSÃO.....	31
5 CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS.....	33
CAPÍTULO 3 – DESEMPENHO DE <i>Podisus nigrispinus</i> PREDANDO LAGARTAS DE <i>Spodoptera eridania</i>.....	40
RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	40
1 INTRODUÇÃO.....	41
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3 RESULTADOS.....	44
4 DISCUSSÃO.....	45
5 CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	48
CAPÍTULO 4 – DESEMPENHO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM <i>Spodoptera eridania</i>.....	60
RESUMO.....	60
ABSTRACT.....	60
1 INTRODUÇÃO.....	61
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	62
3 RESULTADOS.....	64
4 DISCUSSÃO.....	64
5 CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos em grande escala tem reduzido a diversificação dos agroecossistemas devido ao expansionismo agrícola para o cultivo de monoculturas (KANYAMA-PHIRI, G.; WELLARD, K.; SNAPP, 2017). Isso tem acarretado a redução da biodiversidade de inimigos naturais e facilitado o aumento populacional de insetos fitófagos (ORR; LAHIRI, 2014), que, consecutivamente, podem acarretar em injúrias e perdas nos cultivos. Além disso, o manejo inadequado desses agroecossistemas pode favorecer o surgimento e aumento populacional de insetos-praga ditos como secundários para os cultivos (DEGUINE; FERRON; RUSSELL, 2009).

Dentre as pragas, até então considerada secundária para muitos cultivos, *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) tem se destacado acometendo inúmeros cultivos produzidos em grande escala, como soja e algodão, e pequena escala, como tomate e morangueiro. Suas lagartas são vorazes e se alimentam desde as folhas a até os frutos. O manejo dessa praga tem sido realizado usualmente por meio de método químico. Porém, a carência de produtos eficientes registrados para essa praga nos cultivos é um problema, fazendo com que os agricultores utilizem produtos não registrados em seu manejo (CARVALHO et al., 2012a, b; FRAGOSO et al., 2015; JESUS et al., 2013; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015). Isso pode ocasionar uma série de problemas como surgimento de populações de insetos resistentes, contaminação ambiental e risco de intoxicação dos agricultores, animais e consumidores (CARVALHO et al., 2012b). Para reduzir tais impactos, é necessário utilizar métodos que ocasionem menor agressão ao meio ambiente e, consecutivamente, à saúde dos envolvidos na cadeia de produção e consumo, como por exemplo o controle biológico.

A utilização de agentes biológicos, como insetos predadores (MATOS NETO et al., 2002; LEMOS et al., 2003; TORRES; BOYD, 2009; PIRES et al., 2015) e nematoides entomopatogênicos (NEPs) (ISHIBASHI; CHOI, 1991; GREWAL; EHLER; SHAPIRO-ILAN, 2005; SHAPIRO-ILAN; HAM; QIU, 2014), tem sido relatada com sucesso em vários

estudos em diversos insetos-praga. Predadores como o percevejo *Podisus nigripinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) são reportados como potenciais agentes no manejo de pragas em sistemas agrícolas e florestais, principalmente para o controle de lepidópteros (PIRES, 2016; ZANUNCIO et al., 2016). No caso de NEPs, a utilização desses organismos para o manejo de insetos-praga de solo ou que vivem parte de seu ciclo biológico no solo, embora ainda discreta, é realizada com sucesso tanto em casa-de-vegetação quanto em campo na Europa e Estados Unidos (GREWAL; EHLER; SHAPIRO-ILAN, 2005; MOINO JUNIOR, 2009; SHAPIRO-ILAN; HAM; QIU, 2014). Contudo, estudos relacionados com a utilização de *P. nigripinus* ou NEPs para o controle de *S. eridania* são escassos, ou inexistentes.

Desta maneira, o presente trabalho estudou o comportamento e a duração da predação de *P. nigripinus* em lagartas de *S. eridania*, e suas implicações em caso de escape da presa; e o desempenho de predação de *P. nigripinus* sobre lagartas em função da idade do predador, visando compreender seu potencial para utilização em programas de manejo fitossanitário da praga. Além disso, averiguou o desempenho de 11 espécies/linhagens de NEPs pertencentes às famílias Heterorhabditidae (8) e Steinernematidae (3) em lagartas de estádios finais de desenvolvimento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Spodoptera eridania* (CRAMER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Conhecida vulgarmente como broca-grande ou lagartas das folhas, *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga secundária e sazonal na maioria dos cultivos. Porém quando instalada na lavoura é de difícil manejo, devido ao seu elevado potencial biótico (PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015). Seu ciclo biológico é em torno de 30 dias (CAPINEIRA, 2001). Essa espécie é considerada cosmopolita e é generalista, acometendo inúmeras plantas, desde culturas de importância econômica, como soja, algodão, tomate e morango, até plantas espontâneas, como caruru (CARVALHO et al., 2012a, b; FRAGOSO et al., 2015; JESUS et al., 2013; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015).

Suas lagartas, nos primeiros estádios larvais, apresentam comportamento gregário e se alimentam raspando as folhas, enquanto que a partir do 3º ínstar podem consumir o tecido foliar. As lagartas maiores apresentam hábito solitário e podem consumir desde folhas até frutos ainda verdes, o que gera prejuízos indiretos e diretos (PRATISSOLI, 2009; FORNAZIER; PRATISSOLI; MARTINS, 2010; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015; FRAGOSO et al., 2015).

Seu controle é usualmente realizado com inseticidas registrados para a cultura que não apresentam registro para a praga, como no caso dos cultivos de tomateiro (PRATISSOLI, 2009; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015). Todavia, estudos revelam alternativas para o seu manejo, seja pela utilização de óleo de mamona no controle de lagartas menores (CARVALHO, 2011), armadilha luminosa na captura de adultos (CARVALHO et al., 2012a) ou pelo controle biológico utilizando a bactéria *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) em lagartas jovens (PEREIRA et al., 2009) ou o parasitoide de ovos *Trichogramma* (CARVALHO et al., 2012b). Por outro lado, estudos visando o manejo de lagartas maiores ou mesmo o estágio de pupa são inexistentes ou raros.

2.2 CONTROLE BIOLÓGICO

O pesquisador H. S. Smith foi o primeiro a utilizar o termo “Controle Biológico” em 1919, para designar o uso de inimigos naturais para o controle de insetos-praga (BELLOWS; FISHER; CALTAGIRONE, 1999; HAJEK, 2004). Os organismos denominados de “inimigos naturais” são os agentes de controle biológico (PARRA et al., 2002). Nesse contexto, podemos agrupar esses agentes como microbianos ou entomopatogênicos (vírus, fungos, bactérias, nematoides e protozoários) que causam doenças nos insetos; predadores (insetos, ácaros, aranhas e demais vertebrados) que consomem os insetos; e os parasitoides (insetos) que utilizam os insetos como hospedeiro e alimento (HAJEK, 2004; HOY, 2008).

A seguir será realizada uma breve revisão sobre os agentes biológicos estudados no presente trabalho.

2.2.1 Insetos Predadores

Insetos predadores são, por definição, organismos carnívoros ou onívoros que se alimentam de outros animais nos estágios imaturo, adulto ou ambos. São caracterizados por consumir várias presas durante seu ciclo biológico, além de serem generalistas (BELLOWS; FISHER; CALTAGIRONE, 1999; HAJEK, 2004; WESELOH; HARE, 2009).

Algumas famílias pertencentes às ordens Coleoptera, Dermaptera, Hymenoptera, Odonata, Megaloptera e Hemiptera possuem representantes ou são exclusivamente predadores (WESELOH; HARE, 2009). A família Pentatomidae, sub-família Asopinae, pertencente à ordem Hemiptera, possui insetos considerados zoofitófagos, ou seja, que se alimentam de outros insetos e plantas (TORRES; BOYD, 2009). Esta característica é interessante, pois, em se tratando da utilização de predadores em programas de controle biológico de pragas, na ausência/escassez de presa o agente biológico pode utilizar plantas como fonte alternativa ou complementar de alimentação (PIRES et al., 2015; PIRES, 2016). Os gêneros *Podisus* e *Brontocoris* possuem representantes desse grupo (DE CLERQ, 2000; GRAZIA et al., 2015; PIRES, 2016).

2.2.1.1 *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae)

O percevejo *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) é uma espécie cujas fases ninfal (exceto o primeiro ínstar ninfal) e adulta possuem hábito alimentar predador. Essa espécie já foi reportada predando insetos das ordens Coleoptera, Hymenoptera e principalmente Lepidoptera. Seu ciclo biológico é em torno de 32 dias (MEDEIROS et al., 1998; 1999; PIRES, 2016). Sua capacidade reprodutiva chega a cerca de 200 ovos, até os 18 dias de idade da fêmea (MEDEIROS et al., 1999; TORRES; ZANUNCIO, 2001). Assim como outras espécies do gênero *Podisus*, possui hábito alimentar zoofitófago (EVANGELISTA JÚNIOR et al., 2003; TORRES; BOYD, 2009).

Podisus nigrispinus é uma espécie distribuída na região neotropical, com ocorrência natural no Brasil (ZANUNCIO et al., 2002; PIRES, 2016). A capacidade predatória de *P. nigrispinus* pode variar com o tipo de presa (TORRES; BOYD, 2009), temperatura (DIDONET et al.,

1995; MEDEIROS et al., 2004) e da suplementação através da fitofagia (SANTOS; BOIÇA JÚNIOR, 2002; MALAQUIAS et al., 2014).

É uma espécie com elevado potencial para utilização em programas de controle biológico de pragas em cultivos florestais e agrícolas (PIRES, 2016; ZANUNCIO et al., 2016). Diversos estudos biológicos foram realizados com *P. nigrispinus* sobre insetos-praga de grandes cultivos como soja (MATOS NETO et al., 2002), algodão (SANTOS et al., 1996; MEDEIROS et al., 2003; LEMOS et al., 2003), milho (OLIVEIRA et al., 2004a, b; MALAQUIAS et al., 2014), tomate (VIVAN et al., 2002) e florestais (HOLTZ et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Além disso, estudos bioquímicos e fisiológicos procuraram compreender o processo digestivo dessa espécie e descobrir as enzimas envolvidas (COHEN, 1995; TERRA; FERREIRA, 1994, 2012; GRAZIA et al., 2015; MARTÍNEZ et al., 2014, 2016).

2.2.2 Nematoides Entomopatogênicos

Os nematoides entomopatogênicos (NEPs) são definidos como parasitas que vivem em associação mutualística com simbioss bacterianos (GREWAL; EHLER; SHAPIRO-ILAN, 2005; SHAPIRO-ILAN; HAM; QIU, 2014). Os NEPs vivem no solo e são potenciais agentes biológicos para o manejo de insetos-praga de solo, ou que passem parte de seu ciclo biológico no solo (ISHIBASHI; CHOI, 1991; VOSS et al., 2009), como corós, gorgulho-da-goiaba, moscas-das-frutas e lepidópteros. No entanto, resultados de pesquisas recentes apontam que NEPs também têm potencial para o manejo de insetos-praga acima do solo, em determinadas condições, principalmente de umidade de exposição à luminosidade (TRDAN et al., 2008; BELLINI; DOLINSKI, 2012; ZOLFAGHARIAN et al., 2015).

Apesar de sua importância e utilização de programas de controle biológico no mundo, no Brasil a sua utilização ainda é discreta e pouco difundida frente a outros organismos, como bactérias, fungos e parasitoides (MOINO JUNIOR, 2009). Além disso, a produção comercial desses organismos ainda é incipiente no país, dado o potencial que esses organismos apresentam.

Aproximadamente 40 famílias de nematoides estão associadas com insetos; todavia, apenas duas famílias, Steinernematidae e Heterorhabditidae, são utilizadas extensivamente no controle biológico (HOY, 2008; LEWIS; CLARKE, 2012). Cerca de 75 espécies de

Steinernematidae e 18 de Heterorhabditidae foram descritas na literatura, sendo a relação entre esses nematoides e suas bactérias simbiotes altamente específica (bactérias do *Xenorhabdus* spp. se associam com *Steinernema* e *Photorhabdus* spp. se associam com *Heterorhabditis*) (POINAR, 1990; FERRAZ, 1998; GRIFFIN; BOEMARE; LEWIS, 2005; LEWIS; CLARKE, 2012). As bactérias simbiotes são os agentes primários responsáveis pela morte do inseto hospedeiro e fornecem, desta forma, uma fonte de nutrição para o nematoide (DOWDS; PETERS, 2002, LEWIS; CLARKE, 2012).

Os juvenis infectivos (JIs), único estágio de vida livre, entram no hospedeiro através de aberturas naturais (por exemplo, boca, ânus, espiráculos, ou ocasionalmente através da cutícula do inseto). Depois de entrar na hemocele do inseto, os JIs liberam suas bactérias simbióticas ocasionando a morte do hospedeiro geralmente dentro de 24-72 h. Uma vez dentro do hospedeiro, os JIs começam a se desenvolver realizando trocas de estádios juvenis. Os nematoides se alimentam de multiplicação de bactérias e tecidos do hospedeiro ao completar o seu desenvolvimento. Em geral o ciclo de vida de um NEP é constituído por seis fases: ovo, juvenis (quatro fases) e adultos. Os nematoides podem efetuar uma a três gerações dentro do hospedeiro. Quando o valor nutritivo no hospedeiro se torna empobrecido, ocorre a saída dos JIs do cadáver do inseto, procurando novos hospedeiros (LEWIS; CLARKE, 2012).

REFERÊNCIAS

BELLINI, L.L.; DOLINSKI, C. Foliar application of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae) for the control of *Diatraea saccharalis* in greenhouse. **Semina. Ciências Agrárias (Online)**, v. 33, p. 997-1004, 2012.

BELLOWS, T.S.; FISHER, T.W.; CALTAGIRONE, L.E. **Handbook of biological control: principles and applications of biological control**. London: Academic, 1999. 1046p.

CAPINERA, J.L. **Handbook of vegetable pest**. New York: Academic Press, 2001. 762 p.

CARVALHO, J.R.; QUADROS, I.P.S.; FORNAZIER, D.L.; PRATISSOLI, D.; ZAGO, H.B. Captura de *Spodoptera eridania* usando como atrativo luz fluorescente. **Nucleus**, v. 9, n. 2, p. 75- 82, 2012a.

CARVALHO, J.R.; PRATISSOLI, D.; ZAGO, H.B.; SOUZA, L.P.; OLIVEIRA, C.M.R.; SALOMAO, K.P.O.S. Desempenho de diferentes espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera:

Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae). **Nucleus**, v. 9, p. 211-219, 2012b.

COHEN, A.C. Extra-oral digestion in predaceous terrestrial arthropoda. **Annual Review of Entomology**, v. 40, p. 85-103, 1995.

DEGUINE, J-P.; FERRON, P.; RUSSELL, D. **Crop Protection**: from agrochemistry to agroecology. Science Publishers: Jersey, 2009.

DIDONET, J.; ZANUNCIO, J.C.; SEDIYAMA, C.S.; PICANÇO, MC. Desenvolvimento e sobrevivência ninfal de *Podisus nigrispinus* (Dallas) e *Supputius cincticeps* (Stål) (Heteroptera, Pentatomidae) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n. 3, p. 513-518, 1995.

DOWDS, B.C.A.; PETERS, A. Virulence mechanisms. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**, New York: CABI, p. 79-98, 2002.

EVANGELISTA JÚNIOR, W.; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; TORRES, J.B.; MARQUES, E.J. Efeito de plantas daninhas e do algodoeiro no desenvolvimento, reprodução e preferência para oviposição de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 677-684, 2003.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, p. 541-570, 1998.

FORNAZIER, M.J.; PRATISSOLI, D.; MARTINS, D.S. Principais pragas da cultura do tomateiro estaqueado na região de montanhas do Espírito Santo. In: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural. **Tomate**. Vitória: Incaper, p. 185-226, 2010.

FRAGOSO, D.F.M.; CARVALHO, J.R.; BARROS, A.P.; COFFLER, T.; MARCHIORI, J.J. P. LAGARTA-DAS-FOLHAS (*Spodoptera eridania*). In: HOLTZ, A.M.; RONDELLI, V.M.; CELESTINO, F.N.; BESTETE, L.R.; CARVALHO, J.R. (Orgs.). **Pragas das Brássicas**. Colatina: Instituto Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, p. 192-217, 2015.

GRAZIA, J.; PANIZZI, A.R.; GREVE, C.; SCHWERTNER, C.F.; CAMPOS, L.A.; GARBELOTTO, T.A.; FERNANDES, J.A.M. Stink Bugs (Pentatomidae). In: PANIZZI, A.R.; GRAZIA, J. (Eds.) **True Bugs (Heteroptera) of the Neotropics**. Entomology in Focus. v. 2, p.681-756. 2015.

GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds.). **Nematodes as Biological Control Agents**, Wallingford: CABI, 2005. 531p.

GRIFFIN, C.T.; BOEMARE, N.E.; LEWIS, E.E. Biology and behaviour. In: GREWAL, P.S., EHLERS, R.-U., SHAPIRO-ILAN, D.I. (Eds.). **Nematodes as Biological Control Agents**, Wallingford: CABI, p. 47-64, 2005.

HAJEK, A.E. **Natural Enemies: An Introduction to Biological Control**. Cambridge: Cambridge University Press, 2004. 378p.

HOLTZ, A.M., ALMEIDA, G.D., FADINI, M.A.M., ZANUNCIO, J.C., ZANUNCIO-JÚNIOR, J.S.; ANDRADE, G.S. Phytophagy on eucalyptus plants increases the development and reproduction of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Acta Scientiarum: Agronomy**, v. 33, n. 2, p. 231-235, 2011.

HOY, M.A. Natural Enemies Important in biological control. In: CAPINERA, J. (Ed.) **Encyclopedia of entomology**. 2. ed. Heidelberg: Springer, p. 2555-2567, 2008.

ISHIBASHI, N.; CHOI, D.R. Biological control of soil pests by mixed application of entomopathogenic and fungivorous nematodes. **Journal of Nematology**, v. 23, p. 175-181, 1991.

JESUS, F.G.; SOUSA, P.V.; MACHADO, B.R.; PEREIRA, A.I.A.; ALVES, G.C.S. Desenvolvimento de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 4, p. 430-435, 2013.

KANYAMA-PHIRI, G.; WELLARD, K.; SNAPP, S. Introduction. In: SNAPP, S.; POUND, B. (Eds.) **Agricultural Systems**. Agroecology and Rural Innovation for Development. Academic Press: London, p. 3-32, 2017.

LEMOS, W.P.; RAMALHO, F.S.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Effects of diet on development of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae), a predator of the cotton leafworm. **Journal of Applied Entomology**, v. 127, n. 7, p. 389-395, 2003.

LEWIS, E.E.; CLARKE, D.J. Nematode parasites and entomopathogens. In: VEGA, F.E.; KAYA, H.K. (Eds.). **Insect Pathology**, 2. ed. Amsterdam: Elsevier, p. 395-424, 2012.

MALAGUIAS, J.B.; RAMALHO, F.S.; OMOTO, C.; GODOY, W.A.; SILVEIRA, R.F. Imidacloprid affects the functional response of predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to strains of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Bt cotton. **Ecotoxicology**, v. 23: p. 192-200, 2014.

MARTÍNEZ, L.C.; FIALHO, M.C.Q.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Protoplasma**, v. 251, p. 535-543, 2014.

MARTÍNEZ, L.C.; FIALHO, M.D.C.Q.; ALMEIDA-BARBOSA, L.C.; OLIVEIRA, L.L.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Stink bug predator kills prey with salivary non-proteinaceous compounds. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 68, p. 71-78, 2016.

MATOS NETO, F.C.; ZANUNCIO, J.C.; CRUZ, I.; TORRES, J.B. Nymphal development of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera, Pentatomidae) preying on larvae of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Noctuidae) fed with resistant and susceptible soybeans. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, n. 3, p. 237-241, 2002.

MEDEIROS, R.S.; LEMOS, W.P.; RAMALHO, F.S. Efeitos da temperatura no desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), predador do curuquerê-do-algodoeiro (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 42, n. 3/4, p. 121-130, 1998.

MEDEIROS, R.S.; LEMOS, W.P.; RAMALHO, F.S.; PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C. Potencial reprodutivo de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), tendo como presa lagartas de curuquerê-do-algodoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO, 2., 1999, Ribeirão Preto, **Anais...** p. 285-287, 1999.

MEDEIROS, R.S.; RAMALHO, F.S.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Effect of temperature on life table parameters of *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) fed with *Alabama argillacea* (Lep., Noctuidae) larvae. **Journal of Applied Entomology**, v. 127, n. 4, p. 209-213, 2003.

MEDEIROS, R.S.; RAMALHO, F.S.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Estimative of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) development time with non linear models. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 2, p. 141-148, 2004.

MOINO JUNIOR, A. Produção de agentes entomopatogênicos. In: BUENO, V.H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, p. 277-296, 2009.

OLIVEIRA, H.N.; ESPINDULA, M.C.; PRATISSOLI, D.; PEDRUZZI, E.P. Ganho de peso e comportamento de oviposição de *Podisus nigrispinus* utilizando lagartas de *Spodoptera frugiperda* e larvas de *Tenebrio molitor* como presas. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1945-1948, 2004a.

OLIVEIRA, H.N.; PRATISSOLI, D.; PEDRUZZI, E.P.; ESPINDULA, M.C. Desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* alimentado com *Spodoptera frugiperda* e *Tenebrio molitor*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 947-951, 2004b.

OLIVEIRA, H.N.; ESPINDULA, M.C.; DUARTE, M.M.; PEREIRA, F.F.; ZANUNCIO, J.C. Development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with *Thyrintea arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) reared on guava leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 3, p. 429-434, 2011.

ORR, D.; LAHIRI, S. Biological Control of Insect Pests in Crops. In: ABROL, D.P. (Ed.). **Integrated pest management: Current Concepts and Ecological Perspective**. Academic Press: London, p. 531-548, 2014.

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Eds.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. Barueri: Manole, p. 1-16, 2002.

PEREIRA, J.M.; SEII, A.H.; OLIVEIRA, M.F.; BRUSTOLIN, C.; FERNANDES, P.M. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer) pela utilização de *Bacillus thuringiensis* (Berliner). **Pesquisa Agropecuária Tropical (Impresso)**, v. 39, p. 140-143, 2009.

PIRES, E. M. **Controle biológico: estudos, aplicações e métodos de criação de predadores asopíneos no Brasil**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2016.

PIRES, E.M.; SOARES, M.A.; NOGUEIRA, R.M.; ZANUNCIO, J.C.; MOREIRA, P.S.A.; OLIVEIRA, M.A. Seven decades of studies with Asopinae predators in Brazil - (1933-2014). **Bioscience Journal (Online)**, v. 31, p. 1530-1549, 2015.

POINAR, G.O. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: GAUGLER, R., KAYA, H.K. (Eds.). **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**, Boca Raton: CRC Press, p. 23-62, 1990.

PRATISSOLI, D. Tomate: Spodoptera em tomate. **Cultivar: Frutas e Hortaliças**, v. 54, p. 6-7, 2009.

PRATISSOLI, D.; GONÇALVES, J.R. Brocção. In: PRATISSOLI, D. (Org.) **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. Alegre: UNICOPY, p 46-53, 2015.

SANTOS, T.M.; BOIÇA JÚNIOR, A.L. *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) em genótipos de

algodoeiro: preferência para oviposição e capacidade predatória. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 5, p. 1341-1344, 2002.

SANTOS, T.M.; SILVA, E.N.; RAMALHO, F.S. Consumo alimentar e desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) sobre *Alabama argillacea* (Hübner) em condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 10, p. 699-707, 1996.

SHAPIRO-ILAN, D.I.; HAN, R.; QIU, X. Production of entomopathogenic nematode. In: MORALES-RAMOS, J.A.; ROJAS, M.G.; SHAPIRO-ILAN, D. (Eds.). **Mass Production of Beneficial Organisms**. New York: Elsevier, p. 321-355, 2014.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C. Biochemistry and Molecular Biology of Digestion. In: GILBERT, L.I. (Ed.), **Insect Molecular Biology and Biochemistry**. London: Academic Press, p. 365-418, 2012.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109B, n. 1, p. 1-62, 1994.

TORRES, J.B.; BOYD, D.W. Zoophytophagy in predatory Hemiptera. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, p. 1199-1208, 2009.

TRDAN, S.; VIDRIH, M.; VALIČ, N.; LAZNIK, Ž. Impact of entomopathogenic nematodes on adults of *Phyllotreta* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae) under laboratory conditions. **Acta Agriculturae Scandinavica, B Soil Plant Science**, v. 58, p. 169-175, 2008.

VOSS, M.; ANDALÓ, V.; NEGRISOLI JUNIOR, A.S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C.R.C. **Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização e nematóides entomopatogênicos**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009 (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico online 119).

WESELOH, R.M.; HARE, J.D. Predation/Predatory Insects. In: RESH, V.H.; CARDE, R.T. **Encyclopedia of Insects**, 2. Ed. New York: Academic Press, p. 837-839, 2009.

ZANUNCIO, J.C.; MOURÃO, S.A.; MARTINEZ, L.C.; WILCKEN, C.F.; RAMALHO, F.; SERRAO, J.E.; PLATA-RUEDA, A.; SOARES, M.A. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific Reports**, v.1, p. 1, 2016.

ZOLFAGHARIAN, M.; SAEEDIZADEH, A.; ABBASIPOUR, H.; JOYANDEH, A.; YAZDI, A.A. Efficacy of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) in laboratory condition, **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 48, n. 5, p. 1-7, 2014.

CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE PREDACÃO DE *Podisus nigrispinus* EM *Spodoptera eridania*

RESUMO. O comportamento e o tempo efetivo de predação sob a presa podem afetar direta e indiretamente a morte da presa em programas de controle biológico de pragas. Este trabalho estudou o comportamento (preferência e duração da predação) de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em lagartas de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), e suas implicações em caso de fuga da presa. O bioensaio de preferência (B1) visou verificar a região corpórea das lagartas (anterior: cabeça e tórax; mediana e posterior) preferida pelo predador e sua implicação na mortalidade da presa. O bioensaio de duração de predação considerou os seguintes tempos de predação efetiva: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 e 128 min; as lagartas foram retiradas após cada tempo, simulando uma situação de escape da presa, e contabilizou as mortas até o 7º dia. Esse experimento foi realizado de duas formas: com predadores selecionados ao acaso e não repetidos (B2); e com os mesmos predadores nos tempos sucessivos (B3), ambas em condições de laboratório. O predador preferiu atacar a região anterior das lagartas, o que aumentou sua mortalidade. A mortalidade das lagartas foi crescente com o aumento da duração do tempo de predação efetiva. Para B2 a mortalidade foi de 90% após 64 min de exposição, enquanto que para B3 esse valor foi estimado para o tempo de 16 min. *Podisus nigrispinus* prefere atacar a região anterior da lagarta e a mortalidade das lagartas de *S. eridania* é favorecida em predadores que sofreram interrupção da predação.

Palavras-chave: Predador. Controle biológico. Escape da presa. Tempo de predação.

ABSTRACT. The behavior and effective time of predation under prey can directly and indirectly affect prey death in biological pest control programs. This work studied the behavior and duration of the predation of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) on *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillars, and its implications in case of prey escape. The behavioral bioassay (B1) aimed to define the predator's preferred body region of caterpillars and its implication in the success of predation. The predation duration bioassay considered the following times of effective predation: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 128 min; the caterpillars were removed after each time, simulating a prey escape situation. This experiment was carried out in two ways: with predators selected at

random and not repeated (B2); and with the same predators at successive times (B3), both under laboratory conditions. The predator preferred to attack the anterior region of the body (head and thorax), which increased the success of predation. The mortality of caterpillars after effective predation was increasing with increasing duration of exposure time. For B2 the mortality was 90% after 64 min of exposure, whereas for B3 this value was estimated for the time of 16 min. *Podisus nigrispinus* prefers to attack the anterior region of the caterpillar and the mortality of *S. eridania* caterpillars is favored in predators that have suffered interruption of predation.

Keywords: Predator. Biological control. Escape from the prey. Predation time.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa viável para uma agricultura sustentável. Em agroecossistemas, agentes como insetos predadores e parasitoides são fundamentais para o manejo de insetos-praga (CROWDER; JABBOUR, 2014; ORR; LAHIRI, 2014). Insetos predadores, como coleópteros, himenópteros e hemípteros, têm como característica o potencial de consumir várias presas durante seu ciclo biológico. Esse fato possibilita a esse agente de controle biológico uma redução rápida da população da praga alvo (BELLOWS; FISHER, 1999; WESELOH; HARE, 2009). Outras características interessantes dos insetos predadores são que possuem uma maior gama de presas e não possuem uma especificidade de estágio de desenvolvimento da presa (WESELOH; HARE, 2009).

Hemípteros predadores são agentes de controle biológico com elevado potencial para o manejo de pulgões, larvas e adultos de coleópteros e lagartas de lepidópteros. Esses artrópodes apresentam modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que permitem com que eles possam obter sucesso em subjugar suas presas. Devido ao fato de esses insetos possuírem seus aparelhos bucais do tipo picador-sugador, eles necessitam inseri-los no corpo das presas para se alimentarem (COHEN, 1995; GRAZIA et al., 2015).

Durante o processo de alimentação desses predadores são liberadas substâncias anestésicas e digestivas, produzidas nas glândulas salivares e assessorias, no corpo da presa para facilitar com que essa possa ser consumida (COHEN, 1995; SCHAEFER, 2009; GRAZIA et al., 2015). Tal processo, denominado de digestão extra-oral, permite com que insetos menores consigam se alimentar de insetos maiores, utilizando o corpo (exoesqueleto) da presa como

parte de seu sistema digestório (TERRA; FERREIRA, 1994; COHEN, 1995; KLOWDEN 2013).

Dentre os hemípteros predadores, *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) são potenciais agentes no controle biológico de insetos-praga em sistemas agrícolas e florestais (PIRES, 2016; ZANUNCIO et al., 2016).

Spodoptera eridania (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto generalista de ampla distribuição geográfica que acomete inúmeros cultivos de importância econômica, como soja, algodão, tomate e morango, por exemplo (CARVALHO et al., 2012; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015; FRAGOSO et al., 2015). Suas lagartas atacam as folhas das plantas desde os primeiros estádios de desenvolvimento reduzindo seu potencial fotossintético. Quando maiores, podem atacar os frutos, o que os tornam inapropriados para a comercialização (CARVALHO et al., 2012; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015). O manejo dessa praga é realizado por meio da utilização de agrotóxicos, contudo alguns cultivos não possuem produtos regularizados para seu manejo (PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015), o que justifica a necessidade de estudos com agentes de controle biológico, como insetos predadores.

Contudo, estudos considerando o comportamento de predação de hemípteros e o efeito letal dessa predação em caso de escape da presa ou estimando um tempo mínimo de predação efetiva necessário para causar a morte das presas são escassos. Assim, este trabalho estudou o comportamento (preferência e duração da predação) de *P. nigrispinus* em lagartas de *S. eridania* e suas implicações em caso de fuga da presa.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Criação de *S. eridania* e *P. nigrispinus*. *Spodoptera eridania* foi criada em laboratório (CARVALHO et al., 2012), com dieta artificial adaptada (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976), em sala climatizada à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

O predador *P. nigrispinus* foi criado em laboratório, mantido em gaiolas de madeira (30 x 30 x 30 cm) revestidas com nylon e vidro em sala climatizada a temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Como alimento foram ofertadas pupas de *Tenebrio*

molitor L. (Coleoptera: Tenebrionidae), folhas de *Eucalyptus grandis* (W. HILL ex. MAIDEN) e água *ad libitum* (FIALHO et al., 2012).

Bioensaios

Foram realizados três experimentos: (I) preferência de predação em função da região corpórea da presa; (II) tempo efetivo de predação para predadores aleatórios e não repetidos; (III) tempo efetivo de predação para os mesmos predadores (indivíduos repetidos no tempo). Foi considerado como tempo efetivo o período em que o predador permaneceu com o aparelho bucal inserido na presa.

Preferência de predação em função da região corpórea da presa. Adultos de *P. nigrispinus* (idade < 12h) foram acondicionados em placas de Petri (15 x 1 cm) (arena), sem alimento por 24h, para estimular a predação. Após este período, lagartas de 3° instar de *S. eridania* foram oferecidas na proporção 1:1 (presa: predador). Para este estudo foram consideradas três regiões corpóreas na lagarta: anterior, constituída pela cabeça e tórax; mediana, constituída pela região entre o tórax e segundo par de pernas abdominais; e posterior, constituída pela região entre 3° par de pernas abdominais e as pernas anais. As arenas foram vídeo-monitoradas para se observar a região corpórea da presa que *P. nigrispinus* prefere atacar e se essa região afetaria a morte da lagarta. A filmagem iniciou com a liberação da presa na placa e terminou após a morte ou abandono da presa pelo predador.

Tempo efetivo de predação para predadores aleatórios e não repetidos. Adultos de *P. nigrispinus* (idade ≤ 24h) foram confinados em placas de Petri (10 x 1 cm) (arena), por 24 h sem alimento, para estimular a predação. Após este período foram ofertadas lagartas de 3° instar de *S. eridania* na proporção 1:1 (predador: presa). Os insetos foram observados para verificar a predação efetiva (inserção do aparelho bucal na lagarta). A partir da inserção do estilete na presa, o tempo foi cronometrado para os seguintes períodos: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 min. Após esses tempos a predação foi interrompida e os predadores retirados. As lagartas predadas permaneceram nas respectivas arenas e foi ofertado alimento (o mesmo utilizado na criação). As lagartas foram avaliadas diariamente por 7 dias, em intervalos de 12h, fazendo a contagem dos indivíduos mortos.

Tempo efetivo de predação para os mesmos predadores. O experimento foi semelhante ao descrito no bioensaio anterior, contudo, foram avaliados os mesmos predadores (indivíduos repetidos no tempo). Os insetos foram submetidos a diferentes tempos subsequentes de

predação efetiva: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 min. Ao término de cada tempo foi substituída a presa por outra não predada e foi considerado o próximo tempo para predação efetiva de forma sucessiva, com início a partir da inserção do estilete na presa, até completar o último tempo. As lagartas predadas foram transferidas individualmente para placa de Petri e receberam alimento. As lagartas foram avaliadas diariamente por 7 dias, em intervalos de 12h, fazendo a contagem dos indivíduos mortos.

Análise dos dados

Preferência de predação em função da região corpórea da presa. A preferência de predação foi analisada por meio da frequência de investida por região da presa e respectiva confirmação da morte/sobrevivência das lagartas predadas. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 120 repetições, cada uma com uma presa e um predador. Os dados foram submetidos à análise de contingência 3 x 2 [região corpórea x resultado da predação (morte ou sobrevivência)] (INMAN; HOUTMAN, 2003; ZAR, 2009) e o contraste das proporções entre morte e sobrevivência, dentro de cada região corpórea da presa, foi realizado com o teste de Chi-quadrado (χ^2) ($p > 0.05$). A análise foi realizada pelo aplicativo computacional R versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017).

Tempo efetivo de predação para predadores aleatórios e não repetidos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Os tratamentos (tempos de predação efetiva) apresentaram número variável de repetições (30 a 20 repetições), com maior número de repetições nos tempos inferiores a 4 min, representadas por uma presa e um predador. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de regressão logística ($p < 0.05$) (ZAR, 2009). A análise foi realizada pelo aplicativo computacional R versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017).

Tempo efetivo de predação para os mesmos predadores. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com adultos de *P. nigrispinus* (idade < 12h). Os tratamentos (tempos de predação efetiva) apresentaram número variável de repetições (40 a 20 repetições), com maior número de repetições nos tempos inferiores a 4 min, representadas por uma presa e um predador. Foram utilizados 30 insetos para os tempos 1 e 2 min e selecionados, aleatoriamente, 20 insetos para prosseguir com a análise dos demais tempos. O experimento foi replicado em 4 dias consecutivos, totalizando aproximadamente 80 insetos. Para esse experimento foi utilizada a análise de modelo linear misto generalizado (ZUUR et al., 2009), com os tratamentos (tempos) como efeito fixo e os dias dentro de cada tempo como efeito

aleatório. Para a análise dos dados utilizou-se o pacote *lme4* (BATES et al., 2015) do aplicativo computacional R versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE 2017).

Com o intuito de verificar a ocorrência de digestão extra-oral alguns indivíduos foram dissecados dorso-longitudinalmente após 12 h após o bioensaio de predação. Lagartas sadias e não predadas foram mortas por congelamento e utilizadas como testemunha.

3 RESULTADOS

Preferência de predação em função da região corpórea da presa. A região corpórea de *S. eridania* afetou a mortalidade/sobrevivência das lagartas predadas por *P. nigrispinus* ($\chi^2=37,21$, $p < 0,001$) (FIGURA 1), com maior frequência e mortalidade das lagartas predadas na região anterior do corpo (cabeça e tórax) ($\chi^2=52,56$, $p < 0,001$) (FIGURA 1).

Tempo efetivo de predação para predadores aleatórios e não repetidos. A mortalidade das lagartas de *S. eridania* após a predação efetiva de *P. nigrispinus* foi crescente com o aumento da duração da predação, com ajuste ao modelo logístico ($F = 126,6$, $p < 0,0001$, $R^2 = 0,9472$) (FIGURA 2A). A mortalidade foi de 60% no intervalo entre 8 a 16 min, com 90% de mortalidade após 64 min de predação efetiva.

Tempo efetivo de predação para os mesmos predadores. A curva de mortalidade de lagartas de *S. eridania* utilizando os mesmos indivíduos de *P. nigrispinus* em predações sucessivas apresentou crescimento rápido, com ajuste à distribuição binomial ($F = 48,325$, $p < 0,0001$, $R^2 = 0,9861$) (FIGURA 2B). As variâncias para os efeitos aleatórios foram 0,4746 e 0,1356, para indivíduos dentro de tempos e indivíduos, respectivamente. Para o efeito fixo (tempos de predação), entre o intervalo de 4 a 8 min, foi observado 60% de mortalidade das lagartas, enquanto que 100% de mortalidade foi obtido a partir do tempo 16 min.

As lagartas de *S. eridania* mortas (tempo $\approx 12h$) após 8 e 64 min de predação efetiva (predadas nas regiões posterior e anterior, respectivamente) apresentaram o corpo externamente escuro e com o conteúdo interno liquefeito e escuro, o que diferiu de uma lagarta sadia e não predada (FIGURA 3).

4 DISCUSSÃO

A compreensão da dinâmica presa-predador é fundamental para o aprimoramento de programas de controle biológico de pragas (EUBANKS, 2005; RICKLEFS; RELYEA, 2016). Conhecer aspectos relacionados ao comportamento do predador sobre a presa-alvo é fundamental para a tomada de decisão sobre a utilização do inimigo natural (MATTHEWS; MATTHEWS, 2010). Contudo, poucos são os estudos que buscam compreender essa perspectiva sobre o predador e, além disso, raríssimos são os estudos que visam verificar os efeitos indiretos de processos de predação, em caso de escape da presa.

A análise comportamental permitiu verificar que a região anterior do corpo das lagartas de *S. eridania* foi preferida para o ataque de *P. nigripinus*, ocasionando maior mortalidade quando comparado à região posterior. Lagartas apresentaram comportamento agressivo contra a predação, principalmente na região posterior. Esse comportamento não foi exatamente no momento da inserção do estilete pelo *P. nigripinus*, possivelmente devido às substâncias anestésicas estarem atuando no sistema nervoso e sensorial das lagartas. Algumas lagartas, durante o processo predatório, deslocavam-se pela arena juntamente com o predador. Mesmo que predadas na região anterior, algumas lagartas tentaram se defender do predador, porém sem sucesso de fuga. Contudo, algumas lagartas tentaram se defender alguns minutos após o início da predação, regurgitando substâncias sobre o predador ou mordendo seu aparelho bucal, e conseguiram fugir de *P. nigripinus*. Presas podem apresentar diferentes comportamentos de defesa, como esconder, fugir, morder, regurgitar compostos causando ferimentos e, mesmo, matar o predador (EDMUNDS, 1974; LEDERHOUSE, 1990). Além disso, presas podem modificar o comportamento de defesa reduzindo o sucesso da predação (DE CLERCQ et al., 1998; WIGNALL; TAYLOR, 2009; SILVA et al., 2012), e também a agressividade da presa pode induzir o predador a desistir do ataque se houver algum risco potencial à sua sobrevivência (SILVA et al., 2012).

Apesar do escape de algumas lagartas de *S. eridania*, ou abandono destas por parte de *P. nigripinus* (bioensaio 1), esas permaneceram por algum tempo sendo predadas e posteriormente morreram. Isso implica que, possivelmente, o tempo em que aparelho bucal do predador esteve inserido na presa teria sido suficiente para injetar toxinas que causem a morte

da presa. Ao observar o tempo de predação efetiva de *P. nigripinus* verificou-se que a mortalidade das lagartas de *S. eridania* foi afetada pela duração da predação (bioensaio 2). A partir de 4 minutos foi observada mortalidade de 50% das lagartas, com elevado percentual de mortalidade (> 90%) a partir de 60 minutos. Isso aponta que, logo no início da predação, *P. nigripinus* libera substâncias na presa para realizar o processo de digestão extra-oral. Esse processo consiste na liberação de substâncias que possibilitem a desestruturação inicial dos órgãos internos da presa para que seja possível a absorção pelo predador (TERRA; FERREIRA, 1994; COHEN, 1995; KLOWDEN, 2013). Essas substâncias variam entre as espécies, porém, em sua maioria, são constituídas por enzimas como amilases, proteinases e lipases (TERRA; FERREIRA, 1994, 2012).

Por outro lado, quando avaliados os mesmos predadores em tempos consecutivos, a mortalidade das lagartas foi mais acentuada (bioensaio 3). Isso possivelmente ocorreu devido aos estímulos na produção de substâncias nas glândulas salivares e assessorias que acumularam entre uma predação e outra. Desta forma, no início de uma nova predação (tempo subsequente de predação), as quantidades de substâncias liberadas possivelmente foram maiores, ou estariam mais concentradas. Esse fato poderia justificar o elevado percentual de mortalidade já nos tempos iniciais. A alteração de comportamento, ou mesmo estratégia de ataque pelo predador, é algo importante de ser observado. Em situações ocorridas como no caso do bioensaio 2, o predador injetaria substâncias paralisantes (anestésicas) e em seguida substâncias digestivas (COHEN, 1990). No caso do bioensaio 3, a estratégia do predador mudou diante da ocorrência de fugas/escapes sucessivos, o que sugere a hipótese de que a quantidade de substâncias liberadas tenha sido maior. Novas experiências, quando reforçadas frequentemente, podem forçar o indivíduo a alterar seu comportamento com o intuito de adequação à circunstância e/ou ao meio (MATTHEWS; MATTHEWS, 2010), no caso da presa.

Neste estudo foi observado que as presas apresentaram diferentes colorações de acordo com o tempo de predação. A alteração e distribuição de coloração escura internamente nas presas sugerem que o tempo e a quantidade de substâncias digestivas foram diferenciados em função do tempo de predação efetiva. Dentre as substâncias produzidas por *P. nigripinus*, a colagenase pode romper os órgãos internos da presa para facilitar a ingestão (FIALHO et al., 2012; MARTÍNEZ et al., 2016). Nesse contexto, tal substância poderia ser considerada como a principal agente causal da mortalidade das lagartas após o escape simulado, devido ao aspecto liquefeito do corpo da lagarta após 12h de interrupção da predação. Vale salientar

que, além da colagenase, outras substâncias também são produzidas pelas glândulas salivares e assessórias (COHEN, 1995; FIALHO et al., 2012, MARTÍNEZ et al., 2014, 2016), o que poderia estar potencializando o processo de digestão extra-oral e, consecutivamente, levando a lagarta à morte.

Os resultados observados elucidam a relação presa-predador, principalmente em se tratando do escape da presa. Para *P. nigrispinus* sobre *S. eridania*, uma predação efetiva a partir de 16 minutos seria suficiente para ocasionar mortalidades superiores a 60% das lagartas, caso esses predadores não tenham predado outra lagarta. Já para o caso de predadores que já tenham predado outras lagartas, o tempo de predação efetiva será reduzido (em torno de 4 minutos).

5 CONCLUSÃO

O presente estudo proporcionou compreender o comportamento de *P. nigrispinus* em lagartas de *S. eridania*. O predador prefere atacar a região anterior das lagartas e, afetando assim sua mortalidade. Além disso, a predação de *P. nigrispinus* pode ser letal para lagartas de *S. eridania* que escaparam do predador, sendo a mortalidade das lagartas favorecida em predadores que saíram de um processo de predação interrompido.

REFERÊNCIAS

BATES, D.; MAECHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, p. 1-48, 2015.

BELLOWS, T.S.; FISHER, T.W. **Handbook of Biological Control**. San Diego: Academic Press, 1999.

CARVALHO, J.R.; QUADROS, I.P.S.; FORNAZIER, D.L.; PRATISSOLI, D.; ZAGO, H.B. Captura de *Spodoptera eridania* usando como atrativo luz fluorescente. **Nucleus**, v. 9, n. 2, p. 75- 82, 2012.

COHEN, A.C. Feeding adaptations of some predaceous hemiptera. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 83, n. 6, p. 1215-1223, 1990.

COHEN, A.C. Extra-oral digestion in predaceous terrestrial arthropoda. **Annual Review of Entomology**, v. 40, p. 85-103, 1995.

CROWDER, D.W.; JABBOUR, R. Relationships between biodiversity and biological control in agroecosystems: Current status and future challenges. **Biological Control**, v. 75, p. 8-17, 2014.

DE CLERCQ, P.; MERLEVEDE, F.; TIRRY, L. Unnatural prey and artificial diets for rearing *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, v. 12, p. 137-142, 1998.

EDMUNDS, M. **Defence in Animals**: a survey of anti-predator defences. Harlow: Longman, 1974.

EUBANKS, M.D. Predaceous Herbivores and Herbivorous Predators: The Biology of Omnivores and the Ecology of Omnivore-Prey Interactions. In: BARBOSA, P.; CASTELLANOS, I. (Eds.), **ECOLOGY OF PREDATOR-PREY INTERACTIONS**, New York: OXFORD UNIVERSITY PRESS, p. 3-16, 2005.

FIALHO, M.C.Q.; MOREIRA, N.R.; ZANUNCIO, J.C.; RIBEIRO, A.F.; TERRA, W.R.; SERRÃO, J.E. Prey digestion in the midgut of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Insect Physiology**, v. 58, p. 850-856, 2012.

FRAGOSO, D.F.M.; CARVALHO, J.R.; BARROS, A.P.; COFFLER, T.; MARCHIORI, J.J. P. LAGARTA-DAS-FOLHAS (*Spodoptera eridania*). In: HOLTZ, A.M.; RONDELLI, V. M.; CELESTINO, F.N.; BESTETE, L.R.; CARVALHO, J.R. (Orgs.). **Pragas das Brássicas**. Colatina: Instituto Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, p. 192-217, 2015.

GRAZIA, J.; PANIZZI, A.R.; GREVE, C.; SCHWERTNER, C.F.; CAMPOS, L.A.; GARBELOTTO, T.A.; FERNANDES, J.A.M. Stink Bugs (Pentatomidae). In: PANIZZI, A.R.; GRAZIA, J. (Eds.) **True Bugs (Heteroptera) of the Neotropics**. Entomology in Focus. v. 2. p.681-756, 2015.

GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economic Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

HUGHES, R.; WOOLCOCK, L.; FERRAR, P. The Selection of Natural Enemies for the Biological Control of the Australia Bushfly. **Journal of Applied Ecology**, v. 11, n. 2, p. 483-488, 1974.

INMAN, A.; HOUTMAN, A. Diving and Skating in Whirligig Beetles: Alternative Antipredator Responses. In: PLOGER, B.; YASUKAWA, K. (Eds.) **Exploring Animal Behavior in Laboratory and Field: An Hypothesis-Testing Approach to the Development, Causation, Function, and Evolution of Animal Behavior**. San Diego: Academic Press, p.287-294, 2003.

KLOWDEN, M.J. **Physiological Systems in Insects**, 3. Ed., Boston: Academic Press, 2013.

LEDERHOUSE, R.C. Avoiding the Hunt: Primary Defenses of Lepidopteran Caterpillars. In: EVANS, D.L.; SCHMID, J.O. (Eds.) **Insect Defenses: Adaptive Mechanisms and Strategies of Prey and Predators**. Albany: SUNY Press, p. 175-189, 1990.

MARTÍNEZ, L.C.; FIALHO, M.C.Q.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Protoplasma**, v. 251, p. 535-543, 2014.

MARTÍNEZ, L.C.; FIALHO, M.D.C.Q.; ALMEIDA-BARBOSA, L.C.; OLIVEIRA, L.L.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Stink bug predator kills prey with salivary non-proteinaceous compounds. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 68, p. 71-78, 2016.

MATTHEWS, R.W.; MATTHEWS, J.R. **Insect Behavior**, 2. Ed. Netherlands: Springer, 2010.

ORR, D.; LAHIRI, S. Biological Control of Insect Pests in Crops. In: ABROL, D.P. (Ed.). **Integrated pest management: Current Concepts and Ecological Perspective**. London: Academic Press, p. 531-548, 2014.

PIRES, E.M. **Controle biológico: estudos, aplicações e métodos de criação de predadores asopíneos no Brasil**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2016.

PRATISSOLI, D.; GONÇALVES, J.R. Brocão. In: PRATISSOLI, D. (Org.) **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. Alegre: UNICOPY, p 46-53, 2015.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>.

RICKLEFS, R.E.; RELYEA, R. **A Economia da Natureza**. 7. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

SCHAEFER, C.W. Prosorrhyncha (Heteroptera and Coleorrhyncha). In: RESH, V.H.; CARDE, R.T. **Encyclopedia of Insects**, 2. Ed. New York: Academic Press, p. 839-855, 2009.

SCHOWALTER, T. **Insect Ecology: An Ecosystem Approach**, 4. Ed. New York: Academic Press, 2016. 774p.

SILVA, R.B.; CORRÊA, A.S.; DELLA-LUCIA, T.M.C.; PEREIRA, A.I.A.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C. Does the aggressiveness of the prey modify the attack behavior of the predator *Supputius cincticeps* (Stål) (Hemiptera, Pentatomidae)? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, p. 244-248, 2012.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109B, n. 1, p. 1-62, 1994.

TERRA, W.R.; FERREIRA, C. Biochemistry and Molecular Biology of Digestion. In: GILBERT, L.I. (Ed.), **Insect Molecular Biology and Biochemistry**. London: Academic Press, p. 365-418, 2012.

van LENTEREN, J.C. Need for quality control of mass produced biological control agents. In: van LENTEREN, J.C. (Ed.) **Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures**. Wallingford: CABI Publishing, p. 1-18, 2003.

WESELOH, R.M.; HARE, J.D. Predation/Predatory Insects. In: RESH, V.H.; CARDE, R.T. **Encyclopedia of Insects**, 2. Ed. New York: Academic Press, p. 837-839, 2009.

WIGNALL, A. E.; TAYLOR, P. W. Alternative predatory tactics of an araneophagic assassin bug (*Stenolemus bituberus*). **Acta Ethologica**, v. 12 p. 23-27, 2009.

ZANUNCIO, J.C.; MOURÃO, S.A.; MARTINEZ, L.C.; WILCKEN, C.F.; RAMALHO, F.; SERRAO, J.E.; PLATA-RUEDA, A.; SOARES, M.A. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific Reports**, v.1, p. 1, 2016.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. 5. Ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice-Hall, 2009.

ZUUR, A.F.; IENO, E.N.; WALKER, N.J.; SVELIEV, A.A.; SMITH, G.M. **Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R**. New York: Springer-Verlag, 2009.

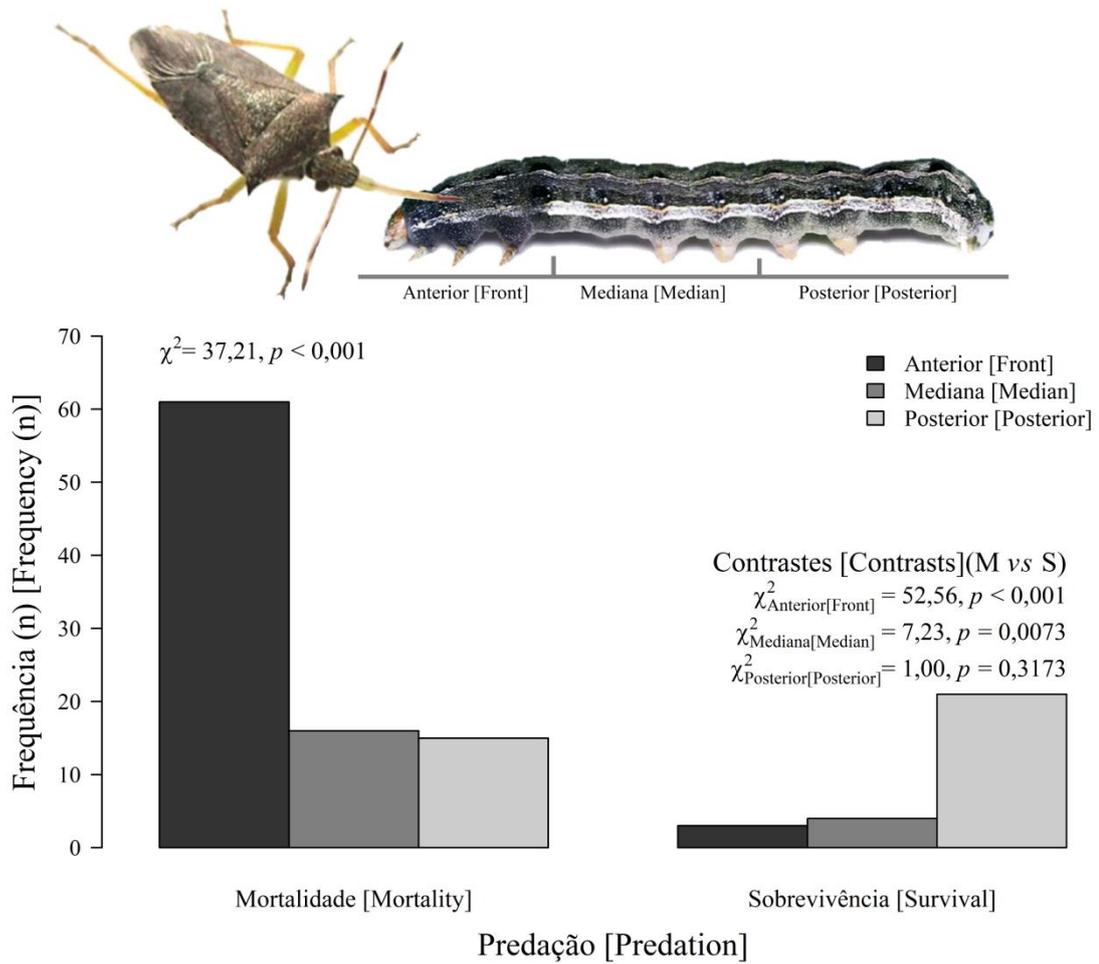


Figura 1. Mortalidade (M) e sobrevivência (S) de lagartas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) predadas por *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) em função da região corpórea da lagarta, em condições de laboratório. Contrastes indicam diferença entre a proporção de mortos e sobreviventes dentro de cada região corpórea pelo teste de Chi-quadrado ($p < 0,05$).

[Figure 1. Mortality (M) and survival (S) of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) caterpillar preyed by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) in function of the body region of the caterpillar, under laboratory conditions. Contrasts indicate difference between the proportion of dead and survivors within each body region by the Chi-square test ($p < 0.05$).]

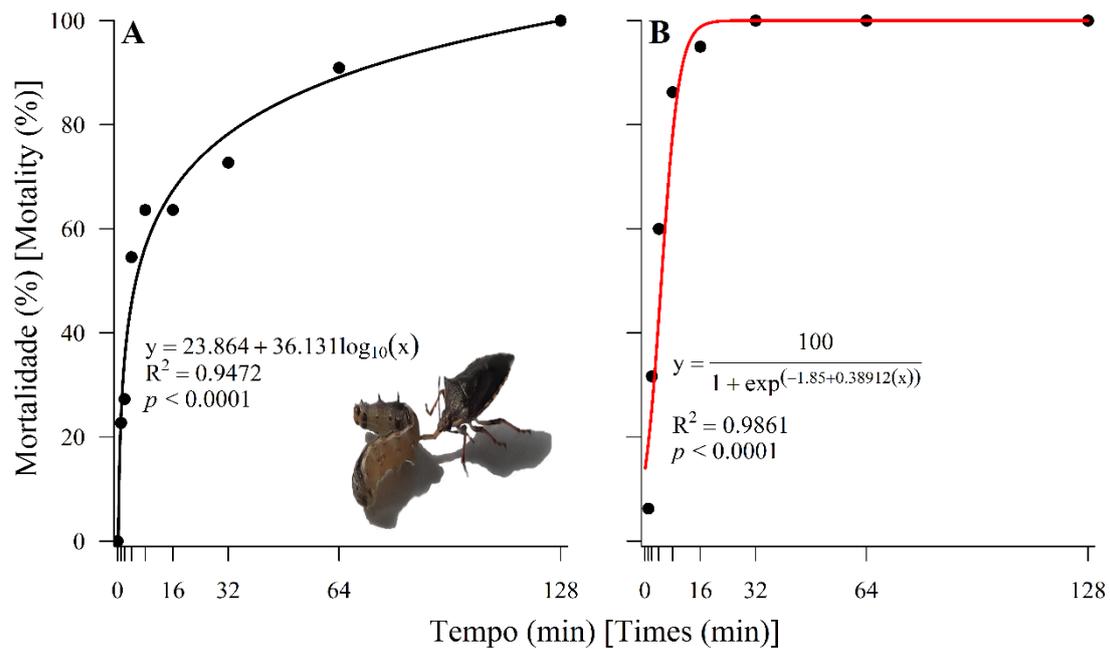


Figura 2. Mortalidade de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) em função da duração da predação efetiva de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae), para predadores selecionados ao acaso e não repetidos (A) e para o mesmo grupo de predadores repetidos (B), em condições de laboratório.

[Figure 2. Mortality of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) according to the duration of effective predation of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae), for random and non-repeated predators (A) and for the same group of repeated predators (B), under laboratory conditions.]

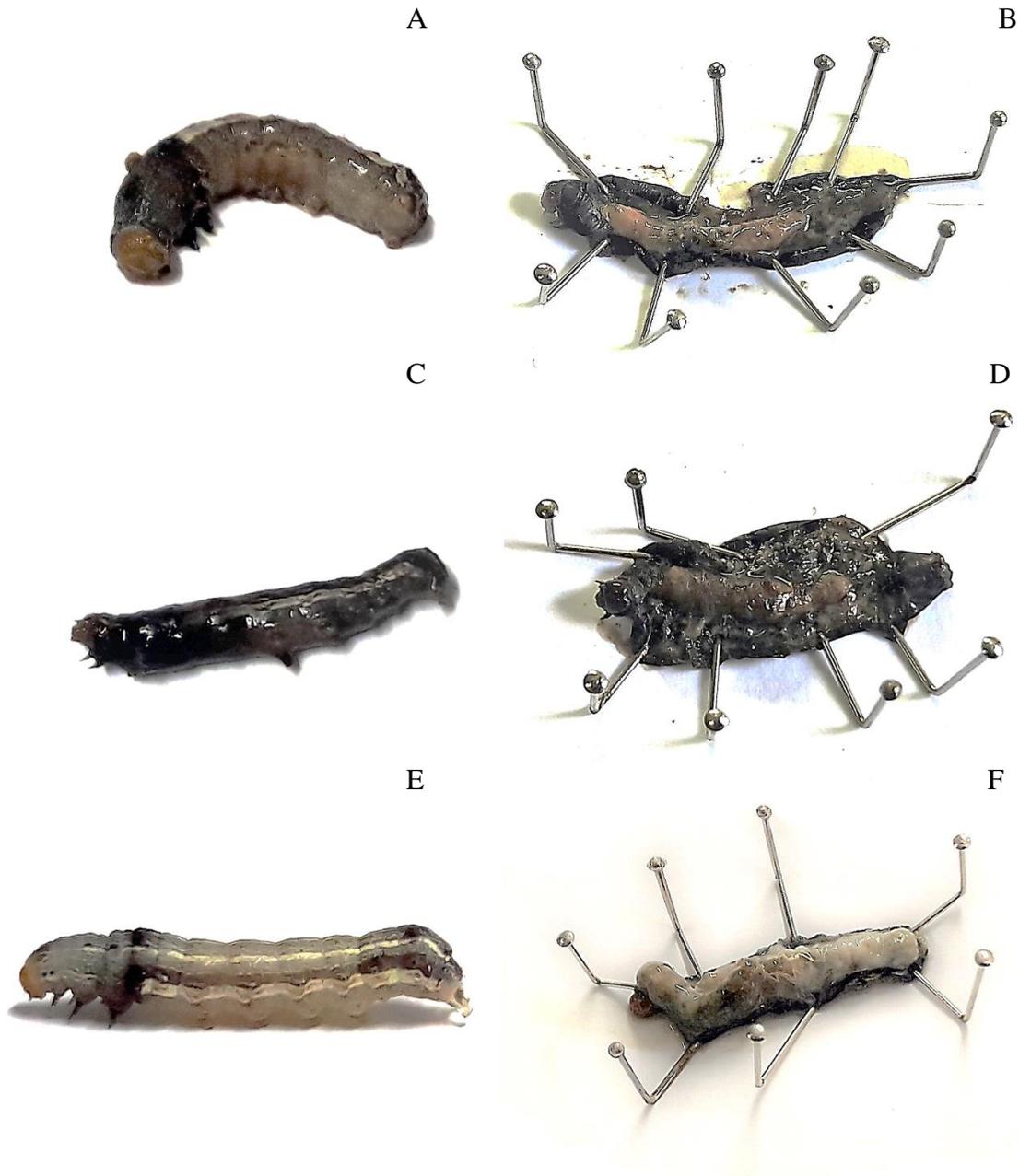


Figura 3. Lagartas de 3^o ínstar de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) intactas e dissecadas dorsalmente após predação de 8 e 64 minutos por *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) (A, B, C e D, respectivamente) e lagartas saudáveis (E e F).

[Figure 3. Caterpillars of 3^o ínstar de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) intact and dissected dorsally after predation of 8 and 64 minutes by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) (A, B, C and D, respectively) and healthy caterpillars (E and F).]

CAPÍTULO 3 – DESEMPENHO DE *Podisus nigrispinus* PREDANDO LAGARTAS DE *Spodoptera eridania*

RESUMO. A redução da diversificação dos agroecossistemas tem minimizado a ocorrência de inimigos naturais e favorecido a de insetos-praga. *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) é um inseto-praga cosmopolita que possui elevada gama de cultivos de importância econômica como hospedeiros. Visando suprimir o aumento populacional dessa praga, o controle biológico torna-se uma alternativa interessante. Desta maneira, objetivou-se verificar o desempenho de predação de *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) sobre lagartas de *S. eridania* em função da idade do predador, visando compreender seu potencial para utilização em programas de manejo fitossanitário da praga. O bioensaio de desempenho utilizou-se a metodologia de resposta funcional com medidas repetidas no tempo, buscando compreender a influência da idade do predador sobre seu potencial. Uma análise de sobrevivência foi realizada para verificar se o número de presas afetaria a longevidade do predador. A resposta funcional do tipo II foi observada, tendo o modelo de Holling melhor ajuste aos dados. Os parâmetros eficiência de busca (a) e tempo de manuseio (Th) foram afetados pela idade do predador, sendo Th mais prolongado quando os insetos estão mais velhos. Todavia, estimou-se para *P. nigrispinus* um consumo de 133 lagartas até a idade de 17 dias. Além disso, o hábito de predação ocorreu durante toda a idade adulta do predador.

Palavras-chave: Insecta, Predador, Resposta funcional, Idade.

ABSTRACT. Reducing the diversification of agroecosystems has minimized the occurrence of natural enemies and favored that of pest insects. *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) is a cosmopolitan insect-pest that has a high range of economically important crops as hosts. In order to suppress the population increase of this pest, the biological control becomes an interesting alternative. The objective of this study was to verify the predatory performance of *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Hemiptera: Pentatomidae) on *S. eridania* caterpillars as a function of predator age, aiming to understand their potential for use in pest management programs. The performance bioassay was used the methodology of functional response with measures repeated in the time, seeking to understand the influence of

the age of the predator on its potential. A survival analysis was performed to verify if the number of prey would affect the predator's longevity. The functional response of type II was observed, with the Holling model better fitted to the data. The parameters, search efficiency (a) and handling time (T_h), were affected by the age of the predator, being longer T_h when the insects are older. However, *P. nigrispinus* was estimated to consume 133 caterpillars up to the age of 17 days. Moreover, the predation habit occurs throughout the adult age of the predator.

Key words: Insect, Predator, Functional response, Age of insect.

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos tem reduzido a diversificação dos agroecossistemas e da biodiversidade de inimigos naturais (ORR; LAHIRI, 2014). A minimização e, mesmo, a escassez de inimigos naturais facilitam o aumento populacional de insetos fitófagos e de injúrias e perdas nos cultivos. *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae), inseto polífago e voraz, danifica plantas de importância econômica, como soja, algodão, tomate e morango (CARVALHO et al., 2012; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015). Lagartas dessa espécie se alimentam em diferentes partes da planta, incluindo caule, folhas, flores e frutos (SANTOS et al., 2005; PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015). O manejo adequado desse inseto é necessário para reduzir a contaminação dos agroecossistemas por produtos químicos.

O controle biológico visa reduzir populações de insetos-praga com baixo impacto ao meio ambiente. Esse método consiste na liberação de agentes microbianos como fungos, bactérias e vírus entomopatogênicos ou de insetos parasitoides ou predadores, de forma inoculativa ou inundativa (DeBACH, 1964; BELLOWS; FISHER, 1999; ORR; LAHIRI, 2014). Agentes controladores utilizados variam com o tipo de cultivo da praga-alvo e associação com outros métodos de controle (químico, físico e comportamental, por exemplo).

Insetos predadores não apresentam especificidade e, por isso, podem controlar mais de um inseto-praga (BELLOWS; FISHER, 1999; ORR; LAHIRI, 2014). *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae) tem potencial para o controle de lepidópteros-praga e *Podisus* spp. para o controle de pragas em diferentes agroecossistemas agrícolas e florestais (PIRES et al., 2015; PIRES, 2016). Asopinae são, em sua maioria, zoofitófagos. Essa característica é interessante, pois, na ausência de presas, esses inimigos

naturais podem alimentar-se de plantas (TORRES; BOYD, 2009), aumentando sua sobrevivência e permanência no agroecossistema.

A seleção e/ou indicação de um agente de controle depende de se conhecer o potencial e a adequabilidade do mesmo à praga alvo. Este estudo objetivou estudar o desempenho de predação de *P. nigrispinus* sobre lagartas de *S. eridania* em função da idade do predador, visando compreender seu potencial para programas de manejo fitossanitário dessa praga.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Criação de *Spodoptera eridania* e *Podisus nigrispinus*. A criação de *S. eridania* foi realizada em laboratório (CARVALHO et al., 2012), utilizando dieta artificial adaptada (GREENE; LEPPLA; DICKERSON, 1976), em sala climatizada regulada à temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Podisus nigrispinus foram criados em laboratório, mantidos em gaiolas de madeira (30 x 30 x 30 cm) revestidas com nylon e vidro, em sala climatizada à temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Como alimento foram ofertadas pupas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), folhas de *Eucalyptus grandis* (W. HILL ex. MAIDEN) e água ad libitum (FIALHO et al., 2012).

Resposta funcional. Para realizar este estudo a metodologia empregada por De Clercq et al. (1998) foi adaptada. Em potes plásticos de 1 L, com orifícios ($\varnothing = 1\text{ mm}$) na tampa para trocas gasosas, foram acondicionados adultos (fêmeas) de *P. nigrispinus* (idade $\leq 12\text{ h}$), os quais permaneceram sem alimentação e água por 24 h para estimular a predação. Após esse período foram ofertadas lagartas de 3º instar de *S. eridania* nas seguintes proporções: 1, 2, 4, 8, 16 e 32 lagartas por predador. Cada predador foi considerado como uma repetição, totalizando 10 repetições. O período de exposição das presas aos predadores foi de 24 h. Após esse período, os adultos de *P. nigrispinus* passaram por um novo ciclo de ausência/presença de presas (24 h/ 24 h) até sua morte, com o intuito de verificar o padrão de predação em função da idade do predador.

O número de lagartas predadas foi utilizado para a análise da resposta funcional. Os dados foram submetidos à verificação do tipo de resposta funcional pela função *frair_test()* do pacote *frair* (PRITCHARD, 2016) por meio do aplicativo computacional R versão 3.4 (R

DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017). Após esse procedimento verificou-se que os dados seguem uma resposta funcional do tipo II (resultado não apresentado), ou seja, o predador apresentou um ponto a partir do qual a predação tende à estabilidade. Assim, testou-se os modelos propostos por Holling (1959) (Equação 1) e Rogers (1972) (Equação 2) que representam resposta funcional do tipo II.

$$N_e = \frac{a \cdot N_0 \cdot P \cdot T}{(1 + a \cdot Th \cdot N_0)} \quad (\text{Eq. 1})$$

1)

$$N_e = N_0 \cdot [1 - \exp(a \cdot N_e \cdot Th - T)] \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde: N_e : número de lagartas predadas; N_0 : proporção de lagartas; a : eficiência de busca; P : número de predadores ($P = 1$); T : duração do experimento ($T = 24$ h); e Th : tempo de manuseio.

Após a seleção do modelo, a comparação entre os parâmetros a e Th foi realizada conforme metodologia proposta por Juliano (2001), adaptada para o modelo de Holling (Equação 3).

$$N_e = \frac{[a + D_a \cdot (j)] \cdot N_0 \cdot P \cdot T}{1 + \{[a + D_a \cdot (j)] \cdot [Th + D_{Th}(j)] \cdot N_0\}} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde: N_e : número de lagartas predadas; N_0 : proporção de lagartas; a : eficiência de busca; P : número de predadores ($P = 1$); T : duração do experimento ($T = 24$ h); e Th : tempo de manuseio; D_a : diferença entre o valor de a das idades i e j ; e D_{Th} : diferença entre os valores de Th das idades i e j .

Análise de dados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo (idades do predador), ou seja, os indivíduos foram estudados, nas mesmas condições, em função do tempo. O arranjo foi em parcelas subdivididas [parcelas: 6 proporções de lagartas x subparcela: (9 idades do predador)]. Os dados de predação foram submetidos ao teste de Mauchly (1940) para avaliar a esfericidade nas diferentes idades do predador e os dados graus de liberdade foram corrigidos segundo Geisser e Greenhouse (1959) (HUYNH; FELDT, 1976; CRUZ; CARNEIRO; REGAZZI, 2014). A análise de esfericidade e correção dos graus de liberdade foi realizada com o pacote *car* (FOX; WEISBERG, 2011). A interação proporções x idades foi estudada com a análise de superfície de resposta com o pacote *rsm* (RUSSELL, 2009) e, posteriormente, por meio da metodologia de resposta funcional.

Os coeficientes eficiência de busca e tempo de manuseio, bem como seus contrastes entre as diferenças entre idades, foram analisados com regressão de mínimos quadrados não linear com o método de Levenberg-Marquardt, por meio do pacote *minpack.lm* (ELZHOV et al., 2016).

Os modelos foram comparados com base no coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}), no teste de aderência de χ^2 , no logaritmo de verossimilhança (LogLik) e critério e peso de informação de Akaike (AIC e wAIC, respectivamente), sendo que, para LogLik, quanto maior o valor melhor será o ajuste, enquanto que para AIC quanto menor o valor e maior o peso do valor melhor é o ajuste do modelo (KONISHI; KITAGAWA, 2008).

O número máximo de lagartas predadas por idade do predador e seus respectivos intervalos de confiança foram estimados pela razão entre T/T_h e comparados entre si pelos intervalos de confiança a 95% de probabilidade.

A influência das proporções de presas na sobrevivência de *P. nigrispinus* foi analisada por teste não paramétrico de LogRank, por meio do pacote *survival* (THERNEAU, 2015).

3 RESULTADOS

O teste de Mauchly revelou ausência de esfericidade entre o número de presas consumidas em função da idade do predador ($W=0,021114$, $p<0,0001$). O valor de esfericidade foi inferior a 0,75 ($\mathcal{E} = 0,3919$) e, por isso, a correção dos graus de liberdade foi feita com ajuste de Greenhouse-Geisser (TABELA 1).

A interação entre a densidade de lagartas e a idade de *P. nigrispinus* foi verificada após a correção dos graus de liberdade. A análise da interação foi feita por meio de superfície de resposta devido serem fatores quantitativos. O modelo quadrático foi o de melhor ajuste aos dados de predação ($N_e = 2,1751 + 0,5904 \cdot N_0 - 0,1456 \cdot \text{Idade} - 0,0097 \cdot N_0^2 - 0,0020 \cdot \text{Idade}^2$; $R^2_{adj} = 0,8299$) (FIGURA 1). Essa análise mostrou redução do desempenho, independente da densidade de presas, com o aumento da idade do predador.

Os modelos de Holling e Roger se ajustaram aos dados de predação com elevados valores de R^2_{adj} ($>0,75$) e os de χ^2 não significativos (TABELA 2). Os valores do logaritmo de verossimilhança (LogLik) para o critério de informação de Akaike (AIC) e seu respectivo

peso mostraram ser o modelo de Holling o mais adequado para o estudo devido ao melhor ajuste.

Os valores dos parâmetros estimados para o modelo de resposta funcional de Holling foram significativos (TABELA 3). A eficiência de busca (a) e o tempo de manuseio (T_h) não foram constantes, com tendência de redução de a e aumento T_h com o aumento da idade do predador.

O contraste dos parâmetros nas diferentes idades (TABELA 4) mostrou eficiência de busca (a) semelhante até a idade de 11 dias, exceto para a de 7 dias. A estimativa de a , para a idade de 7 dias, foi semelhante às de idades mais avançadas (15 e 17 dias). O tempo de manuseio (T_h) foi o parâmetro com maior variação entre as idades do predador e apresentou aumento com o avanço da idade do predador.

A resposta funcional de *P. nigrispinus* variou com o avanço da idade do predador. O desempenho do predador diminuiu com o aumento da densidade de presas a partir da idade de 5 dias e com maior valor a partir da idade de 13 dias (FIGURA 2).

Os valores máximos de predação, de acordo com o tempo de manuseio em cada idade, diferiram ($F = 22,002$, $p < 0,001$), com sete e 29 lagartas predadas por fêmea de *P. nigrispinus* (FIGURA 3).

As curvas de sobrevivência de *P. nigrispinus* foram semelhantes ($p > 0,05$) (FIGURA 4A), em torno de 15 dias (FIGURA 4B).

4 DISCUSSÃO

Apesar dos avanços recentes na modelagem e simulação de processos ecológicos, esses necessitam da compreensão sobre as interações das espécies envolvidas (COSTA; FARIA, 2010; REIGADA; AGUIAR; FERNANDES, 2014). A incorporação de dados biológicos reais em modelos mais simples pode melhorar a capacidade de predição, de forma confiável, em contexto de dinâmicas complexas, como no caso da dinâmica predador-presa (EUBANKS, 2005; GOTELLI, 2009; RICKLEFS; RELYEA, 2016). Por outro lado, uma simplificação demasiada pode restringir o pesquisador de alcançar um entendimento mais amplo. Apesar de a estabilidade dos modelos de respostas funcionais ter sido discutida há décadas, visto que esses dependem tanto de predadores quanto de presas (KRATINA et al., 2009), bioensaios que

envolvam aspectos mais amplos ainda são raros. A maioria desses bioensaios é restrita somente a um determinado período de tempo e/ou estágio de desenvolvimento, de forma pontual, sem levar em conta que o predador ainda permanecerá no agroecossistema.

O número de lagartas predadas por *P. nigrispinus* foi afetado pela sua idade e pela densidade de presas. Contudo, a metodologia de superfície de resposta não proporciona a melhor compreensão do fenômeno biológico estudado, pois não estima parâmetros que permitam analisar adequadamente o fenômeno. Os modelos de resposta funcional que não consideram a reposição de presas são capazes de fornecer estimativas para uma predação estocástica, ou seja, aquela cujo estado é indeterminado, oriundo de um evento aleatório (JULIANO, 2001). Nesses bioensaios realizados sem reposição de presas, o uso de modelos tem sido questionável devido às estimativas incorretas de curvas de resposta funcional. Uma das razões para isso acontecer é devido ao fato da insuficiência de índices e estatísticas que possibilitem auxiliar na seleção do modelo mais adequado (JULIANO, 2001), visto a facilidade de usar o modelo de Holling em relação ao modelo de Rogers, por exemplo. No entanto, a seleção de modelos deve levar em consideração testes que permitam selecionar o modelo mais adequado, como por exemplo, o critério de informação de Akaike e o logaritmo de máxima verossimilhança (KONISHI; KITAGAWA, 2008), que levam em consideração os desvios experimentais em seus cálculos.

O modelo de Holling, para resposta funcional do tipo II, foi selecionado como o mais adequado para as idades do predador. Isso demonstra que, em lagartas de *S. eridania*, o predador *P. nigrispinus* apresenta limites a partir do qual fica saciado, ou seja, o consumo não aumenta, atingindo uma estabilidade (platô) a partir de determinada densidade de presas. Esse “padrão de estabilidade” não foi constante, variando em função da idade. Entretanto, isso pode variar. Modelos e tipos de resposta funcional diferentes foram relatados para esse predador com influência da temperatura (MOHAGHEGH et al., 2001), características da planta hospedeira (DE CLERCQ et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2002), inseticidas associados (MALAQUIAS et al., 2014) e estágio e densidade da presa (SANTOS et al., 2016).

O efeito da idade do predador no consumo de presas pode indicar algum “aprendizado comportamental” devido aos sucessivos ciclos ausência/presença, como estratégia de ataque à presa. A aprendizagem pode ocorrer devido a mudanças de comportamento relativamente permanentes, geralmente adaptativas, como resultado de experiência ou prática, mesmo que de forma estocástica. Além disso, o aprendizado pode ser modificado por experiências novas e, se não for reforçado por novas experiências, eventualmente, diminuir (MATTHEWS;

MATTHEWS, 2010). O comportamento de defesa pode variar, inclusive entre espécies e idade/estádio da presa, com maior ou menor grau de agressividade ao predador no ato do ataque (EDMUNDS, 1974; LEDERHOUSE, 1990). Esse fato, possivelmente, pode justificar a grande variabilidade da predação e, consecutivamente, a grande variabilidade das estimativas do número máximo de presas consumidas nas diferentes idades do predador.

A predação de *P. nigripinus* variou tanto para a eficiência de busca quanto para o tempo de manuseio, o que aponta a possibilidade de *S. eridania* ter exercido alguma estratégia de defesa. Além disso, o “aprendizado” por parte do predador mostra que a presa também desenvolveu/exerceu resposta comportamental de defesa compatível. Isso ocorre quando uma lagarta presencia a resposta agressiva com sucesso de outra ao predador, no momento do ataque, evitando ser predada (BROWN; CHIVERS, 2005). Nesse contexto, o predador desiste da presa (lagarta), o que pode incentivar o desenvolvimento de comportamento agressivo semelhante, como defesa, em outras. Por outro lado, o movimento da lagarta pode estimular o consumo de presas (PFANNENSTIEL; HUNT; YEARGAN, 1995), entretanto, o predador pode abandonar a presa se não puder avaliar o risco potencial da mesma (SILVA et al., 2012), como pode ser observado para *P. nigrispinus* na idade de cinco dias.

O declínio da predação com avanço da idade do predador era esperado, pois, como a maioria dos organismos vivos, os processos fisiológicos e biológicos também diminuem no decorrer do tempo (KLOWDEN, 2013; MATTHEWS; MATTHEWS, 2010; NATION, 2016). *Podisus nigripinus* é um predador que utiliza como estratégia a busca (*cruiser*) (DE CLERCQ et al., 2000), aumentando seu gasto energético, enquanto que a maioria dos predadores ágeis usam a estratégia de emboscada (*ambush*) que pode, muitas vezes, ser mais vantajosa (MATTHEWS; MATTHEWS, 2010). Todavia, a manipulação de um número variado de presas pode compensar o gasto energético de *P. nigrispinus*.

A predação máxima de lagartas de *S. eridania*, baseada na estimativa do T_h oscilou entre as idades. Mesmo assim, *P. nigrispinus* apresentou estimativa de predação de 20 lagartas com 1 dia de idade, e até aproximadamente 133 lagartas, até 17 dias de idade. Respostas funcionais do tipo II foram observadas para *Alabama argilacea* (HÜBNER) (Lepidoptera: Noctuidae) (SANTOS et al., 2016) e para *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) (VACARI; BORTOLI; TORRES, 2012), com resultados distintos para o número máximo de lagartas predadas, o que demonstra que o predador apresenta respostas predatória e comportamento diferenciados em relação à presa e/ou ao estágio de desenvolvimento desta.

A sobrevivência de *P. nigrispinus* foi de até 15 dias, com elevado potencial de predação até a idade de 13 dias, o que demonstra que a densidade de presas não o afetou efetivamente. Liberações de inimigos naturais geralmente são realizadas com indivíduos jovens (geralmente com idade < 24 horas), com o intuito de se utilizar indivíduos com maior vigor e minimizar o canibalismo (PIRES, 2016). Entretanto, o presente estudo demonstra que o desempenho e sobrevivência de *P. nigrispinus* não reduziram de forma acentuada com o avanço da idade. Além disso, a zoofitofagia de *P. nigrispinus* pode ser benéfica para o predador, pois, dependendo da planta, são possíveis aumentos de sobrevivência e reprodução (TORRES; BOYD, 2009).

Podisus nigrispinus tem potencial para programas de manejo integrado de *S. eridania*. Além disso, esse inimigo natural pode ser utilizado com outros métodos de controle, como o biológico com parasitoides *Trichogramma* spp. (HOLTZ et al., 2006), e químicos, com agrotóxicos seletivos (MALAQUIAS et al., 2014; PODEROSO et al., 2016; ZANUNCIO et al., 2016).

5 CONCLUSÃO

Podisus nigrispinus é um predador voraz, com elevada capacidade de predação de lagartas de *S. eridania*. O hábito de predação ocorre durante toda a idade adulta do predador, com reduzida perda de desempenho e sobrevivência.

REFERÊNCIAS

BELLOWS, T.S.; FISHER, T.W. **Handbook of Biological Control**. Academic Press: San Diego, CA, 1999.

CARVALHO, J.R.; QUADROS, I.P.S.; FORNAZIER, D.L.; PRATISSOLI, D.; ZAGO, H.B. Captura de *Spodoptera eridania* usando como atrativo luz fluorescente. **Nucleus**, v. 9, n. 2, p. 75- 82, 2012.

COSTA, M. I S.; FARIA, L. D. B. Integrated pest management: theoretical insights from a threshold policy. **Neotropical entomology**, v. 39, n. 1, p. 1-8, 2010.

CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S.; REGAZZI, A.J. Análise de dados experimentais com medidas repetidas. In: __ **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa: Editora UFV, 2014, p. 616-635.

DE CLERCQ, P.; MERLEVEDE, F.; MESTDAGH, I.; VANDENDURPEL, K.; MOHAGHEGH, J.; DEGHEELE, D. Predation on the Tomato Looper *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lep., Noctuidae) by *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 122, n. 2-3, p. 93–98, 1998.

DE CLERCQ, P.; MOHAGHEGH, J.; TIRRY, L. Effect of host plant on the functional response of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, v. 18, p. 65-70, 2000.

DeBACH, P. (Ed.) **Biological Control of Insect Pests and Weeds**. Chapman and Hall: London, 1964.

EDMUNDS, M. **Defence in Animals**: a survey of anti-predator defences. Harlow: Longman, 1974.

ELZHOV, T.V.; MULLEN, K.M.; SPIESS, A.-N.; BOLKER, B. **minpack.lm**: R Interface to the Levenberg-Marquardt Nonlinear Least-Squares Algorithm Found in MINPACK, Plus Support for Bounds. R package version 1.2-1. 2016.

EUBANKS, M.D. Predaceous Herbivores and Herbivorous Predators: The Biology of Omnivores and the Ecology of Omnivore-Prey Interactions. In: BARBOSA, P.; CASTELLANOS, I. (Eds.), **ECOLOGY OF PREDATOR-PREY INTERACTIONS**, OXFORD UNIVERSITY PRESS: New York, 2005. Cap. 1, p. 3-16.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An R Companion to Applied Regression**, 2. Ed., Sage, 2011.

GOTELLI, N.J. **Ecologia**. 4. ed. Editora Planta: Londrina (PR), 2009.

GRANT, E.; BROW, N.; DOUGLAS, P.; HIVERS, C. Learning as an Adaptive Response to Predation. In: BARBOSA, P.; CASTELLANOS, I. (Eds.), **ECOLOGY OF PREDATOR-PREY INTERACTIONS**, OXFORD UNIVERSITY PRESS: New York, 2005. Cap. 3, 34-54.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economic Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

GREENHOUSE, S.W.; GEISSER, S. On methods in the analysis of profile data. **Psychometrika**, v. 24, p. 95–112, 1959.

HOLLING, C.S. Some Characteristics of Simple Types of Predation and Parasitism. **The Canadian Entomologist**, v. 91, n. 7, p. 385–398, 1959.

HUYNH, H.; FELDT, L.S. Estimation of the Box correction for degrees of freedom from sample data in randomised block and split-plot designs. **Journal of Educational Statistics**, v. 1, p. 69-82, 1976.

HOLTZ, A.M.; PRATISSOLI, D.; SAITO, N.S.; MELO, D.F.; POLANCZYK, R.A.; VIANNA, U.R. É possível à associação *Podisus nigrispinus* e espécies de *Trichogramma* em um programa de controle biológico em florestas? **Idesia** (Arica), v. 24, p. 85-88, 2006.

JULIANO, S.A. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. In: SCHEINER, S.; GUREVITCH, J. (Eds.). **Design and Analysis of Ecological Experiments**. New York: Chapman and Hall, 2001. Cap. 8, p. 178–196.

KONISHI, S.; KITAGAWA, G. **Information criteria and statistical modeling**. New York: Springer, 2008.

KLOWDEN, M.J. **Physiological Systems in Insects**, 3. Ed., Boston: Academic Press, 2013.

KRATINA, P.; VOS, M.; BATEMAN, A.; ANHOLT, B.R. Functional Responses Modified by Predator Density. **Oecologia**, v. 159, n. 2, p. 425-433, 2009.

LEDERHOUSE, R.C. Avoiding the Hunt: Primary Defenses of Lepidopteran Caterpillars. In: EVANS, D.L.; SCHMID, J.O. (Eds.) **Insect Defenses: Adaptive Mechanisms and Strategies of Prey and Predators**. Albany, NY, SUNY Press, 1990. Cap. 7. p. 175-189.

MALAQUIAS, J.B.; RAMALHO, F.S.; OMOTO, C.; GODOY, W.A.; SILVEIRA, R.F. Imidacloprid affects the functional response of predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to strains of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Bt cotton. **Ecotoxicology**, v. 23: p. 192-200, 2014.

MARTÍNEZ, L. C.; FIALHO, M.D.C.Q.; ALMEIDA-BARBOSA, L.C.; OLIVEIRA, L.L.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Stink bug predator kills prey with salivary non-proteinaceous compounds. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 68, p. 71-78, 2016.

MATTHEWS, R.W.; MATTHEWS, J.R. **Insect Behavior**, 2. Ed. Springer: Netherlands, 2010.

MOHAGHEGH, J., DE CLERCQ, P.; TIRRY, L. Functional response of the predators *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae) to the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep., Noctuidae): effect of temperature. **Journal of Applied Entomology**, v. 125, p. 131–134, 2001.

NATION, J.L. **Insect physiology and biochemistry**. 3. Ed. CRC Press: New York, 2016.

OLIVEIRA, J.; TORRES, J.B.; MOREIRA, A.; BARROS, R. Efeito das plantas do algodoeiro e do tomateiro, como complemento alimentar, no desenvolvimento e na reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n.1, p. 101-108, 2002.

ORR, D.; LAHIRI, S. Biological Control of Insect Pests in Crops. In: ABROL, D.P. (Ed.). **Integrated pest management: Current Concepts and Ecological Perspective**. Academic Press: London, p. 531-548, 2014.

PFANNENSTIEL, R.S.; HUNT, R.E.; YEARGAN, K.V. Orientation of a hemipteran predator by feeding caterpillars. **Journal of Insect Behavior**, v. 8: p. 1-9, 1995.

PIRES, E.M. **Controle biológico: estudos, aplicações e métodos de criação de predadores asopíneos no Brasil**. 1. ed. Editora UFV: Viçosa (MG), 2016.

PIRES, E.M.; SOARES, M.A.; NOGUEIRA, R.M.; ZANUNCIO, J.C.; MOREIRA, P.S.A.; OLIVEIRA, M.A. Seven decades of studies with Asopinae predators in Brazil (1933 - 2014). **Bioscience Journal**, v. 31, p. 1530-1549, 2015.

PODEROSO, J.C.M.; CORREIA-OLIVEIRA, M.E.; CHAGAS, T.X.; ZANUNCIO, J.C.; RIBEIRO, G.T. Effects of Plant Extracts on Developmental Stages of the Predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **The Florida Entomologist**, v. 99, p. 113-116, 2016.

PRATISSOLI, D.; GONÇALVES, J.R. BROÇÃO. In: PRATISSOLI, D. (Org.). **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. 1. ed. Alegre: UNICOPY, 2015, p. 46-53.

PRITCHARD, D. **frair**: Tools for Functional Response Analysis. R package version 0.5, 2016. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=frair>>. Acesso em: 23 ago 2016.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>.

REIGADA, C.; AGUIAR, M.A.M.; FERNANDES, L.D. Demographic processes in spatially structured host-parasitoid systems. In: FERREIRA, C.P.; GODOY, W.A.C. (Eds.), **Ecological Modelling Applied to Entomology**, p.11-38, 2014.

RICKLEFS, R.E.; RELYEA, R. **A Economia da Natureza**. 7. ed. Editora Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2016.

ROGERS, D. Random Search and Insect Population Models. **The Journal of Animal Ecology**, v. 41, n. 2, p. 369, 1972.

RUSSELL, V.L. Response-Surface Methods in R, Using rsm. **Journal of Statistical Software**, v. 32, n. 7, p. 1-17, 2009.

SANTOS, B.D.B.; RAMALHO, F.S.; MALAQUIAS, J.B.; LIRA, A.C.S.; PACHÚ, JÉSSICA, K.S.; FERNANDES, F.S.; ZANUNCIO, J.C. How predation by *Podisus nigrispinus* is influenced by developmental stage and density of its prey *Alabama argillacea*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 158, p. 142-151, 2016.

SANTOS, K.B.; MENEGUIM, A.M.; NEVES, P.M.O.J. Biology and consumption of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) in different hosts. **Neotropical entomology**, v. 34, n. 6, p. 903-910, 2005.

SILVA, R.B.; CORRÊA, A.S.; DELLA-LUCIA, T.M.C.; PEREIRA, A.I.A.; CRUZ, I.; ZANUNCIO, J.C. Does the aggressiveness of the prey modify the attack behavior of the predator *Supputius cincticeps* (Stål) (Hemiptera, Pentatomidae)? **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, p. 244-248, 2012.

THERNEAU, T. **A Package for Survival Analysis in S**. version 2.38, 2015. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=survival>>. Acesso em: jan 2016.

TORRES, J.B.; BOYD, D.W. Zoophytophagy in predatory Hemiptera. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 5, p.1199-1208, 2009.

VACARI, A.M.; BORTOLI, S; TORRES, J.B. Relationship between predation by *Podisus nigrispinus* and developmental phase and density of its prey, *Plutella xylostella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.145, p. 30–37, 2012.

van LENTEREN, J.C. Need for quality control of mass-produced biological control agents. In: van LENTEREN, J.C. (Ed.), **Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures**. CABI: Wallingford, UK, p. 1-18, 2003.

WALKER, A.A.; WEIRAUCH, C.; FRY, B.G.; KING, G.F. Venoms of Heteropteran Insects: A Treasure Trove of Diverse Pharmacological Toolkits. **Toxins**, v. 43, n. 8, p. 1-32p. 2016.

WIGNALL, A.E.; TAYLOR, P.W. Alternative predatory tactics of an araneophagic assassin bug (*Stenolemus bituberus*). **Acta Ethologica**, v.12 p. 23-27, 2009.

ZANUNCIO, J.C.; MOURÃO, S.A.; MARTINEZ, L.C.; WILCKEN, C.F.; RAMALHO, F.; SERRAO, J.E.; PLATA-RUEDA, A.; SOARES, M.A. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific Reports**, v.1, p. 1, 2016.

Tabela 1. Resumo da análise de variância da interação entre densidade de lagartas de *Spodoptera eridania* e idade de *Podisus nigrispinus*, com correção dos graus de liberdade pelo ajuste de Greenhouse-Geisser

[Table 1. Summary of variance analysis of the interaction between density of *Spodoptera eridania* caterpillars and age of *Podisus nigrispinus*, with correction of degrees of freedom by Greenhouse-Geisser adjustment]

Fontes de variação [Source]	gl ^a [df]	gl G-G ^b [df G-G]	F _c ^c	p
N_0	5	1,9595	455,08	< 0,0001
Idade [Age]	8	3,1352	117,95	< 0,0001
$N_0 \times$ Age	40	15,676	27,73	< 0,0001
CV1(%) ^d	32,29			
CV2(%)	18,27			

^a Graus de liberdade [Degrees of freedom];

^b Graus de liberdade corrigido pelo ajuste de Greenhouse-Geisser [Degrees of freedom corrected by the Greenhouse-Geisser adjustment];

^c Estatística *F* corrigido pelo ajuste de Greenhouse-Geisser [Statistic *F* corrected by Greenhouse-Geisser adjustment];

^d Coeficientes de variação da parcela (1) e sub-parcela (2) [Coefficients of variation of plot (1) and split-plot (2)].

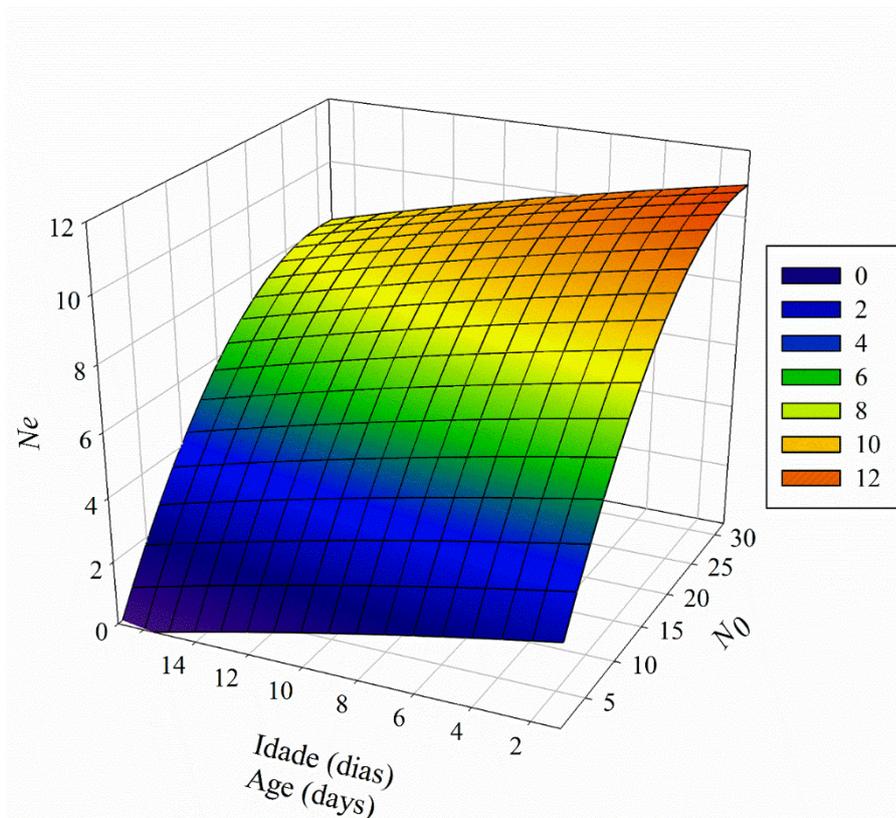


Figura 1. Predação de lagartas de *S. eridania* por *P. nigrispinus*, em função de sua proporção de presas e da idade do predador, em condições de laboratório. N_e : Número de lagartas predadas; N_0 : proporção de lagartas.

[Figure 1. Predation of *S. eridania* caterpillars by *P. nigrispinus*, according to their prey density and predator age, under laboratory conditions. N_e : Number of predated caterpillars; N_0 : caterpillar density.]

Tabela 2. Comparação entre os modelos de Roger e Holling para a proporção de lagartas de *Spodoptera eridania* em diferentes idades do predador *Podisus nigrispinus*
 [Table 2. Comparison between the Roger's and Holling's models for the density of *Spodoptera eridania* caterpillars at different ages of the predator *Podisus nigrispinus*]

Idade (dias) [Age (days)]	Modelos [Models]	R ² adj	χ^2 ^a	<i>p</i>	LogLik ^b	AIC ^c	wAIC ^d
1	Holling	0,9140	0,3441	0,9967	-99,95	205,9	1
	Roger	0,8396	1,3533	0,9294	-139,64	285,3	< 0,001
3	Holling	0,9272	0,3506	0,9966	-100,05	206,1	1
	Roger	0,8787	1,0521	0,9583	-131,50	269,0	< 0,001
5	Holling	0,9142	0,0318	0,9999	-73,90	153,8	1
	Roger	0,8378	0,7689	0,9790	-115,90	237,8	< 0,001
7	Holling	0,8580	0,3366	0,9969	-112,61	231,2	0,9985
	Roger	0,8844	1,5993	0,9013	-119,09	244,1	0,0015
9	Holling	0,8562	0,1246	0,9997	-88,62	183,2	1
	Roger	0,7776	2,5866	0,7634	-136,57	279,1	< 0,001
11	Holling	0,9253	0,0853	0,9999	-73,22	152,4	1
	Roger	0,8651	0,7834	0,9781	-112,21	230,4	< 0,001
13	Holling	0,9327	0,2937	0,9978	-83,70	173,4	1
	Roger	0,8894	0,8892	0,9710	-114,93	235,8	< 0,001
15	Holling	0,8342	0,3200	0,9972	-74,84	155,6	1
	Roger	0,8199	1,3740	0,9271	-98,66	203,3	< 0,001
17	Holling	0,8089	0,3646	0,9962	-79,90	165,8	1
	Roger	0,8162	1,6270	0,8980	-101,06	208,1	< 0,001

^a Estatística Qui-quadrado [Chi-square stat];

^b Logaritmo de verossimilhança [Log likelihood];

^c Critério de Informação de Akaike [Akaike information criterion];

^d Peso do Critério de Informação de Akaike [Weights of Akaike information criterion].

Tabela 3. Parâmetros estimados pelo modelo de Holling para *Podisus nigrispinus* para densidades de lagarta de *Spodoptera eridania* em diferentes idades de predador

[Table 3. Parameters estimated by Holling's model for *Podisus nigrispinus* to densities of *Spodoptera eridania* caterpillar at different age of predator]

Idade (dias) [Age (days)]	Parâmetros ^a [Parameter]	Estimativa [Estimate]	EP ^b [SE]	<i>p</i>	IC 95% ^c [95% CI]	
					Inferior [Lower]	Superior [Upper]
1	<i>a</i>	0,0549	0,0045	< 0,0001	0,0461	0,0636
	<i>T_h</i>	1,2156	0,0809	< 0,0001	1,0571	1,3741
3	<i>a</i>	0,0454	0,0036	< 0,0001	0,0385	0,0524
	<i>T_h</i>	0,9962	0,0827	< 0,0001	0,8341	1,1583
5	<i>a</i>	0,0446	0,0037	< 0,0001	0,0374	0,0517
	<i>T_h</i>	2,1096	0,1152	< 0,0001	1,8839	2,3354
7	<i>a</i>	0,0278	0,0035	< 0,0001	0,0209	0,0347
	<i>T_h</i>	1,0376	0,1956	< 0,0001	0,6542	1,4211
9	<i>a</i>	0,0559	0,0057	< 0,0001	0,0447	0,0671
	<i>T_h</i>	2,1974	0,1292	< 0,0001	1,9442	2,4506
11	<i>a</i>	0,0490	0,0037	< 0,0001	0,0417	0,0564
	<i>T_h</i>	2,0095	0,0993	< 0,0001	1,8149	2,2042
13	<i>a</i>	0,0401	0,0030	< 0,0001	0,0341	0,0460
	<i>T_h</i>	1,3780	0,0965	< 0,0001	1,1889	1,5670
15	<i>a</i>	0,0280	0,0036	< 0,0001	0,0209	0,0352
	<i>T_h</i>	3,2741	0,2879	< 0,0001	2,7100	3,8383
17	<i>a</i>	0,0296	0,0042	< 0,0001	0,0214	0,0378
	<i>T_h</i>	3,3295	0,3044	< 0,0001	2,7329	3,9261

^a *a*: Eficiência de busca [search efficiency]; *T_h*: Tempo de manuseio [handling time];

^b Erro-padrão [standard error];

^c Intervalo de confiança a 95% [95% confidence interval].

Tabela 4. Diferenças dos parâmetros de resposta funcional de *Podisus nigrispinus* sobre lagartas de *Spodoptera eridania* em diferentes idades do predador. Na diagonal superior estão as diferenças,

enquanto que na diagonal inferior os respectivos p-valores

[Table 4. Differences of the functional response parameters of *Podisus nigrispinus* about *Spodoptera eridania* caterpillars at different age of the predator. In the upper band are the differences, while the lower band p-values corresponding]

		$D_a^{(1)}$								
		Idade (dias) [Age (days)]								
		1	3	5	7	9	11	13	15	17
Idade (dias) [Age (days)]	1		-0,009	-0,010	-0,027	0,001	-0,006	-0,015	-0,027	-0,025
	3	0,100		-0,001	-0,018	0,010	0,004	-0,005	-0,017	-0,016
	5	0,091	0,876		-0,017	0,011	0,004	-0,004	-0,017	-0,015
	7	<0,001	0,001	0,008		0,028	0,021	0,012	0,000	0,002
	9	0,897	0,145	0,090	<0,001		-0,007	-0,016	-0,028	-0,026
	11	0,345	0,531	0,393	0,001	0,309		-0,009	-0,021	-0,019
	13	0,006	0,258	0,358	0,016	0,014	0,073		-0,012	-0,010
	15	<0,001	0,002	0,002	0,973	<0,001	<0,001	0,015		0,002
	17	<0,001	0,009	0,008	0,779	<0,001	0,001	0,049	0,768	
		$D_{Th}^{(2)}$								
		Idade (dias) [Age (days)]								
		1	3	5	7	9	11	13	15	17
Idade (dias) [Age (days)]	1		-0,219	0,894	-0,178	0,982	0,794	0,162	2,059	2,114
	3	0,060		1,113	0,041	1,201	1,013	0,382	2,278	2,333
	5	<0,001	<0,001		-1,072	0,088	-0,100	-0,732	1,165	1,220
	7	0,375	0,837	<0,001		1,160	0,972	0,340	2,237	2,292
	9	<0,001	<0,001	0,619	<0,001		-0,188	-0,819	1,077	1,132
	11	<0,001	<0,001	0,511	<0,001	0,251		-0,632	1,265	1,320
	13	0,226	0,005	<0,001	0,105	<0,001	<0,001		1,896	1,952
	15	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	<0,001		0,055
	17	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,002	<0,001	<0,001	0,895	

⁽¹⁾ Diferença na eficiência de busca (a) entre as diferentes idades [Difference between search efficiency (a) at different ages];

⁽²⁾ Diferença no tempo de manuseio (T_h) entre as diferentes idades [Difference between handling time (T_h) at different ages].

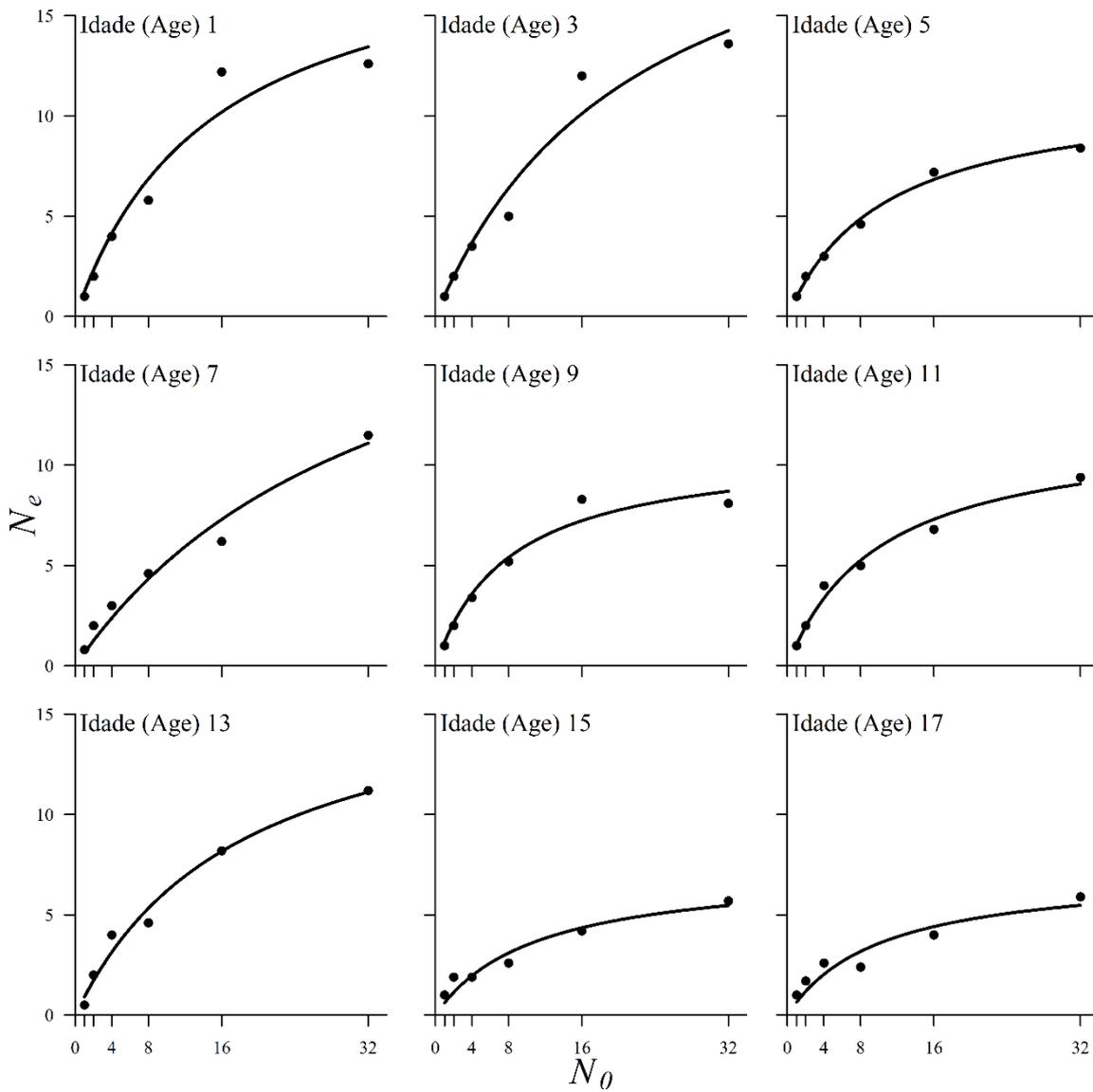


Figura 2. Resposta funcional do tipo II de *Podisus nigrispinus* sobre lagartas de *Spodoptera eridania* em diferentes idades do predador. N_e : Número de lagartas predadas; N_0 : densidade de lagartas.

[Figure 2. Functional response type II of *Podisus nigrispinus* on *Spodoptera eridania* caterpillars at different ages of the predator. N_e : Number of predated caterpillars; N_0 : caterpillar density.]

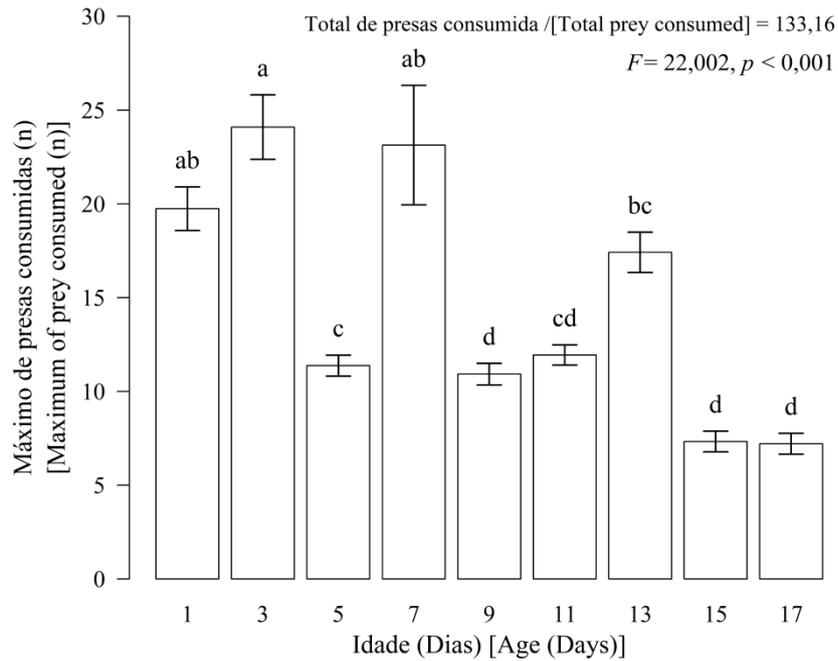


Figura 3. Estimativa do número máximo de lagartas de *Spodoptera eridania* consumidas em diferentes idades de *Podisus nigrispinus* em função da idade do predador. Barras (\pm erro padrão) seguidas pela mesma letra não diferem com base nos intervalos de confiança de 95%.

[Figure 3. Estimation of the maximum number of *Spodoptera eridania* caterpillars consumed at different ages of *Podisus nigrispinus* as a function of predator age. Bars (\pm standard error) followed by same letter do not differ based on the confidence intervals at 95%.]

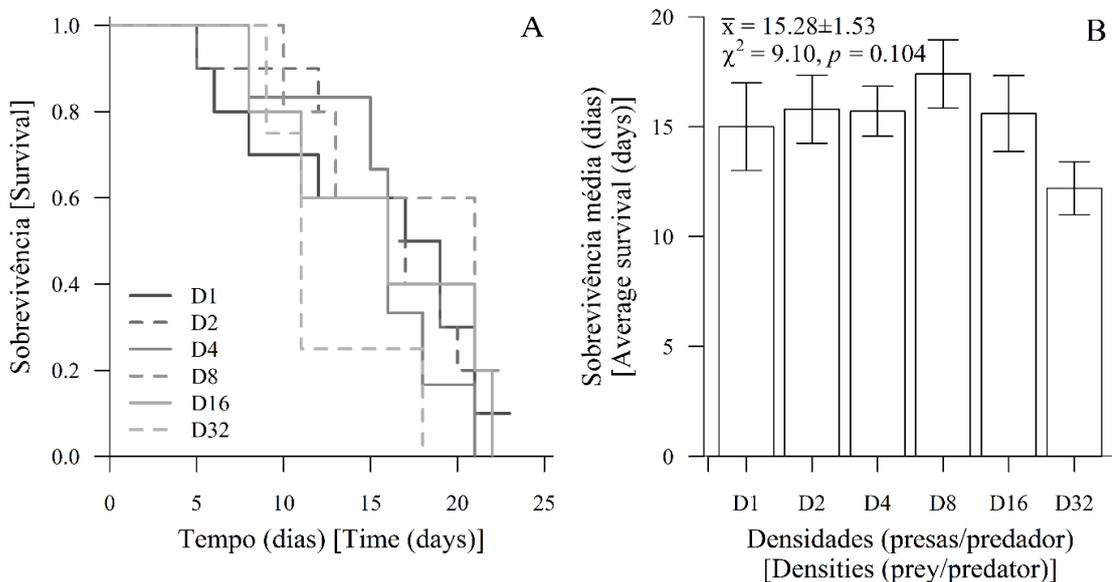


Figura 4. Curva de sobrevivência (A) e sobrevivência média (B) de *P. nigrispinus* submetidos a diferentes densidades de lagartas de *S. eridania*, em condições de laboratório. Barras (\pm erro-padrão) não diferem entre si pelo teste de LogRank ($p > 0.05$).

[Figure 4. Survival (A) and mean survival (B) analysis of *P. nigrispinus* submitted to different densities of *S. eridania* caterpillars, under laboratory conditions. Bars (\pm standard error) did not differ by LogRank test ($p > 0.05$).]

CAPÍTULO 4 – DESEMPENHO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS EM *Spodoptera eridania*

RESUMO. *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga cosmopolita e voraz, que acomete diversos cultivos de importância econômica. Essa espécie, ao atingir o último estágio de desenvolvimento larval, desce ao solo para se transformar em pupa, onde permanece até a emergência dos adultos. Esse comportamento possibilita que agentes biológicos como os nematoides entomopatogênicos (NEPs) possam ser utilizados em seu manejo. Este estudo averiguou o desempenho de 11 espécies/linhagens de NEPs pertencentes às famílias Heterorhabditidae (8) e Steinernematidae (3). Foram realizados dois bioensaios em condições de laboratório: de patogenicidade com 20,38 juvenis infectivos cm⁻² (JIs cm⁻²) (equivalente a 2 x 10⁹ JIs ha⁻¹); e de virulência, com concentrações variando entre 0,04 a 20,38 JIs cm⁻². Como arenas, foram utilizados potes plásticos (116,89 cm²), contendo areia esterilizada umedecida, nos quais foram liberadas lagartas de 6º instar de *S. eridania*. As suspensões (NEPs + água destilada) foram aplicadas com pipetador. O bioensaio de patogenicidade mostrou que 9 espécies/linhagens foram promissoras, com mortalidade acima de 87%. O bioensaio de virulência revelou concentrações letais para 50% da população, variando entre 0,27 e 3,67 JIs cm⁻². *Heterorhabditis mexicana* Hmex(MX4) foi a espécie mais agressiva, com desempenho superior ao das espécies *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7, *Steinernema glaseri* GL, *S. rarum* SJH e *S. carpocapsae* SCN1, com base nos intervalos de confiança. Os resultados sugerem que NEPs são uma alternativa eficiente para o controle de *S. eridania*, com *H. mexicana* Hmex(MX4) a espécie mais promissora.

Palavras-chave: Insecta, Controle biológico, Controle microbiano de insetos, *Heterorhabditis*, *Steinernema*.

ABSTRACT. *Spodoptera eridania* (CRAMER) (Lepidoptera: Noctuidae) is a cosmopolitan and voracious pest that affects many crops of economic importance. This species upon reaching the last stage of larval development descends to the ground to transform into pupa, where it remains until the emergence of adults. This habit makes it possible for biological agents such as entomopathogenic nematodes (EPNs) to be used in their management. This study investigated the potential of 11 species / lineages of NEPs belonging to the families

Heterorhabditidae (8) and Steinernematidae (3). Two bioassays were performed under laboratory conditions: pathogenicity with 20.38 infective juveniles cm⁻² (IJs cm⁻²) (equivalent to 2 x 10⁹ IJs ha⁻¹); and virulence, with concentrations ranging from 0.04 to 20.38 IJs cm⁻². As the arena, plastic pots (116.89 cm²) were used, containing sterile, moistened sand, where sixth instar larvae of *S. eridania* were released. The suspensions (EPNs + distilled water) were pipetted. The pathogenicity bioassay showed that 9 species/strains were promising, with mortality above 87%. The virulence bioassay revealed lethal concentrations for 50% of the population ranging from 0.27 to 3.67 IJs cm⁻². *Heterorhabditis mexicana* Hmex (MX4) was the most aggressive species, with superior performance to *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7, *Steinernema glaseri* GL, *S. rarum* SJH and *S. carpocapsae* SCN1, based on the confidence intervals. The results suggest that NEPs are an efficient alternative for the control of *S. eridania*, with *H. mexicana* Hmex (MX4) the most promising species.

Key words: Insecta, Biological control, Microbial control of insects, *Heterorhabditis*, *Steinernema*.

1 INTRODUÇÃO

Spodoptera eridania (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), vulgarmente conhecida como lagarta das folhas, é uma espécie cosmopolita e polífaga, pois utiliza como alimento inúmeras culturas de importância econômica, como soja, algodão, brássicas, tomate e morango (PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015; FRAGOSO et al., 2015). Essa espécie apresenta o comportamento de que quando atinge seu último estágio larval desce ao solo para pupar, onde permanece em forma de pupa até a emergência do adulto (PRATISSOLI; GONÇALVES, 2015).

Nematoides entomopatogênicos (NEPs) são organismos minúsculos que geralmente vivem parte ou todo ciclo de vida no solo (ISHIBASHI; CHOI, 1991; MOINO JÚNIOR, 2009; VOSS et al., 2009). Nesse contexto, atuam como agentes de controle biológico de insetos-praga que vivem nesses ambientes (NEGRISOLI et al., 2010), como corós, gorgulho-da-goia, moscas-das-frutas e lepidópteros. Esses organismos possuem a grande vantagem da especificidade, pois, na ausência de insetos hospedeiros, não acometem planta nem outros organismos, salvo algumas exceções (DOLINSKI; MOINO Jr, 2006; KRUITBOS et al., 2010).

Os NEPs são definidos como parasitas que vivem em associação mutualística com simbiontes bacterianos (GREWAL; EHLER; SHAPIRO-ILAN, 2005; SHAPIRO-ILAN; HAM; QIU, 2014). Bactérias *Xenorhabdus* spp. associam-se com espécies pertencentes ao *Steinernema*, enquanto que bactérias *Photorhabdus* spp. associam-se com o gênero *Heterorhabditis* (POINAR, 1990; FERRAZ, 1998; GRIFFIN; BOEMARE; LEWIS, 2005; LEWIS; CLARKE, 2012). As bactérias simbiontes são os agentes primários responsáveis pela morte do inseto hospedeiro e fornecem, dessa forma, uma fonte de nutrição para o nematoide (DOWDS; PETERS, 2002, LEWIS; CLARKE, 2012).

Diante do fato de que *S. eridania* passa parte de seu ciclo biológico no solo e da possibilidade de NEPs serem uma alternativa para seu manejo, este estudo averiguou o desempenho de 11 espécies/linhagens de NEPs pertencentes às famílias *Heterorhabditidae* e *Steinernematidae*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Criação de *Spodoptera eridania*. Foram criadas em laboratório (CARVALHO et al., 2012), com dieta artificial adaptada de Greene et al. (1976), em sala climatizada regulada à temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Obtenção e manutenção dos nematoides entomopatogênicos. Os NEPs (TABELA 1) foram adquiridos junto ao Laboratório de Proteção de Plantas da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ. A espécie *Sterneinema carpocapsae* (SCN1) foi adquirida junto ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES. Os NEPs foram multiplicados em larvas de último ínstar de *Galleria mellonella* (L.) (Pyralidae: Lepidoptera), em laboratório, em sala climatizada regulada à temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas (MACHADO, 1988). Os juvenis infectivos foram coletados em armadilhas adaptadas de White (WHITE, 1927), conforme Kaya e Stock (1997).

Bioensaios

Foram realizados dois bioensaios para verificar o desempenho das espécies/linhagens dos NEPs: patogenicidade (i) e virulência (ii).

Bioensaio de patogenicidade. O bioensaio foi realizado com lagartas de 6º ínstar de *S. eridania*. Os NEPs foram utilizados na concentração de 20,38 juvenis infectivos cm^{-2} (JIs cm^{-2}) (equivalente a 2×10^9 JIs ha^{-1}). As lagartas foram inoculadas em potes plásticos de 116,89 cm^2 de área basal ($\varnothing = 12,2 \times h = 8,5$ cm), contendo areia esterilizada umedecida (1 cm de altura) e um cubo de dieta artificial. A aplicação das suspensões contendo os NEPs foi realizada por meio de pipetador automático regulado para 5 mL de suspensão por pote. Após a aplicação dos NEPs o substrato foi revolvido para homogeneização. Como solvente e tratamento controle foi utilizada água destilada esterilizada. As avaliações foram realizadas diariamente até o 8º dia após a aplicação. Após esse período as lagartas e pupas mortas foram coletadas e transferidas para placas de Petri forradas com papel filtro, onde permaneceram por 2 dias. Para confirmação da mortalidade, as lagartas foram transferidas para armadilhas adaptadas de White para coleta dos NEPs.

Bioensaio de Virulência. Para os NEPs que proporcionaram mortalidade superior a 85% foi realizado um novo bioensaio para estimar as concentrações letais desses sobre lagartas de 6º ínstar de *S. eridania*. A montagem e a execução desse experimento foram semelhantes aos realizados no bioensaio anterior. Foram utilizadas as seguintes concentrações: 0,04, 0,13, 0,45, 1,60, 5,70 e 20,38 JIs cm^{-2} , definidas em testes preliminares e equidistantes em escala logarítmica (não apresentado). Como solvente e tratamento controle foi utilizada água destilada esterilizada. Após 8 dias, as lagartas e pupas mortas foram contabilizadas, transferidas para placas de Petri e posteriormente confirmada a mortalidade através de armadilha adaptadas de White.

Análise dos dados

Bioensaio de patogenicidade. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 repetições (potes) contendo 10 lagartas. Como tratamento testemunha utilizou-se água destilada deionizada. Os dados de mortalidade total foram corrigidos conforme Abbott (1925) e, posteriormente, submetidos à análise de variância (PIMENTEL-GOMES, 2009; CARVALHO et al., 2017) utilizando o software R, versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) por meio do pacote *ExpDes.pt* (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013).

Bioensaio de Virulência. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 repetições (potes). Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit para obtenção das concentrações letais (CLs). As CLs foram comparadas com base nos respectivos

intervalos de confiança ao nível de 95% de probabilidade (FINNEY, 1971; CARVALHO et al., 2017).

A análise de probit foi realizada pelo pacote *ecotoxicology* (GAMA, 2015) do software R, versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017). A razão de virulência (maior concentração/menor concentração) foi estimada a partir das CL_{50} .

3 RESULTADOS

O tratamento controle não apresentou mortalidade, o que significa que todas as espécies/linhagens foram patogênicas a *S. eridania*.

Das 11 espécies/linhagens testadas, apenas a *Heterorhabditis* sp. LPP40 causou mortalidade inferior a 20% (TABELA 2). *Steinernema glaseri* GL, *Heterorhabditis bacteriophora* HP88, *S. carpocapsae* SCN1, *H. mexicana* Hmex(MX4), *H. indica* LPP22 e *H. bacteriophora* H2(RS88) ocasionaram mortalidade acima de 97% das lagartas. *Steinernema rarum* SJH ocasionou mortalidade de 87% das lagartas tratadas.

O bioensaio de virulência revelou desempenhos distintos entre as espécies/linhagens estudadas (FIGURA 1 e TABELA 3), com CL_{50} variando entre 0,27 e 3,67 JI cm^{-2} . *Heterorhabditis mexicana* Hmex(MX4) foi o mais agressivo ($CL_{50} = 0,27$ JIs cm^{-2}) e diferenciou de *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7, *S. glaseri* GL, *S. rarum* SJH e *S. carpocapsae* SCN1, com base nos intervalos de confiança. Em relação à razão de virulência, *H. mexicana* Hmex(MX4) foi 8,70 vezes mais agressivo quando comparado a *S. rarum* SJH.

Assim como na CL_{50} , a CL_{90} de *H. mexicana* Hmex(MX4) foi inferior a 1,0 JI cm^{-2} .

4 DISCUSSÃO

Apesar das diferenças existentes entre *Heterorhabditis* e *Steinernema*, quanto às estratégias de busca por hospedeiros, ambos foram eficazes no controle de *S. eridania*. Durante a avaliação foi verificado que lagartas, pré-pupas e pupas mortas estavam infectadas pelos NEPs. Isso demonstra que a partir do momento em que a lagarta entrar em contato com o solo tratado com NEPs ela estará sujeita a ser infectada. Além disso, estudos demonstram que NEPs são

atraídos por voláteis liberados pelo sistema radicular das plantas sob alguma forma de estresse e pelos insetos no solo (ALI; ALBORN; STELINSKI, 2011; HALLEM et al., 2011; LAZNIK; TRDAN, 2013; LAZNIK; TRDAN, 2016), o que aumenta a chance de NEPs entrarem em contato com o inseto-alvo.

O elevado percentual de mortalidade de *S. eridania* revela sua susceptibilidade aos NEPs. A variação de resposta observada para as espécies/linhagens de NEPs estudadas pode estar associada ao nível de susceptibilidade do hospedeiro, bem como à virulência dos NEPs. No presente estudo *S. eridania* foi menos susceptível a *Heterorhabditis* sp. LPP40. Essa variabilidade já foi reportada para *Spodoptera frugiperda* (SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae), em que estudos com diferentes populações, tanto da praga quanto de NEPs, reportam respostas diferenciadas de mortalidade (FUXA et al., 1988; MOLINA-OCHOA et al., 1996; ANDALÓ et al., 2010).

O bioensaio de virulência apresentou resultados diferenciados entre as espécies/linhagens de NEPs estudadas. Todos NEPs apresentaram resposta de mortalidade de *S. eridania* crescente ao aumento de concentração, porém, as curvas concentração-resposta foram distintas. *Heterorhabditis mexicana* Hmex(MX4) foi a espécie que apresentou menor valor para a CL₅₀, ou seja, foi mais agressiva (virulenta) em relação *H. bacteriophora* HP88, *H. baujardi* LPP7, *H. indica* LPP22 e todas as espécies de *Steinernema*. Com relação à CL₉₀, *H. mexicana* Hmex(MX4) foi a única espécie que apresentou estimativa inferior a 1,0 JI cm⁻². Embora pouco estudada, *H. mexicana* Hmex(MX4) apresentou resultados semelhantes aos de *S. carpocapsae* All (padrão comercial) sobre *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) (SHAPIRO-ILAN; STUART; MCCOY, 2005). Sobre *Phyllophaga vetula* Horn (Coleoptera: Scarabeidae) linhagens de *H. mexicana* apresentaram resposta semelhantes ao isolado de *S. carpocapsae*. Todavia, ao se observar as CL₉₅ os autores verificaram valores inferiores para as linhagens de *H. mexicana* quando comparadas ao isolado de *S. carpocapsae* (GIRÓN-PABLO et al., 2012), o que indica uma elevada virulência dessa espécie. No presente estudo *H. mexicana* Hmex(MX4) foi superior a duas espécies comerciais testadas (*H. bacteriophora* HP88 e *S. carpocapsae* SCN1), demonstrando que essa espécie/linhagem apresenta potencial para ser utilizada em programa de manejo integrado de pragas, principalmente para o manejo de *S. eridania*.

Heterorhabditis bacteriophora linhagens H2(RS88) e LPP30 e *H. indica* LPP35 apresentaram CL₅₀ intermediárias, quando se comparados os intervalos de confiança. Contudo, as CL₅₀ foram mais próximas da observada para *H. mexicana* Hmex(MX4), o que demonstra que

essas espécies/linhagens também são promissoras para o manejo de *S. eridania*. Todavia, a concentração estimada para *H. mexicana* Hmex(MX4) equivale a 50% da concentração estimada para *H. bacteriophora* H2(RS88), que apresentou a menor concentração as espécies/linhagens intermediárias. A CL_{50} para *H. mexicana* Hmex(MX4), em JI ha⁻¹, equivale a $2,65 \times 10^7$ JI ha⁻¹ enquanto que a CL_{90} é aproximadamente $9,03 \times 10^7$ JI ha⁻¹. Em lagartas de 4º ínstar de *S. frugiperda* e *A. ípsilon*, na concentração de $1,6 \times 10^9$ JI ha⁻¹ (equivalente a 16.3 JI cm⁻²), *Heterorhabditis* sp. ocasionou mortalidade inferior a 50% (POLANCZYK et al., 2003), o que pode indicar que *S. eridania* é susceptível às espécies/linhagens de *Heterorhabditis* estudadas.

A maior eficiência de *H. mexicana* Hmex(MX4) em ocasionar a mortalidade de *S. eridania* frente a outras *Heterorhabditis* spp. e, principalmente, *Steinernema* spp., pode estar associado ao mecanismo de movimentação e estratégia de busca pelo hospedeiro. *Heterorhabditis* spp. apresentam estratégia *cruiser* (buscadores) enquanto que *Steinernema* spp. *ambusher* (emboscadores) (LEWIS; GAUGLER; HARRISON, 1993; DOLINSKI; MOINO Jr, 2006; BAL; GREWAL, 2015). Isso justificaria o melhor desempenho das espécies/linhagens de *Heterorhabditis* sobre as de *Steinernema*.

Contudo, neste estudo é possível visualizar duas situações peculiares. A primeira é que *H. mexicana* Hmex(MX4) foi mais agressiva que as demais espécies/linhagens de *Heterorhabditis*, o que poderia ser uma característica intrínseca da espécie (maior mobilidade). A segunda situação é que *H. bacteriophora* HP88 e *S. carpocapsae* SCN1 apresentaram desempenhos semelhantes. Para essa segunda circunstância existe a possibilidade de que tenha alterado sua estratégia de busca, dada uma necessidade adaptativa (KRUITBOS et al., 2010). Tal hipótese pode ser verdadeira, visto que *S. glaseri* já foi considerada como *cruiser* e *ambusher* (LEWIS; GAUGLER; HARRISON, 1993; BAL; GREWAL, 2015). Além disso, NEPs podem alterar seu comportamento devido à substâncias voláteis liberadas no substrato/solo (ALI; ALBORN; STELINSKI, 2011; HALLEM et al., 2011; LAZNIK; TRDAN, 2013; LAZNIK; TRDAN, 2016). Esses fatos reforça a hipótese de que, assim como outros organismos, NEPs também podem se adaptar ao ambiente ao qual estão ou serão inseridos.

Dessa maneira, foi possível verificar que *S. eridania* é susceptível a NEPs e que o desempenho destes é diferenciado. Dentre as espécies/linhagens estudadas *H. mexicana* Hmex(MX4) foi a que apresentou os resultados mais promissores. Sendo assim, estudos em

condições de campo podem ser realizados para verificar o comportamento dessa espécie e validar seu desempenho nas concentrações letais estimadas no presente estudo.

5 CONCLUSÃO

Spodoptera eridania é susceptível a *Heterorhabditis* spp. e *Steinernema* spp. Os resultados sugerem que NEPs são uma alternativa eficiente para o controle de *S. eridania*, sendo *Heterorhabditis mexicana* Hmex(MX4) a espécie mais promissora para o controle de *S. eridania*, em relação às demais espécies/linhagens estudadas.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.18, p.265-267, 1925.

ALI, J.G.; ALBORN, H.T.; STELINSKI, L.L. Constitutive and induced subterranean plant volatiles attract both entomopathogenic and plant parasitic nematodes. **Journal of Ecology**, v. 99, p. 26-35, 2011.

BAL, H.K.; GREWAL, P.S. Lateral Dispersal and Foraging Behavior of Entomopathogenic Nematodes in the Absence and Presence of Mobile and Non-Mobile Hosts. **PLoS ONE**, v. 10, n. 6, e0129887, 2015.

CARVALHO, J.R.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U.R.; HOLTZ, A.M. **Análise de probit aplicada a bioensaios com insetos**. Colatina: IFES, 2017. 102p.

CARVALHO, J.R.; QUADROS, I.P.S.; FORNAZIER, D.L.; PRATISSOLI, D.; ZAGO, H.B. CAPTURA DE *Spodoptera eridania* USANDO COMO ATRATIVO LUZ FLUORESCENTE. **Nucleus (Ituverava. Online)**, v. 9, p. 75-82, 2012.

DOLINSKI, C.; MOINO Jr., A. Use of native and exotic entomopathogenic nematodes: the risk of introductions. **Nematologia Brasileira**, v. 30, n. 2, p.139-149, 2006.

DOWDS, B.C.A.; PETERS, A. Virulence mechanisms. In: GAUGLER, R. (Ed.). **Entomopathogenic Nematology**, New York: CABI, 2002. p. 79-98.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematoides entomopatogênicos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 541-570.

FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A. **ExpDes.pt**: Experimental Designs package (Portuguese). R package version 1.1.2, 2013.

FINNEY, D.J. **Probit Analysis**, 3. ed., London: Cambridge University Press, 1971. 333p.

FRAGOSO, D.F.M.; CARVALHO, J.R.; BARROS, A.P.; COFFLER, T.; MARCHIORI, J.J. P. LAGARTA-DAS-FOLHAS (*Spodoptera eridania*). In: HOLTZ, A.M.; RONDELLI, V.M.; CELESTINO, F.N.; BESTETE, L.R.; CARVALHO, J.R. (Org.). **Pragas das Brássicas**. Colatina: Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, 2015, p. 192-217.

FUXA, J.R.; RICHTER, A.R.; AGUDELO-SILVA, F. Effect of host age and nematode strain on susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 1, p. 91-95, 1988.

GAMA, J. **Ecotoxicology**: methods for ecotoxicology. R package version 1.0.1, 2015.

GIRÓN-PABLO, S.; RUIZ-VEJA, J.; PÉREZ-PACHECO, R.; SÁNCHEZ-GARCÍA, J.A.; AQUINO-BOLAÑOS, T. Isolation of entomopathogenic nematodes and control of *Phyllophaga vetula* Horn in Oaxaca, Mexico. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 99, p. 16525-16531, 2012.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal Economic Entomology**, n. 69, p. 487-497, 1976.

GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D. I. (Eds.). **Nematodes as Biological Control Agents**, Wallingford: CABI, 2005. 531p.

GRIFFIN, C.T.; BOEMARE, N.E.; LEWIS, E.E. Biology and behaviour. In: GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D.I. (Eds.). **Nematodes as Biological Control Agents**, Wallingford: CABI, 2005. p. 47-64.

HALLEM, E.A.; DILLMAN, A.R.; HONG, A.V.; ZHANG, Y.; YANO, J.M.; DEMARCO, S.F.; STERNBERG, P.W. A sensory code for host seeking in parasitic nematodes. **Current Biology**, v. 21, p. 377-383, 2011.

ISHIBASHI, N.; CHOI, D.R. Biological control of soil pests by mixed application of entomopathogenic and fungivorous nematodes. **Journal of Nematology**, v. 23, p. 175-181, 1991.

KAYA, H.K.; STOCK, S.P. Techniques in insect nematology. In: LACEY, L.A. (Ed.) **Manual of techniques in insect pathology**. San Diego: Academic Press, 1997. p. 281-324.

KRUITBOS, L.; HERITAGE, S.; HAPCA, S.; WILSON, M.J. The influence of habitat quality on the foraging strategies of the entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabdits megidis*. **Parasitology**, v. 137, p. 303–309, 2010.

LAZNIK, Ž.; TRDAN, S. An investigation on the chemotactic responses of different entomopathogenic nematode strains to mechanically damaged maize root volatile compounds. **Experimental Parasitology**, v. 134, p. 349-355, 2013.

LAZNIK, Ž.; TRDAN, S. Attraction Behaviors of Entomopathogenic Nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) to Synthetic Volatiles Emitted by Insect Damaged Potato Tubers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 4, p. 314-22, 2016.

LEWIS, E.E.; CLARKE, D.J. Nematode parasites and entomopathogens. In: VEGA, F.E.; KAYA, H.K. (Eds.). **Insect Pathology**, 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2012. p. 395-424.

LEWIS, E.E.; GAUGLER, R.; HARRISON, R. Response of cruiser and ambusher entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) to host volatile cues. **Canadian Journal of Zoology**, v. 71, n. 4, p. 765-769, 1993.

MACHADO, L.A. Criação de insetos em laboratório para utilização em pesquisas de controle biológico. In: CRUZ, B.B. (Ed.). **Pragas das Culturas e Controle Biológico**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 8-35.

MOINO JUNIOR, A. Produção de agentes entomopatogênicos. In: BUENO, V. H. P. **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2009, p. 277-296.

MOLINA-OCHOA, J.; HAMM, J.J.; LEZAMA-GUTIERREZ, R.; BOJALIL-JABER, L.F.; VARGAS, M.A.; GONZÁLEZ-RAMÍREZ, M. Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Vedalia Revista Internacional de Control Biológico**, v. 3, p. 25-29, 1996.

NEGRISOLI, C.R.C.B.; GARCIA, M.; DOLINSKI, C.M.; NEGRISOLI Jr, A.S.; BERNARDI, D.; SANTOS, F.J. Survey of entomopathogenic nematodes (Rhabditida:

Heterorhabditidae, Steinernematidae) in Rio Grande do Sul, State, Brazil. **Nematologia Brasileira**, v. 34, p. 189-197, 2010.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 15. Ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.

POINAR, G. O. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: GAUGLER, R., KAYA, H.K. (Eds.). **Entomopathogenic Nematodes in Biological Control**, Boca Raton: CRC Press, 1990, p. 23-62.

POLANCZYK, R.A.; LEITE, L.G.; ALVES, S.B.; NEVES, A.D.; GARCIA, M.O.; GUEDES, J.V.C. PATOGENICIDADE DE *Heterorhabditis* sp. PARA LAGARTAS E PUPAS DE *Spodoptera frugiperda* E *Agrotis ipsilon*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.70, suplemento 3, p.121-123, 2003.

PRATISSOLI, D.; GONÇALVES, J.R. Brocão. In: PRATISSOLI, D. (Org.) **Pragas emergentes no estado do Espírito Santo**. Alegre: UNICOPY, 2015, p 46-53.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>.

SHAPIRO-ILAN, D.I.; HAN, R.; QIU, X. Production of entomopathogenic nematode. In: MORALES-RAMOS, J.A.; ROJAS, M.G.; SHAPIRO-ILAN, D. (Eds.). **Mass Production of Beneficial Organisms**. New York: Elsevier, 2014. p. 321-355.

SHAPIRO-ILAN, D.I.; STUART, R.J.; MCCOY, C.W. Characterization of biological control traits in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis mexicana* (MX4 strain). **Biological Control**, v. 32, p. 97-103, 2005.

VOSS, M.; ANDALÓ, V.; NEGRISOLI JUNIOR, A.S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C.R.C. **Manual de técnicas laboratoriais para obtenção, manutenção e caracterização e nematóides entomopatogênicos**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009 (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico online 119).

WHITE, G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, p. 302-303, 1927.

Tabela 1. Espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos utilizados no estudo
 [Table 1. Species/strains of entomopathogenic nematodes used in the study]

Espécie [Species]	Linhagem [Strains]	Família [Family]	Origem [Origin]
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	HP88	Heterorhabditidae	EUA ¹ [USA]
<i>H. bacteriophora</i>	H2(RS88)	Heterorhabditidae	-
<i>H. bacteriophora</i>	LPP30	Heterorhabditidae	Rio de Janeiro, Brasil [Rio de Janeiro, Brazil]
<i>H. baujardi</i>	LPP7	Heterorhabditidae	Rondônia, Brasil [Rondônia, Brazil]
<i>H. indica</i>	LPP22	Heterorhabditidae	Alagoas, Brasil [Alagoas, Brazil]
<i>H. indica</i>	LPP35	Heterorhabditidae	Brasil [Brazil]
<i>H. mexicana</i>	Hmex(MX4)	Heterorhabditidae	México [Mexico]
<i>Heterorhabditis</i> sp.	LPP40	Heterorhabditidae	Rio de Janeiro, Brasil [Rio de Janeiro, Brazil]
<i>Steinernema glaseri</i>	GL	Steinernematidae	-
<i>S. carpocapsae</i>	SCN1	Steinernematidae	Alegre, Brasil [Alegre, Brazil]
<i>S. rarum</i>	SJH	Steinernematidae	Rio Grande do Sul, Brasil [Rio Grande do Sul, Brazil]

¹ Agente biológico de padrão comercial [Biological agent of commercial standard].

Tabela 2. Mortalidade (média±erro-padrão) de lagartas de 6° ínstar de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com nematoides entomopatogênicos
 [Table 2. Mortality (mean ± standard error) of sixth instar caterpillars of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) treated with entomopathogenic nematodes]

Nematoides [Nematoids]	Mortalidade (%) [Mortality (%)]
GL	100,00±0,00 a
HP88	100,00±0,00 a
SCN1	100,00±0,00 a
Hmex(MX4)	99,20±0,55 a
LPP22	98,00±1,04 ab
H2(RS88)	97,90±1,14 ab
LPP35	93,60±2,08 bc
LPP30	93,20±2,06 bc
LPP7	91,47±0,42 cd
SJH	87,34±0,37 d
LPP40	16,86±0,50 e
<i>F</i>	561,1
<i>p</i>	< 0,001

Médias seguida de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) [Means followed by same letter do not differ by Tukey test ($p < 0.05$)].

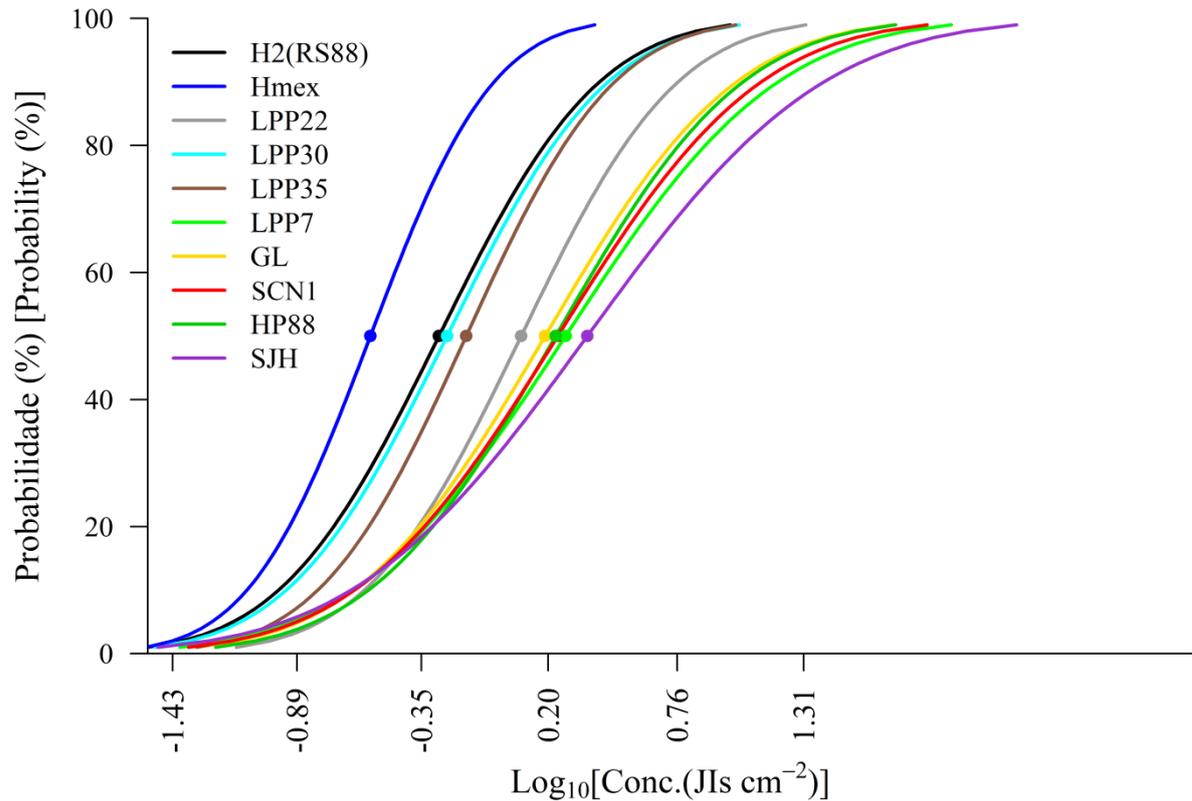


Figura 1. Curvas de concentração-mortalidade de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com juvenis infectivos (IJs cm⁻²) de diferentes espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos. Ponto representa a CL₅₀.

[Figure 1. Concentration-mortality curves of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) treated with infective juveniles (IJs cm⁻²) of different species/strains of entomopathogenic nematodes. Point represents the LC₅₀.]

Tabela 3. Concentração-mortalidade de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com juvenis infectivos (JIs cm⁻²) de diferentes espécies/linhagens de nematoides entomopatogênicos

[Table 3. Concentration-mortality of *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) treated with infective juveniles (JIs cm⁻²) of different species/strains of entomopathogenic nematodes]

Nematoides [Nematoids]	N ^a	Incli±EP ^b [slope±SE]	χ^2 ^c	CL ₅₀ (IC _{inf} ; IC _{sup}) ^d (JIs cm ⁻²)	Com. ^e	RV ₅₀ ^f	CL ₉₀ (IC _{inf} ; IC _{sup}) ^d (JIs cm ⁻²)
				[LC ₅₀ (CI _{lo} ; CI _{up}) (JIs cm ⁻²)			[LC ₉₀ (CI _{lo} ; CI _{up}) (JIs cm ⁻²)
H2(RS88)	186	1,84±0,17	0,76	0,53(0,2;1,19)	ab	4,43	2,65(1,19;27,4)
HP88	202	2,39±0,25	0,66	1,75(0,75;4,36)	b	1,34	13,34(5,09;158,08)
Hmex(MX4)	188	1,88±0,28	2,38	0,27(0,09;0,53)	a	8,70	0,92(0,48;12,71)
LPP7	208	1,83±0,11	0,98	1,89(0,70;5,6)	b	1,24	15,79(5,39;372,1)
LPP22	168	1,54±0,25	2,42	1,21(0,59;2,67)	b	1,94	5,81(2,64;38,57)
LPP30	190	1,99±0,3	2,16	0,58(0,23;1,23)	ab	4,05	2,89(1,33;22,62)
LPP35	174	1,39±0,22	2,36	0,70(0,30;1,51)	ab	3,36	3,08(1,45;24,75)
GL	204	1,58±0,19	1,7	1,54(0,58;4,13)	b	1,53	10,43(3,94;166,21)
SJH	210	1,45±0,26	3,67	2,35(0,89;7,04)	b	-	24,95(7,95;890,03)
SCN1	202	1,25±0,21	2,51	1,71(0,75;4,06)	b	1,37	11,12(4,54;112,41)

^a Número de insetos [Number of insects];

^b Inclinação da curva ± erro-padrão [slope ± standard error];

^c Teste de Qui-quadrado [Chi-square test];

^d Concentração letal (intervalos de confiança a 95% de probabilidade, inferior e superior) [Lethal concentration (confidence intervals at 95% probability, lower and upper)];

^e Comparação baseada nos intervalos de confiança [Comparison based on confidence intervals];

^f Razão de virulência [Reason from virulence];

^{ns} Não significativo ($p > 0,05$) [Not significant ($p > 0.05$)].

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo possibilitou compreender e averiguar o potencial dos agentes de controle biológico *P. nigrispinus* e NEPs para o manejo de *S. eridania*. Verificou-se que *P. nigrispinus* prefere atacar a região anterior da lagarta e a mortalidade das lagartas de *S. eridania* é favorecida em predadores que sofreram interrupção da predação, bem como apresenta hábito de predação durante toda a vida adulta. Além disso, os NEPs são patogênicos à *S. eridania*, sendo *H. mexicana* Hmex(MX4) a espécie mais agressiva às lagartas.