Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Desenvolvimento de dietas artificiais liofilizadas para *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), com vistas à produção de *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858)

Agustín Cerna Mendoza

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2012

Agustín Cerna Mendoza
Engenheiro Agrônomo

Desenvolvimento de dietas artificiais liofilizadas para *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), com vistas à produção de *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858)

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP

Cerna Mendoza, Agustín
Desenvolvimento de dietas artificiais liofilizadas para *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), com vistas à produção de *Telenomus podisi* (Ashmead, 1893) e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) / Agustín Cerna Mendoza. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010. - - Piracicaba, 2012.
101 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Controle biológico 2. Dieta artificial 3. Insetos parasitóides 4. Percevejos 5. Soja I. Título

CDD 633.34
C415d

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

A Deus, em quem me apoiei nas horas mais difíceis

Agradeço

À minha avó Gregoria Lingán Sánchez

(in memorian)

Ofereço

À minha esposa Delina, minhas filhas Cyndi e Kiara e minha neta Alexa, amores da minha vida, que mesmo distantes são a razão do meu esforço;

Dedico

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Savina F. Mendoza Lingán, por dar-me a vida; aos meus irmãos Irma, Neli, Lupe e Manuel pelo amor, incentivo e apoio; aos meus queridos tios Julian e Maria e aos meus primos Vicéncia, Carmen, Nilton e Janet, com quem compartilhei momentos inesquecíveis.

À Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Departamento de Entomologia e Acarologia, pela oportunidade de realização do curso;

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra pela orientação, amizade, confiança, incentivo, ensinamentos e exemplo de dedicação;

Ao Programa de Estudantes-Convênio de Pós-Graduação – PEC-PG, pela concessão da bolsa de estudo, através da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES;

À Universidad Nacional de San Martín, Tarapoto, Peru, pela autorização da licença de capacitação;

Aos professores do PPG em Entomologia, Drs. Roberto Antonio Zucchi, Fernando Luis Cônsoli, José Mauricio Simões Bento, Wesley Augusto Conde Godoy, Celso Omoto, Ítalo Delalibera Jr., Pedro T. Yamamoto, João Roberto Spotti Lopes, Luis Carlos Marchini e Evôneo Berti Filho por compartilharem seus conhecimentos entomológicos.

Aos doutores Marinéia Lara Haddad do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ e Ricardo Alves de Olinda do Centro de Ciências e Tecnologia - CCT/UEPB, pelo auxilio nas análises estatísticas;

Aos colegas, Alexandre de Sene Pinto, Sandra Regina Magro, Patrícia Milano, Tiago Cardoso, Bruno de Conti, Leandro Delalibera, Alexandre Diniz, Cherre Sade, Aloísio Coelho, Aline Bertin, Guilherme Vasconcelos, Rízia Andrade e Angela Lima, pela amizade, apoio e convívio durante estes anos;

Ao Dr. Valmir A. Costa do Laboratório de Controle Biológico, Centro Experimental Central do Instituto Biológico de Campinas, pela atenção e confirmação da posição taxonômica dos parasitoides;

Aos amigos do Laboratório de Biologia de Insetos: Neide Graciano, Cristina Jensen e Adriana Marques pela ajuda constante e amizade;

Aos amigos Winston Rios, Juan Carlos Guerrero, Clederson Ferreira e Pablo Coronel pelo convívio e amizade;

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Entomologia, pelos momentos agradáveis que passamos juntos.

SUMÁRIO

RESUMO **9**

ABSTRACT **11**

LISTA DE FIGURAS **13**

LISTA DE TABELAS **19**

1 INTRODUÇÃO **23**

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA **25**

2.1 Distribuição e danos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) 25

2.2 Biologia de *E. heros* 27

2.3 Dieta natural na criação de pentatomídeos fitófagos 30

2.4 Dieta artificial na criação de pentatomídeos fitófagos 31

2.5 Produção de parasitoides 33

3 MATERIAL E MÉTODOS **35**

3.1 Desenvolvimento de uma dieta artificial liofilizada para *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) 35

3.1.1 Criação estoque de *E. heros* em laboratório 35

3.1.2 Biologia comparada de *E. heros* em dieta natural e em dieta artificial 38

3.2 Aprimoramento da dieta artificial com componentes liofilizados (DAL) e anticontaminantes para criação de *E. heros* 40

3.2.1 Etapa 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo material liofilizado (DAL) e anticontaminantes na biologia de *E. heros* 41

3.2.2 Etapa 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, na dieta artificial (DAL), na biologia de *E. heros* 45

3.2.3 Etapa 3: Efeitos de anticontaminantes, em diferentes doses, adicionados à DAL, na biologia de *E. heros* e no desenvolvimento de patógenos 46

3.2.4 Etapa 4: Quarta geração (F_4) 47

3.3 Avaliação da qualidade da dieta artificial, utilizando-se como critério, danos de *E. heros* e desenvolvimento de parasitoides 48
3.3.1 Número de picadas de alimentação, em grãos de soja, por *E. heros*, criado em dieta natural e em dietas artificiais com material liofilizado (DAL), utilizando-se o teste da fucsina ácida 48
3.3.2 Ovos de *E. heros* criado em dieta natural (D1) e artificial com material liofilizado (DAL) e seu efeito no parasitismo de *T. podisi e T. basalis* 49

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 51
4.1 Biologia comparada de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) em dieta natural e em dieta artificial 51
4.2 Desenvolvimento de uma dieta artificial com material liofilizado (DAL) 55
4.2.1 Etapa 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo material liofilizado (DAL) e anticontaminantes, na biologia de *E. heros* 55
4.2.2 Etapa 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, na dieta artificial (DAL), na biologia de *E. heros* 61
4.2.3 Etapa 3: Efeitos de anticontaminantes em diferentes doses, adicionados à DAL, na biologia de *E. heros* e no desenvolvimento de patógenos 65
4.2.4 Etapa 4: Quarta geração (F_4) 76
4.3 Análise de agrupamento 80
4.4 Tabela de vida de fertilidade de *E. heros*, criado em diferentes dietas artificiais com vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes 81
4.5 Avaliação da qualidade da dieta artificial, utilizando-se como critérios danos de *E. heros* e desenvolvimento de parasitoides 85
4.5.1 Número de picadas de alimentação, em grãos de soja, por *E. heros*, criado em dieta natural e em dietas artificiais utilizando-se o teste da fucsina ácida 85
4.5.2 Ovos de *E. heros* criado em dieta natural e artificial e seu efeito no parasitismo de *T. podisi e T. basalis* 86

5 CONCLUSÕES 91

REFERÊNCIAS 93

RESUMO

Desenvolvimento de dietas artificiais liofilizadas para *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), com vistas à produção de *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858)

O objetivo da presente pesquisa foi desenvolver uma dieta artificial que possa suprir as necessidades nutricionais de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) para produzir insetos em quantidade, comparáveis aos da natureza e que produzam descendentes, através das gerações, possibilitando a criação dos parasitoides de ovos, *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) (Hymenoptera: Platygastridae), para a liberação em campo, em Programas de Controle Biológico Aplicado. Verificou-se o efeito das dietas artificiais selecionadas para a criação do percevejo, sobre a sua capacidade alimentar, utilizando-se o teste da fucsina ácida e a capacidade de parasitismo de ambos os parasitoides, como forma de avaliar a qualidade da dieta. Assim, realizou-se o estudo da biologia de *E. heros* em condições controladas de temperatura (25±2°C), umidade relativa (60±10%) e fotofase de 14 horas. Treze dietas foram testadas numa sequência de experimentos: no primeiro, compararam-se a dieta natural (vagem de feijão e amendoim) e a dieta artificial de Panizzi et al. (2000) modificada por Fortes et al. (2006); na segunda fase, incorporaram-se os componentes da dieta natural numa dieta artificial com vagem de feijão liofilizada (DAL), comparando-se proporções destes componentes e diferentes anticontaminantes e doses. Foram selecionadas, para a criação de *E. heros*, duas dietas artificiais secas compostas de vagem de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) liofilizada e moída (35%), amendoim (*Arachis hypogaea* L., 1753) triturado em liquidificador (35%), sacarose (5%) e água (25%) mais anticontaminantes, pois foram mais eficientes do que as dietas natural e liofilizada sem anticontaminantes, ao longo das gerações. As dietas artificiais selecionadas têm a mesma composição, porém com anticontaminantes diferentes; a primeira delas contém nipagin (10000 ppm) + ácido sórbico (800 ppm) e a outra, nipagin (10000 ppm) + ácido sórbico (800 ppm) + tetraciclina (0,0076 ppm). Os insetos da quarta geração, criados nestas dietas artificiais com material liofilizado, tiveram características biológicas semelhantes àqueles obtidos na dieta natural, incluindo a razão sexual, a duração do desenvolvimento (ovo–adulto), as deformações de asas e pernas, a longevidade, o período de pré-oviposição, a porcentagem de fêmeas que ovipositaram e o número de ovos por postura. A viabilidade para o período ovo–adulto foi quase duas vezes superior à viabilidade obtida na dieta natural, sendo de 68% em relação aos 38% obtidos na dieta natural; embora o peso de adultos tenha sido 17% inferior aos criados em dieta natural, a fecundidade foi superior ao valor obtido na dieta natural (282 ovos/fêmea, em média), atingindo a média de 430 ovos/fêmea. A taxa líquida de reprodução (Ro) aumentou com o passar das gerações para as dietas com material liofilizado com anticontaminantes, ocorrendo o inverso com a dieta de material liofilizado sem anticontaminantes, mostrando a respectiva adaptação e degeneração ao longo das gerações. As dietas com material liofilizado mostraram-se adequadas, pois os percevejos causaram danos aos grãos de soja, introduzindo seus estiletes de forma análoga àqueles criados em dieta natural, e os ovos de *E. heros*, criados nestas dietas, foram igualmente parasitados por *T. basalis* e *T. podisi*, em relação àqueles colocados pela espécie criada em dieta natural. As 2 dietas liofilizadas selecionadas permitiram a produção de *E. heros* ao longo de, pelo menos 10 gerações, sem degeneração e com potencial de produção dos parasitoides de ovos *T. podisi* e *T. basalis*, para programas de Controle Biológico Aplicado na cultura da soja.

Palavras-chave: Percevejo-marrom da soja; Dieta artificial liofilizada; Anticontaminantes; Parasitoides de ovos; Controle biológico

ABSTRACT

Development of lyophilized artificial diets for rearing *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) to produce *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 and *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858)

The objective of the present research was to develop an artificial diet to meet the nutritional needs for the mass production of individuals of *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), comparable to those produced in Nature and which can produce successive generations thus making possible the rearing of the egg parasitoids, *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 and *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) (Hymenoptera: Platygastridae), for field releasing in Applied Biological Control Programs. The effect of selected artificial diets on stink bug feeding capacity, using the acid fuchsin test, and the parasitism capacity of both parasitoids, were verified as a way of evaluating diet quality. The biology of *E. heros* was studied under controlled conditions of temperature (25±2°C), relative humidity (60±20%) and a 14 hour photophase. Thirteen diets were tested in a series of experiments: in the first experiment, a natural diet (dry bean and peanut pods) and Panizzi et al.'s (2000) artificial diet, modified by Fortes et al. (2006), were compared; in the second phase, the components of the natural diet were incorporated into an artificial diet with lyophilized drybean pods (DAL), comparing different ratios of these components and different anti-contaminants and dosages. Two dry artificial diets, composed of lyophilized and ground up dry bean pods (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) (35%), peanuts (*Arachis hypogaea* L., 1753) crushed in a blender (35%), sucrose (5%) and water (25%), plus anti-contaminants, were chosen for rearing *E. heros* since over the generations they were found to be more efficient than the natural diet and the lyophilized diet without anti-contaminants. The selected artificial diets have the same composition but with different anti-contaminants: one with nipagin (10000 ppm) + sorbic acid (800 ppm) and the other with nipagin (10000 ppm) + sorbic acid (800 ppm) + tetracyclin (0.0076 ppm). The 4th generation insects reared on these artificial diets with lyophilized material had similar biological characteristics as those obtained from the natural diet, including the sex ratio, development time (egg–adult), wing and leg deformations, longevity, pre-oviposition period and the percentage of females which oviposited and number of eggs per oviposition. The viability for the egg-adult period (68%) was almost twice as high for the artificial diet as that obtained for the natural diet (38%). However, adult weight was 17% less than for individuals reared on natural diet, although fecundity was higher for insects reared on the artificial diet, reaching a mean of 430 eggs/female compared to 282 eggs/female on the natural diet. The net reproduction rate (Ro) increased with the number of generations for diets containing lyophilized material plus anti-contaminants, with the opposite occurring for the diet of lyophilized material without anti-contaminants, showing the respective adaptation and degeneration over the generations. The diets with lyophilized material were considered suitable because the stink bugs damaged the soybean grains, introducing their stylets in the same way as those insects reared on the natural diet. Similarly, *E. heros* eggs reared on these diets were equally parasitized by *T. basalis* and *T. podisi*, in the same way as those laid by the species reared on the natural diet. The two lyophilized diets selected allowed *E. heros* production during at least 10 generations, without any degeneration and with a potential to produce the egg parasitoids *T. podisi* and *T. basalis*, for Applied Biological Control Programs in soybeans.

Keywords: Brown stink bug in soybeans; Lyophilized artificial diet; Anti-contaminants; Egg parasitoids; Biological control

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sequência de criação de *Euschistus heros* no Laboratório de Biologia de Insetos da SALQ. A: Gaiola de 20 x 30 x 40 cm para percevejos adultos, contendo dieta natural: vagem de feijão, amendoim e soja (A1) e tecido de algodão (substrato de oviposição) contendo as posturas (A2); B: Ovos e ninfas de primeiro ínstar em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, onde os percevejos permanecem até o 2° ínstar; C: Bandejas de material plástico de 25 x 25 x 12 cm para desenvolvimento ninfal (detalhe de ninfas de terceiro e quinto ínstares).....36

Figura 2 - Casal de *Euschistus heros* em copo de material plástico transparente de 350 ml (7,5 e 5,5 cm de diâmetro e 11 cm de altura) invertido (A), tira do tecido de tule (2,5 x 10 cm) pendurada no interior do copo como substrato de postura (B), dieta artificial e rolo dental umedecido na placa de Petri de 9 cm (C).....39

Figura 3 - Obtenção de material liofilizado e preparo da dieta artificial liofilizada para criação de *Euschistus heros*, com os diferentes componentes. Liofilizador "SAVANT" modelo Novalyphe – NL150 (A); insumos (B): vagem de feijão liofilizada e moída (B1), amendoim triturado em liquidificador (B2), sacarose (B3), água (B4) e anticontaminantes: ácido sórbico (B5), metil parahidroxibenzoato (nipagin) (B6), tetrex (tetraciclina) (B7); preparação (C): componentes misturados (C1-2), dieta cortada em quadrados de 5 a 6 mm (C2-3) e envolvida em papel alumínio, seca, e armazenada, para, posteriormente, ser oferecida aos percevejos (D).....41

Figura 4 - Ovos de *Euschistus heros* submetidos ao parasitismo por *Telenomus podisi.* Córion mostrando abertura de saída do parasitoide (a); ovos parasitados inviáveis (b); ovos "não parasitados" (c); ovos com embriões desenvolvidos e mortos (d) e córion (e)...49

Figura 5 - Deformações de asas e pernas de *Euschistus heros* criado em dieta natural e artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006). Inseto com asas deformadas (vista dorsal) (A), inseto com pernas deformadas (vista ventral) (B); perna sadia (C) e pernas com diferentes graus de deformação (D).....52

Figura 6 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros* criado em D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim) e D2 (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)). Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. As setas indicam 90% da postura.....53

Figura 7 - Desidratação (%) e tempo de liofilização para vagem de feijão e sementes de amendoim.....55

Figura 8 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e em dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D2 (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000ppm); D5 (D2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e 15% de amendoim triturado em liquidificador). Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. As setas indicam 90% da postura.....58

Figura 9 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, criado em dieta natural e em dietas artificiais com diferentes proporções de vagem de feijão liofilizada: amendoim triturado em liquidificador (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D3 (DAL 50:50, sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); D6 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); D7 (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm; D8 (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm). As setas indicam 90% da postura.....62

Figura 10 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros,* criado em dieta artificial, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D10 (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); D12 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm); D13 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm). Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. As setas indicam 90% da postura.....70

Figura 11 - Peso de *Euschistus heros* mantido em 3 dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes ao longo de 10 gerações. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante), descartada após da sexta geração por apresentar baixa viabilidade; D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm). (*) P: progenitores; (**) F_1 - F_{10}: número de gerações por dieta.....71

Figura 12 - Porcentagem e tempo (dias) de sobrevivência de *Euschistus heros* fêmeas, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D2 (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); D5 (D2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); D6 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); D7 (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); D8 (DAL 75:25 +

nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D10 (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); D12 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e D13 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm).....73

Figura 13 - Porcentagem e tempo (dias) de sobrevivência de *Euschistus heros* machos, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D2 (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); D5 (D2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); D6 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); D7 (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); D8 (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D10 (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); D12 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e D13 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm).....74

Figura 14 - Postura acumulada de *Euschistus heros* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). Tratamentos: D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D2 (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); D5 (D2 adicionando-se

15% de vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); D6 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); D7 (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); D8 (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D10 (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); D12 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e D13 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm).....75

Figura 15 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, da quarta geração (F_4) criado em 4 dietas artificiais, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm). As setas indicam 90% da postura.....77

Figura 16 - Fenograma UPGMA por distância Euclidiana média das 4 etapas de aprimoramento da dieta artificial contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes para *Euschistus heros*. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D2 (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); D5 (D2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); D6 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); D7 (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); D8 (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D10 (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); D12 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e D13 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-

2000 ppm). D1* nas etapas 3 e 4, foram utilizadas as médias do experimento 1 e das etapas 1 e 2 83

Figura 17 - Freqüência de postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis,* desenvolvidos em ovos de *Euschistus heros* criado em dieta natural e 2 dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Duração e viabilidade do desenvolvimento parcial e total, longevidade, peso de adultos e número de ovos por fêmea de *E. heros* obtidos por vários autores.....29

Tabela 2 - Dietas utilizadas nos diferentes experimentos para desenvolvimento de uma dieta adequada para *Euschistus heros*.....37

Tabela 3 - Composição da dieta D2 utilizada para *Euschistus heros*.....38

Tabela 4 - Etapas de aprimoramento da dieta artificial com material liofilizado (DAL) e anticontaminantes para criação de *Euschistus heros*.....42

Tabela 5 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto, peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* criado em dieta natural e artificial. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....54

Tabela 6 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e em dietas artificiais contendo vagem liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....59

Tabela 7 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e em dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....60

Tabela 8 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* criado em dieta natural e em dietas artificiais com diferentes proporções de vagem de feijão liofilizada: amendoim triturado em liquidificador (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....63

Tabela 9 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* em dieta artificial com diferentes proporções de vagem de feijão liofilizada: amendoim triturado em liquidificador (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h 64

Tabela 10 - Frequência de trocas da dieta artificial e número de dias entre cada substituição durante o período 2° ínstar-adulto na criação de *Euschistus heros* em dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada e moída (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....65

Tabela 11 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* criado em dieta artificial, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....68

Tabela 12 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* criado em dieta artificial, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....69

Tabela 13 - Número de gerações de *Euschistus heros* em diferentes dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes, antes de serem

descartadas.....72

Tabela 14 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* da quarta geração (F_4) criado em 4 dietas artificiais, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....78

Tabela 15 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* da quarta geração (F_4) criado em 4 dietas artificiais, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....79

Tabela 16 - Tabela de vida de fertilidade de *Euschistus heros,* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses (Método Jackknife).....84

Tabela 17 - Número de crostas salivares produzidas diariamente por *Euschistus heros* em grãos de soja quando criado em dieta natural e duas dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....86

Tabela 18 - Ovos parasitados, viabilidade, “predação”, emergência, longevidade de fêmeas e razão sexual, da geração F_1 de *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* desenvolvidos em ovos de *Euschistus heros* criado em dieta natural e artificial contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.....89

1 INTRODUÇÃO

A soja, [*Glycine max* L. Merril (1917)], foi introduzida no Brasil, na Bahia, em 1882, sendo trazida para São Paulo pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC) em 1892, e, posteriormente, levada para outras partes do país (CÂMARA, 1998). Começou a ser cultivada comercialmente no Rio Grande do Sul em meados de 1940, e, a partir da década de 1970, se expandiu para as outras regiões do Brasil (YUYAMA; SUZUKI; CAMACHO, 2007). Atualmente, se destaca por apresentar dupla aptidão: produzir alimentos saudáveis e gerar energia renovável, também conhecida como biodíesel (PRADO, 2007), sendo considerada hoje uma "commoditie nacional" em virtude da alta produtividade e da geração de renda no país, ocupando o segundo lugar do produto interno bruto (PIB) de todo o agronegócio do país, colocando o Brasil como o segundo produtor mundial (FAOSTAT, 2009), com mais de 24 milhões de hectares cultivados na safra 2010/11 (CONAB, 2011).

As pragas têm um papel importante no decréscimo da produção desta leguminosa, sendo de maior ou menor importância, dependendo da região em que a soja é plantada e do manejo da cultura. Os percevejos da soja representam o principal grupo de pragas, em todo o país, sendo *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), hoje, a espécie mais abundante do complexo de pentatomídeos que ocorrem na soja, provavelmente devido a problemas decorrentes da mudança climática, pois esta espécie era mais frequente em áreas mais quentes, como norte do Paraná e centro-oeste brasileiro (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999). A criação destes pentatomídeos visando ao seu controle biológico foi tema relevante no Brasil nas duas últimas décadas; entretanto, nos programas de controle biológico para percevejos, utilizando-se parasitoides de ovos, os insetos são criados em dieta natural e, nesta dieta, não se consegue manter os insetos por gerações sucessivas, pois eles degeneram após algumas gerações em laboratório. Assim, um dos entraves para a produção massal de parasitoides de ovos de percevejos da soja tem sido a inexistência de uma dieta para criação das diferentes espécies de pentatomídeos da cultura.

Tem-se tentado, no Brasil, desenvolver dietas artificiais para tais percevejos; a primeira delas desenvolvida por Panizzi; Parra; Santos e Carvalho (2000), para criação de *Nezara viridula* (L., 1758), a partir de uma dieta semilíquida relatada por Kamano (1980) para criação do alidídeo *Riptortus clavatus* (Thunberg, 1783) no Japão, porém utilizando-se componentes facilmente adquiridos no mercado brasileiro. Posteriormente, Fortes et al. (2006) testaram esta dieta acrescentando dois tipos de óleo (soja e girassol) para criação de *N. viridula* e *E. heros* e Siqueira

(2007) adicionou à referida dieta, frutos de ligustro [*Ligustrum lucidum* (W. T. Aiton, 1810)], liofilizados para a produção de *E. heros*; com estas modificações, a dieta tornou-se viável, alcançando uma viabilidade 2°ínstar-adulto de 64,1 a 77,8%; entretanto, as mencionadas dietas necessitam de ajustes para manutenção contínua dos insetos em laboratório, pois ainda não são comparáveis à dieta natural.

Os parasitoides de ovos na cultura de soja desempenham importante papel na regulação populacional do complexo de percevejos, principalmente as espécies *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) e *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 consideradas as mais eficientes (CORRÊA-FERREIRA; MOSCARDI, 1995), para serem incorporadas em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP). Uma produção massal destes inimigos naturais, para liberação em campo, depende da disponibilidade de grandes quantidades de ovos dos hospedeiros pentatomídeos durante todo o ano, tornando-se imprescindível a criação dos percevejos em laboratório; para isto, há necessidade de uma metodologia adequada e, sobretudo, que exista uma dieta nutricionalmente completa de seu hospedeiro para garantir a qualidade e a quantidade dos inimigos naturais produzidos. Desta forma, o desenvolvimento de dietas artificiais que possam suprir as necessidades nutricionais de *E. heros*, produzindo insetos comparáveis aos da natureza e que produzam descendentes de qualidade ao longo das gerações foi o objetivo da presente pesquisa.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Distribuição e danos de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae)

E. heros é nativo da região neotropical e é encontrado na maioria das regiões da América do Sul e possivelmente no Panamá (ROLSTON, 1974; PANIZZI; SLANSKY Jr., 1985; CORRÊA-FERRREIRA; PANIZZI, 1999); no Brasil, RS, ocorrem, além de *E. heros* as espécies *E. hansi* e *E. paranticus* (GRAZIA, 1987), *E.* (*M.*) *irroratus* (BUNDE; GRAZIA E MENDONÇA, 2006), *E. picticornis* (Stal, 1872), (LINK, 1979); no Amazonas e Pará ocorre *E. acutus* (Dallas, 1851). Esta última espécie tem ampla distribuição no Caribe e no Noroeste da Região Neotropical, sendo registrada também na Venezuela, Trinidad-Tobago, Peru e Bolívia (AMORIM; PIRES, 1996).

Estudos de zoneamento ecológico, na década de 1990, mostraram que *E. heros* era mais abundante na faixa desde o norte do Paraná até o Centro-Oeste brasileiro, parecendo ser uma espécie mais adaptada às regiões de temperaturas médias elevadas (CIVIDANES; PARRA, 1994; HOFFMAN-CAMPO et al., 2000; CORRÊA-FERREIRA; AZEVEDO, 2002). Segundo estes mesmos autores, esta espécie em conjunto com *Nezara viridula* (L., 1758) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) formavam o "complexo de percevejos da soja", e estavam presentes em frequência e abundância variáveis de região para região e de ano para ano, com predominância de uma ou outra espécie, dependendo das condições climáticas e da cultivar de soja utilizada.

No início do plantio de soja [*Glycine max* (L.) Merril (1917)], no Brasil, *E. heros* não era encontrado na cultura de soja no RS (COSTA; LINK, 1974). A partir de 1980, foi referido no Paraná (PR), como praga secundária, (PANIZZI, 1985) e como praga da cultura nas regiões de baixas latitudes no RS e PR (VILLAS BÔAS et al., 1985; VILLAS BÔAS et al., 1990; CIVIDANES; PARRA, 1994; PANIZZI, 1997; PANIZZI; CORRÊA-FERREIRA, 1997; GALLO et al., 2002), sendo a primeira espécie a aparecer na cultura (estádio R3), seguida das espécies *N. viridula* e *P. guildinii*, em Londrina, PR (PACHECO; CORRÊA-FERREIRA; DE OLIVEIRA, 1999).

Durante a alimentação, os percevejos injetam agentes histolísticos que liquefazem as porções sólidas e semi-sólidas das células, o que permite a ingestão do alimento (PANIZZI, 1991). Ao se alimentarem, introduzindo os estiletes, ocorre a transmissão de patogenos, principalmente a mancha de levedura [*Nematospora corylii* (Peglion, 1901)], (PANIZZI;

SLANZKY Jr., 1985). Quando o ataque é precoce, ao sugarem os ramos, ocorre a “retenção foliar” de plantas de soja, pois, ao provocarem a murcha e a má formação dos grãos e vagens, a planta de soja não amadurece normalmente, permanecendo verde na época da colheita (SOSA-GOMES; MOSCARDI, 1995).

Ao introduzirem os estiletes na superfície das sementes ou tecidos vegetais, forma-se ao redor das peças bucais uma crosta salivar (“flange”), produto da solidificação do excesso da saliva do inseto; essas estruturas, também chamadas de “bainhas estiletares” por pesquisadores brasileiros (COSTA, 1991; PANIZZI; NIVA; HIROSE, 1995; NUNEZ; CORRÊA-FERREIRA, 2002; FORTES et al., 2006), permitem fixar as peças bucais durante o processo alimentar e têm sido utilizadas como indicadores da atividade alimentar de percevejos pentatomídeos (MILES, 1972; BOWLING, 1980); o dano do percevejo estaria assim relacionado ao número de crostas salivares e ao tempo de alimentação. O tempo de alimentação em 24horas para *N. viridula, E. heros, P. guildini* e *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851), foi de 133, 70, 71 e 103 minutos, respectivamente, existindo uma correlação positiva entre tempo de alimentação e danos nas 3 primeiras espécies. A profundidade do dano e superfície danificada das picadas de alimentação em grãos de soja foram de 0,8 e 1,2 mm e de 1,0 e 2,4 mm^2 para *E. heros* e *N. viridula*, respectivamente (DEPIERI; PANIZZI, 2011).

Os números de crostas salivares deixados por *N. viridula* sadios e parasitados por *Trichopoda nitens* (Blanchard, 1966) foram 61,2 e 26,7 respectivamente, durante a fase adulta (COSTA, 1991).

Para *E. heros* foi utilizada a técnica da fucsina para determinar o efeito do parasitismo por *Hexacladia smithii* (Ashmead, 1891) na capacidade de alimentação do percevejo (NUNES; CORRÊA-FERREIRA, 2002), sendo que os autores encontraram, em 48 horas de alimentação, nos primeiros 10 dias de vida, 9,5 e 10,6 crostas salivares para machos e fêmeas respectivamente, diminuindo para 3,5 e 6,9 crostas salivares a partir dos 20 até 40 dias de idade.

Corrêa-Ferreira (2005), avaliando a suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens, nos meses de novembro/dezembro, concluiu que as plantas de soja, mesmo sob o ataque de pesadas infestações de percevejos (até oito por planta), no período vegetativo e no florescimento, não sofreram reduções significativas no rendimento. No estádio R4, o número médio de vagens “chochas” foi diretamente proporcional ao aumento do número de percevejos por planta. No período R5-R6, para as duas espécies de percevejos, o número de grãos

“picados” e inviabilizados cresceram e os rendimentos médios decresceram com o aumento da população, tendo-se obtido, para a qualidade da soja, um dano duas vezes maior para *P. guildinii* em relação a *E. heros*.

2.2 Biologia de *E. heros*

E. heros possui 11 mm de comprimento, é de coloração marrom, com dois espinhos laterais pontiagudos escuros no protórax e uma meia lua amarela na região do escutelo. As posturas contém ovos amarelos, colocados em pequenos grupos, contendo de 5 - 7 ovos, em média (GALLO et al., 2002). Villas Bôas e Panizzi (1980), estudando a biologia de *E. heros*, alimentado com vagens de soja, verificaram que o período de desenvolvimento de ovo a adulto, a uma temperatura de 24ºC, foi de 34,2 dias. A maior mortalidade ninfal ocorreu no 2º ínstar. Segundo esses autores, fêmeas de *E. heros* tiveram um período de pré-oviposição de 13,4 dias e fecundidade de 287,2 ovos por fêmea. As posturas tinham, em média, 7 ovos e uma viabilidade de 93%. A longevidade dos machos foi maior do que a das fêmeas, em vagens de soja. A longevidade média dos adultos foi de 116 dias.

A duração da fase de ovo foi de 8 dias quando alimentado com vagem de soja e sementes de amendoim e soja (CIVIDANES; PARRA, 1994), enquanto que Costa, Borges e Vilela (1998), constataram uma duração do período embrionário de 7 dias e viabilidade de 92%.

Durante o desenvolvimento ninfal, os pentatomídeos passam por cinco ínstares, sendo que as ninfas recém eclodidas usualmente permanecem sobre o córion e, em geral, durante o primeiro ínstar, os insetos não se alimentam. O comportamento gregário nos primeiros estádios de desenvolvimento pode ser explicado como uma proteção contra a dessecação; em *N. viridula*, a agregação ninfal diminui o tempo de desenvolvimento e a mortalidade (LOCKWOOD; STORY, 1986). Segundo Hirose (2005), esta agregação marcante sobre as posturas de *N. viridula* levantam a possibilidade de aquisição de simbiontes depositados na superfície dos ovos. Em pentatomídeos, é possível que microrganismos simbiontes sejam depositados na superfície dos ovos pelas fêmeas durante a oviposição e, ao eclodirem, as ninfas ingiram ou absorvam esses possíveis simbiontes que permitiriam um melhor desenvolvimento do inseto (ABE; MIHIRO; TANAKASHI, 1995; CHAPMAN, 1998).

Em geral, no 2º ínstar o impacto do início da alimentação leva a uma grande mortalidade ninfal. Entretanto, o 5º ínstar pode ser considerado o mais crítico de todo o desenvolvimento ninfal dos pentatomídeos. Neste ínstar, o inseto deve utilizar alimentos de alta qualidade nutricional, a fim de dar origem a um adulto com potencial reprodutivo máximo (RALPH, 1976; PANIZZI, 1991).

O período ovo-adulto com a duração e viabilidade dos diferentes ínstares de *E. heros*, além do peso de adultos, número de ovos/fêmea, e longevidade do inseto criado em diferentes dietas, obtidos por diferentes autores são mostrados na Tabela 1.

As referências bibliográficas sobre a fecundidade de *E. heros* são escassas e, as existentes, indicam variações de 88 a 343 ovos/fêmea, dependendo do tipo de alimento fornecido (dieta natural ou artificial). Assim, em grãos de soja, Villas Bôas e Panizzi (1980), obtiveram 287 ovos/fêmea; Panizzi e Oliveira (1998), 198 ovos/fêmea e Malaguido e Panizzi (1999), 127 ovos/fêmea. Quando o inseto foi alimentado com sementes de *Helianthus annus* (L., 1758), Malaguido e Panizzi (1999) obtiveram 88 ovos/fêmea; Costa; Borges e Vilela, (1998) registraram de 109 a 131 ovos quando alimentado em vagem de feijão, soja e amendoim; Fortes et al. (2006) relataram 266 ovos/fêmea em sementes de soja, amendoim e frutos de ligustro enquanto Siqueira (2007) obteve 343 ovos/fêmea, quando acrescentou vagem de feijão à dieta natural utilizada por Fortes et al. (2006).

Em dieta artificial, Fortes et al. (2006), referiram 121 a 213 ovos/fêmea quando o inseto foi alimentado com a dieta artificial de Panizzi et al. (2000), acrescentada de óleo de soja (Tabela 1); por outro lado, Siqueira (2007), registrou 183 ovos/fêmea na mesma dieta e 50 - 74 ovos/fêmea quando acrescentou frutos de ligustro liofilizados; nesta dieta, o autor também observou que 30 - 80% das fêmeas ovipositaram; o período de pré-oviposição variou de 38 - 73 dias; foram obtidos 6-14 posturas/fêmea; 4 - 6 ovos por postura e 83 - 93% para viabilidade dos ovos.

Pela importância de *N. viridula* para a cultura de soja nas décadas de 1970 a 1980, pois a cultura era restrita ao sul do país, as pesquisas com pentatomídeos, relacionadas à biologia e produção de parasitoides, foram feitas com esta espécie, e, em todos os casos relatados, os insetos utilizados foram trazidos de campo, ou criados em dieta natural composta de sementes de amendoim, soja, girassol e vagem de feijão.

Tabela 1 - Duração e viabilidade do desenvolvimento parcial e total, longevidade, peso de adultos e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* obtidos por vários autores

Dieta	Duração (dias)						Total	Referência
		ínstares						
	Ovo	1°	2°	3°	4°	5°		
Vagem de feijão, sementes de soja e amendoim	7,1	4,6	7,1	5,7	7	7,1	38,6	Costa et al. (1998)
Vagem de feijão, sementes de soja, amendoim e ligustro			5,5	4,8	5,2	8,6	24,1	Fortes et al. (2006)
Dieta artificial			5,3-5,6	4,9-5,1	5,9-6,3	9,4-9,9	25,7-26,9	Fortes et al. (2006)
Dieta artificial			6,7-7,4	5,9-12,1	6,5-15,5	10,7-20,5	28,5-57	Siqueira (2007)
	Viabilidade (%)							
	Ovo	1°	2°	3°	4°	5°	Total	
Vagem de feijão, sementes de soja e amendoim	91,1	96	89,6	95,4	98	92,5		Costa et al. (1998)
Vagem de feijão, sementes de soja, amendoim e ligustro			88,9	97,3	96,7	97,7	81,6	Fortes et al. (2006)
Dieta artificial	65,6-70		93,3-98,5	90,1-94,3	91,3-95,8	83-89,6	64,1-77,8	Fortes et al. (2006)
Dieta artificial	82,9-93,4							Siqueira (2007)
	Longevidade (dias)		Peso adultos (mg)		N° ovos por fêmea			
	♀	♂	♀	♂				
Vagem de feijão, sementes de soja e amendoim	52,1-82,5	46,5-99,2			109-131			Costa et al. (1998)
Vagem de feijão, sementes de soja, amendoim e ligustro			84,3	81,2	266,2			Fortes et al. (2006)
Dieta artificial	69,7-87,6	68-89,8	68-78,4	66,4-71,5	120,5-213,4			Fortes et al. (2006)

2.3 Dieta natural na criação de pentatomídeos fitófagos

Menusan Jr., (1943) utilizou pela primeira vez, vagens verdes de feijão *Phaseolus vulgaris* (L., 1753) como fonte alimentar para percevejos; posteriormente, Sailer (1952) criou *N. viridula*; Wilde (1968) *Acrosternum hilare* (Say, 1832) e Mc Pherson (1971), *Euschistus tristigmus tristigmus* (Say, 1831) nesta mesma dieta; Harris e Todd (1981) adicionaram, à citada dieta para criação de *N. viridula*, amendoim, *Arachis hypogaea* (L., 1753), cru e descascado. Entretanto, segundo estes autores, esta associação gerou problemas de redução no vigor e na viabilidade da colônia quando os percevejos foram criados por gerações sucessivas em laboratório. O amendoim é nativo de América do Sul, as sementes contêm componentes ativos como flavonoides, ácidos fenólicos, fitoesteróis, alcalóides e estilbeno; têm sido citados para o extrato de sementes de amendoim alguns efeitos terapêuticos, assim como ação antioxidante, bactericida e antifúngica (LOPES et al., 2011).

Costa (1991) encontrou que a dieta mais adequada para a manutenção de *N. viridula* em laboratório foi aquela composta de amendoim e soja 'Paraná'. Corrêa-Ferreira (1985) testou uma nova técnica de criação de percevejos utilizando sementes secas de soja e plantas de soja com vagens, obtendo para *N. viridula* mortalidade ninfal de 37,5%.

Panizzi et al. (1996) utilizaram frutos de ligustro [*Ligustrum lucidum* (W. T. Aiton, 1810)], para criação de *N. viridula*, encontrando um período de desenvolvimento ninfal de 30 e 27 dias para fêmeas e machos respectivamente e uma fecundidade de 2 a 3 vezes maior quando comparada com aquela obtida com outros alimentos, inclusive soja.

Até hoje, as dietas naturais têm se mostrado como as mais adequadas para a criação de percevejos, tendo se aperfeiçoado a metodologia de criação na EMBRAPA-Soja e sendo oferecidos os alimentos colados em cartelas de 10 x 8 cm, adicionando-se, separadamente, vagem de feijão e frutos de ligustro em gaiolas e/ou potes de plástico com diferentes medidas e colocando-se no interior, tecido de organza, tule, algodão ou plantas de soja ou de picão-preto como substrato de oviposição (CORRÊA-FERREIRA; AZEVEDO, 1997; CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999; BORGES et al., 2006; FORTES et al., 2006).

2.4 Dieta artificial na criação de pentatomídeos fitófagos

Para pentatomídeos fitófagos, não houve grande avanço no desenvolvimento de dietas artificiais e elas tiveram como base as dietas utilizadas para Lepidoptera. *Euschistus variolarius* (Palisot de Beauvois, 1817) foi a primeira espécie a ser criada em dieta artificial (SCHEEL; BECK; MEDLER, 1957); Jensen e Gibbens (1973), criaram ninfas de *N. viridula* em dieta merídica desenvolvida para lagartas de Lepidoptera, observando que o tempo de desenvolvimento ninfal dobrou e a mortalidade foi muito alta. Os adultos tiveram menor ganho de peso e as fêmeas não colocaram ovos, quando feita a comparação com dieta natural à base de vagem de feijão.

Posteriormente Kamano (1980), no Japão, conseguiu criar ninfas de *Riptortus clavatus* (Thunberg, 1783) (Hemiptera: Alydidae), em uma dieta holídica seca composta de caseína de soja, uma mistura de 19 aminoácidos, amido, sacarose, celulose, mistura de sais, colesterol, ácido ascórbico e uma combinação de 9 vitaminas do complexo B, com resultados muito aquém da dieta natural.

Noda e Kamano (2002), adequaram esta dieta de *R. clavatus* para uma dieta merídica semi-sólida, na criação de *N. viridula* e de *N. antennata,* adicionando dextrina e aumentando a quantidade de óleo de soja, observando, para a primeira espécie, uma viabilidade ninfal superior a 87% e fecundidade semelhante àquela das fêmeas alimentadas com sementes de soja e amendoim.

Debolt (1982) foi o primeiro autor a publicar resultados promissores na utilização de dietas artificiais para heterópteros, utilizando uma dieta merídica líquida em vidros selados com “parafilm”. O referido autor conseguiu manter uma colônia de *Lygus hesperus* (Knight, 1917) (Hemiptera: Miridae) por mais de 13 gerações, com as ninfas apresentando tempo de desenvolvimento semelhante às criadas em dieta natural e com as fêmeas colocando maior número de ovos em relação àquelas criadas em dieta natural, sendo inclusive mais longevas.

Cohen (2000), a partir da dieta de Debolt (1982) e de outra dieta utilizada para a criação de *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois, 1818), desenvolveu uma dieta oligídica mais barata e que exigia menor mão-de-obra e que permitiu a criação de *L. hesperus* por 15 gerações e de *L. lineolaris* por 5 gerações.

No Brasil, a criação de *N. viridula* em dieta artificial foi iniciada por Panizzi et al. (2000), a partir de modificações da dieta holídica seca utilizada para *R. clavatus* (KAMANO, 1980), em uma merídica seca, utilizando componentes adquiridos no mercado brasileiro: germe de trigo, proteína de soja e fécula de batata, adicionando-se solução vitamínica e carboidrato (dextrosol), com resultados de baixa mortalidade ninfal (30%); entretanto, o período ninfal foi maior e o peso dos adultos menor quando comparado com os insetos alimentados em vagens de soja.

Fortes et al. (2006), compararam dois tipos de óleo na dieta utilizada por Panizzi et al. (2000), observando que para *E. heros* os melhores resultados foram obtidos com a dieta contendo óleo de soja; ainda assim, as dietas artificiais utilizadas foram inferiores à dieta natural.

Mais recentemente, Siqueira (2007), avaliou a dieta artificial seca contendo óleo de soja desenvolvida por Fortes et al. (2006), acrescentando frutos de ligustro (*L. lucidum*) liofilizados para criação de *E. heros;* adicionou 1,0; 5,0 e 10,0 g de frutos de ligustro liofilizados, correspondendo a 1,49%, 7,44% e 14,89% do total de ingredientes da dieta. Todas as dietas permitiram o desenvolvimento das ninfas, sendo que com o aumento da quantidade de frutos liofilizados adicionados, o tempo de desenvolvimento do 2° até o 5° ínstar foi alongado e a sobrevivência das ninfas decresceu; a produção de ovos também foi afetada nos diferentes tratamentos.

Segundo Alves e Moino (1998), uma dieta artificial deve conter anticontaminantes como antibióticos e substâncias fungistáticas que evitem ou reduzam a contaminação por microorganismos. Os agentes químicos mais utilizados para dietas artificiais são: formaldeído (0,03 - 0,3%), metil parahidroxibenzoato (nipagin) (0,04 - 2%), butil e propilparahidroxibenzoato; hipoclorito de sódio (0,01 - 1%), ácido propiônico; benzoato de sódio, ácido benzóico; sorbato de potássio; ácido sórbico (0,05 - 0,15%); estreptomicina, penicilina e aureomicina (PARRA, 2010). Entretanto, existem poucas pesquisas sobre o uso de anticontaminantes para dietas de pentatomídeos fitófagos.

Alverson e Cohen (2002) observaram que o nipagin nas concentrações de 1000, 1500 e 2000 ppm, afetou a sobrevivência, peso seco dos insetos (biomassa), fecundidade e o período de desenvolvimento para *L. hesperus*. Os mesmos parâmetros foram afetados quando foram adicionadas à dieta esporos de *Aspergillus niger* e antifúngicos para controlar o crescimento do fungo (ALVERSON, 2003).

2.5 Produção de parasitoides

Foram realizadas muitas pesquisas utilizando dieta natural, para obtenção de posturas dos percevejos para produção massal e liberação de parasitoides de ovos na cultura de soja. Embora tenha havido alguns avanços na biologia, eficiência de parasitismo e comportamento dos hospedeiros e parasitoides, as colônias de percevejos mantidos em laboratório, degeneram no decorrer das gerações, devendo haver frequentes introduções de percevejos do campo nas criações de laboratório (CORRÊA-FERREIRA; PANIZZI, 1999; PERES; CORRÊA-FERREIRA, 2001; SILVA et al., 2007; SILVA; CALIZOTTI; PANIZZI, 2011); este é o principal problema e que impediu o avanço do controle biológico nesta cultura no Brasil.

Duas espécies de parasitoides são consideradas as mais importantes na cultura de soja: *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) e *Telenomus podisi* Ashmead, 1893; assim, a predominância de uma ou de outra espécie está intimamente relacionada à abundância do hospedeiro, embora na sua ausência, parasite ovos de outras espécies de pentatomídeos (JONES Jr. 1988; CORRÊA-FERREIRA, 1986). *T. podisi* "prefere" parasitar ovos de *E. heros*, enquanto que *T. basalis* "prefere" ovos de *N. viridula*, chegando a ser responsável por 98% do parasitismo, na região norte do Paraná (FOERSTER; QUIRÓZ, 1990; JONES Jr., 1988; CORRÊA-FERREIRA; MOSCARDI, 1995; MEDEIROS et al., 1997; PACHECO; CORRÊA-FERREIRA; DE OLIVEIRA, 2000; CORRÊA-FERREIRA, 2002; DOETZER; FOERSTER, 2007).

O parasitismo obtido por Fortes et al. (2006), durante 24horas, por *T. basalis* criado em ovos de *E. heros* provenientes da dieta artificial de Panizzi et al. (2000) acrescentado de óleo de soja, foi de 85 - 92%; a longevidade variou de 14 - 22 dias para machos e de 14 - 17 dias para fêmeas, sem diferir daqueles insetos provenientes de dieta natural, que foi de 21 e 13 dias para machos e fêmeas, respectivamente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenvolvimento de uma dieta artificial liofilizada para *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae)

Os experimentos foram realizados no laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP. Foram estudadas 13 dietas nos diversos trabalhos, numeradas de D1 a D13 (Tabela 2).

3.1.1 Criação estoque de *E. heros* em laboratório

A colônia de *E. heros* foi iniciada em fevereiro de 2009, com posturas obtidas da criação do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ, coletada em campo de soja em 2008, em Ribeirão Preto, São Paulo; em janeiro de 2010 foram acrescentadas novas posturas de *E. heros* à criação, trazidas da EMBRAPA - Soja, Londrina, PR.

Os percevejos adultos foram mantidos em gaiolas de 20 x 30 x 40 cm (Figura 1A) com as 4 laterais feitas de acrílico transparente, para evitar o ressecamento do alimento; no lado superior, também de acrílico, foi feita uma abertura de 30 x 0,5 cm, onde foi colocado o tecido de algodão (substrato de postura), sendo a parte inferior da gaiola de alumínio; o lado inferior interno foi coberto com papel reciclável e em cima do papel foi colocada a dieta natural composta de vagem de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., 1753), sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L., 1753) e de soja [*Glycine max* (L.) Merril (1917)], em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro e /ou tampas de caixas Gerbox de 11 x 11 cm (Figura A1); a dieta foi trocada a cada 6-7 dias. Foram utilizadas tiras de tecido de algodão (30 x 25 cm) penduradas no lado superior da gaiola como substrato de postura e abrigo (Figura A2). Os ovos colocados no tecido foram retirados diariamente para manutenção de colônias de *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858) (Hymenoptera: Platygastridae) e a cada 5 - 6 dias, para continuidade da criação; neste caso, foram colocados em placas de Petri de 9,0 cm (Figura 1B), contendo rolo dental umedecido no interior das mesmas. As ninfas desenvolveram-se nas placas de Petri e ao passarem para o segundo ínstar, eram levadas para bandejas de material plástico de 25 x 25 x 12

cm (Figura 1C) forradas com papel reciclável na parte inferior e contendo a dieta natural no seu interior; a troca da dieta foi feita a cada 6 - 7 dias até a emergência. Após 10 dias do início da emergência, os adultos foram transferidos para as gaiolas descritas anteriormente. A sala de criação foi mantida com temperatura de 25±2°C, UR de 60±10% e fotofase de 14 horas.

Figura 1 - Sequência de criação de *Euschistus heros* no Laboratório de Biologia de Insetos da ESALQ. A: Gaiola de 20 x 30 x 40 cm para percevejos adultos, contendo dieta natural: vagem de feijão, amendoim e soja (A1) e tecido de algodão (substrato de oviposição) contendo as posturas (A2); B: Ovos e ninfas de primeiro ínstar em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, onde os percevejos permanecem até o 2° ínstar; C: Bandejas de material plástico de 25 x 25 x 12 cm para desenvolvimento ninfal (detalhe de ninfas de terceiro e quinto ínstares)

Tabela 2 - Dietas utilizadas nos diferentes experimentos para desenvolvimento de uma dieta adequada para *Euschistus heros*

Dietas	**Composição**
D1	Dieta natural: vagem de feijão e amendoim
D2	Dieta artificial de Panizzi et al. (2000) modificada por Fortes et al. (2006)
D3	Vagem de feijão liofilizada e moída (35g), amendoim triturado em liquidificador (35g), sacarose (5g) e água (25 mL) sem anticontaminante
D4	Vagem de feijão liofilizada e moída (35g), amendoim triturado em liquidificador (35g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-8000 ppm
D5	D2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador
D6	Vagem de feijão liofilizada e moída (35g), amendoim triturado em liquidificador (35g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm
D7	Vagem de feijão liofilizada e moída (25g), amendoim triturado em liquidificador (75g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-8000 ppm
D8	Vagem de feijão liofilizada e moída (75g), amendoim triturado em liquidificador (25g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-8000 ppm
D9	Vagem de feijão liofilizada e moída (35g), amendoim triturado em liquidificador (35g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm
D10	D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm
D11	D9 + tetraciclina-0,00765 ppm
D12	Vagem de feijão liofilizada e moída (35g), amendoim triturado em liquidificador (35g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm
D13	Vagem de feijão liofilizada e moída (35g), amendoim triturado em liquidificador (35g), sacarose (5g) e água (25 mL) + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm

3.1.2 Biologia comparada de *E. heros* em dieta natural e em dieta artificial

Foram individualizadas cento e cinquenta (150) ninfas de 2° ínstar de *E. heros* em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro, e alimentadas com a dieta D1: dieta natural, composta de vagem de feijão e sementes de amendoim e com a dieta D2: dieta artificial, que foi utilizada por Panizzi et al. (2000) na criação de *Nezara viridula* (L., 1758) e posteriormente acrescentado óleo de soja por Fortes et al. (2006) (Tabela 3). O desenvolvimento e a viabilidade ninfal foram comparados nas duas dietas, sendo que cada inseto foi considerado uma repetição. A vagem de feijão foi substituída a cada 5 - 6 dias e a dieta artificial a cada 48-72 horas, ao se observar a presença de fungos.

Tabela 3 - Composição da dieta D2 utilizada para *Euschistus heros* (1)

Componente	**Quantidade**
Germe-de-trigo	12,5 g
Proteína-de-soja	20,0 g
Fécula-de-batata	5,0 g
Sacarose	5,0 g
Celulose	7,5 g
Óleo de soja	12,5 mL
Solução vitamínica (2)	5,0 mL
Água	30,0 mL
Dextrosol	5,0 g

(1) Dieta artificial confeccionada a partir de Panizzi et al. (2000) e Fortes et al. (2006)
(2) Composição da solução vitamínica: Niacinamida 1g, pantotenato de cálcio 1g, tiamina 0,25g, riboflavina 0,5g, piridoxina 0,25g, ácido fólico 0,25g, biotina 0,02ml, vitamina B_{12} 1g, adicionada em 1000 mL de água destilada

Com 24horas de idade, os adultos foram pesados e formaram-se 30 casais para cada tratamento (com diferença máxima entre fêmeas e machos de 72 horas); cada casal foi mantido em copos de material plástico transparente de 350 ml (7,5 e 5,5 cm de diâmetro e 11 cm de altura) invertidos sobre uma placa de Petri de 9 cm, com uma tira de tule (2,5 x 10 cm), pendurada no interior do copo como substrato de oviposição; sobre a placa foi colocada a dieta e um rolo dental umedecido como fonte de água, fornecida por capilaridade (Figura 2A-C).

As posturas de cada fêmea foram coletadas diariamente, contadas e mantidas em tubos de ensaio de 1,0 x 7,0 cm, até a eclosão das ninfas, avaliando-se a viabilidade e a duração da fase de ovo, em 100% das posturas (geração F_1); a duração do primeiro ínstar foi determinada tomando-se 20 posturas ao acaso de cada tratamento e contando-se o número de dias desde a eclosão das ninfas até o inicio do segundo ínstar.

Por meio de observações diárias foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos (e/ou morfológicos): duração do desenvolvimento e viabilidade parcial (por ínstar) e total do período ovo-adulto; peso dos adultos com 24horas de idade; deformações de pernas e asas; razão sexual: ♀/ (♀ + ♂); período de pré-oviposição e oviposição; longevidade; número de ovos/fêmea; número de posturas/fêmea; número de ovos/postura e porcentagem de fêmeas que realizaram posturas. A sala de criação foi mantida com temperatura controlada de 25±2°C, UR de 60±10% e fotofase de 14 horas.

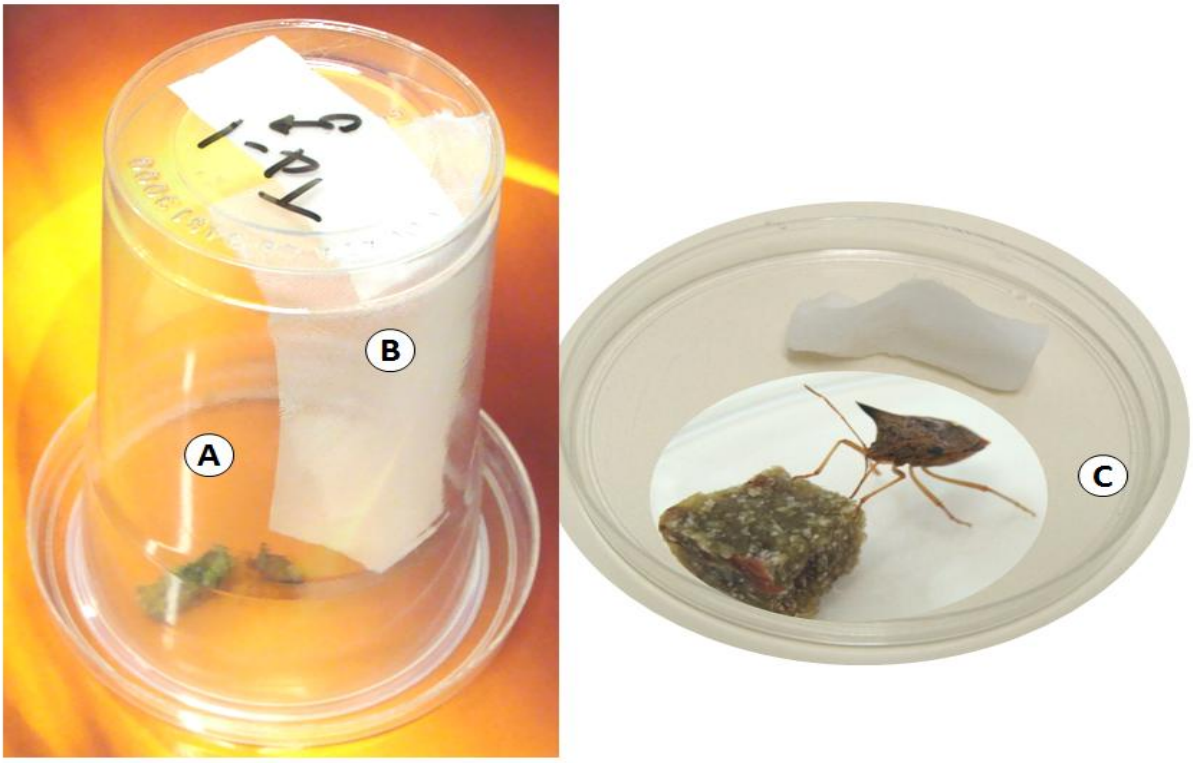

Figura 2 - Casal de *Euschistus heros* em copo de material plástico transparente de 350 ml (7,5 e 5,5 cm de diâmetro e 11 cm de altura) invertido (A), tira do tecido de tule (2,5 x 10 cm) pendurada no interior do copo como substrato de postura (B), dieta artificial e rolo dental umedecido na placa de Petri de 9 cm (C)

Os dados biológicos foram submetidos à análise de variância e as medias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, num delineamento inteiramente casualizado. Os dados e os pressupostos associados ao modelo utilizado foram analisados utilizando-se o programa computacional SAS/STAT, 2003.

Para a determinação do número de ovos por fêmea, foram considerados 2 casos, ou seja, considerando-se 100% das fêmeas e apenas as fêmeas que ovipositaram, utilizando-se o primeiro caso para elaboração dos gráficos de frequência de postura diária e acumulada.

A comparação das dietas foi feita por uma análise de agrupamento ("cluster analysis"), usando-se os seguintes parâmetros biológicos: duração do período ovo-adulto, viabilidade ovo-adulto, peso de machos e fêmeas com 24horas de idade, número de ovos por fêmea, porcentagem de fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura, longevidade de fêmeas e machos e deformações de pernas e asas.

Elaboraram-se tabelas de vida de fertilidade para cada etapa da pesquisa, com os resultados obtidos nas diferentes dietas, determinando-se os parâmetros: Ro (taxa líquida de reprodução), T (intervalo médio entre gerações), TD (tempo de duplicação), rm (taxa intrínseca de crescimento e λ (razão finita de aumento); utilizou-se o método de Jackknife na estimativa dos parâmetros e a comparação dos parâmetros foi feita pelo teste t. As tabelas de vida de fertilidade foram elaboradas a partir dos seguintes dados: duração e viabilidade do período ovo-adulto, período de pré-oviposição, razão sexual, número diário de ovos por fêmea e mortalidade diária de machos e fêmeas.

3.2 Aprimoramento da dieta artificial com componentes liofilizados (DAL) e anticontaminantes para criação de *E. heros*

A presente pesquisa constou inicialmente, de 3 etapas, utilizando-se material liofilizado e anticontaminantes nas dietas artificiais (DAL) e avaliando-se seu efeito na biologia de *E. heros*; a quarta etapa foi considerada, para verificar os parâmetros biológicos de *E. heros* na quarta geração (F_4), nos tratamentos que permitiram que o inseto atingisse tal geração; os tratamentos que não chegaram à quarta geração, foram descartados (Tabela 4).

3.2.1 Etapa 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo material liofilizado (DAL) e anticontaminantes na biologia de *E. heros*

Como a dieta natural (D1), utilizada no primeiro experimento (3.1.2) (Tabelas 2 e 4), superou todas as médias de postura citadas na literatura para *E. heros*, em diferentes dietas, foram incorporados nas dietas artificiais, os componentes da dieta natural liofilizados. Para a liofilização da vagem de feijão e amendoim, três amostras de 200 g de vagens divididas em pedaços de 2,5 - 3 cm e três amostras de 200 g de sementes de amendoim em recipientes de vidro de 500 mL foram liofilizados em liofilizador "SAVANT" modelo Novalyphe – NL150 (Figura 3A). Pesando-se as amostras a cada 12h, até peso constante, definiu-se o tempo ideal de liofilização.

Os componentes liofilizados foram moídos e misturados para o preparo da dieta. Considerando-se a escassa perda de água no liofilizado das sementes de amendoim (5,9%) (Figura 3), elas foram adicionadas à dieta sem serem liofilizadas, após serem trituradas em liquidificador. Assim, a vagem de feijão liofilizada e moída, mais o amendoim e a sacarose foram misturados em um recipiente plástico, adicionando-se, a seguir o anticontaminante diluído em água, macerando-se, a mistura até se obter uma pasta homogênea. Ela foi colocada num molde (tampa da caixa Gerbox) de 12 x 12 x 0,5 cm, forrado com papel alumínio, distribuída e cortada em quadrados de 5 a 6 mm (aproximadamente) e envolvida com o mesmo papel alumínio (Figura 3 B-D). Após esse procedimento, a dieta foi seca em estufa, regulada a 60°C, por 4 horas; a dieta assim seca foi armazenada a -34°C (freezer). Mostras da dieta liofilizada (DAL) sem anticontaminantes e dos componentes (vagem de feijão liofilizada e moída e amendoim triturado em liquidificador) foram enviadas ao Laboratório de Bromatologia do Departamento de Zootecnia da ESALQ-USP para análise de pH e de proteínas.

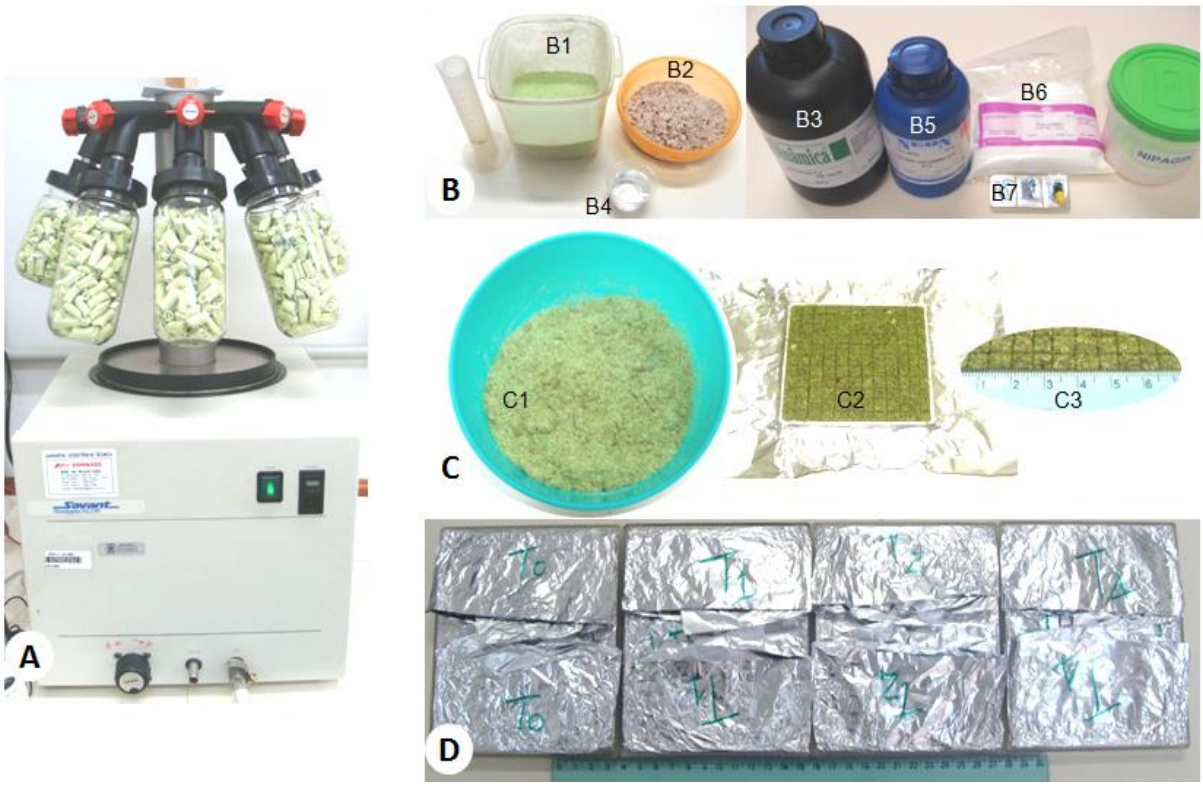

Figura 3 - Obtenção de material liofilizado e preparo da dieta artificial liofilizada para criação de *Euschistus heros*, com os diferentes componentes. Liofilizador "SAVANT" modelo Novalyphe – NL150 (A); insumos (B): vagem de feijão liofilizada e moída (B1), amendoim triturado em liquidificador (B2), sacarose (B3), água (B4) e anticontaminantes: ácido sórbico (B5), metil parahidroxibenzoato (nipagin) (B6), tetrex (tetraciclina) (B7); preparação (C): componentes misturados (C1-2), dieta cortada em quadrados de 5 a 6 mm (C2-3) e envolvida em papel alumínio, seca, e armazenada, para, posteriormente, ser oferecida aos percevejos (D)

Tabela 4 - Etapas de aprimoramento da dieta artificial com material liofilizado (DAL) e anticontaminantes para criação de *Euschistus heros*

Ingredientes	**D1**	**D2**	**D3**	**D4**	**D5**	**D6**	**D7**	**D8**	**D9**	**D10**	**D11**	**D12**	**D13**
ETAPA 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo material liofilizado (DAL) e anticontaminantes na criação de *E. heros*													
Vagem de feijão liofilizada e moída	Dieta natural (vagem de feijão e sementes de amendoim)	Dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes, et al. (2006)	35g	35g	D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador								
Amendoim triturado em liquidificador			35g	35g									
Sacarose			5g	5g									
Água			25ml	25ml									
Metil parahidroxibenzoato (nipagin)				8000ppm									
ETAPA 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, na dieta artificial, na biologia de *E. heros*													
Vagem de feijão liofilizada e moída	Dieta natural	Descartada (1)	35g	35g	Descartada	35g	17,50g	52,50g					
Amendoim triturado em liquidificador			35g	35g		35g	52,50g	17,50g					
Sacarose			5g	5g		5g	5g	5g					
Água			25ml	25ml		25ml	25ml	25ml					
Nipagin				8000ppm		8000ppm	8000ppm	8000ppm					
Àcido ascórbico						800ppm							
ETAPA 3: Efeito dos anticontaminantes em diferentes doses da dieta artificial na biologia de *E. heros*													
Vagem de feijão liofilizada e moída		Descartada	35g	35g	Descartada	Descartada	Descartada	Descartada	35g	35g	35g	35g	35g
Amendoim triturado em liquidificador			35g	35g					35g	35g	35g	35g	35g
Sacarose			5g	5g					5g	5g	5g	5g	5g
Água			25ml	25ml					25ml	25ml	25ml	25ml	25ml
Nipagin				8000ppm					10000ppm	10000ppm	10000ppm	10000ppm	10000ppm
Ácido sórbico									800ppm	800ppm	800ppm		
Ácido benzóico													2000ppm
Ácido propiônico												800ppm	
Formaldeído										3000ppm			
Tetraciclina (Tetrex)										0,00765ppm	0,00765ppm		
ETAPA 4: Quarta geração (F_4)													
Vagem de feijão liofilizada e moída		Descartada	35g	35g	Descartada	Descartada	Descartada	Descartada	35g	Descartada	35g	Descartada	Descartada
Amendoim triturado em liquidificador			35g	35g					35g		35g		
Sacarose			5g	5g					5g		5g		
Água			25ml	25ml					25ml		25ml		
Nipagin				8000ppm					10000ppm		10000ppm		
Ácido sórbico									800ppm		800ppm		
Tetraciclina (Tetrex)											0,00765ppm		

(1) As dietas que não permitiram o desenvolvimento do inseto por gerações sucessivas, foram descartadas.

Neste experimento foram consideradas como testemunhas as dietas D1 e D2 que foram comparadas com dietas contendo anticontaminante e material liofilizado: D3 (vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 50:50 sem anticontaminante); D4 (vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 50:50 + metil parahidroxibenzoato (nipagin 8000 ppm) e D5 (dieta 2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador).

As proporções da vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (50:50) da dieta artificial, foram determinadas a partir de observações em que a mistura nesta proporção levou a uma redução do período 2° ínstar-adulto e maior viabilidade do período, em relação aos componentes colocados isoladamente na dieta; assim, as proporções dos componentes da dieta: vagem de feijão liofilizada e moída (35%) + amendoim triturado em liquidificador (35%), sacarose (5%) e água (25%) foi avaliada pela primeira vez nesta etapa; desta forma, a vagem liofilizada + amendoim triturado em liquidificador corresponde a 70% da dieta, repartido por igual proporção de cada uma delas 50:50. A concentração de nipagin 8000 ppm, também foi determinada em testes preliminares, ao constatar-se que ocorria 100% de mortalidade de percevejos com 16000 ppm e nenhum efeito sobre o crescimento de fungos com 4000 ppm.

Utilizaram-se 100 ninfas de segundo ínstar por tratamento, individualizadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, e alimentadas com as dietas artificiais de cada tratamento; em cada placa de Petri, foi colocada dieta artificial (quadrados de 5 a 6 mm de lado, aproximadamente) e rolo dental umedecido, como fonte de água. O experimento constou, portanto, de 5 tratamentos e 100 repetições, sendo que cada ninfa correspondeu a uma repetição.

Os adultos foram pesados e formaram-se 30, 17, 25, 28 e 27 cassais com 24 a 48h de idade para as dietas D1 a D5 respectivamente, os cassais foram acondicionados conforme descrito em 3.1.2. As condições da sala de criação, os parâmetros biológicos avaliados, delineamento experimental, teste estatístico, análise de agrupamento e tabela de vida foram os mesmos considerados em 3.1.2.

A viabilidade das gerações sucessivas foi avaliada a partir das posturas dos primeiros 15 dias de cada tratamento, colocando-as em placas de Petri de 5 cm de diâmetro com um rolo dental umedecido no seu interior, até que as ninfas atingissem o 2° ínstar; a partir do segundo ínstar, elas foram transferidas para caixas Gerbox (12 x 12 x 3,5 cm). As caixas Gerbox foram forradas com papel "guardanapo" recoberto com uma tira de papel alumínio, sobre o qual foi colocada a dieta e rolo dental umedecido, evitando-se assim o umedecimento do papel e eventual crescimento de fungos na dieta. Após duas semanas do início da emergência, em cada geração, ao se observar as primeiras posturas, foram pesados 10 machos e 10 fêmeas de cada tratamento, e, a seguir, eles foram mantidos em bandejas de material plástico (25 x 25 x 12 cm); a superfície interna das bandejas foi forrada com papel guardanapo ou reciclável, recoberto com uma tira de papel alumínio sobre a qual foram colocadas a dieta e o algodão umedecido como fonte de água; para permitir a ventilação, as tampas das gaiolas foram recortadas no centro (14 x 14 cm) e cobertas com tecido de tipo tule. Nas tampas foram também colocadas 4 tiras de tecido de algodão (15 x 10 cm), como substrato de postura. Em média, em cada bandeja foram colocados 60 casais. As primeiras posturas foram coletadas como fonte inicial das gerações subsequentes.

Em cada geração, foi considerado, como número adequado, para manter as populações, quando emergiram mais de 40 indivíduos (número arbitrário, fruto da experiência em laboratório). Avaliou-se, em cada geração a razão sexual, peso de adultos (machos e fêmeas) e deformações de pernas e asas.

3.2.2 Etapa 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, na dieta artificial (DAL), na biologia de *E. heros*

Esta etapa teve por objetivo avaliar a proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, na dieta D3 que permitiu que os insetos alcançassem a quarta geração na etapa 1 (item 3.2.1).

Assim foram comparadas seis (6) dietas: D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim) (testemunha), D3 (vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 50:50 sem anticontaminante); D4 (vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 50:50 + nipagin 8000 ppm); D6 (vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 50:50 + nipagin 8000 ppm + ácido ascórbico 800 ppm); D7 (vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 25:75 + nipagin 8000 ppm) e D8 (vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador 75:25 + nipagin 8000 ppm). A vitamina C (ácido ascórbico) foi incluída no tratamento D6, pelo fato desta vitamina estar presente na vagem de feijão.

O experimento constou de 6 tratamentos e 150 repetições, sendo que cada ninfa correspondeu a uma repetição. As condições da sala de criação, os parâmetros biológicos avaliados, delineamento experimental, teste estatístico, análise de agrupamento e tabela de vida foram os mesmos considerados em 3.1.2.

Após pesar os adultos emergidos, formaram-se 15 casais provenientes das dietas D1, D3, D4 e D6; 13 casais da dieta D7 e 10 casais da dieta D8, que foram estudados com a metodologia descrita em 3.1.2; e da mesma forma descrita em 3.1, foi avaliada a viabilidade das gerações sucessivas. A produção de descendentes de *E. heros* nas diferentes dietas foi avaliada, utilizando-se a metodologia e observando-se os parâmetros mencionados em 3.2.1 para cada geração.

3.2.3 Etapa 3: Efeitos de anticontaminantes, em diferentes doses, adicionados à DAL, na biologia de *E. heros* e no desenvolvimento de patógenos

Neste experimento utilizou-se a dieta artificial composta de vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (DAL) na proporção 50:50, adicionando-se sacarose 5% e água 25% para todos os tratamentos, avaliando-se o efeito de anticontaminantes e as suas concentrações na biologia dos percevejos e no desenvolvimento de patógenos, já que um dos principais problemas da dieta artificial é a sua contaminação, exigindo trocas periódicas.

Foram avaliados sete (7) tratamentos: D3 (DAL sem anticontaminantes); D4 (DAL + nipagin 8000 ppm); D9 (DAL + nipagin 10000 ppm + ácido sórbico 800 ppm); D10 (D9 + formaldeído 3000 ppm + tetraciclina 0,00765 ppm); D11 (D9 + tetraciclina 0,00765 ppm); D12 (DAL + nipagin 10000 ppm + ácido propiônico 800 ppm) e D13 (DAL + nipagin 10000 ppm + ácido benzóico 2000 ppm).

O experimento constou de 7 tratamentos e 100 repetições, sendo que cada ninfa correspondeu a uma repetição. A substituição das dietas foi feita de acordo com o aparecimento de patógenos (fungos) em cada uma delas. As condições da sala de criação, os parâmetros biológicos avaliados, delineamento experimental, teste estatístico, análise de agrupamento e tabela de vida, foram os mesmos considerados em 3.1.2. Após pesar os adultos emergidos, formaram-se 28 casais na dieta D3; 25 casais nas dietas D4 e D9; 18 casais nas dietas D10 e D11; 30 casais na dieta D12 e 22casais na dieta D13.

A produção de descendentes de *E. heros* nas diferentes dietas foi avaliada, utilizando-se a metodologia e observando-se os parâmetros mencionados em 3.2.1 para cada geração.

3.2.4 Etapa 4: Quarta geração (F_4)

As dietas DAL D3, D4, D9 e D11, do experimento com anticontaminantes e doses (item 3.2.3) permitiram produzir descendentes nas gerações sucessivas, sendo testadas na quarta geração (F_4). Assim, o experimento constou de quatro tratamentos e 150 repetições, sendo que cada ninfa correspondeu a uma repetição. Os valores da dieta natural (D1), mostrados nas tabelas 14 e 15 como D1*, correspondem às médias dos 3 primeiros experimentos e não foram considerados nas análise estatísticas. A metodologia utilizada, os parâmetros biológicos avaliados, as condições da sala de criação, delineamento experimental, teste estatístico, análise de agrupamento e tabela de vida, foram os mesmos considerados em 3.1.2.

Após pesar os adultos emergidos, formaram-se 20 casais para cada uma das 4 dietas; sendo os parâmetros avaliados conforme metodologia descrita em 3.1.2. A produção de descendentes de *E. heros* nas diferentes dietas foi avaliada, utilizando-se a metodologia e observando-se os parâmetros mencionados em 3.2.1 para cada geração.

3.3 Avaliação da qualidade da dieta artificial, utilizando-se como critério, danos de *E. heros* e desenvolvimento de parasitoides

3.3.1 Número de picadas de alimentação, em grãos de soja, por *E. heros*, criado em dieta natural e em dietas artificiais com material liofilizado (DAL), utilizando-se o teste da fucsina ácida

O trabalho foi realizado com percevejos adultos, criados em dietas artificiais com material liofilizado (DAL): D9 e D11 e tendo como controle a dieta D1 (dieta natural: vagem de feijão e sementes de amendoim), desde o 2° ínstar. Ovos provenientes da criação estoque foram colocados em placas de Petri de 9 cm; após a eclosão e quando atingiram o 2° ínstar, 100 ninfas por dieta (tratamento) foram separadas em grupos de 10 ninfas por placa de Petri; nas placas, receberam água por meio de rolo dental e foram alimentadas com as respectivas dietas até a emergência de adultos.

Os tratamentos selecionados, para o presente trabalho, foram aqueles que permitiram a produção de descendentes nas gerações sucessivas, ou seja, D9 (DAL + nipagin 10000 ppm + ácido sórbico 800 ppm) e D11 (D9 + tetraciclina 0,00765 ppm) e como testemunha, D1 (dieta natural: vagem de feijão e sementes amendoim) (Tabelas 2, 4 e 13).

A atividade alimentar de *E. heros*, foi avaliada pelo número de crostas salivares deixadas na superfície dos grãos de soja. Para testar a atividade alimentar de cada tratamento, foi oferecido aos machos (20) e fêmeas (20) individualizados, com idade entre 48 a 72 horas, um grão de soja (cultivar CD 215), em placas de Petri de 9 cm. As placas, com os percevejos, foram mantidas na sala de criação em condições controladas de 25±2°C de temperatura, UR de 60±10% e fotofase de 14 horas.

A cada 24horas, durante 8 dias, os grãos de soja foram renovados; os grãos retirados foram submetidos ao teste de coloração com fucsina ácida a 1% (BOWLING, 1980), por 15 minutos; em seguida, foram lavados em água corrente e feita a contagem das crostas salivares, marcadas pelo corante (vermelho), com auxilio de microscópio estereoscópico (aumento de 10 a 15 vezes).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, num delineamento inteiramente casualizado. Os dados e os pressupostos associados ao modelo utilizado foram analisados, utilizando-se o programa computacional SAS/STAT, 2003.

3.3.2 Ovos de *E. heros* criado em dieta natural (D1) e artificial com material liofilizado (DAL) e seu efeito no parasitismo de *T. podisi e T. basalis*

A confirmação das espécies de parasitoides foi feita pelo Dr. Valmir A. Costa do Laboratório de Controle Biológico, Centro Experimental Central do Instituto Biológico, em Campinas, que agora pertencem à família Platygastridae, pois segundo Sharkey (2007), está em sinonímia com Scelionidae.

A capacidade de parasitismo de ambos os parasitoides foi avaliada na primeira geração (F_1), utilizando-se ovos de *E. heros* criado nas dietas que conseguiram atingir o maior número de gerações (F_{10}), ou seja, as dietas D9 e D11e a dieta D1 como testemunha (Tabelas 2, 4 e 13). A metodologia de criação do percevejo foi a mesma utilizada para o teste da fucsina ácida (3.3.1). Foram separados 30 casais de *E. heros* por tratamento e mantidos em bandejas de material plástico de 25 x 25 x 12 cm, como descrito em 3.2.1. As primeiras posturas destes percevejos foram coletadas e parasitadas por ambos os parasitoides, separadamente durante 48 horas. Os ovos parasitados foram colocados em placas de Petri de 5 cm, com papel filtro; a sala de criação foi mantida na temperatura de 25±2°C, UR de 60±10% e fotofase de 14 horas.

Dois dias após a emergência, para *T. podisi* e 4-5 dias, para *T. basalis* (observação pessoal), foram isoladas 15 fêmeas de cada espécie, por tratamento, em tubos de ensaio (7 x 1 cm). Para cada fêmea dos parasitoides, foram oferecidos 40 ovos do dia de *E. heros* provenientes da criação estoque, substituindo-os a cada 24horas, até a morte dos parasitoides. Os ovos parasitados foram mantidos na mesma sala de criação mencionada anteriormente, até a emergência dos adultos.

Foram considerados ovos “parasitados” aqueles com a abertura de saída do parasitoide (Figura 4a) e os de cor escura, que ao serem abertos ou por simples observação, apresentavam o parasitoide desenvolvido (Figura 4b); ovos “inviáveis” do hospedeiro foram considerados aqueles em que não houve eclosão de ninfas, geralmente de cor amarela e murchos (Figura 4c e 4d).

Avaliaram-se: número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, viabilidade do parasitoide, razão sexual e longevidade das fêmeas das duas espécies; foram considerados ovos predados aqueles em que houve introdução do ovipositor pelo parasitoide, sem haver, no entanto eclosão de ninfas ou emergência do parasitoide. Os parâmetros biológicos foram submetidos à análise de variância e comparados, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, num delineamento inteiramente casualizado. Os dados e os pressupostos associados ao modelo utilizado foram analisados utilizando-se o programa computacional SAS/STAT, 2003.

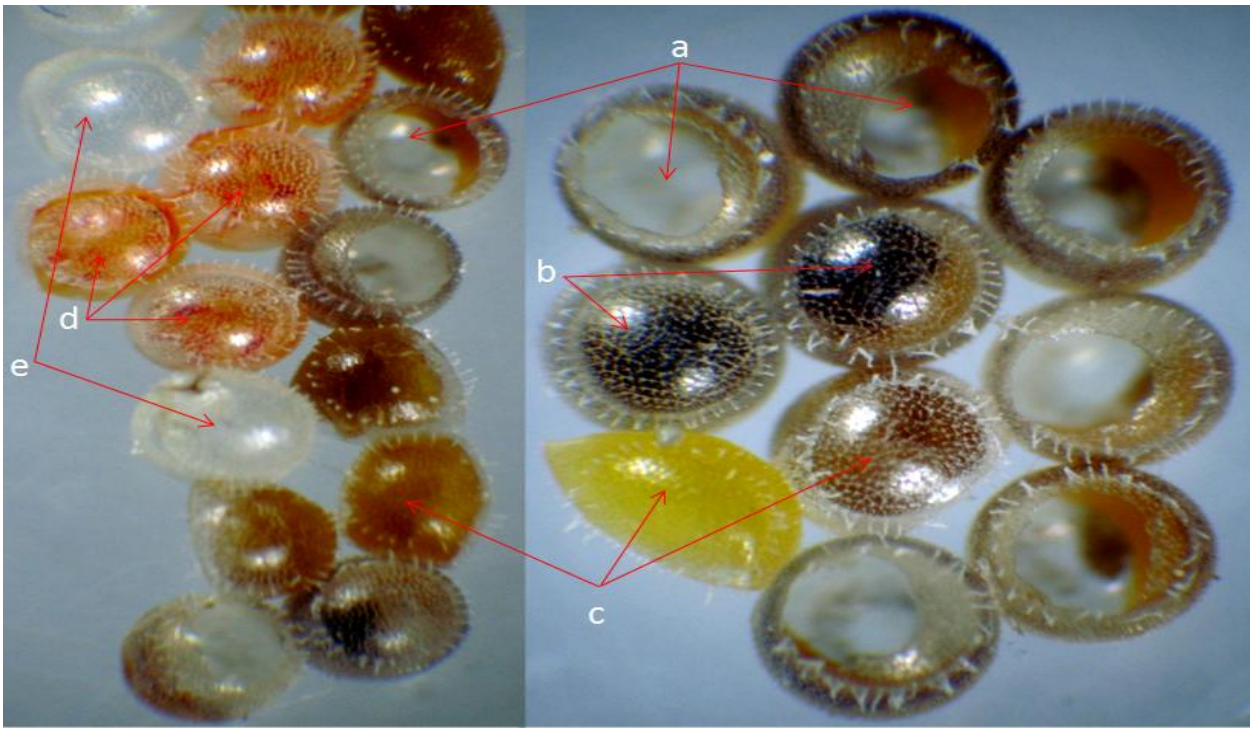

Figura 4 - Ovos de *Euschistus heros* submetidos ao parasitismo por *Telenomus podisi*. Córion mostrando abertura de saída do parasitoide (a); ovos parasitados inviáveis (b); ovos "não parasitados" (c); ovos com embriões desenvolvidos e mortos (d) e córion após a eclosão (e)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Biologia comparada de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae) em dieta natural e em dieta artificial

A dieta artificial seca desenvolvida por Panizzi et al. (2000) e acrescida de óleo de soja por Fortes et al. (2006) (D2) afetou significativamente o período de desenvolvimento ovo-adulto de *E. heros*, que foi de 39,5 dias, bem superior àquele obtido em dieta natural (D1), ou seja, 32,2 dias. O efeito foi mais visível nos últimos ínstares (4° e 5°), pois, da fase de ovo até o 3° ínstar, não houve diferença entre os 2 tratamentos (Tabela 5).

Resultados semelhantes foram observados por Fortes et al. (2006) e Siqueira (2007) que estudando a mesma dieta artificial, constataram um alongamento do período 2° ínstar- adulto de *E. heros*, em cerca de 4 a 6 dias, em relação ao mesmo período em dieta natural composta de vagem de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., 1753), amendoim (*Arachis hypogaea* L., 1753), e frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* W. T. Aiton, 1810).

De forma análoga, a viabilidade na dieta artificial foi menor, especialmente para a fase de ovo e 4° e 5° ínstares. Como para a duração, a viabilidade inicial de *E. heros* (1° ao 3° ínstares) não foi afetada (Tabela 5), provavelmente porque nestes primeiros ínstares são utilizados os recursos nutricionais acumulados nos ovos, que, aparentemente foram suficientes para o início do desenvolvimento do percevejo. A viabilidade do período 2° ínstar-adulto na dieta natural foi de 82%, próxima aos 91% e 85% obtidos por Fortes et al. (2006) e Siqueira (2007); por outro lado, a viabilidade para o mesmo período na dieta artificial no presente trabalho, foi de 41%, próxima aos 40% obtido por Siqueira (2007), porém inferior aos 78% relatados por Fortes et al. (2006).

Na dieta natural, machos e fêmeas foram mais pesados, apresentaram menor porcentagem de deformações de pernas e asas e as fêmeas viveram mais, embora a razão sexual não tenha sido afetada pelas dietas (Tabela 5).

Na dieta artificial, os machos viveram mais, provavelmente, por não terem gasto energia, desde que com a morte prematura das fêmeas não tiveram oportunidade de copular.

O peso observado em dieta natural foi superior aos resultados de Fortes et al. (2006) e Siqueira (2007) no mesmo tipo de dieta e semelhante aos referidos pelos mesmos autores em dieta artificial. A dieta artificial afetou o peso dos insetos, desde que, em geral, segundo Slansky

Jr. (1982), em hemípteros, as fêmeas são mais pesadas que os machos e no presente trabalho os pesos de machos e fêmeas foram semelhantes.

A inadequação da dieta artificial ficou demonstrada com o aumento de deformações nas asas e nas pernas, embora tais deformações, ainda que em menor escala, tenham sido encontradas nas pernas dos insetos criados na dieta natural (Tabela 5, Figura 5) e na criação estoque. Nos demais parâmetros biológicos estudados, ou seja, período de pré-oviposição, número de posturas/fêmea, número de ovos/postura, e número de ovos/fêmea, a dieta natural suplantou a dieta artificial, inclusive na porcentagem de fêmeas que ovipositaram (Tabela 5), além da alta porcentagem de ovos deformados (observação pessoal) obtidos na dieta artificial; no geral, as poucas ninfas obtidas em F_1, na dieta artificial, não chegaram ao 4° ínstar.

Observou-se que o ritmo de postura foi variável entre os insetos criados nas duas dietas. Na dieta artificial, como a longevidade foi menor, 100% dos ovos foram colocados até os 90 dias, enquanto que na dieta natural isto se deu com 150 dias (Figuras 6 e 14).

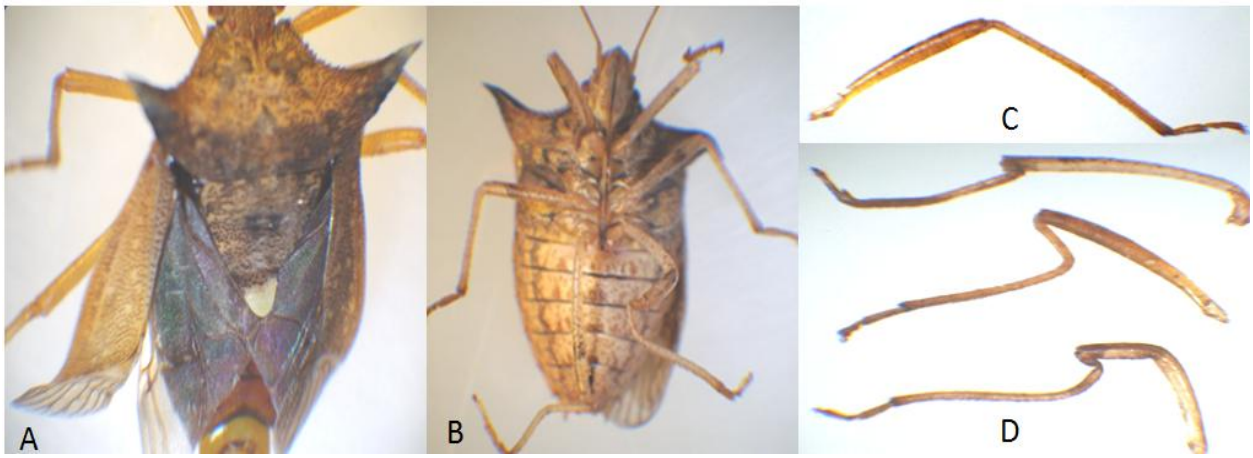

Figura 5 - Deformações de asas e pernas de *Euschistus heros* criado em dieta natural e na artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006). Inseto com asas deformadas (vista dorsal) (A), inseto com pernas deformadas (vista ventral) (B); perna sadia (C) e pernas com diferentes graus de deformação (D)

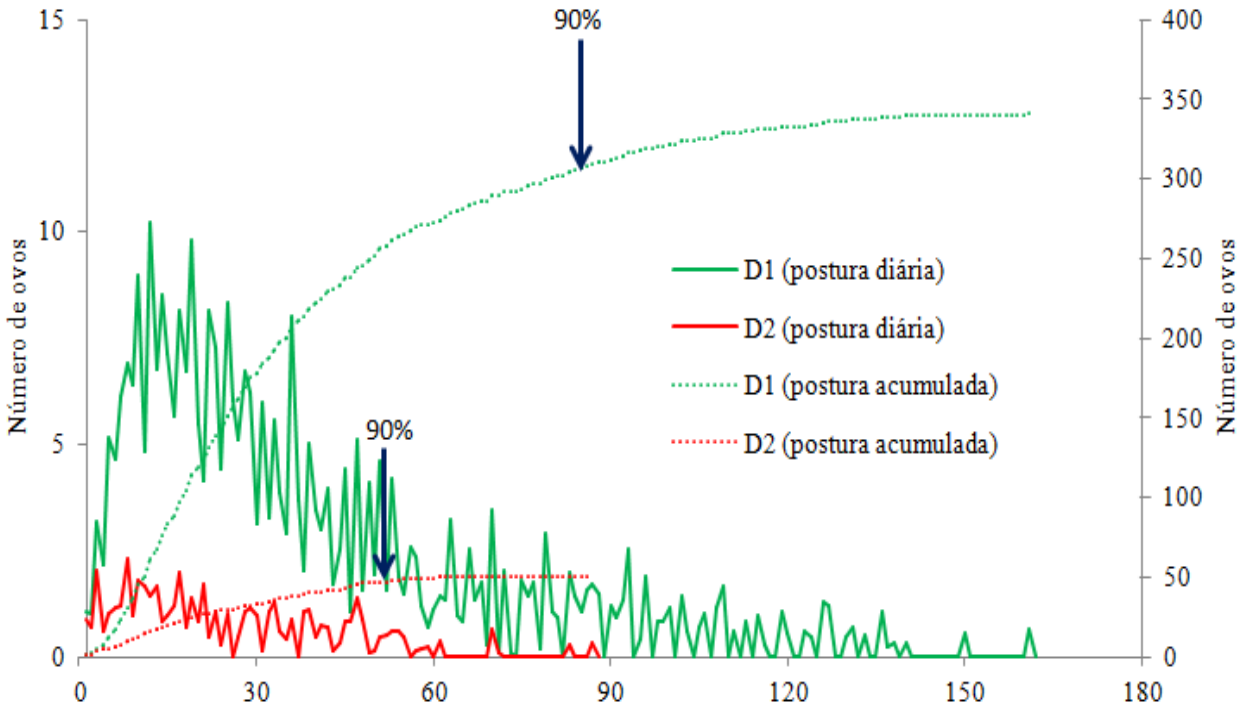

Figura 6 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros* criado em **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim) e **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)). Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. As setas indicam 90% da postura

Considerando-se os diversos parâmetros avaliados, a dieta natural foi muito superior à dieta artificial para *E. heros*, sendo que os resultados obtidos na presente pesquisa em dieta natural, especialmente com relação à fecundidade, foram muito superiores àqueles obtidos por Villas Bôas e Panizzi (1980); Panizzi e Oliveira (1998); Costa, Borges e Vilela (1998); Malaguido e Panizzi (1999) e Fortes et al. (2006).

O prolongamento do desenvolvimento ninfal, a diminuição da viabilidade no período 4° ao 5° ínstar, associados ao menor peso e longevidade dos adultos, aumento das deformações de pernas e asas, e a diminuição da fecundidade em relação à dieta natural, indicaram a inadequação da dieta artificial para *E. heros;* esta inadequação poderia estar associada à deficiência ou desbalanceamento de nutrientes; ou mesmo à ausência de fagoestimulante na dieta, pois muitos insetos não iniciaram a alimentação (PARRA, 2010).

Tabela 5 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto, peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* criado em dieta natural e artificial. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[1]	**Duração (dias)**						**Ovo-adulto**
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1	7,2 ± 0,11[2] a[3]	3,0 ± 0,00 a	5,4 ± 0,10 a	4,1 ± 0,09 a	4,6 ± 0,10 a	7,9 ± 0,09 a	32,2 ± 0,30 a
D2	7,6 ± 0,24 a	3,0 ± 0,00 a	5,6 ± 0,10 a	4,4 ± 0,08 a	6,9 ± 0,03 b	12,0 ± 0,30 b	39,5 ± 0,50 b
	Viabilidade (%)						**Ovo-adulto**
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1	85,2 ± 3,30 a	91,7 ± 2,40 a	86,0 ± 2,00 a	91,5 ± 3,50 a	96,6 ± 0,60 a	94,7 ± 1,30 a	56,0 ± 1,86 a
D2	60,7 ± 8,47 b	91,7 ± 2,40 a	89,3 ± 1,30 a	86,6 ± 0,20 a	81,0 ± 2,40 b	87,2 ± 0,50 b	30,4 ± 4,64 b
	Peso (mg) com 24h de idade		**Deformações (%)**		**Longevidade (dias)**		**Razão sexual**
	Fêmea	**Macho**	**Pernas**	**Asas**	**Fêmea**	**Macho**	
D1	102,08 ± 2,34 a	90,02 ± 1,61 a	8,33 ± 1,22 b	0,93 ± 0,41 b	93,77 ± 7,5 a	87 ± 8,2 a	0,44 a
D2	68,96 ± 1,75 b	68,96 ± 1,81 b	20 ± 0,41 a	12,5 ± 0,41 a	46,63 ± 6,9 b	68,1 ± 7,3 a	0,46 a

	Período de pré-oviposição (dias)	**Fêmeas que ovipositaram (%)**	**Número de posturas/fêmea**	**Número de ovos/postura**	**Número de ovos/fêmea**	
					considerando 100% das fêmeas	**apenas as fêmeas que ovipositaram**
D1	13,8 ± 0,8 b	96,7 ± 3,33 a	28,5 ± 2,5 a	12,3 ± 0,49 a	340,3 ± 34,61 a	352,1 ± 35,4 a
D2	20,3 ± 1,5 a	50,0 ± 15,28 b	12,0 ± 1,5 b	8,8 ± 0,76 b	50,8 ± 20,37 b	101,6 ± 13,8 b

[1] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006));
[2] ± EP (erro padrão);
[3] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Desenvolvimento de uma dieta artificial com material liofilizado (DAL)

4.2.1 Etapa 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo material liofilizado (DAL) e anticontaminantes, na biologia de *E. heros*

O tempo de desidratação total da vagem de feijão foi determinado como sendo de 60h; para amendoim este tempo foi de 72h com eliminação de 90,6 e 5,9% da água, respectivamente (Figura 7); no caso do amendoim, o conteúdo de óleo impede que ele seja moído, optando-se pela sua trituração em liquidificador.

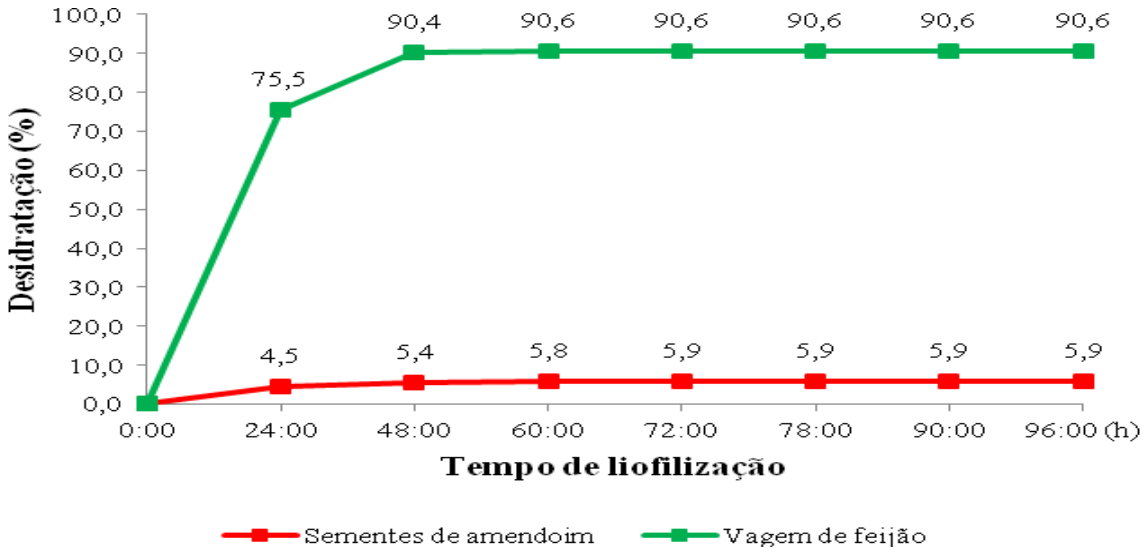

Figura 7 - Desidratação (%) e tempo de liofilização para vagem de feijão e sementes de amendoim

A dieta liofilizada (DAL), mostrou-se mais atrativa (maior efeito fagoestimulante) para *E. heros* em relação à dieta artificial (D2), pois nesta última muitos insetos morreram sem se alimentar, enquanto que nas dietas liofilizadas os insetos permanecem se alimentando por um tempo maior, com comportamento gregário semelhante àquele observado na dieta natural (D1). Aparentemente, a dieta liofilizada, tem fagoestimulantes e nutrientes próximos aos dos alimentos naturais, pois o material liofilizado mantém a integridade dos componentes da dieta. O teor de proteína total das dietas com vagem de feijão liofilizada (DAL) foi de 25,8%, embora individualmente os valores protéicos variassem de 33,8% para vagem liofilizada e 20,8% para

amendoim triturado em liquidificador. Este alto valor protéico poderia explicar o sucesso das dietas artificiais com material liofilizado (DAL).

Como um dos problemas da dieta artificial é a contaminação por fungos e/ou bactérias, a utilização de anticontaminantes na dieta foi necessária. Entretanto, é fundamental a determinação da dose adequada, pois, em testes preliminares, constatou-se que na concentração de 16000 ppm, o nipagin (metil parahidroxibenzoato) causou 100% de mortalidade do inseto, enquanto que a concentração de 4000 ppm, não afetou o inseto, mais não foi eficiente no controle de fungos. Portanto, a escolha da dose adequada do anticontaminante foi fundamental, pois existe uma tênue linha entre o controle do patógeno e o prejuízo ao inseto que está sendo criado (ALVERSON E COHEN, 2002).

As dietas afetaram a duração do período ovo-adulto (Tabela 6); houve como era de se esperar, um alongamento do referido período nas dietas D2 (artificial) e D4 (DAL, mais anticontaminante), sendo tais diferenças maiores a partir do terceiro ínstar. A fase de ovo também foi afetada, sendo alongada quando o inseto foi criado na dieta artificial (D2).

A viabilidade foi superior nas dietas contendo vagem liofilizada e amendoim triturado em liquidificador, sendo a dieta artificial (D2) a pior dieta com uma viabilidade de apenas 17%. A viabilidade de ovos também foi afetada em D2, mostrando a inadequação nutricional da referida dieta (Tabela 6). Numericamente, a dieta liofilizada foi a que apresentou maior viabilidade.

O peso dos adultos foi também afetado pela dieta artificial, e, mais uma vez, a dieta D2 foi a menos adequada, embora a dieta D5 tenha sido comparável à citada dieta. As deformações de pernas e asas variaram bastante em todas as dietas, mostrando como já comentado em 4.1 que se trata de uma característica normal da espécie, não podendo ser adotado como critério para seleção de dietas artificiais para *E. heros* (Tabela 7); entretanto, de forma semelhante ao que vinha ocorrendo, nos insetos criados na dieta D2 é que ocorreu o maior porcentual de deformações de asas e pernas. A razão sexual não diferiu quando *E. heros* foi criado nas diversas dietas (Tabela 7), e portanto não deve também ser utilizada como critério para seleção de dietas para a referida espécie. Já o período de pré-oviposição, sem grande relevância como critério na seleção de dietas artificiais (J.R.P. PARRA, 2011 informação pessoal), foi menor na dieta natural em relação as dietas artificiais (Tabela 7).

A longevidade de machos e fêmeas, a porcentagem de fêmeas que ovipositaram e número de ovos/postura não foram afetados pelas dietas, mas o número de posturas/fêmea e o número total de ovos/fêmea foram maiores nas dietas D1, D3 e D4 (Tabela 7).

A frequência de postura diária (Figuras 8 e 14) mostrou que nas dietas artificiais menos adequadas (D2, D3 e D5), mais de 90% da postura ocorreu entre 40 e 60 dias enquanto que na dieta natural (D1) e na dieta com componentes liofilizados e anticontaminantes (D4), tal concentração ocorreu entre 75 e 90 dias, pois a fêmeas viveram mais quando criadas nestas últimas dietas.

Na dieta com componentes liofilizados sem anticontaminantes (D3) a baixa longevidade poderia estar relacionada à contaminação por fungos na dieta, responsáveis por problemas à criação de várias espécies segundo Kishaba et al. (1968); Singh e Bucher (1971); Mc Laughlin e Sikorowsky (1978); Thompson e Sikorowsky (1978); Sikorowsky et al. (1980); Sikorowsky e Thompson (1984); Sikorowsky e Godwinn (1985); Douglas e Sikorowski (2009a); Douglas e Sikorowski (2009b).

Adultos de *E. heros* provenientes da dieta D2 (em 4.1 e 4.2.1), apresentaram baixa porcentagem de acasalamento (observação pessoal), baixa fertilidade e fecundidade, incremento das deformações de pernas e asas e não produziram descendentes (Tabela 13). A inadequação desta dieta foi mantida também nos estádios imaturos, mesmo sendo adicionados 15% de vagem liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador (D5), fato que levou à substituição de 100% dos insumos por vagem liofilizada e moída e amendoim triturado em liquidificador, mantendo invariáveis a quantidade de água e a sacarose nos próximos experimentos.

As dietas artificiais com vagem de feijão liofilizada (DAL) foram as melhores, pois, foram em todos os parâmetros superiores à dieta artificial (D2) e comparáveis à dieta natural (D1). A dieta D4, com nipagin-8000 ppm, permitiu gerar descendentes até a terceira geração (F_3) o que levou à sua seleção para a seguinte etapa.

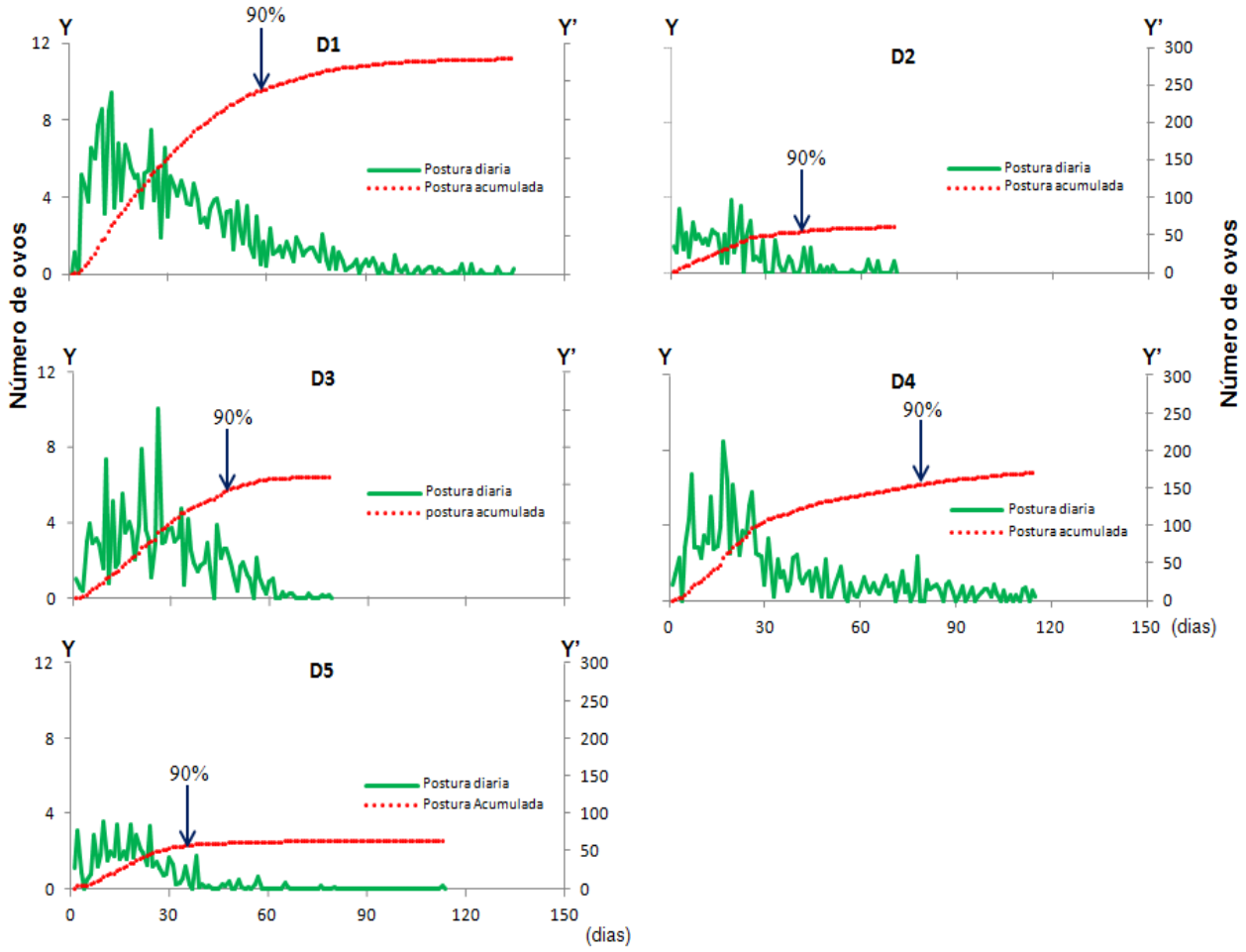

Figura 8 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e em dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% de vagem de feijão liofilizada e 15% de amendoim triturado em liquidificador). As setas indicam 90% da postura

Tabela 6 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e em dietas artificiais contendo vagem liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	**Duração (dias)**						**Ovo-adulto**
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1	6,6 ± 0,06[3] b[4]	3,0 ± 0,00 a	5,3 ± 0,10 b	4,8 ± 0,11 c	5,8 ± 0,10 b	9,1 ± 0,11 b	34,6 ± 0,26 b
D2	7,1 ± 0,16 a	3,0 ± 0,00 a	5,5 ± 0,19 b	6,4 ± 0,17 a	7,2 ± 0,16 a	10,0 ± 0,11 a	39,2 ± 0,37 a
D3	6,7 ± 0,06 b	3,0 ± 0,00 a	5,2 ± 0,14 b	5,6 ± 0,14 b	6,2 ± 0,11 b	9,3 ± 0,10 b	36,0 ± 0,30 b
D4	6,6 ± 0,05 b	3,0 ± 0,00 a	5,8 ± 0,12 a[2]	6,7 ± 0,10 a	7,2 ± 0,19 a	9,3 ± 0,12 b	38,6 ± 0,30 a
D5	6,5 ± 0,09 b	3,0 ± 0,00 a	5,1 ± 0,12 b	5,5 ± 0,24 c	6,4 ± 0,18 b	9,7 ± 0,17 ab	36,2 ± 0,32 b
	Viabilidade (%)						**Ovo-adulto**
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1	53,9 ± 6,75 ab	91,7 ± 2,40 a	91,0 ± 4,12 a	93,2 ± 2,28 a	97,6 ± 2,63 a	98,8 ± 1,04 a	40,5 ± 6,89 a
D2	30,0 ± 8,34 b	91,7 ± 2,40 a	81,0 ± 6,19 a	92,6 ± 1,22 a	97,3 ± 2,38 a	84,9 ± 4,20 a	17,0 ± 10,20 b
D3	63,8 ± 5,80 a	91,7 ± 2,40 a	87,0 ± 4,40 a	87,4 ± 2,87 a	97,4 ± 1,48 a	93,2 ± 1,47 a	40,4 ± 4,85 a
D4	63,5 ± 5,35 a	91,7 ± 2,40 a	88,0 ± 4,32 a	90,8 ± 2,03 a	98,9 ± 1,09 a	98,6 ± 1,39 a	45,4 ± 5,33 a
D5	59,3 ± 6,63 a	91,7 ± 2,40 a	91,0 ± 5,26 a	91,2 ± 3,59 a	95,2 ± 2,76 a	87,3 ± 3,13 a	37,5 ± 5,43 a

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%).

[2] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et. al. (2000), modificada por Fortes et. al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D5** (dieta artificial de Panizzi et. al. (2000), modificada por Fortes et. al. (2006) adicionando-se 15% de vagem liofilizada e 15% de amendoim triturado em liquidificador).

[3] ± EP (erro padrão).

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 7 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e em dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Peso adultos (mg) com 24h de idade		Deformações (%)		Longevidade (dias)		Razão sexual
	Fêmea	Macho	Pernas	Asas	Fêmea	Macho	
D1	103,9 ± 2,96[3] a[4]	95,8 ± 2,03 a	17,5 ± 5,66 a	9,8 ± 1,93 ab	67,9 ± 8,09 a	62,6 ± 8,5 a	0,5 a
D2	85,6 ± 1,95 b	76,4 ± 2,73 b	27,4 ± 5,85 a	17,7 ± 2,71 a	46,9 ± 5,89 a	47,1 ± 6,81 a	0,6 a
D3	100,8 ± 2,9 a	89,5 ± 2,09 a	20,3 ± 6,0 a	5,8 ± 2,29 b	56,4 ± 4,59 a	58,0 ± 5,6 a	0,5 a
D4	101,4 ± 2,69 a	89,2 ± 2,24 a	11,5 ± 0,85 a	10,3 ± 3,23 ab	57,0 ± 6,58 a	68,2 ± 7,66 a	0,6 a
D5	86,4 ± 3,34b	75,4 ± 2,41 b	17,4 ± 1,82 a	2,9 ± 3,13 b	48,4 ± 5,85 a	53,5 ± 5,33 a	0,5 a

Tratamentos[2]	Período de pré-oviposição (dias)	Fêmeas que ovipositaram (%)	Número de posturas/fêmea	Número de ovos/postura	Número de ovos/fêmea	
					considerando 100% das fêmeas	apenas as fêmeas que ovipositaram
D1	12,1 ± 0,46[3] b[4]	93,3 ± 3,88 a	28,7 ± 3,69 a	11,0 ± 0,64 a	280,4 ± 35,93 a	300,5 ± 35,54 a
D2	18,4 ± 2,07 a	88,2 ± 6,58 a	6,3 ± 1,18 b	11,2 ± 0,93 a	60,6 ± 14,60 c	68,7 ± 13,97 c
D3	15,0 ± 0,90 ab	92,0 ± 4,81 a	13,7 ± 1,68 b	11,9 ± 0,77 a	160,7 ± 27,77 ab	174,6 ± 28,35 bc
D4	15,9 ± 0,67 a	85,7 ± 10,1 a	16,4 ± 1,90 ab	13,1 ± 0,62 a	171,4 ± 24,58 ab	200 ± 24,06 ab
D5	19,5 ± 2,42 a	66,7 ± 5,38 a	8,5 ± 1,00 b	11,1 ± 0,72 a	64,3 ± 13,53 c	96,4 ± 15,42 bc

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%, sacarose (5%) e água (25%).

[2] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et. al. (2000), modificada por Fortes et. al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D5** (dieta artificial de Panizzi et. al. (2000), modificada por Fortes et. al. (2006) adicionando-se 15% de vagem liofilizada e 15% de amendoim triturado em liquidificador).

[3] ± EP (erro padrão).

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.2 Etapa 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, na dieta artificial (DAL), na biologia de *E. heros*

A duração do período ovo-adulto, em dieta natural (D1) foi igual ao de insetos criados nas dietas DAL com diferentes proporções de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (Tabela 8). Entretanto, o tratamento 25:75 (D7), alongou tal período a partir do 5° ínstar, pois, aparentemente, o amendoim em alta quantidade, afetou o desenvolvimento das ninfas, pois deu à dieta aparência oleosa na superfície, o que causou dificuldade para as ninfas se locomoverem sobre ela; a dieta D8 (75:25), com a alta quantidade de celulose da vagem liofilizada, apresentou consistência muito seca que também pode ter afetado a alimentação das ninfas. Não se observaram diferenças de viabilidade, sendo baixa em todas as dietas, variando de 7,5 a 18,2% para D8 e D1 respectivamente (Tabela 8).

Os tratamentos não tiveram efeito no peso de fêmeas; entretanto, o peso dos machos foi inferior ao das fêmeas em todos os tratamentos, sendo que na dieta D7 foi onde emergiram os machos com menor peso. Não se observaram diferenças significativas para deformações de pernas e asas, razão sexual, longevidade, período de pré-oviposição, porcentagem de fêmeas que ovipositaram, número de posturas, e número de ovos por fêmea (Tabela 9); pois como já mencionado anteriormente (4.2.1), o período de pré-oviposição, a razão sexual e as deformações não parecem importantes para serem utilizados como critérios de seleção de dietas para *E. heros*.

A frequência de posturas e postura acumulada (Figuras 9 e 14) mostraram uma queda do ritmo de postura após de 60 dias nas dietas D6 e D8; nas demais dietas, D3, D4 e D7, a sobrevivência das fêmeas (até 90 dias) foi comparável à dieta natural; nesta dieta, o intervalo entre as posturas foi maior (2 a 3 dias), enquanto nas dietas DAL a frequência foi diária ou alternada; assim, as fêmeas desenvolvidas e mantidas nas dietas com componentes liofilizados viveram menos do que aquelas provenientes da dieta natural, sem afetar sua fertilidade. Os machos tiveram maior longevidade do que as fêmeas (Tabela 9, Figuras 12 e 13); aparentemente, este comportamento estaria relacionado com a freqüência de cópula, ausente pela morte antecipada das fêmeas; entretanto, a longevidade das fêmeas mantidas nas diferentes dietas com vagem liofilizada (DAL), foi similar a das fêmeas provenientes da dieta natural (D1).

A melhor proporção vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador está na faixa 25-50:75-50; pois obtiveram-se descendentes até a terça geração com

a proporção 25:75 (D7) (Tabela 13); entretanto ela foi desconsiderada na presente pesquisa, pela aparência oleosa da dieta. Não havendo diferenças para os parâmetros biológicos avaliados no presente estudo, os tratamentos D3 e D4 foram selecionados para a etapa seguinte, pois à taxa líquida de reprodução (Ro), foi próxima àquela da dieta natural (D1) (Tabela 16).

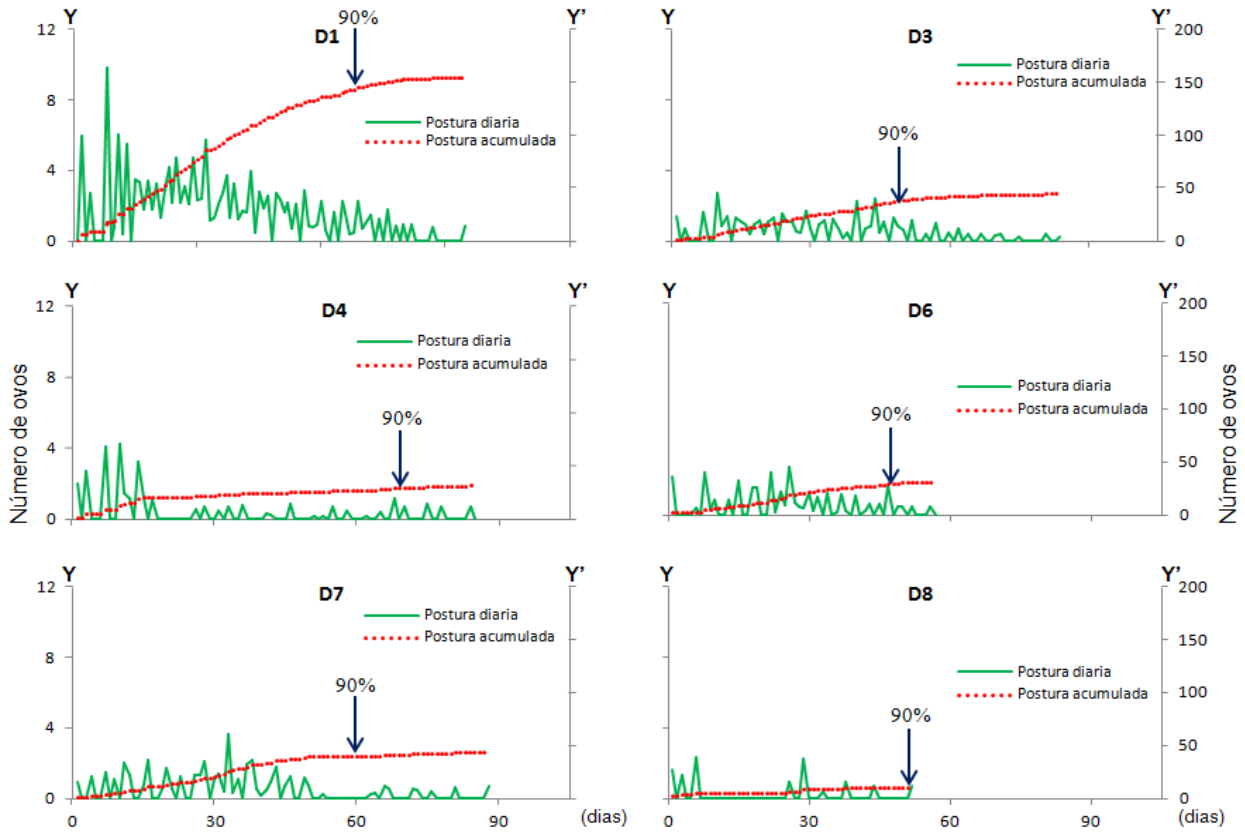

Figura 9 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, criado em dieta natural e em dietas artificiais com diferentes proporções de vagem de feijão liofilizada: amendoim triturado em liquidificador (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D3 (DAL 50:50, sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); D6 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); D7 (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm; D8 (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm). As setas indicam 90% da postura

Tabela 8 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* criado em dieta natural e em dietas artificiais com diferentes proporções de vagem de feijão liofilizada: amendoim triturado em liquidificador (DAL)[1] e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Duração (dias)						Ovo-adulto
	Fase de ovo	1° ínstar	2° ínstar	3° ínstar	4° ínstar	5° ínstar	
D1	7,2 ± 0,13[3] a[4]	3,0 ± 0,00 a	5,7 ± 0,22 a	5,2 ± 0,26 a	6,7 ± 0,31 a	8,6 ± 0,29 b	36,4 ± 0,59 b
D3	7,3 ± 0,11 a	3,0 ± 0,00 a	6,7 ± 0,42 a	6,0 ± 0,39 a	7,3 ± 0,30 a	9,3 ± 0,33 ab	39,5 ± 0,68 ab
D4	7,8 ± 0,29 a	3,0 ± 0,00 a	6,5 ± 0,42 a	6,3 ± 0,43 a	8,0 ± 0,51 a	10,2 ± 0,36 ab	41,8 ± 0,96 ab
D6	7,4 ± 0,28 a	3,0 ± 0,00 a	6,3 ± 0,42 a	6,4 ± 0,36 a	7,6 ± 0,35 a	9,9 ± 0,40 ab	40,6 ± 0,98 ab
D7	7,5 ± 0,19 a	3,0 ± 0,00 a	6,8 ± 0,49 a	6,6 ± 0,43 a	7,8 ± 0,37 a	10,4 ± 0,39 ab	42,1 ± 0,99 ab
D8	8,1 ± 0,27 a	3,0 ± 0,00 a	7,1 ± 0,51 a	6,4 ± 0,39 a	7,2 ± 0,21 a	10,6 ± 0,34 a	42,3 ± 0,80 a
	Viabilidade (%)						**Ovo-adulto**
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1	43,8 ± 10,12 a	91,7 ± 2,40 a	62,0 ± 5,77 a	84,9 ± 5,59 a	94,9 ± 2,39 a	90,7 ± 5,17 a	18,2 ± 8,38 a
D3	61,0 ± 10,85 a	91,7 ± 2,40 a	50,7 ± 13,38 a	72,4 ± 7,04 a	94,5 ± 4,05 a	88,5 ± 1,30 a	17,2 ± 7,36 a
D4	53,6 ± 7,21 a	91,7 ± 2,40 a	58,0 ± 15,14 a	77,0 ± 3,19 a	85,1 ± 6,54 a	87,7 ± 4,85 a	16,4 ± 6,56 a
D6	44,9 ± 13,31 a	91,7 ± 2,40 a	58,0 ± 12,00 a	82,8 ± 9,97 a	91,7 ± 2,72 a	81,8 ± 5,44 a	14,8 ± 7,87 a
D7	34,2 ± 13,61 a	91,7 ± 2,40 a	62,0 ± 12,22 a	79,6 ± 4,46 a	87,8 ± 2,96 a	76,9 ± 4,67 a	10,4 ± 8,66 a
D8	30,7 ± 19,60 a	91,7 ± 2,40 a	52,7 ± 7,42 a	78,5 ± 10,37 a	83,9 ± 11,60 a	76,9 ± 10,29 a	7,5 ± 9,35 a

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] **D1 (**dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D3** (DAL 50:50, sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm; **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm);

[3] ± EP (erro padrão);

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 9 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* em dieta artificial com diferentes proporções de vagem de feijão liofilizada: amendoim triturado em liquidificador (DAL)[1] e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Peso adultos (mg) com 24h de idade		Deformações (%)		Longevidade (dias)		Razão sexual
	Fêmea	Macho	Pernas	Asas	Fêmea	Macho	
D1	97,9 ± 2,97[3] a[4]	89,6 ± 2,94 a	27,3 ± 6,00 a	5,9 ± 1,66 a	55,9 ± 7,19 a	67,2 ± 11,8 a	0,6 a
D3	91,2 ± 3,26 a	83,3 ± 3,63 ab	18,8 ± 9,86 a	6,5 ± 4,64 a	31,5 ± 31,53 a	60,3 ± 10,37 a	0,5 a
D4	90,9 ± 3,33 a	82,4 ± 2,76 ab	9,2 ± 5,82 a	2,0 ± 1,11 a	40,5 ± 8,32 a	53,4 ± 10,42 a	0,6 a
D6	87,3 ± 3,56 a	79,3 ± 2,46 ab	21,3 ± 3,63 a	13,0 ± 3,92 a	51,9 ± 8,55 a	33,0 ± 4,93 a	0,5 a
D7	84,8 ± 5,36 a	76,8 ± 3,09 b	31,9 ± 7,00 a	4,0 ± 1,78 a	50,2 ± 7,67 a	51,3 ± 8,23 a	0,4 a
D8	84,8 ± 4,98 a	82,6 ± 2,83 ab	18,5 ± 9,80 a	1,9 ± 1,71 a	33,2 ± 6,08 a	49,4 ± 12,4 a	0,5 a

	Período de pré-oviposição (dias)	Fêmeas que ovipositaram (%)	Número de posturas/fêmea	Número de ovos/postura	Número de ovos/fêmea	
					considerando 100% das fêmeas	apenas as fêmeas que ovipositaram
D1	17,7 ± 2,20 a	80,0 ± 11,56 a	18,5 ± 3,84 a	9,6 ± 0,83 a	155,7 ± 44,11 a	194,6 ± 46,97 a
D3	19,8 ± 2,87 a	40,0 ± 0,00 a	11,7 ± 2,26 a	9,5 ± 0,80 a	44,7 ± 19,71 a	111,8 ± 31,88 a
D4	25,1 ± 4,05 a	53,3 ± 17,64 a	4,8 ± 0,82 a	11,2 ± 1,38 a	32,1 ± 9,31 a	53,6 ± 11,01 a
D6	31,9 ± 4,18 a	53,3 ± 17,64 a	7,0 ± 1,43 a	6,6 ± 0,81 a	30,8 ± 14,15 a	57,8 ± 23,11 a
D7	27,4 ± 2,15 a	69,2 ± 5,00 a	7,0 ± 1,86 a	7,9 ± 1,01 a	43,9 ± 19,66 a	63,3 ± 24,62 a
D8	29,3 ± 8,11 a	27,8 ± 14,70 a	3,7 ± 0,73 a	8,1 ± 1,64 a	11,0 ± 7,37 a	36,7 ± 15,15 a

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D3** (DAL 50:50, sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm);

[3] ± EP (erro padrão);

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.3 Etapa 3: Efeitos de anticontaminantes em diferentes doses, adicionados à DAL, na biologia de *E. heros* e no desenvolvimento de patógenos

Os principais contaminantes presentes nas dietas artificiais foram os fungos *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp., fungos estes identificados no Laboratório de Controle Microbiano e Patologia de Insetos da ESALQ-USP.

Os estudos com anticontaminantes mostraram que para o desenvolvimento ninfal, a substituição de dieta pode ser realizada a intervalos de tempo maiores ou mesmo ser desnecessária, o que deverá diminuir o custo de produção dos percevejos em programas de Controle Biológico Aplicado. Neste experimento, o número de "trocas" de dietas para o período 2° ínstar-adulto, variou de 0 – 1 nas dietas artificiais com vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes e fizeram-se 8 substituições na dieta DAL (D3) sem anticontaminantes (Tabela 10).

Tabela 10 - Frequência de "trocas" da dieta artificial e número de dias entre cada substituição durante o período 2° ínstar-adulto na criação de *Euschistus heros* em dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada e moída (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Duração do período 2° ínstar-adulto (dias)	Freqüência da troca de dieta	N° de dias entre cada troca de dieta
D3	25,8	8	3
D4	26,9	1	19
D9	27,5	0	27
D10	28,5	0	28
D11	27,1	1	25
D12	27,2	1	17
D13	28,0	0	28

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm); **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm).

Na presente pesquisa, os anticontaminantes afetaram o desenvolvimento de *E. heros*, pois alongaram o seu desenvolvimento, especialmente nos tratamentos com formaldeído (D10) e ácido benzóico (D13), Como foi discutido em 4.2.1 e 4.2.2, neste estudo, também não houve alongamento das fases de ovo e 1° ínstar observando-se tais diferenças para o período do 2° ao 5° ínstar (Tabela 11).

A viabilidade ovo-adulto (Tabela 11) para as dietas com vagem de feijão liofilizada (DAL), neste experimento, superou as obtidas em testes anteriores, incluindo a dieta natural; entretanto, foi variável entre tratamentos, ocorrendo maior viabilidade nas dietas D3 e D11. A fase de ovo mostrou ser a mais crítica para todos os tratamentos, sendo o formaldeído (D10) o pior tratamento. O efeito negativo de anticontaminantes e doses sobre insetos têm sido relatados, sendo que Alverson e Cohen (2002) referiram que o nipagin afetou a sobrevivência de ninfas, peso seco de adultos, produção de ovos, período de desenvolvimento e período de início de oviposição de *Lygus hesperus* (Knight, 1917) (Hemiptera: Miridae) nas concentrações de 1000, 1500 e 2000 ppm.

O peso dos adultos com 24horas de idade também foi afetado significativamente pelos anticontaminantes, sendo uma vez mais o formaldeído (dietas D9 e D10) o anticontaminante menos adequado na dieta de *E. heros*; por outro lado, os adultos obtidos na dieta DAL, sem anticontaminante (D3), apresentaram maior peso seguido das dietas D12, D4 e D11. De forma geral, o peso das fêmeas foi maior do que o dos machos e a longevidade de machos maior do que a das fêmeas (fato observado em todos os experimentos) **(**Tabela 12, Figuras 12, 13**).**

As dietas DAL com anticontaminantes não tiveram efeito sobre deformações de pernas, nem sobre longevidade de fêmeas e machos. Por outro lado, houve efeito da dieta nas deformações de asas, apresentando menor deformação os insetos provenientes das dietas D3 (testemunha), e a maior deformação as dietas D10 e D9 com 34 e 25% respectivamente. A razão sexual foi, em média, de 0,5 para todos os tratamentos e o período de pré-oviposição variável de 9 a 11 dias (Tabela 12).

As dietas DAL propiciaram maior fecundidade, sem haver efeito dos anticontaminantes na porcentagem de fêmeas que ovipositaram (86 a 100%), número de posturas/fêmea (16 - 26), número de ovos/postura (12 - 13) e número de ovos/fêmea (171 - 286), considerando-se 100% das fêmeas. Estes resultados atestam a qualidade nutricional da dieta contendo material liofilizado (Tabela 12).

Todas as dietas aumentaram o período de oviposição, concentrando-se 90% das posturas em 54 dias na testemunha (D3) e em 90 dias no pior tratamento (D10) contendo formaldeído, sem entretanto, afetar a fecundidade (Figuras 10 e 14); esta constatação sugere que os anticontaminantes aumentam a longevidade das fêmeas, e conseqüentemente o número de posturas e de ovos por fêmea, fato provavelmente relacionado à ação destes anticontaminantes sobre simbiontes eventualmente presentes (SIQUEIRA, 2007; DOUGLAS; SIKOROWSKI, 2009a).

Em todos os tratamentos, a longevidade dos machos foi maior do que das fêmeas (Tabela 12, Figuras 12 e 13), fato já observado nas etapas 4.1 e 4.2; a sobrevivência das fêmeas desenvolvidas e criadas em dieta com componentes liofilizados e anticontaminantes foi menor quando comparada com as fêmeas provenientes da dieta natural; porém, as fêmeas desenvolvidas e criadas em dietas artificiais com componentes liofilizados e anticontaminantes viveram mais do que as fêmeas provenientes de dietas sem anticontaminantes, ocorrendo o inverso com os machos.

As dietas D10 e D13 que alongaram a duração do período ovo-adulto produziram adultos com boa fertilidade e fecundidade; estes resultados poderiam sugerir que para melhorar o desempenho das futuras dietas poderia ser levado em conta o efeito tanto de proporções dos componentes liofilizados quanto de anticontaminantes e doses, separadamente para ninfas e adultos.

No laboratório, obtiveram-se 10 gerações (F_{10}) nas dietas D9 e D11; as dietas D3 (testemunha sem anticontaminantes) e D4 foram descartadas na sexta geração (F_6) ao produzirem poucos adultos e, portanto, com alta probabilidade de cruzamento entre irmãos (“inbreeding”), e pela alta incidência de fungos na dieta D3; as dietas D10 e D13 foram desconsideradas antes de F_1, pois o formaldeído está saindo do mercado e tem propriedades carcinogênicas, além de ter mostrado efeito negativo sobre *E. heros*. O tratamento com ácido propiônico (D12) foi descartado após a geração F_3 (Tabela 13) ao produzir machos com baixo peso, o que teria afetado o acasalamento, causando alta infertilidade e apresentado a mais baixa população de descendentes (observação pessoal).

Tabela 11 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* criado em dieta artificial, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Duração (dias)						Ovo-adulto
	Fase de ovo	1° ínstar	2° ínstar	3° ínstar	4° ínstar	5° ínstar	
D3	7,5 ± 0,10[3] a[4]	3,0 ± 0,00 a	4,9 ± 0,09 b	6,3 ± 0,10 c	6,3 ± 0,07 b	9,2 ± 0,06 ab	37,3 ± 0,14 b
D4	7,8 ± 0,05 a	3,0 ± 0,00 a	4,9 ± 0,11 b	6,6 ± 0,14 bc	6,6 ± 0,09 ab	9,1 ± 0,06 b	38,0 ± 0,14 bc
D9	7,7 ± 0,06 a	3,0 ± 0,00 a	5,3 ± 0,17 ab	6,8 ± 0,12 bc	6,8 ± 0,10 a	9,3 ± 0,06 ab	38,8 ± 0,15 bc
D10	7,6 ± 0,12 a	3,0 ± 0,00 a	5,1 ± 0,08 ab	7,2 ± 0,10 a	6,8 ± 0,09 a	9,4 ± 0,08 a	39,1 ± 0,20 a
D11	7,5 ± 0,09 a	3,0 ± 0,00 a	5,1 ± 0,14 ab	6,5 ± 0,14 bc	6,5 ± 0,08 ab	9,3 ± 0,07 ab	37,9 ± 0,17 bc
D12	7,7 ± 0,07 a	3,0 ± 0,00 a	5,4 ± 0,15 ab	6,6 ± 0,11bc	6,5 ± 0,09 ab	9,0 ± 0,07 c	38,3 ± 0,15 bc
D13	7,8 ± 0,05 a	3,0 ± 0,00 a	5,7 ± 0,13 a	6,8 ± 0,11 ab	6,6 ± 0,10 ab	9,2 ± 0,09 ab	39,1 ± 0,18 a
	Viabilidade (%)						Ovo-adulto
	Fase de ovo	1° ínstar	2° ínstar	3° ínstar	4° ínstar	5° ínstar	
D3	58,8 ± 4,97 a	91,7 ± 2,40 a	97,0 ± 1,91 ab	99,0 ± 1,09 ab	100,0 ± 0,00 a	99,0 ± 1,00 a	51,2 ± 6,53 a
D4	58,2 ± 3,65 a	91,7 ± 2,40 a	96,0 ± 1,63 ab	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a	94,8 ± 2,63 a	48,6 ± 6,51 ab
D9	51,8 ± 5,59 a	91,7 ± 2,40 a	97,0 ± 1,91 ab	100,0 ± 0,00 a	99,0 ± 1,10 a	92,7 ± 3,12 a	42,3 ± 7,50 ab
D10	25,1 ± 5,65 b	91,7 ± 2,40 a	98,0 ± 2,00 a	98,0 ± 1,20 ab	100,0 ± 0,00 a	91,7 ± 1,62 a	20,3 ± 11,88 b
D11	62,8 ± 5,45 a	91,7 ± 2,40 a	98,0 ± 1,15 a	95,9 ± 1,63 ab	97,9 ± 1,23 a	97,8 ± 1,23 a	51,8 ± 5,66 a
D12	47,6 ± 4,49 a	91,7 ± 2,40 a	97,0 ± 1,00 ab	92,8 ± 3,55 b	100,0 ± 0,00 a	96,7 ± 2,00 a	38,0 ± 8,10 ab
D13	54,2 ± 5,98 a	91,7 ± 2,40 a	90,0 ± 2,00 b	94,4 ± 1,06 ab	100,0 ± 0,00 a	95,3 ± 3,37 a	40,3 ± 6,83 ab

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm); **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm);

[3] ± EP (erro padrão);

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 12 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual, período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* criado em dieta artificial, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Peso (mg) com 24h de idade		Deformações (%)		Longevidade (dias)		Razão sexual
	Fêmea	Macho	Pernas	Asas	Fêmea	Macho	
D3	94,5 ± 1,72[3] a[4]	80,0 ± 1,88 a	14,7 ± 3,05 a	5,3 ± 01 c	44,3 ± 4,4 a	77,8 ± 7,11 a	0,5 a
D4	83,8 ± 1,79bc	76,6 ± 1,18 a	26,4 ± 7,64 a	11,0 ± 4,13 bc	51,8 ± 5,34 a	75,4 ± 7,68 a	0,6 a
D9	79,4 ± 1,86 c	67,0 ± 1,17 bc	15,7 ± 4,42 a	24,7 ± 4,23 ab	37,4 ± 3,99 a	92,9 ± 10,57 a	0,5 a
D10	66,1 ± 1,33 d	61,4 ± 1,35 c	20,5 ± 4,65 a	34,1 ± 5,01 a	45,9 ± 7,96 a	58,4 ± 11,27 a	0,5 a
D11	83,4 ± 1,76 bc	76,6 ± 1,53 a	14,4 ± 3,73 a	8,9 ± 1,74 c	39,3 ± 6,48 a	98,1 ± 9,62 a	0,6 a
D12	87,3 ± 1,66 ab	78,1 ± 1,85 a	13,8 ± 1,97 a	8,1 ± 1,21 c	56,7 ± 6,16 a	82,6 ± 10,25 a	0,5 a
D13	78,9 ± 2,19c	68,3 ± 1,67 bc	18,5 ± 3,68 a	16,1 ± 3,90 bc	48,8 ± 6,51 a	70,5 ± 9,45 a	0,5 a

	Período de pré-oviposição (dias)	Fêmeas que ovipositaram (%)	Número de posturas/fêmea	Número de ovos/postura	Número de ovos/fêmea	
					considerando 100% das fêmeas	apenas as fêmeas que ovipositaram
D3	9,4 ± 0,41 c	100,0 ± 0,00 a	20,4 ± 2,56 a	12,8 ± 0,64 a	260,1 ± 34 18 a	260,1 ± 34,18 a
D4	9,7 ± 0,33 bc	100,0 ± 0,00 a	24,2 ± 2,77 a	12,3 ± 0,48 a	286,0 ± 28 53 a	286,0 ± 28,53 a
D9	10,6 ± 0,39 ab	92,0 ± 7,14 a	16,5 ± 2,19 a	11,8 ± 0,58 a	171,5 ± 22,72 a	186,4 ± 20,90 a
D10	10,9 ± 0,38 a	100,0 ± 0,00 a	16,5 ± 4,06 a	11,6 ± 0,76 a	206,9 ± 53 51 a	206,9 ± 53,51 a
D11	9,6 ± 0,24 bc	100,0 ± 0,00 a	16,0 ± 2,79 a	13,4 ± 0,49 a	211,6 ± 37,08 a	211,6 ± 37,08 a
D12	9,9 ± 0,21 abc	90,0 ± 6,84 a	26,2 ± 3,27 a	12,0 ± 0,43 a	285,2 ± 38,55 a	316,9 ± 35,85 a
D13	9,9 ± 0,21 abc	86,4 ± 4,80 a	22,7 ± 3,30 a	12,1 ± 0,44 a	232,9 ± 43 81 a	269,6 ± 41,10 a

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm); **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm);

[3] ± EP (erro padrão);

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

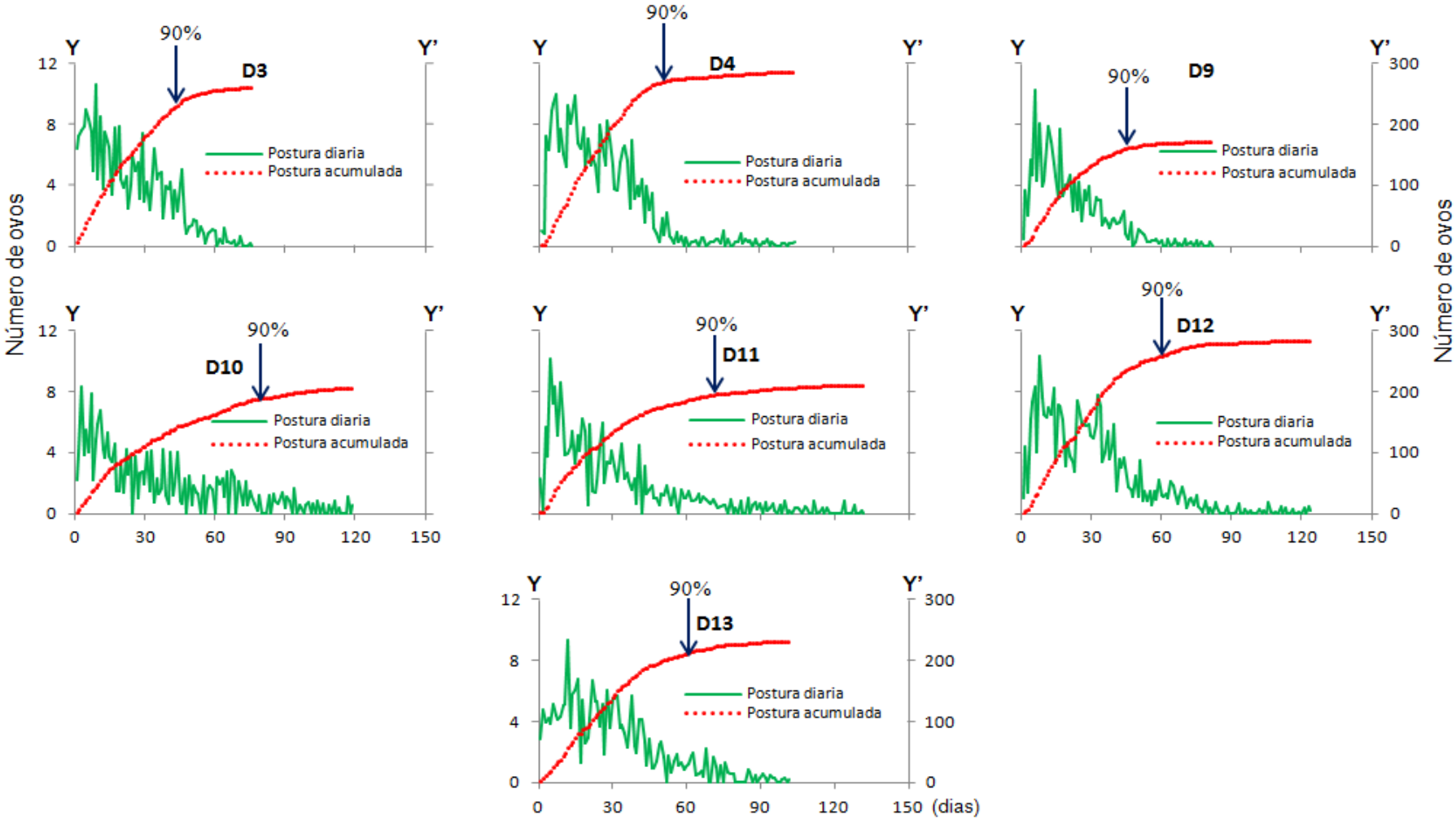

Figura 10 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, criado em dieta artificial, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (D9 + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm); **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm). As setas indicam 90% da postura

O estudo, ao longo das 10 gerações, mostrou que as dietas DAL (D9, D11), mantiveram as características desejadas, como razão sexual em torno de 0,5, menor porcentagem de deformações de pernas e asas e peso dos adultos próximos a 70 mg (Figura 11). Como já comentado, a D3 (DAL sem anticontaminantes) foi excluída após a sexta geração (F_6), pois o número de descendentes foi insuficiente para continuidade das observações.

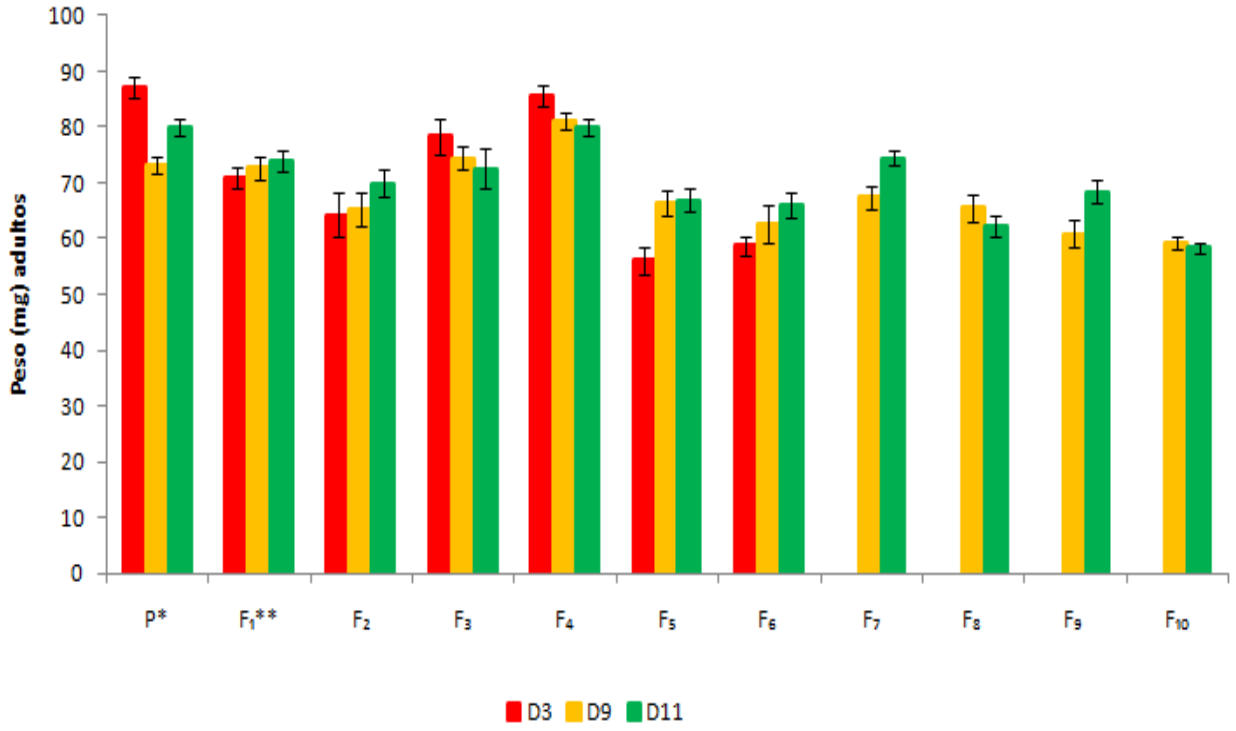

Figura 11 - Peso de *Euschistus heros* mantido em 3 dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes ao longo de 10 gerações. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante), descartada após da sexta geração por apresentar baixa viabilidade; D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm). **(*)** P: progenitores; **(**)** F_1 - F_{10}: número de gerações por dieta

Tabela 13 - Número de gerações de *Euschistus heros* em diferentes dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes, antes de serem descartadas

Gerações	D1[2]	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12	D13
ETAPA 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo componentes liofilizados e anticontaminantes na criação de *E. heros*													
F_1	desc[3]	Descartada	Desc	desc	desc								
F_2	desc		desc	desc	Descartada								
F_3	desc		desc	desc									
F_4	desc		desc										
ETAPA 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador na dieta artificial, na biologia de *E. heros*													
F_1	desc		desc	desc		desc	desc	Desc					
F_2							desc						
F_3						Descartada	desc	Descartada					
							Descartada						
ETAPA 3: Efeito de anticontaminantes em diferentes doses na biologia de *E. heros* e no desenvolvimento de patógenos													
F_1			desc	desc					desc	Descartada	desc	desc	Descartada
F_2			desc	desc					desc		desc	desc	
F_3			desc	desc					desc		desc	desc	
F_4			desc	desc					desc		desc	Descartada	
F_5			desc	desc					desc		desc		
F_6			desc	desc					desc		desc		
F_7			Descartada	Descartada					desc		desc		
F_8									desc		desc		
F_9									desc		Desc		
F_{10}									desc		Desc		

[1] **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm);

[3] desc: produziram descendentes.

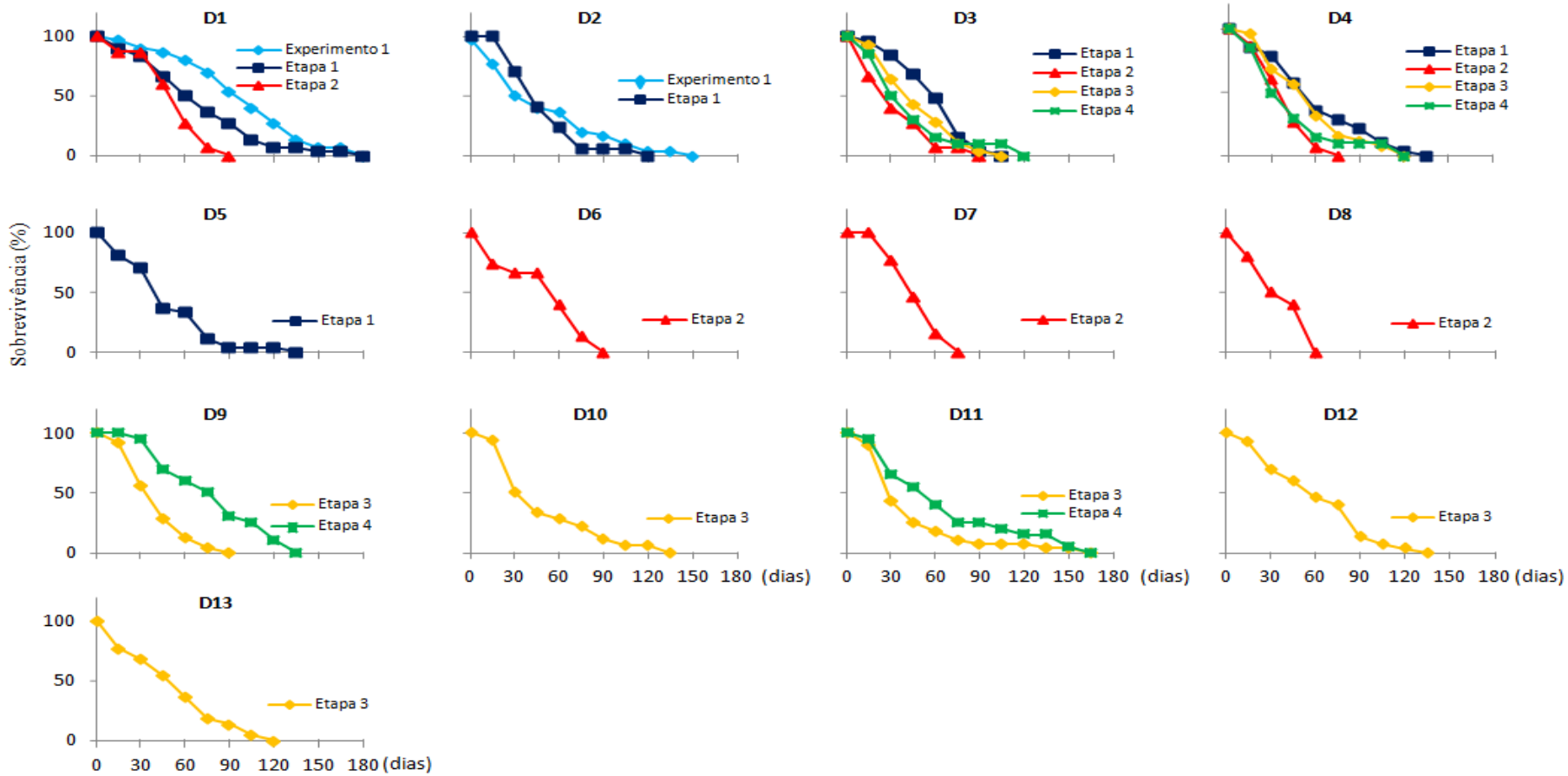

Figura 12 - Porcentagem e tempo (dias) de sobrevivência de *Euschistus heros* fêmeas, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL:** Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm)

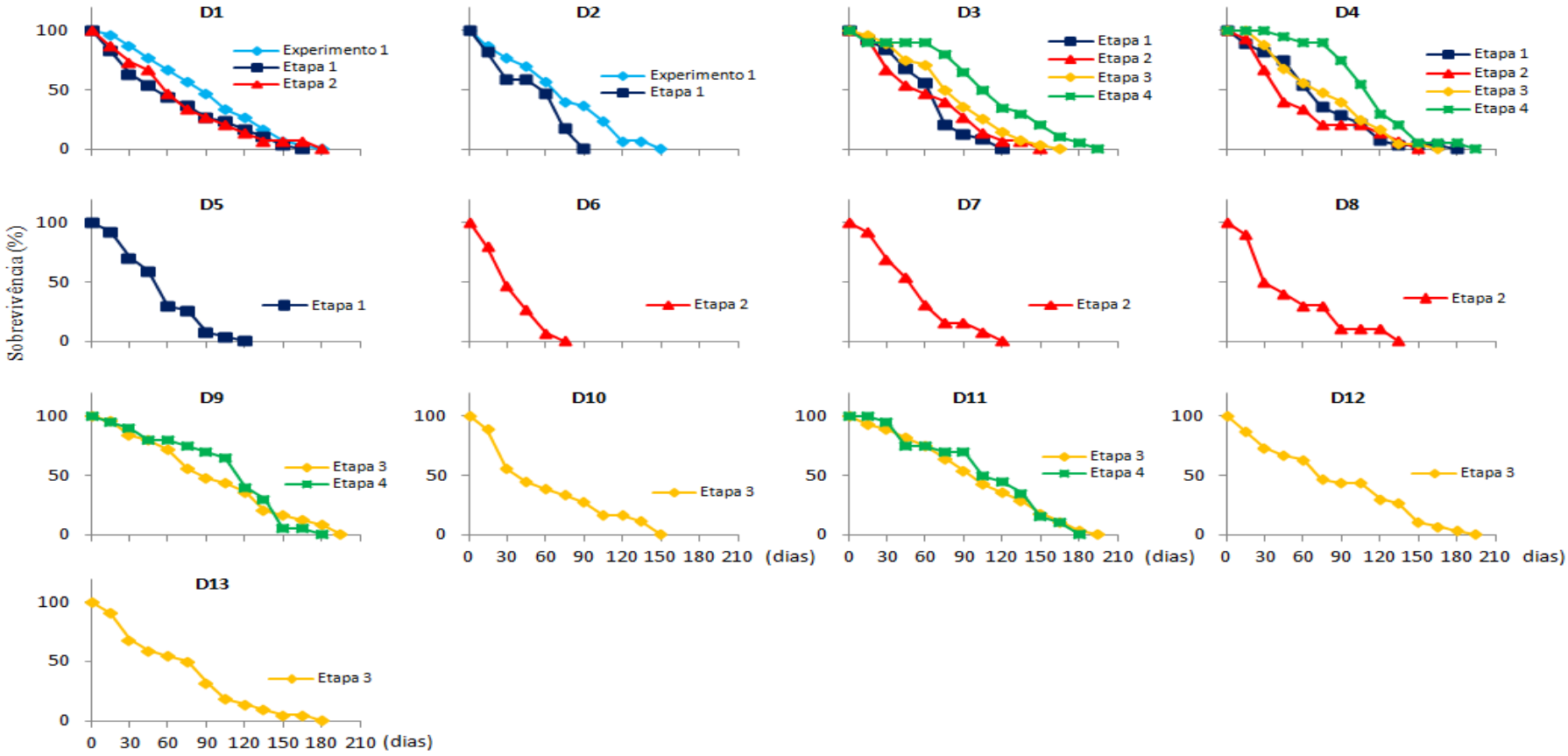

Figura 13 - Porcentagem e tempo (dias) de sobrevivência de *Euschistus heros* machos, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL:** Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm)

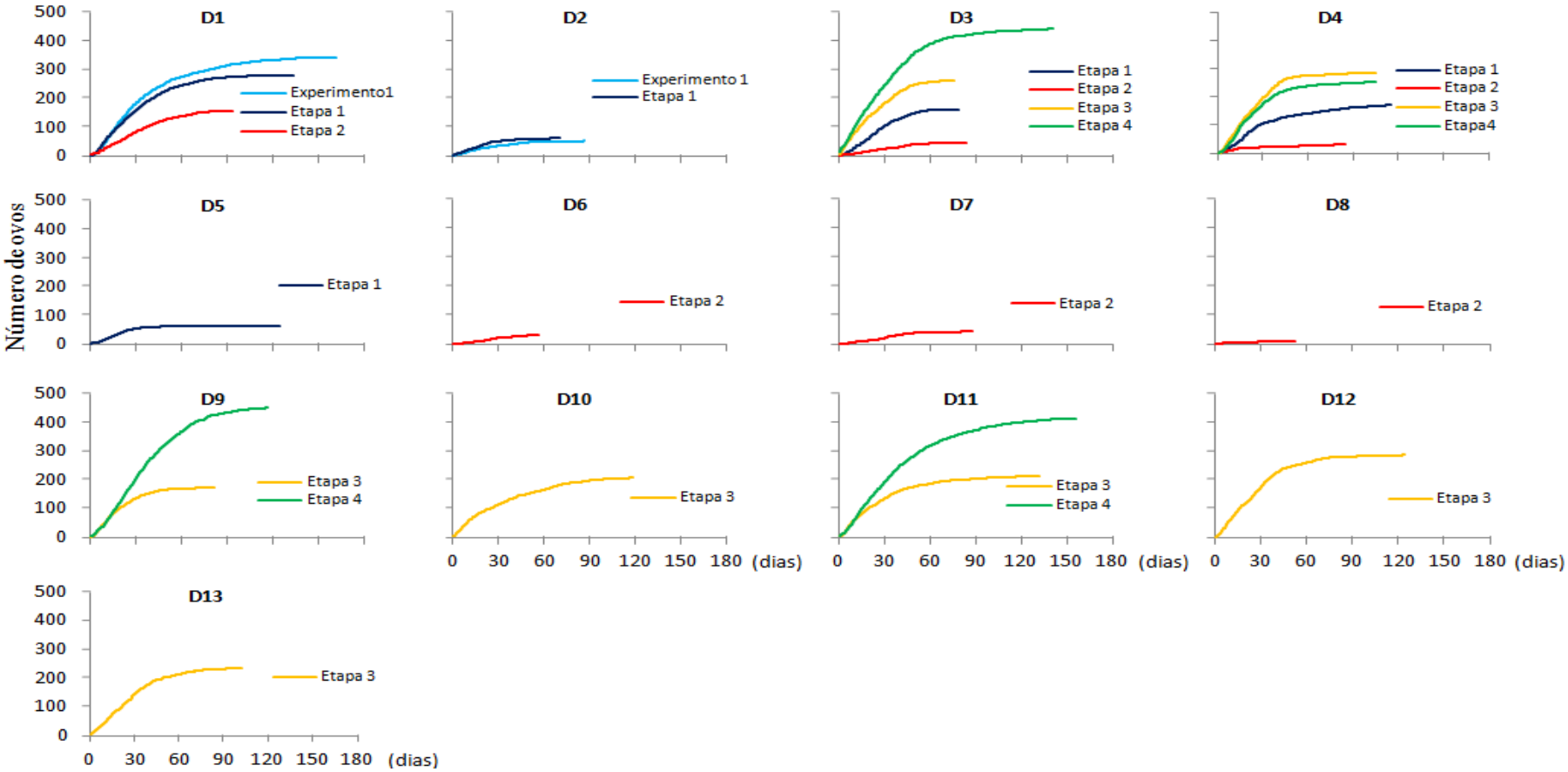

Figura 14 - Postura acumulada de *Euschistus heros* criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). Tratamentos: **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm)

4.2.4 Etapa 4: Quarta geração (F_4)

As dietas contendo vagem de feijão liofilizada e moída (DAL) (D3, D9, D11 e D4), produziram um número superior a 40 individuos até a terceira geração (F_3) (Tabela 13), e, por este motivo foram comparadas na quarta geração (F_4).

O período de desenvolvimento ovo-adulto nas dietas DAL desta etapa (33 - 34 dias), foi similar àquele obtido na dieta D1 do primeiro experimento (4.1) (32 dias), mostrando que os insetos ao permanecerem alimentando-se da mesma dieta, se adaptaram a ela, diferentemente dos insetos que se alimentaram nas dietas, natural (D1) e DAL sem anticontaminantes, pois nelas o inseto degenerou ao longo das gerações (Figuras 11-14), sendo necessário introduzir insetos de campo para revigorar a população.

As dietas não afetaram a duração da fase de ovo, e nem do 1° e 2° ínstares (Tabela 14). As variações começaram a ocorrer a partir do 3° ínstar, especialmente na dieta D3 em que houve um alongamento no quinto ínstar (Tabela 14) Não houve diferença na viabilidade dos diferentes tratamentos, sendo a fase crítica a fase de ovo (Tabela 14).

O peso, longevidade de machos e razão sexual não foram afetados pelos anticontaminantes. A longevidade de machos foi sempre maior àquele das fêmeas nas 4 dietas. A dieta D3 sem anticontaminantes deu origem a fêmeas mais pesadas e com menor porcentagem de deformações de pernas e asas (Tabela 15).

Os parâmetros biológicos, período de pré-oviposição, porcentagem de fêmeas que ovipositaram, número de ovos/postura e número de ovos/fêmea não foram afetados pelos anticontaminantes. O número de posturas/fêmea foi semelhante em todos os tratamentos (Tabela 15).

Na pior dieta (D4), 90% das posturas foram colocadas até os 60 dias, e nas demais entre 75 - 100 dias (Figuras 14 e 15). A sobrevivência de fêmeas e machos (Tabela 15, Figuras 12, 13) mostrou a mesma tendência observada na etapa 3, ou seja, a longevidade de machos foi maior do que a das fêmeas, e as fêmeas por sua vez apresentaram maior sobrevivência nas dietas DAL com anticontaminantes em relação à dieta DAL sem anticontaminantes (D3).

A fecundidade na dieta natural (D1) assim como na dieta DAL sem anticontaminantes foi diminuindo ao longo do tempo, enquanto que, nas dietas DAL com anticontaminantes (D9 e D11) a fecundidade aumentou de forma significativa, comparada com a fecundidade média em

dieta natural (282 ovos/fêmea), passando para 430 ovos/fêmea, demonstrando que nas dietas DAL (Figura 14), *E. heros* foi se adaptando ao longo das gerações, não mostrando sinais de degeneração como na dieta natural.

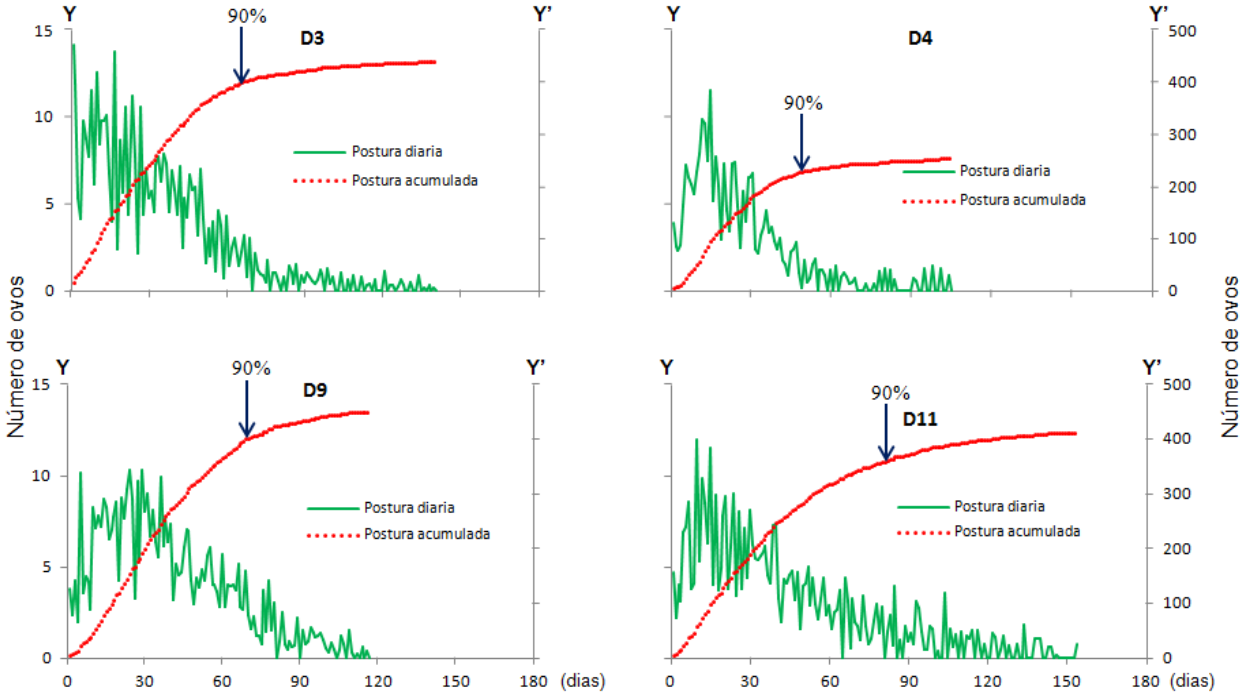

Figura 15 - Postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Euschistus heros*, da quarta geração (F_4) criado em 4 dietas artificiais, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm). As setas indicam 90% da postura

Tabela 14 - Duração e viabilidade dos ínstares e do período ovo-adulto de *Euschistus heros* da quarta geração (F_4) criado em 4 dietas artificiais, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Duração (dias)						Ovo-adulto
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1*	7,0	3,0	5,5	4,7	5,7	8,5	34,4
D3	7,0 ± 0,00[3] a[4]	3,0 ± 0,00 a	5,7 ± 0,13 a	5,3 ± 0,20 b	5,2 ± 0,10 b	6,7 ± 0,08 b	33,1 ± 0,32 c
D4	6,9 ± 6,90 a	3,0 ± 0,00 a	5,9 ± 0,10 a	5,9 ± 0,20 a	5,6 ± 0,10 a	7,2 ± 0,08 a	34,9 ± 0,34 a
D9	7,0 ± 0,00 a	3,0 ± 0,00 a	5,8 ± 0,10 a	5,5 ± 0,20 ab	5,4 ± 0,10 b	7,3 ± 0,08 a	34,2 ± 0,27 ab
D11	7,0 ± 0,00 a	3,0 ± 0,00 a	5,9 ± 0,10 a	5,3 ± 0,10 b	5,4 ± 0,10 ab	7,1 ± 0,07 a	33,7 ± 0,20 bc
	Viabilidade (%)						**Ovo-adulto**
	Fase de ovo	**1° ínstar**	**2° ínstar**	**3° ínstar**	**4° ínstar**	**5° ínstar**	
D1*	61,0	91,7	79,7	89,9	96,4	94,7	38,2
D3	83,3 ± 4,84 a	91,7 ± 2,40 a	92 ± 2,83 a	100 ± 0,00 a	96,7 ± 2,00 a	96,6 ± 1,14 a	65,7 ± 2,39 a
D4	88,4 ± 4,76 a	91,7 ± 2,40 a	93 ± 2,58 a	96,8 ± 2,17 a	98,9 ± 1,00 a	98,9 ± 1,04 a	71,3 ± 1,74 a
D9	85,6 ± 3,36 a	91,7 ± 2,40 a	95 ± 1,91 a	98,9 ± 1,04 a	100,0 ± 0,00 a	97,9 ± 1,21 a	72,1 ± 2,22 a
D11	82,1 ± 4,47 a	91,7 ± 2,40 a	94 ± 3,46 a	98,9 ± 1,00 a	96,8 ± 1,04 a	94,4 ± 3,26 a	64,0 ± 2,40 a

[1] **Composição da dieta DAL:** Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] D1* (valores correspondem ás médias dos 3 primeiros experimentos); D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm);

[3] ± EP (erro padrão);

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 15 - Peso de adultos com 24h de idade, deformações de pernas e asas, longevidade, razão sexual período de pré-oviposição, fêmeas que ovipositaram, número de posturas por fêmea, número de ovos por postura e número de ovos por fêmea de *Euschistus heros* da quarta geração (F_4) criado em 4 dietas artificiais, contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Tratamentos[2]	Peso (mg) com 24h de idade		Deformações (%)		Longevidade (dias)		Razão sexual
	Fêmea	Macho	Pernas	Asas	Fêmea	Macho	
D1*	101,3	91,8	17,7	5,5	72,5	72,3	0,5
D3	93,2 ± 2,18[3] a[4]	79,7 ± 1,75 a	11,6 ± 3,07 b	0,0 ± 0,00 b	62,6 ± 8,96 ab	107,2 ± 11,01 a	0,6 a
D4	84,8 ± 2,25 b	75,0 ± 1,52 a	20,5 ± 1,37 ab	10,2 ± 3,57 ab	40,0 ± 6,57 b	107,7 ± 7,64 a	0,6 a
D9	84,6 ± 1,67 b	77,9 ± 1,37 a	31,5 ± 6,56 a	10,9 ± 3,07 a	72,7 ± 7,63 a	103,9 ± 10,33 a	0,5 a
D11	83,4 ± 1,57 b	76,5 ± 1,48 a	18,82 ± 3,37 ab	7,1 ± 2,38 ab	63,6 ± 10,39 ab	104,8 ± 10,94 a	0,5 a

	Período de pré-oviposição (dias)	Fêmeas que ovipositaram (%)	Número de posturas/fêmea	Número de ovos/postura	Número de ovos/fêmea	
					considerando 100% das fêmeas	apenas as fêmeas que ovipositaram
D1*	14,5	90,0	25,2	11,0	258,8	282,4
D3	9,1 ± 0,14 a	100,0 ± 0,00 a	32,4 ± 3,69 ab	13,9 ± 0,68 a	440,2 ± 46,81 a	440,2 ± 46,81 a
D4	9,4 ± 0,52 a	90,0 ± 5,80 a	20,2 ± 2,76 b	14,0 ± 0,65 a	254,9 ± 39,33 a	283,2 ± 38,29 a
D9	9,6 ± 0,29 a	95,0 ± 5,00 a	38,8 ± 3,44 a	13,2 ± 0,51 a	448,9 ± 44,41 a	472,5 ± 41,44 a
D11	10,6 ± 0,61 a	100,0 ± 0,00 a	33,1 ± 3,76 ab	11,6 ± 0,47 a	411,2 ± 53,86 a	411,2 ± 53,86 a

[1] **Composição da dieta DAL:** Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] D1*(valores correspondem ás médias dos 3 primeiros experimentos, não foram considerados nas análise estatísticas; D3 (DAL 50:50 sem anticontaminante); D4 (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm);

[3] ± EP (erro padrão);

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.3 Análise de agrupamento

Os resultados da análise de agrupamento, das 4 etapas de desenvolvimento da dieta artificial com vagem de feijão liofilizado (DAL) (Figura 16), evidenciaram que na etapa 1 formaram-se 3 grupos diferenciados: no primeiro grupo, a dieta natural (D1) foi superior às demais; o segundo grupo, formado pelas dietas D2 e D5, contendo os ingredientes da dieta artificial de Panizzi et al. (2000) modificada por Fortes et al. (2006); ambas as dietas tiveram efeito adverso na biologia de *E. heros*, sendo descartadas nesta etapa (Tabelas 4 e 13); o terceiro grupo, formado pelas dietas D3 e D4, ambas contendo vagem de feijão liofilizada, com a diferença da presença de anticontaminante na dieta D4; estas dietas foram escolhidas como testemunhas para as etapas seguintes; a primeira sem anticontaminantes e a segunda com nipagin, porém ambas constituídas de material liofilizado.

Na segunda etapa, diferenciaram-se 2 grupos; no primeiro, a dieta natural D1 (testemunha) que apresentou os melhores resultados e no segundo grupo as dietas DAL: D4 e D6, ambas mostraram-se adequadas para *E. heros;* uniram-se ao grupo as dietas D7, contendo menor proporção de vagem liofilizada e a maior proporção de amendoim triturado em liquidificador (25:75) e D3 com proporção 50:50 sem anticontaminantes; uniu-se logo ao grupo a dieta D8, com a maior proporção de vagem liofilizada 75:25 e que afetou a biologia do percevejo; nesta etapa, foram descartadas as dietas D6, com a proporção 50:50, contendo ácido ascórbico, a dieta D7 que apresentou aparência oleosa na superfície dificultando a locomoção dos insetos e a dieta D8 que apresentou aparência seca devido à maior concentração de vagem liofilizada e celulose (Tabelas 4 e 13).

Na etapa 3, a dieta natural (D1) foi considerada como sendo a média dos valores dos 3 primeiros experimentos; nesta etapa, os tratamentos formaram um grupo bem definido, com união das dietas D4 e D12, juntaram-se à dieta D1 e a dieta D3; todas tiveram bom desempenho no desenvolvimento de *E. heros*; foi descartada após a terceira geração a dieta D12. Os demais tratamentos: D9, D10, D11 e D13, não se agruparam a 40% da distância, pois as dietas D10 e D13 como as piores, foram eliminadas nesta etapa; entretanto, as dietas D9, D11, D3 e D4, foram mantidas no decorrer das gerações, pois todas elas permitiram a *E. heros* chegar à terceira geração (F_3), e ao atingirem a quarta geração, foram comparadas para avaliar sua performance biológica.

Na etapa 4: que corresponde a quarta geração (F_4) dos insetos obtidos na etapa 3, a análise identificou 2 grupos: no primeiro, formado pelas dietas D4 e D1 pois nesta etapa o nipagin na concentração de 8000 ppm afetou a biologia de *E. heros*; e o segundo grupo, formado pelas dietas que tiveram melhor desempenho para *E. heros* no decorrer das gerações, a D3 (testemunha sem anticontaminante), D9 (maior concentração de nipagin-10000 ppm, e ácido sórbico-800 ppm) e D11 (D9 + tetraciclina-0,0076 ppm); assim, D9 e D11 permitiram a reprodução de *E. heros* em laboratório até a décima geração de adultos, tendo-se descartado as dietas D3 e D4 na sexta geração, de laboratório.

4.4 Tabela de vida de fertilidade de *E. heros*, criado em diferentes dietas artificiais com vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes

No primeiro experimento, a dieta natural (D1) apresentou uma Ro (taxa líquida de reprodução) de 86 ou seja, a população de *E. heros* aumenta a cada geração 86 vezes contra 5,5 vezes quando o inseto foi criado na dieta artificial. Os demais parâmetros da tabela de vida, ou seja, rm, taxa intrínseca de crescimento, e razão finita de aumento (λ), que representa o número de individuos adicionados à população por fêmea que dará fêmea, foram superiores na dieta natural (D1), e, mostrando a adequação da dieta natural houve uma diminuição do intervalo médio entre gerações (T) e no tempo de duplicação (TD) (Tabela 16).

Na etapa 1, quando foram comparadas diferentes proporções de vagem liofilizada e anticontaminantes, a dieta D1 também foi superior às demais dietas, nos parâmetros Ro, rm e λ seguida das dietas D3 e D4 (Tabela 16).

Na etapa 2, a dieta D1, embora em proporção menor, foi a que apresentou a melhor adequação nutricional para *E. heros* (Tabela 16) seguindo-se as dietas D3 e D4. Os maiores valores de λ, rm e Ro atestam maior qualidade nutricional, com os menores valores de T e TD.

Na etapa 3, as dietas com material liofilizado na proporção 50:50 (vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador) foram as mais completas sendo a dieta D4 a melhor delas, seguindo-se a dieta D3 (dieta DAL sem anticontaminante) e D11 (dieta DAL contendo nipagin, ácido sórbico e tetraciclina). Os resultados de Ro, rm e λ, TD e T , atestam esta afirmação, conforme análise pelo método Jackknife (Tabela 16).

Enquanto o inseto criado na dieta D1 foi degenerando com o passar das gerações, aqueles criados nas dietas com vagem de feijão liofilizado (DAL) foram-se adaptando a elas. Pelos valores da tabela de vida de fertilidade, a dieta D3 sem anticontaminantes e as dietas D9 e D11 foram as melhores e superiores à dieta D4 (com nipagin-8000 ppm).

Com base nos dados biológicos, na tabela de vida de fertilidade e na análise de agrupamento, realizados na etapa 4, as dietas D3 e D4 foram descartadas após a sexta geração (F_6), pois a presença constante de fungos na dieta (sem anticontaminantes) dificultam o seu manejo e a dieta D4 foi inferior na fecundidade às dietas D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm) e D11 (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm), que mantiveram um grande número de descendentes até a décima geração (F_{10}).

Portanto, as dietas DAL (D9 e D11) contendo de 25,8% de proteína, pH ligeiramente ácido (6,2) e que mantiveram a criação de *E. heros* ao longo das gerações com uma elevada taxa liquida de reprodução (132 e 135 para as dietas D9 e D11 respectivamente) podem ser recomendadas para criação em grande escala deste percevejo.

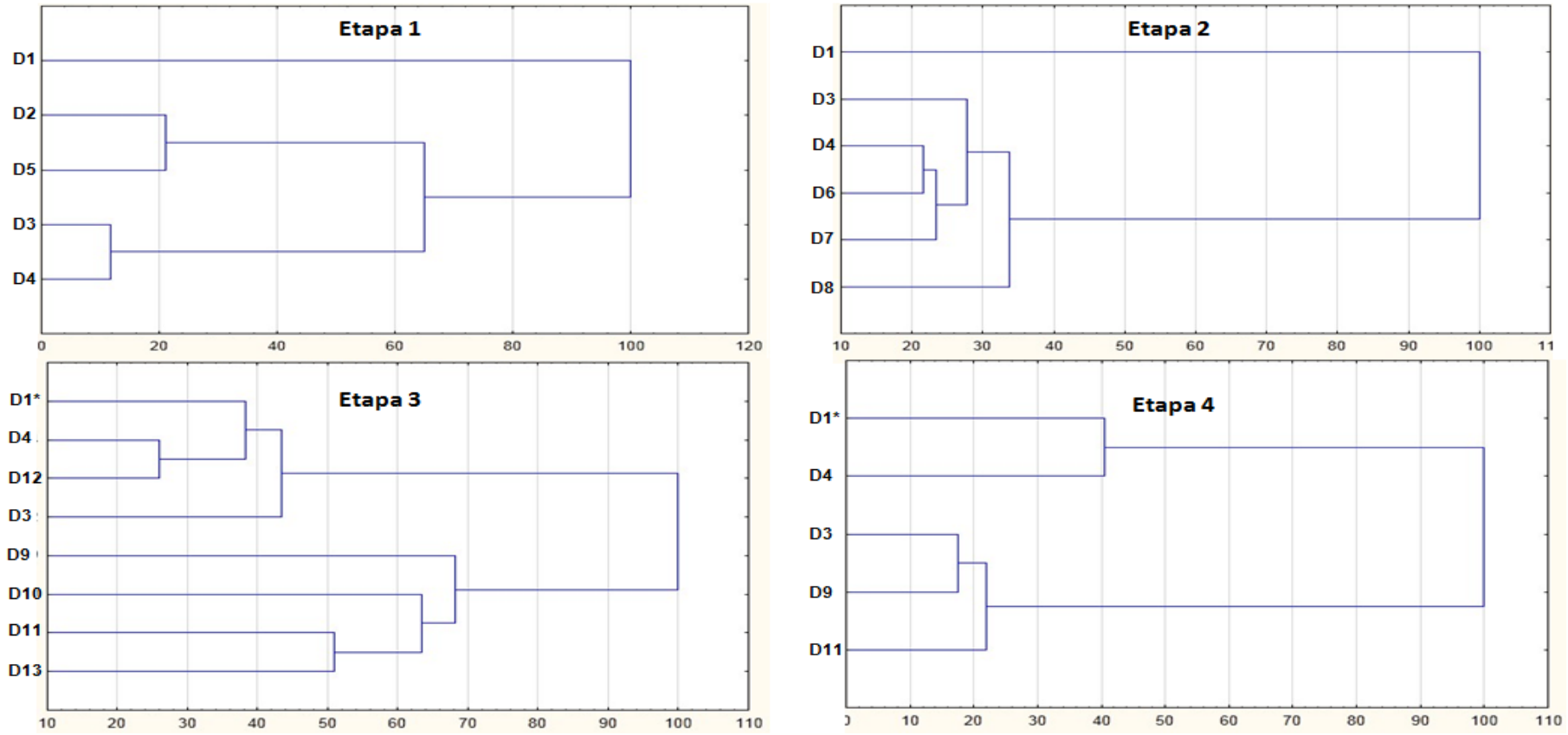

Figura 16 - Fenograma UPGMA por distância Euclidiana média das 4 etapas de aprimoramento da dieta artificial contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes para *Euschistus heros*. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm). **D1*** nas etapas 3 e 4, foram utilizadas as médias do experimento 1 e das etapas 1 e 2

Tabela 16 - Tabela de vida de fertilidade de *Euschistus heros*, criado em dieta natural, dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006) e dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses (Método Jackknife)

Tratamentos[4]	**Ro**[2]	**T**	**TD**	**rm**	**λ**
Dieta natural versus dieta artificial					
D1	86,31 a[3]	58,22 a	09,04 a	0,076 a	1,0795 a
D2	5,48 b	71,52 b	27,58 b	0,024 b	1,0245 b
ETAPA 1: Comparação da dieta natural e artificial contendo componentes liofilizados e anticontaminantes na criação de *E. heros*					
D1	57,17 a	62,79 b	10,73 d	0,064 a	1,0667 a
D2	03,27 d	65,11 b	35,61 a	0,019 d	1,0187 d
D3	29,52 b	63,89 b	12,99 c	0,053 b	1,0546 b
D4	37,27 b	74,06 a	14,13 bc	0,049 b	1,0500 b
D5	9,33 c	60,42 b	18,36 ab	0,037 c	1,0380 c
ETAPA 2: Efeito da proporção de vagem liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador na dieta artificial, na biologia de *E. heros*					
D1	15,76 a	69,28 bc	16,97 ab	0,040 a	1,0411 a
D3	3,93 b	78,54 ab	30,49 ab	0,019 b	1,0190 b
D4	3,20 b	63,17 c	33,42 a	0,019 b	1,0191 b
D6	2,63 b	78,82 a	20,14 ab	0,014 bc	1,0138 bc
D7	1,96 bc	84,79 a	-103,01 b	0,009 bc	1,0092 bc
D8	0,37 c	71,83 abc	-42,98 b	-0,010 c	0,9903 c
ETAPA 3: Efeito de anticontaminantes em diferentes doses na biologia de *E. heros* e no desenvolvimento de patógenos					
D3	66,04 ab	59,94 bc	9,89 c	0,070 a	1,0726 a
D4	81,49 a	65,77 a	10,34 c	0,067 a	1,0688 ab
D9	38,37 c	58,97 c	11,17 b	0,062 b	1,0639 c
D10	21,92 d	67,29 a	14,87 a	0,046 d	1,0475 d
D11	65,01 ab	60,75 abc	10,04 c	0,069 a	1,0714 ab
D12	57,33 b	62,94 ab	10,74 bc	0,064 ab	1,0665 bc
D13	44,86 bc	64,96 a	11,77 b	0,059 bc	1,0605 c
ETAPA 4: Quarta geração (F_4)					
D3	136,11 a	57,82 b	8,14 b	0,085 a	1,089 a
D4	81,32 b	55,26 b	8,66 ab	0,080 ab	1,083 ab
D9	132,21 ab	65,63 a	9,30 a	0,074 b	1,077 b
D11	135,26 ab	63,55 a	8,95 a	0,077 b	1,080 b

[1] Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] Taxa liquida de reprodução (Ro), intervalo médio entre gerações (T), tempo de duplicação (TD), taxa intrínseca de crescimento (rm), razão finita de aumento (λ);

[3] Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste bilateral de t Student,

[4] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D2** (dieta artificial de Panizzi et al. (2000), modificada por Fortes et al. (2006)); **D3** (DAL 50:50 sem anticontaminante); **D4** (DAL 50:50 + nipagim-8000 ppm); **D5** (D2 adicionando-se 15% vagem de feijão liofilizada e moída e 15% de amendoim triturado em liquidificador); **D6** (DAL 50:50 + nipagin-8000 ppm + ácido ascórbico-800 ppm); **D7** (DAL 25:75 + nipagin-8000 ppm); **D8** (DAL 75:25 + nipagin-8000 ppm); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm); **D10** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + formaldeído-3000 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D11** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800 ppm + tetraciclina-0,00765 ppm); **D12** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido propiônico-800 ppm) e **D13** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido benzóico-2000 ppm).

4.5 Avaliação da qualidade da dieta artificial, utilizando-se como critérios danos de *E. heros* e desenvolvimento de parasitoides

4.5.1 Número de picadas de alimentação, em grãos de soja, por *E. heros*, criado em dieta natural e em dietas artificiais utilizando-se o teste da fucsina ácida

Nos resultados, apenas são apresentados dados correspondentes aos tratamentos D9 e D11, pois foram considerados os melhores, por chegarem à geração F_{10}. Assim, o número de crostas salivares deixadas por *E. heros* sobre grãos de soja, foram significativamente iguais entre machos (3,9 - 5,4) e fêmeas (3,9 - 4,9), bem como para o seu valor médio (4,5 - 4,9) (Tabela 17); o número de crostas salivares nos tratamentos com componentes liofilizados nas dietas DAL e anticontaminantes (D9 e D11) foi comparável aos produzidos em dieta natural (D1), demonstrando uma boa capacidade de alimentação do percevejo criado em dieta com material liofilizado e anticontaminantes e comprovando a adequação do meio artificial desenvolvido, que promoveu um bom desenvolvimento do inseto, sem alterações morfológicas visíveis. Número igual de crostas salivares foi referido para este percevejo (9,5 e 10,6 crostas salivares para machos e fêmeas em 48 horas) por Nunes; Corrêa-Ferreira, (2002). Já para *N. viridula* sadios e parasitados por *Trichopoda nitens* (Blanchard, 1966) foram referidos 61 e 27 crostas salivares, respectivamente, durante a fase adulta (COSTA, 1991).

Tabela 17 - Número de crostas salivares produzidas diariamente por *Euschistus heros* em grãos de soja quando criado em dieta natural e duas dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[4]	**Número de crostas salivares de *E. heros*/dia**		
	Fêmeas	**Machos**	**Média**
D1	3,89 ± 0,33[2] a[3]	5,01 ± 0,15 a	3,89 ± 0,24 a
D9	4,95 ± 0,45 a	4,75 ± 0,42 a	4,85 ± 0,44 a
D11	4,09 ± 0,33 a	5,41 ± 0,46 a	4,75 ± 0,39 a

[1] **Composição da dieta DAL:** Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%);

[2] ± EP (erro padrão);

[3] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade;

[4] **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm).

4.5.2 Ovos de *E. heros* criado em dieta natural e artificial e seu efeito no parasitismo de *T. podisi* e *T. basalis*

T. basalis parasitou maior número de ovos de *E. heros* em relação a *T. podisi*, independente da dieta utilizada. Entretanto, não houve variação para cada espécie de parasitoide, em função da dieta utilizada. Assim, pode-se considerar que com relação ao parasitismo, as dietas DAL (D9 e D11) produziram insetos comparáveis àqueles criados em dieta natural (D1) (Tabela 18, Figura 17). Por outro lado, a viabilidade foi maior para *T. podisi*, sendo o comportamento com relação às dietas também semelhante ao observado para o parasitismo, ou seja, as dietas artificiais podem substituir a dieta natural para *E. heros*. Independente da dieta, para as duas espécies, houve predominância de fêmeas, sendo a longevidade das fêmeas semelhante nas diferentes dietas, porém maior para *T. basalis* (Figura 17). Por outro lado, a dieta D11 reduziu a longevidade das fêmeas de *T. basalis* (Tabela 18), mostrando, para esta espécie uma ligeira superioridade da dieta D9, com relação a este parâmetro biológico.

Embora a literatura registre preferência de *T. basalis* por *N. viridula* e de *T. podisi* por *E. heros*, (JONES Jr. 1988; CORRÊA-FERREIRA; MOSCARDI, 1995; MEDEIROS et al., 1997; PACHECO; CORRÊA-FERREIRA, 2000; CORRÊA-FERREIRA, 2002; DOETZER;

FOERSTER, 2007), na presente pesquisa tem-se observado um excelente desenvolvimento de ambas as espécies em ovos de *E. heros*, por um período superior a 2,5 anos das duas espécies mantidas no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ-USP.

Os dados de parasitismo total, obtidos no presente trabalho são escassos, sendo que os resultados obtidos nas primeiras 24horas (36 - 87%) são inferiores àqueles obtidos por Fortes et al. (2006) para *T. basalis* (85 - 92%); por outro lado, a longevidade das fêmeas foi maior nesta pesquisa (14 - 20 dias) em relação aos 12 - 14 dias obtidos pelos mesmos autores. O ritmo de parasitismo é mais concentrado para *T. podisi*, desde que 90% deste parasitismo é obtido até o 7° dia, enquanto que para *T. basalis* esta porcentagem é obtida no 10° dia (Figura 17).

Muitas vezes observou-se, para todas as dietas, que tanto *T. basalis* quanto *T. podisi*, embora não parasitando os ovos de *E. heros*, introduzem o ovipositor, e mesmo não parasitando, danificam tais ovos impedindo a eclosão de ninfas (Figura 4d). Este valor de "predação" é variável de 81- 87 ovos para *T. podisi* e de 99 - 147 ovos para *T. basalis*. Portanto, como se considera apenas o número de parasitoides emergidos, o parasitismo, pode ser muitas vezes, subestimado. Este número foi semelhante para insetos criados na dieta natural e artificial (Tabela 18). Recomendam-se estudos nesta direção.

A razão sexual, sem diferenças significativas para ambos os parasitoides, foi de 0,78 - 0,83 para *T. podisi* e de 0,85 - 0,9 para *T. basalis*.

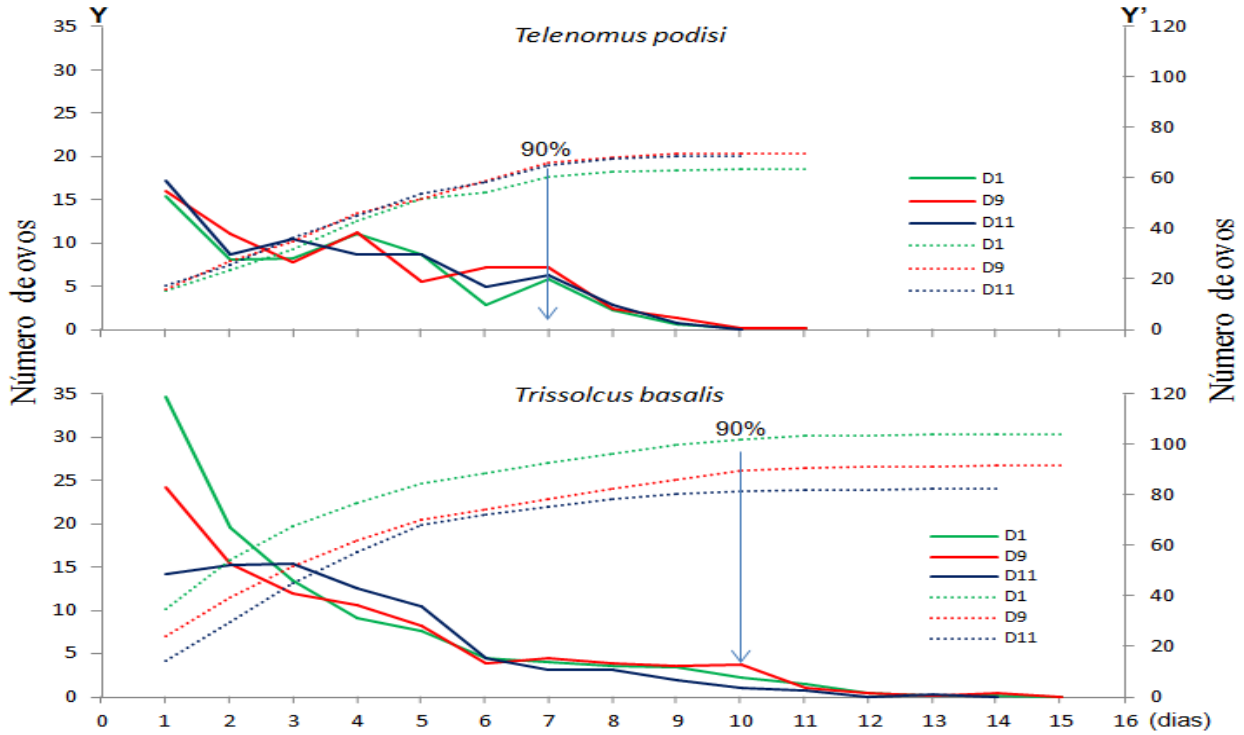

Figura 17 - Freqüência de postura diária (eixo Y) e acumulada (eixo Y') de *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis*, desenvolvidos em ovos de *Euschistus heros* criado em dieta natural e 2 dietas artificiais contendo vagem de feijão liofilizada (DAL) e anticontaminantes em diferentes doses. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h. **Composição da dieta DAL**: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador (70%), sacarose (5%) e água (25%). **D1** (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); **D9** (DAL 50:50 + nipagin-10000 ppm + ácido sórbico-800ppm); **D11** (D9 + tetraciclina-0,00765 ppm). As setas indicam 90% da postura.

Tabela 18 - Ovos parasitados, viabilidade, "predação", emergência, longevidade de fêmeas e razão sexual, da geração F_1 de *Telenomus podisi* e *Trissolcus basalis* desenvolvidos em ovos de *Euschistus heros* criado em dieta natural e artificial contendo vagem de feijão liofilizada (DAL)[1] e anticontaminantes. Temp.: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h

Tratamentos[2]	Ovos parasitados	Viabilidade (%)	Número de ovos "predados"	Número de adultos emergidos		Longevidade fêmeas (dias)	Razão sexual
				fêmeas	machos		
				Telenomus podisi			
D1	63,40 ± 5,28[3] a[4] (277)[5]	87,32 ± 1,28 a	86,9 ± 9,61 a	40,33 ± 4,84 a	15,87 ± 4,81 a	13,69 ± 1,11 a	0,78 a
D9	69,93 ± 4,75 a (297)	88,03 ± 0,57 a	88,3 ± 9,46 a	46,47 ± 4,72 a	15,13 ± 3,53 a	14,93 ± 1,09a	0,81 a
D11	68,53 ± 5,57 a (296)	86,54 ± 1,33 a	81,3 ± 8,29 a	42,33 ± 6,02 a	17,00 ± 4,98 a	14,77 ± 1,01 a	0,83 a
				Trissolcus basalis			
D1	103,87 ± 8,02 a[2] (347)	67,56 ± 1,48 a	128,1 ± 16,54 a	61,60 ± 3,94 a	7,6 ± 2,03 a	17,87 ± 1,18 ab	0,9 a
D9	91,47 ± 11,87 a (356)	64,98 ± 4,76 a	147,1 ± 20,35 a	50,93 ± 7,31a	8,7 ± 1,45 a	20,00 ± 1,53 a	0,85 a
D11	82,40 ± 9,73 a (255)	68,90 ± 3,25 a	99,3 ± 12,33 a	45,13 ± 5,30 a	9,7 ± 1,60 a	14,07 ± 1,29 b	0,85 a

[1] Composição da dieta DAL: Vagem de feijão liofilizada e moída: amendoim triturado em liquidificador, sacarose (5%) e água (25%).

[2] D1 (dieta natural: vagem de feijão e amendoim); D9 (DAL 50:50 + nipagin-10000ppm + ácido sórbico-800ppm); D11 (D9 + tetraciclina-0,00765ppm).

[3] ± EP (erro padrão)

[4] Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

[5] ovos de *E. heros* (média) oferecidos

5 CONCLUSÕES

Foram desenvolvidas, para a criação de *Euschistus heros* (Fabricius, 1794), duas dietas artificiais secas compostas de vagem de feijão (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) liofilizada e moída (35%), amendoim (*Arachis hypogaea* L., 1753) triturado em liquidificador (35%), sacarose (5%) e água (25%), mais anticontaminantes, que são mais eficientes do que as dietas, natural e liofilizada sem anticontaminantes, ao longo das gerações. As duas dietas artificiais têm a mesma composição, porém com anticontaminantes diferentes. A primeira delas contendo nipagin (10000 ppm) + ácido sórbico (800 ppm) e a outra, nipagin (10000 ppm) + ácido sórbico (800 ppm) + tetraciclina (0,0076 ppm);

Os insetos da quarta geração, criados nas dietas artificiais com material liofilizado, têm características biológicas semelhantes àqueles obtidos na dieta natural, incluindo a razão sexual, a duração do desenvolvimento (ovo–adulto), as deformações de asas e pernas, a longevidade, o período de pré-oviposição, a porcentagem de fêmeas que ovipositaram e o número de ovos por postura;

A viabilidade dos insetos criados nas dietas com material liofilizado para o período ovo–adulto, na quarta geração (F_4) é quase duas vezes superior à viabilidade obtida na dieta natural;

Embora o peso de adultos nas dietas de material liofilizado selecionadas tenha sido 17% inferior aos criados em dieta natural, a fecundidade é superior ao valor obtido na dieta natural;

A taxa líquida de reprodução (Ro) aumenta com o passar das gerações para as dietas com material liofilizado com anticontaminantes, ocorrendo o inverso com a dieta de material liofilizado sem anticontaminantes, mostrando a respectiva adaptação e degeneração ao longo das gerações;

As dietas com material liofilizado mostram-se adequadas, pois os percevejos causaram danos aos grãos de soja, introduzindo seus estiletes de forma análoga àqueles criados em dieta natural;

Ovos de *E. heros*, criados nas duas dietas selecionadas, são igualmente parasitados por *T. basalis* e *T. podisi*, em relação àqueles colocados pela espécie criada em dieta natural;

As 2 dietas liofilizadas selecionadas permitem a produção de *E. heros* ao longo de, pelo menos 10 gerações, sem degeneração e com potencial de produção dos parasitoides de ovos *T. podisi* e *T. basalis*, para programas de Controle Biológico Aplicado na cultura da soja.

REFERÊNCIAS

ABE, Y.; MIHIRO, K.; TANAKASHI, M. Symbiont of Brown-winged green bug, *Plautia stali* Scott. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology,** Tokyo, v.39, p.109-115, 1995.

ALVERSON, J. Efficacy of antifungal agents to control *Aspergillus niger* contamination in an artificial diet for *Lygus hesperus* Knight (Heteroptera: Miridae). **Journal of Entomological Science**, Tifton, v.38, n.2, p.278-285, 2003.

ALVERSON, J.; COHEN, A.C. Effect of antifungal agents on biological fitness of *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae). **Journal of Economic Entomology,** Lanham, v.95, n.2, p.256-260, 2002.

ALVES, S.B.; MOINO, A.Jr. Manutenção de insetos livres de agentes patogênicos p. 799-814. In: ALVES, S.B. (Coord.). **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.

AMORIM, D.S. ;PIRES, M.R.S. Neotropical Biogeography and a method for maximum biodiversity estimation. In: BICUDO, C.E.M.; MENEZES, N.A. (Ed.). **Biodiversity in Brazil, a first approach**. São Paulo:CNPq.,1996. p.183-219.

BORGES, M.; LAUMAN, R.A.; CAVALCANTE, C. A. da S.; BLASSIOLI, M.C.M.; MOREIRA, H. dos S.; RIBEIRO, D.T. Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera: Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. Brasília: Embrapa, 2006. p.18.

BOWLING, C.C. The stylet sheath as an indicator of feeding activity by the southern green stink bug on soybeans. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.73, n.1, p.1-3, 1980.

BUNDE, P.R.S.; GRAZIA, J.; MENDONÇA, M. de S.Jr. Nova espécie de *Euschistus* (*Mitripus*) da Argentina e sul do Brasil (Hemiptera: Pentatomidae, Pentatominae), **Iheringia,** Série Zoologia, Porto Alegre, v.96, n.3, p.289-291, 2006.

CÂMARA, G.M.S. **Soja:** tecnologia da produção. Piracicaba, 1998. p.1-14.

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

CIVIDANES, F.J.; PARRA, J.R.P. Zoneamento ecológico de *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildinii* (West.) e *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae) em quatro estados produtores de soja do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.23, p.219-226, 1994.

COHEN, A.C. New oligidic production diet for *Lygus hesperus* Knight and *L. lineolaris* (Palisot de Beauvois). **Journal of Entomological Science**, Tifton, v.35; p.301-310, 2000.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento, Levantamentos de safra, safra 2010/2011: Ministério da Agricultura Pecuária a Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/safras/boletim_setembro-2011.pdf>. Acesso em: 21 set. 2011.

CORRÊA-FERREIRA, B.S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.40, n.11, p.1067-1072, 2005.

------. *Trissolcus basalis* para o controle de percevejos da soja. In PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, JMS. (Ed.). **Controle biológico no Brasil:** Parasitoides e predadores. São Paulo: Manole, 2002. cap.27 p.449-471.

------. Ocorrência natural do complexo de parasitoides de ovos de percevejos da soja no Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.15, p.189-199, 1986.

------. **Criação massal do percevejo verde *Nezara viridula* (L.).** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1985. 16p. (Documentos, 11)

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; AZEVEDO, J. de. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agricultural and Forest Entomology**, London, v.4, p.145-150, 2002.

------. **Estudo das dietas alimentares dos percevejos em condições de criação massal.** Documentos. EMBRAPA-CNPSo, v.104, p.73-75, 1997.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, Orlando, v.5, p.196-202, 1995.

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; PANIZZI, A.R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1999. 45p. (Circular Técnica, 24).

COSTA, E.C.; LINK, D. Incidência de Percevejos em Soja. **Centro Ciências Rurais**, UFSM, Santa Maria, v.4, n.4, p.397-400, 1974.

COSTA, M.L.M.; BORGES, M.; VILELA, E.F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.27, n.4, p.559-568, 1998.

COSTA, M.M.L. **Técnica de criação de *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) e sua relação com o parasitóide *Eutrichopodopsis nitens* Blanchard, 1966 (Díptera: Tachinidae).** 1991. 134p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1991.

DEBOLT, J.W. Meridic diet for rearing successive generations of *Lygus hesperus.* **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.75, p.119-122, 1982.

DEPIERI, R.A.; PANIZZI, A.R. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology,** Londrina, v.40, n.2, p.197-203, 2011.

DOETZER, A.K.; FOERSTER, L.A. Desenvolvimento, longevidade e reprodução de *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em condições naturais durante a entressafra da soja no sul do Paraná. **Neotropical Entomology,** Londrina, v.36, n.2, 2007.

DOUGLAS, G.I. ;SIKOROWSKI, P.P. Microbial contamination and insect rearing. In: **Principles and procedures for rearing high quality insects**. Local:John c. Schneider, editor. 2009a.chap. 8 p.150-217.

------. Entomopathogens and insects rearing. In: **Principles and procedures for rearing high quality insects**. John c. Schneider, editor, 2009b, chapter 9, p.224-288.

FAO. Food and agricultural commodities productions. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em: 21 set. 2011.

FOERSTER, L.A.; QUIRÓZ. J.M. Incidência natural de parasitismo em ovos de pentatomídeos da soja no Centro-Sul do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.19, p.223-232, 1990.

FORTES, P.; MAGRO, S.R.; PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. Development of a dry artificial diet for *Nezara viridula* (L.) and *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology,** Londrina, v.35, n.5, p.567-572, 2006.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GRAZIA, J. Duas novas espécies de *Euschistus* do subgênero *Mitripus* Rolston, 1987 (Heteroptera, Pentatomidae, Pentatomini). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v.31, n.1, p.83-88, 1987.

HARRIS, V.E.; TOOD, J.W. Rearing the southern green stink bug, *Nezara viridula*, with relevant aspects of it is biology. **Journal of Georgia Entomological Society**, Georgia, v.16, n.2, p.203-210, 1981.

HIROSE, E. **Estudo de simbiontes associados a *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae).** 2005. 120p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORREA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GOMES, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado.** Londrina: EMBRAPA Soja, 2000. , 70p. (Circular Técnica, 30).

JENSEN, R.L.; GIBBENS, J. Rearing the southern green stink bug on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.66, p.269-271, 1973.

JONES JUNIOR, W.A.J. World review of the parasitoids of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.81, p.262-273, 1988.

KAMANO, S. Artificial diet for rearing bean bug, *Riptortus clavatus* Thunberg. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology,** Tokyo, v.24, p.184-188, 1980.

KISHABA, A.N.; HENNEBERRY, T.J.; PANGALDAN, R.; TSAO, P.H. Effects of mold inhibitors in larval diet on the biology of the cabbage looper. **Journal of Economic Entomology,** Lanham, v.61, p.1189-1194, 1968.

LINK, D. Percevejos do gênero *Euschistus* sobre soja no Rio Grande do Sul (Hemiptera: Pentatomidae). **Centro Ciências Rurais**, UFSM, Santa Maria, v.9, n.4, p.361-364, 1979.

LOCKWOOD, J.A.; STORY, R.N. Adaptative functions of nymphal aggregation in the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Environmental Entomology**, College Park, v.15, p.739-749, 1986.

LOPES, R.M.; AGOSTINI-COSTA, T.D.; GIMENES, M.A.; SILVEIRA, D. Chemical composition and biological activities of *Arachis* species. **Journal of agricultural and food chemistry**,Easton, v.59, n.9, p.4321-4330, 2011.

MALAGUIDO, A.B.; PANIZZI, A.R. Nymph and Adult Biology of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and its Abundance Related to Planting Date and Phenological Stages of Sunflower. **Annals of the Entomology Society of America**, College Park, v.92, n.3, p.424-429, 1999.

Mc PHERSON, J.E. Laboratory rearing of *Euschistus tristigmus tristigmus*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.64, p.1339-1340, 1971.

MCLAUGHLIN, R.E.; SIKOROWSKI, P.P. Observations of boll weevil midgut when fed natural food or on bacterially contaminated artificial diet. **Journal of Invertebrate Pathology,** San Diego, v.32, p.64-70, 1978.

MEDEIROS, M.A.; SCHIMIDT, F.V.G.; LOIÁCONO, M.S.; CARVALHO, V.F.; BORGES, M. Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.26, p.397-401, 1997.

MENUSAN JUNIOR, H. Plant bug: Laboratory procedures in studies of the chemical control of insects. **American Association for the Advancement of Science**, Philadelphia, v.20, p.29-30, 1943.

MILES, P.W. The saliva of Hemiptera in: Treherne, J.E.; Berridge, M.J.; Wigglesworth, V.B. (Ed.). **Advances in Insect Physiology**. Cambridge, London ; New York: Department of Zoology, The University, 1972. p. 183-255.

NODA, T.; KAMANO, S. Artificial rearing of *Nezara viridula* (L.) and *N. antennata* Scott (Heteroptera: Pentatomidae) with semi-solid meridic diets. **Applied Entomology and Zoology,** Tokyo, v.37, p.43-50, 2002.

NUNES, M.C; CORRÊA-FERREIRA, B.S. Desempenho alimentar e sobrevivência de *Euschistus heros* parasitado por *Hexacladia smithii* em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.37, n.9, p.1219-1223, set. 2002.

PACHECO, D.J.P.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, M.C.N. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja, **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.29, p.295-302, 2000.

PACHECO, D.J.P.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; DE OLIVEIRA, M.C.N. Flutuação populacional dos percevejos-pragas da soja e seus parasitoides de ovos em relação à fenologia da soja. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.66, n.1, p.1-8, 1999.

PANIZZI, A.R. Entomophauna changes with soybean expansion in Brazil. In**:**WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 1997. **Proceeding…** Kasetsart University Press, 1997. p.166-169.

------. Ecologia nutricional de insetos sugadores de sementes, p.253-278. In A.R. Panizzi & J.R.P Parra (Ed.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo integrado de pragas.** São Paulo: Manole, 1991. cap.7 p.253-278.

------ Dynamics of phytophagous pentatomids associated with soybean in Brazil. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 1985. Boulder. **Proceedings…** Boulder: West view Press, 1985. p.675-680.

PANIZZI, A.R.; NIVA, C.C.; HIROSE, E. Feeding preference by stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) for seeds within soybean pods. **Journal of Entomological Science**, Tifton, v.30, n.3, p.333-341, 1995.

PANIZZI, A.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S. Dynamics in the insect fauna adaptation to soybean in the tropics. **Trends in Entomology**, Kerala, v.1, p.71-88, 1997.

PANIZZI, A.R.; OLIVEIRA, E.D.M. Performance and seasonal abundance of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* nymphs and adults on a novel food plant (pigeonpea) and soybean. **Entomologia Experimentalis et Applicata,** Dordrecht, v.88, p.169-175, 1998.

PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P.; SANTOS, C.H.; CARVALHO, D.R. Rearing the southern green stink bug using artificial dry diet and artificial plant. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v.35, n.9, p.1709-1715, 2000.

PANIZZI, A.R.; SLANSKY Jr, F. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. **Florida Entomologist**, Lutz, v.68, p.184-203, 1985.

PANIZZI, A.R.; VIVAN, L.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; FOERSTER, L.A. Performance of green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) nymphs and adults on a novel food plant (Japanese Privet) and other hosts. **Annals of the Entomology Society of America,** College Park, v.89, p.821-827, 1996.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. USP/ESALQ, 2010. 567p.

PERES, W.A.A.; CORRÊA-FERREIRA, B.S. Nymphal and adult performance of *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae), as a potential alternative host for egg parasitoids multiplication. **Neotropical Entomology,** Londrina, v.30, p.535-540, 2001.

PRADO, R.C.O. Soja é alimento e energia. In: YUYAMA, M. M.; SUZUKI, S.; CAMACHO, S.A. **Boletim de Pesquisa de Soja**. Rondonópolis: Fundação MT, 2007, p.11-14.

RALPH, C.P. Natural food requirements of the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera: Lygaeidae), and their relations to gregariousness and host plant morphology. **Oecologia**, Berlin, v.26, p.157-175, 1976.

ROLSTON, L.H. Revision of the genus *Euschistus* in Middle America (Hemiptera, Pentatomidae, Pentatomini). **Entomologica Americana,** New York, v.48, n.1, p.1-102, 1974.

SAILER, R.I. **A technique for rearing certain Hemiptera**. Gainesville: U.S.Dep.Agr.Bureau Entomological and Plant Quarantine, 1952. 5p.

SCHEEL, C.A.; BECK, S.D.; MEDLER, J.T. Nutrition of plant-sucking Hemiptera. **Science**, Madison, v.125, n.3245, p. 444-445, 1957.

SHARKEY, M. J. Phylogeny and classification of Hymenoptera. **Zootaxa.** n.1668, p.521-548, 2007.

SIKOROWSKI, P.P.; THOMPSON, A.C. Effects of bacterial contamination on development and blood chemistry of *Heliothis virescens.* **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v.77, p.283-285, 1984.

SIKOROWSKI, P.P.; GODWIN, R.H. **Contaminant control and disease recognition in laboratory colonies**. In: SINGH, P. : MOORE, R.F. (Ed.).Handbook of Insect Rearing. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 85-105.

SIKOROWSKI, P.P.; KENT, A.D.; LINDIG, O.H.; WIYGUL, G.; ROBERSON J. Laboratory and insectary studies on the use of antibiotics and antimicrobial agents in mass rearing of boll weevils. **Journal of Economic Entomology,** Lanham, v.73, p106-110, 1980.

SILVA, C.C.; LAUMAN, R.A.; BLASSIOLI, M.C.; BORGES, M. **Otimização da técnica de criação de *Euschistus heros* para a multiplicação do parasitóide de ovos, *Telenomus podisi*.** Brasília:EMBRAPA, 2007. p.19. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento,195).

SILVA, F.A.C; CALIZOTTI, G.S; PANIZZI, A.R. Survivorship and eggs production of phytophagous pentatomids in laboratory rearing. **Neotropical Entomology,** Londrina, v.40, n.1, p.35-38, 2011.

SINGH, P.; BUCHER, G.E. Efficacy of "safe" levels of antimicrobial food additives to control microbial contaminants in a synthetic diet for *Agria affinas* larvae. **Entomologia Experimentalis et Applicata,** Dordrecht, v.14, p.297-309, 1971.

SIQUEIRA, F. **Adição de frutos de *Ligustrum lucidum* Ait. (Oleaceae) em dieta artificial seca para a criação do percevejo-marrom *Euschistus heros* (f.) (Heteroptera: Pentatomidae).** 2007. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

SLANSKY, F., Jr. Insect nutrition: an adaptation's perspective. **Florida Entomologist**, cidade, v.65, p. 45-71, 1982.

SOSA-GOMES, D.; MOSCARDI, F. Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.24, p.401-404, 1995.

THOMPSON, A.C.; SIKOROWSKI, P.P. The effect of bacterial load on amino acids in the boll weevil, *Anthonomus grandis.* **Journal Invertebrate Pathology,** Amsterdam, v.32, p.388-389, 1978.

VILLAS BÔAS, G.L.; PANIZZI, A.R. Biologia de *Euschistus heros* (Fabricius, 1798). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.9, n.1, p.105-113, 1980.

VILLAS BÔAS, G.L.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, M.C.N. de; COSTA, N.P.; ROESSING, A.C.; FRANCA NETO, J. de B.; HENNING, A.A. **Efeito de diferentes populações de percevejos sobre o rendimento e seus componentes, características agronômicas e qualidade de semente de soja.** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1990. 43p.

VILLAS BÔAS, G.L.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO, I.C.; PANIZZI, A.R. **Indicações do manejo de pragas para percevejos.** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1985. 15p.

YUYAMA, M.M.; SUZUKI, S; CAMACHO, S.A.**Boletim de Pesquisa de Soja**, Rondonópolis: Fundação MT, 2007., n.11, 274p.