

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**METODOLOGIAS DE PESQUISA E TIPOS DE RESISTÊNCIA
EM GENÓTIPOS DE SOJA A *Diabrotica speciosa* (Germar,
1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)**

Eduardo Neves Costa

Engenheiro Agrônomo

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**METODOLOGIAS DE PESQUISA E TIPOS DE RESISTÊNCIA
EM GENÓTIPOS DE SOJA A *Diabrotica speciosa* (Germar,
1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)**

Eduardo Neves Costa

Orientador: Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Agronomia (Entomologia
Agrícola).**

Costa, Eduardo Neves

C837m Metodologias de pesquisa e tipos de resistência em genótipos de soja a *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae / Eduardo Neves Costa. – – Jaboticabal, 2013

vii, 78 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013

Orientador: Arlindo Leal Boiça Júnior

Banca examinadora: José Carlos Barbosa, Marcelo Francisco Arantes Pereira

Bibliografia

1. *Glycine max*. 2. Larva-alfinete. 3. Resistência de Plantas. 4. Vaquinha. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.76:633.34



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: METODOLOGIAS DE PESQUISA E TIPOS DE RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS DE SOJA A *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

AUTOR: EDUARDO NEVES COSTA

ORIENTADOR: Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOICA JUNIOR

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. JOSE CARLOS BARBOSA

Departamento de Ciências Exatas / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. MARCELO FRANCISCO ARANTES PEREIRA

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / São José do Rio Preto/SP

Data da realização: 22 de fevereiro de 2013.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EDUARDO NEVES COSTA – Filho de Élcio Francisco Costa e Maria Neves Gonçalves Costa, natural de São Paulo, SP, nascido no dia 15 de julho de 1986. Formado no curso de Engenharia Agrônômica pelo Centro Universitário Moura Lacerda, realizou estágios nas áreas de Manejo Ecológico de Pragas e Controle Biológico de Insetos Pragas. Em 2011, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Entomologia Agrícola, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, atuando em pesquisas de resistência de plantas a insetos pragas, sob orientação do Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, sendo bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Aprovado na seleção de Doutorado na mesma instituição, com início em março de 2013.

Dedico

À minha mãe, Maria Neve Gonçalves Costa e ao meu irmão, Evilásio Neves Costa, pelo amor, carinho, atenção, companheirismo, compreensão e muito mais, ao longo de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Senhor Deus, todo poderoso, por ter me guiado com sua destra, a qual me sustenta, me ajuda, me fortalece, em todos os momentos da minha vida, com companheirismo e fidelidade, e até mesmo nos momentos mais difíceis, Ele sempre esteve, está e estará ao meu lado.

Ao Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, pela competente orientação, além da paciência, compreensão e atenção, necessárias para a elaboração deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, pela oportunidade da realização do Curso de Mestrado em Entomologia Agrícola.

Aos professores do curso de pós-graduação em Entomologia Agrícola, por terem transmitido conhecimento e experiência adquiridos em suas respectivas áreas, os quais eu tive acesso através das disciplinas cursadas.

Aos Professores Dr. Antonio Carlos Busoli e Dr. Júlio Cesar Galli, pela participação e excelente colaboração no meu exame geral de qualificação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos colegas e parceiros de trabalho do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, Bruno Henrique Sardinha de Souza, Zulene Antonio Ribeiro, Anderson Gonçalves da Silva, Mirella Marconato Di Bello, Aniele Pianoscki de Campos, Nara Elisa Lobato Rodrigues, Daline Benites Bottega, Flávia Queiroz de Oliveira, Gislane da Silva Lopes, Renato Franco Oliveira de Moraes, Wellington Ivo Eduardo, Ivan Righini Cedin e Leonardo Boldrin de Paiva.

À minha orientadora de Graduação, Prof.^a Dr.^a Marta Maria Rossi, e coorientador, Prof. Dr. Alexandre de Sene Pinto, por participarem dos meus primeiros passos na área da Entomologia Agrícola, e à Prof.^a Dr.^a Amália Estela Mozambini, pela amizade e pelas sábias palavras, durante a época da faculdade.

Aos meus queridos amigos da ABU (Aliança Bíblica Universitária), principalmente Sonia Niara Sales Santana, Crislany de Lima Barbosa, Daniel Júnior Andrade, Laís da Conceição dos Santos e Tatiana de Oliveira Ramos.

À Dr.^a Clara Beatriz Hoffmann-Campo, da Embrapa Soja, pela concessão das sementes dos genótipos de soja IAC 100, BR 16, PI 227687, PI 274454 e Dowling.

Ao Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, do Instituto Federal Goiano, pela concessão das sementes dos demais genótipos de soja utilizados nos experimentos.

Aos colegas dos demais laboratórios do curso de pós-graduação em Entomologia Agrícola.

Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, Roseli Pessoa, Lígia Dias Fiorezzi, Lúcia Helena Tarina e José Altamiro de Souza.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Aspectos biológicos de <i>Diabrotica speciosa</i>	3
2.2. Distribuição geográfica e hospedeiros de <i>Diabrotica speciosa</i>	5
2.3. Danos e Prejuízos de <i>Diabrotica speciosa</i>	5
2.4. Controle de <i>Diabrotica speciosa</i>	7
3. REFERÊNCIAS.....	9
CAPÍTULO 2 – NÃO PREFERÊNCIA PARA ALIMENTAÇÃO E TOLERÂNCIA EM GENÓTIPOS DE SOJA AO ATAQUE DE <i>Diabrotica speciosa</i> (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)	15
1. Introdução	17
2. Material e Métodos.....	18
2.1. Atratividade e área foliar consumida por adultos de <i>D. speciosa</i> , utilizando-se discos foliares de genótipos de soja	18
2.2. Utilização de plantas jovens de genótipos de soja na preferência alimentar de adultos de <i>D. speciosa</i>	20
2.3. Tolerância de plantas de genótipos de soja ao ataque de larvas de <i>D.</i> <i>speciosa</i>	21
3. Resultados.....	23
3.1. Atratividade e área foliar consumida por adultos de <i>D. speciosa</i> , utilizando-se discos foliares de genótipos de soja	23

3.2. Utilização de plantas jovens de genótipos de soja na preferência alimentar de adultos de <i>D. speciosa</i>	24
3.3. Tolerância de plantas de genótipos de soja ao ataque de larvas de <i>D. speciosa</i>	26
4. Discussão	26
5. Conclusões	29
6. Referências	30
CAPÍTULO 3 - METODOLOGIA DE PESQUISA E PREFERÊNCIA PARA OVIPOSIÇÃO DE <i>Diabrotica speciosa</i> (GERMAR) POR GENÓTIPOS DE SOJA	41
1. Introdução	43
2. Material e Métodos	44
2.1. Influência dos fatores planta e cobertura do solo na preferência para oviposição de <i>D. speciosa</i> por plantas de soja	45
2.2. Número de ovos de <i>D. speciosa</i> por planta com diferentes números de casais	46
2.3. Preferência para oviposição de <i>D. speciosa</i> por plantas de soja de diferentes idades	47
2.4. Teste de não preferência para oviposição de <i>D. speciosa</i> por genótipos de soja, avaliando a correlação entre número de ovos e área foliar consumida	47
3. Resultados	48
4. Discussão	50
5. Conclusões	52
6. Referências	53
CAPÍTULO 4 - GRAUS DE ANTIBIOSE DE GENÓTIPOS DE SOJA A <i>Diabrotica speciosa</i> (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)	64
1. Introdução	66
2. Material e Métodos	67
3. Resultados	69

4. Discussão.....	70
5. Conclusões.....	72
6. Referências	72
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	77

METODOLOGIAS DE PESQUISA E TIPOS DE RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS DE SOJA A *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

RESUMO – Este trabalho teve por objetivo avaliar a não preferência para alimentação e tolerância, em genótipos de soja, ao ataque de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), assim como avaliar metodologias de pesquisa, em teste de preferência para oviposição, e avaliar graus de resistência do tipo antibiose. Os experimentos foram conduzidos em laboratório, sob condições controladas de temperatura (25 ± 2 °C), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotofase (12 horas), exceto o experimento de não preferência para alimentação de larvas, o qual foi conduzido em condições de casa de vegetação. Foram utilizados 10 genótipos de soja para os testes de não preferência para alimentação de adultos (discos foliares e plantas jovens), quais sejam: IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, BRS Valiosa RR, Dowling, IGRA RA 516 RR, PI 227687, PI 274454 e BR 16, dos quais seis foram selecionados para os testes subsequentes. Os experimentos de não preferência para alimentação de adultos, com e sem chance de escolha, foram realizados adotando-se dois modelos experimentais, utilizando-se discos foliares e folhas de plantas jovens de soja (não destacando-as da planta), avaliando a atratividade de adultos pelos genótipos de soja em diferentes períodos de tempo, e a área foliar consumida. Paralelamente à realização destes experimentos, foi quantificado o número de tricomas nas folhas dos genótipos de soja, com a finalidade de se observar a influência destas estruturas na preferência alimentar da vaquinha. O ensaio de não preferência para alimentação de larvas de *D. speciosa* foi realizado em testes com e sem chance de escolha, onde no primeiro as plantas foram mantidas em recipientes de seis compartimentos cada, sendo duas larvas liberadas ao centro, por planta, e após uma hora da soltura das larvas, as comportas que fechavam as entradas dos compartimentos foram abertas, permitindo as escolhas das larvas pelas plantas dos genótipos de soja. Em teste sem chance de escolha, as plantas dos genótipos de soja foram mantidas em recipientes plásticos de 700 mL, onde foram liberadas duas larvas de *D. speciosa*. Os testes de metodologia de pesquisa foram realizados com o objetivo de se determinar as melhores condições para a realização do teste de não preferência para oviposição, estudando variáveis como número de casais por planta (sem chance de escolha) e idade de plantas de soja (com chance de escolha), além de provar que o fator planta exerce forte influência na oviposição das fêmeas. Como sequência destes testes, foi realizado o teste de não preferência para oviposição, com chance de escolha. Em todos estes testes, as fêmeas de *D. speciosa* tiveram como substrato para oviposição cinco unidades de tecido gaze tingidas por tinta preta, exceto no primeiro teste de metodologia, onde no primeiro tratamento as fêmeas foram impedidas de entrar em contato com o solo. No teste de antibiose, foram determinados os graus de resistência de genótipos de soja a *D. speciosa*. Larvas neonatas foram introduzidas em recipientes plásticos com plantas de soja de aproximadamente cinco dias após a emergência. Como substrato foi utilizado vermiculita, adicionando-se porções de água deionizada de acordo com o volume de vermiculita. Após 10 dias, as larvas foram transferidas para recipientes maiores, em condições semelhantes ao anterior, dobrando-se apenas o número de plantas. Avaliaram-se o

número de machos, fêmeas e total de insetos emergidos, viabilidade (porcentagem), razão sexual, peso (mg) de machos e fêmeas. Utilizando-se discos foliares, o genótipo PI 274454 é o menos preferido para alimentação de *D. speciosa*, em teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, além de PI 274454, os genótipos IGRA RA 626 RR, Dowling e PI 227687 são os menos consumidos. Oferecendo-se plantas jovens, as menores porcentagens de área foliar consumida por adultos de vaquinhas são observadas nos genótipos IAC 100 e PI 227687, em teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, PI 227687 e IGRA RA 626 RR apresentam menor porcentagem de área foliar consumida. No ensaio com larvas, o genótipo IGRA RA 626 RR é altamente resistente, e PI 274454 e BRSGO 8360 são moderadamente resistentes, em teste com chance de escolha. Fêmeas de *D. speciosa* preferem ovipositar em solo em comparação à apenas sobre plantas de soja, com maior quantidade de ovos onde há planta de soja se desenvolvendo no solo. O genótipo PI 274454 apresentou resistência do tipo não preferência para oviposição, em teste com chance de escolha, enquanto BRSGO 8360 foi o genótipo mais ovipositado. Não houve diferenças significativas quanto ao número de casais de *D. speciosa* e idade de plantas de soja, na oviposição. Os genótipos foram ovipositados, não havendo relação com o consumo foliar, exceto para IGRA RA 626 RR, o qual apresentou correlação positiva significativa. A metodologia desenvolvida nesta pesquisa foi adequada para a discriminação dos genótipos de soja quanto à resistência a *D. speciosa*. Os genótipos DM 339 e PI 274454 são altamente resistentes do tipo antibiose; PI 227687 é moderadamente resistente; IAC 100 e IGRA RA 626 RR são suscetíveis; e BRSGO 8360, altamente suscetível.

PALAVRAS-CHAVE: *Glycine max*, larva-alfinete, Resistência de Plantas, vaquinha

RESEARCH METHODOLOGIES AND RESISTANCE TYPES ON SOYBEAN GENOTYPES TO *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSMELIDAE)

ABSTRACT – This work aimed to evaluate the non-preference for feeding and tolerance, on soybean genotypes, to the attack of *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), as well as to assess research methodologies, in oviposition preference test, and evaluate the antibiosis type resistance degrees. The experiments were conducted in laboratory, under controlled conditions of temperature (25 ± 2 °C), relative humidity ($70 \pm 10\%$), and photophase (12 hours), except the experiment of non-preference for larvae feeding, which was performed in greenhouse conditions. Ten soybean genotypes were used for non-preference for adults feeding tests (leaf discs and young plants), which were IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, BRS Valiosa RR, Dowling, IGRA RA 516 RR, PI 227687, PI 274454 and BR 16, being six selected for the posterior tests. The non-preference for adults feeding experiments, carried out in free and no-choice tests, were fulfilled adopting two experiment models, using leaf discs and leaves of soybean young plants (not detaching them), assessing the adults attractiveness for soybean genotypes at different periods of time, and the leaf intake, being the value express in square centimeter for the test with leaf discs, and injury grade and leaf intake percentage for the test with young plants. Concomitantly to the performing of these experiments, the trichomes number on soybean genotypes leaves was assessed, for the purpose of observing the influence of these structures in the feeding preference of the leaf beetle. The assay of non-preference for feeding of *D. speciosa* larvae was accomplished in free and no-choice tests, where in the first one the plants were kept in containers with six compartments each, being two larvae released into the center, per plant, and one hour later the larvae release, the sluices were opened, allowing the larvae choice by soybean genotypes plants. In no-choice test, the soybean genotype plants were kept in plastic containers of 700 mL, where two *D. speciosa* larvae were released. The research methodology tests were carried out aiming to determine the best conditions to accomplish the non-preference for oviposition test, studying variables such as number of pairs per plant (no-choice) and soybean plants age (free-choice), besides proving that the plant factor exerts hard influence in the females oviposition. As sequence of these tests, the non-preference for oviposition test was performed, in free-choice. In all tests, *D. speciosa* females had five units of black gauze fabric as substrate for oviposition, except in the first methodology test, where in treatment one the females were prevented to be in contact with soil. In the antibiosis test, the resistance degrees were determined. Newly hatched larvae were introduced into plastic containers with soybean plants of approximately five days old after emergence. Vermiculite was used as substrate, adding portions of deionized water according to the vermiculite volume. Ten days after, the larvae were transferred to containers of similar conditions to the previous, doubling only the number of plants. In this experiment, the following characters were assessed: number of males, females and total of emerged insects, viability (percentage), sex ratio, male and female weight (mg), larva to adult period and longevity (without food) of *D. speciosa*. Using leaf discs, the genotype PI 274454 is the least preferred for feeding of *D. speciosa*, in free-choice test. In no-choice test, in

addition to PI 274454, the genotypes IGRA RA 626 RR, Dowling and PI 227687 are the least consumed. Offering young plants, the lower percentages of adults' leaf intake are observed on the genotypes IAC 100 and PI 227687, in free-choice test. In no-choice test, PI 227687 and IGRA RA 626 RR show the lower leaf intake percentage. In the assay with larvae, the genotype IGRA RA 626 RR is highly resistant, and PI 274454 and BRSGO 8360 are moderately resistant, in free-choice test. Females of *D. speciosa* prefer ovipositing in soil in comparison to only on soybean plants, with highest eggs quantity where there was soybean plant developing in soil. The genotype PI 274454 showed non-preference for oviposition resistance type, in free-choice test, whereas BRSGO 8360 was the most oviposited genotype. There were not significant differences regarding the number of pairs of *D. speciosa* and soybean plants age, in the oviposition. The genotypes were oviposited, without any relationship with leaf intake, except for IGRA RA 626 RR, which showed a significant positive correlation. The developed methodology in this research was adequate for the genotypes discrimination concerning the resistance to *D. speciosa*.

As for the antibiosis test, the genotypes DM 339 and PI 274454 are highly resistant; PI 227687 is moderately resistant; IAC 100 and IGRA RA 626 RR are susceptible; and BRSGO 8360, highly susceptible.

KEYWORDS: corn rootworm, *Glycine max*, Host Plant Resistance, leaf beetle

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil além de ser o segundo maior produtor, destaca-se como o segundo maior consumidor e exportador de soja, *Glycine max* (L.) Merrill, cuja produção foi de 75.324,3 milhões de toneladas no ano agrícola de 2010/2011, em uma área total cultivada de aproximadamente 24.181,0 milhões de hectares, e produtividade média de 3.115 kg ha⁻¹ (CONAB, 2012). A soja é uma planta oriunda da China, de comportamento primordial rasteiro e descoberta pelo Ocidente na segunda metade do século XX (EMBRAPA, 2005).

A ampliação de sua importância no mercado internacional deve-se ao fato de seu grão ser a principal fonte de óleo vegetal comestível e o farelo ser amplamente utilizado na formulação de ração. Além disso, a lavoura possui uma alta produção por hectare de proteína, sendo fonte, também para o ser humano, de importantes qualidades nutricionais e funcionais (MENEGATTI; BARROS, 2007). Estes fatos, quando somados, culminaram em aumento crescente da demanda pelo produto e na multiplicação de áreas de sua lavoura, que, segundo Lopes (2004), embora o aumento na área colhida de soja seja notável, tamanho crescimento na produção se deve, também, ao aumento de produtividade dos fatores de produção.

Dentre os vários fatores que podem afetar a produção da soja, o ataque de insetos merece grande atenção em função do número de espécies que atacam a cultura e do potencial de danos que podem representar. Segundo Gazzoni (1981), e Ramiro, Batista Filho e Machado (1987), o crisomelídeo *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) é considerado praga secundária, podendo, entretanto, alcançar o “status” de praga principal ou chave com a má condução da cultura. Izaguirre e Ramos (1987) afirmam ainda que essa espécie ocorre com maior incidência no período de máximo desenvolvimento vegetativo e floração.

Estes crisomelídeos realizam a postura no solo, onde completam seu ciclo biológico (MILANEZ; PARRA, 2000). Para muitos insetos fitófagos, a seleção hospedeira para oviposição exerce um forte impacto sobre a dinâmica populacional

e o sucesso reprodutivo dos indivíduos (HASSEL, 1987; MAYHEW, 1997; PEARMAN; WILBUR, 1990), uma vez que pode afetar o acesso dos imaturos ao hospedeiro, seu desenvolvimento e sobrevivência (RESETARITS; WILBUR, 1989). Durante o processo de busca, as fêmeas podem utilizar sinais físicos e químicos do hospedeiro e, de acordo com a teoria de otimização da oviposição, elas selecionam hospedeiros que incrementem seu sucesso reprodutivo e aumentem as possibilidades de sobrevivência da progênie (JAENIKE, 1978).

Na fase larval, esta praga é conhecida como larva-alfinete, podendo causar danos severos ao sistema radicular das plantas, em decorrência da alimentação de raízes e tubérculos de algumas espécies vegetais (MILANEZ; PARRA, 2000), podendo causar atraso no desenvolvimento e aumentar a suscetibilidade das plantas ao tombamento (BOFF; GANDIN, 1992; MARQUES; ÁVILA; PARRA, 1999). Ávila e Parra (2002) indicam que em condições de campo, na ausência de um hospedeiro preferencial, as larvas de *D. speciosa* podem utilizar soja ou feijão como hospedeiros alternativos para alimentação e reprodução.

Os adultos desta espécie alimentam-se das folhas de um grande número de espécies de plantas, sendo normalmente apontados como pragas secundárias para leguminosas como a soja e o feijão, podendo acarretar danos significativos a essas culturas, principalmente, se o ataque for direcionado aos cotilédones, quando pode ocasionar crescimento anormal da planta ou mesmo levá-la à morte (MARTINS; BALDIN; MARQUES, 2004). Eles atacam, de preferência, as folhas mais tenras, fazendo um grande número de pequenos orifícios (GALLO et al., 2002).

O controle desta praga é realizado quase que exclusivamente com inseticidas sintéticos, o que gera danos ao ambiente, além de reinfestação e resistência dos insetos (ARRUDA-GATTI; VENTURA, 2003). Um dos métodos alternativos de controle desses insetos é o uso de plantas resistentes, que oferece uma série de vantagens, inclusive a de se integrar perfeitamente em programas de manejo de pragas (LARA, 1991). O uso de variedades resistentes, além de diminuir a população de insetos-praga, não interfere no meio ambiente; seu efeito é cumulativo e persistente; não é poluente; não acarreta ônus ao custo de produção; e, não exige conhecimento específico, por parte dos agricultores, para a sua utilização (BOIÇA JÚNIOR; CAMPOS, 2010).

Tendo-se em vista a importância de *D. speciosa* nos últimos anos, devido aos prejuízos econômicos causados na cultura da soja, a escassez de informações a respeito de genótipos resistentes, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a não preferência para alimentação e tolerância, em diferentes genótipos de soja, ao ataque desse inseto, assim como avaliar metodologias de pesquisa, e aplicá-los em teste de preferência para oviposição, e avaliar os graus de resistência do tipo antibiose, por análise multivariada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos biológicos de *Diabrotica speciosa*

As fêmeas de *D. speciosa* realizam a oviposição no solo, ao redor das plantas. Os ovos (Figura 1A) são amarelos e medem 0,5 mm de diâmetro. O período de incubação varia de 6 a 8 dias. A fase larval passa por três instares e a larva (Figura 1B) atinge 10 mm de comprimento, apresentando coloração esbranquiçada, cabeça marrom e tem uma placa quitinizada escura no último segmento abdominal. O período médio larval é de 18 dias. Os crisomelídeos, após completarem a fase larval, se dirigem ao solo onde constroem uma câmara para se transformarem em pré-pupa e pupa (Figura 1C). O período médio pré-pupal é de 5 dias e o pupal é de 7 dias. O ciclo de vida varia de 24 até 40 dias. A temperatura é um fator climático que afeta a taxa de desenvolvimento das fases imaturas, bem como a longevidade de adultos e a reprodução (ÁVILA; PARRA, 2001; MILANEZ; PARRA, 2000).

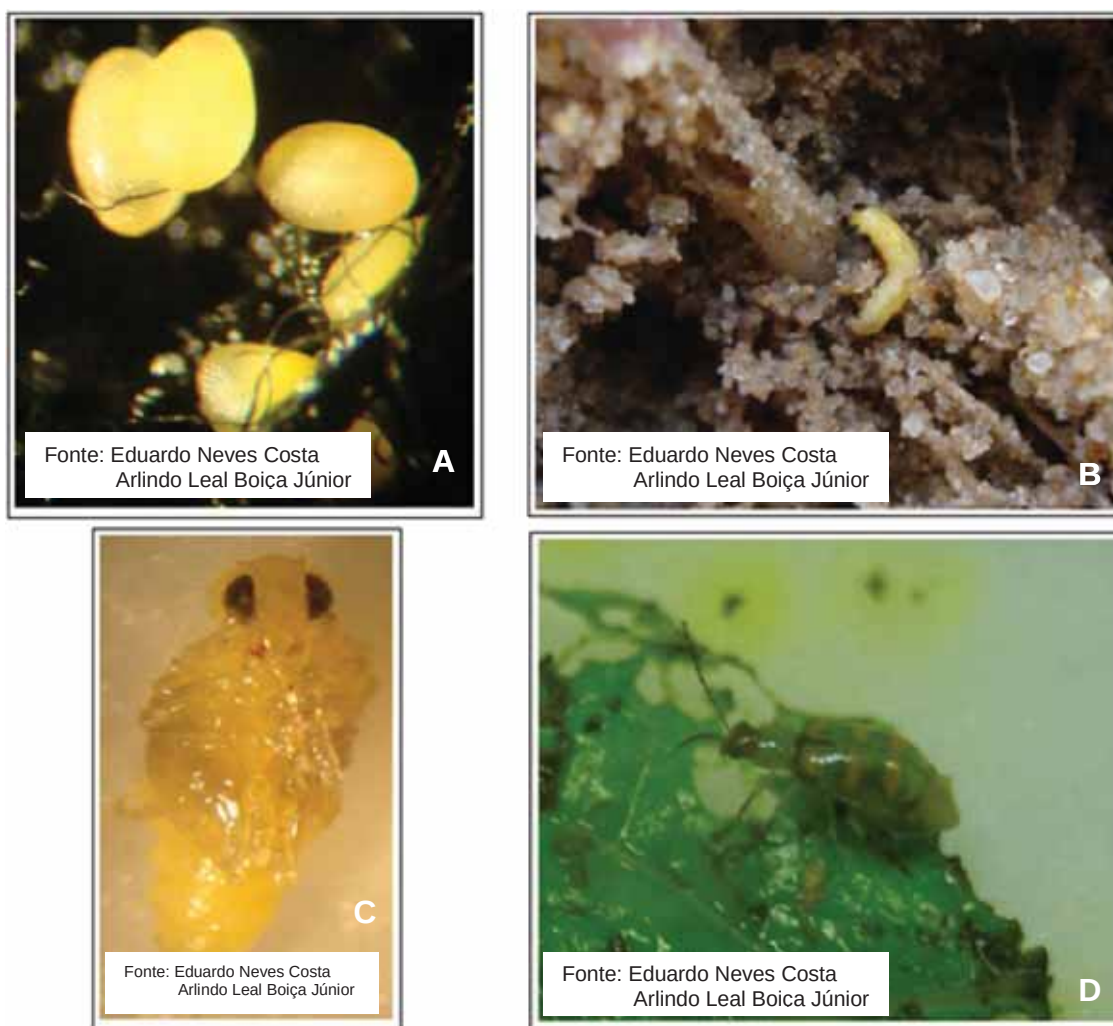


Figura 1. Fases de desenvolvimento de *Diabrotica speciosa*: ovos (A); larva (B); pupa (C); adulto (D).

Os adultos (Figura 1D) são de coloração esverdeada, apresentando três manchas amarelas em cada élitro, tíbias e tarsos negros e cabeça marrom, sendo vulgarmente chamados de “patriota”, ou “brasileirinho” ou “vaquinhas”. Medem cerca de 6 mm de comprimento. Os machos são menores do que as fêmeas (ÁVILA; MILANEZ, 2004). A longevidade dos adultos, o ritmo de postura e a fecundidade dependem do tipo de alimento nas fases larval e adulta (MILANEZ, 1995).

2.2. Distribuição geográfica e hospedeiros de *Diabrotica speciosa*

O gênero *Diabrotica* possui 15 espécies e subespécies identificadas como pragas de 61 tipos de plantas cultivadas. Neste contexto, *D. speciosa* é a espécie mais conhecida, apresentando ampla distribuição na América do Sul (KRYSAN, 1986), sendo que se encontra estabelecida em diversos estados brasileiros (LAUMANN et al., 2003), normalmente se apresentando junto com outras espécies dos gêneros *Diabrotica*, *Cerotoma* Olivier e *Acalymma* Barber, formando desta maneira um complexo de espécies-praga (ÁVILA, 1999). É um crisomelideo polífago, causando injúrias em várias espécies de plantas olerícolas (SILVA et al. 1968), além das culturas de soja, milho (*Zea mays* L.), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e batata (*Solanum tuberosum* L.) (LAUMANN et al., 2003).

2.3. Danos e Prejuízos de *Diabrotica speciosa*

Como consequência do ataque de *D. speciosa*, nas diversas culturas mencionadas anteriormente, diferentes sintomas podem ser relatados. Amante e Figueiredo Júnior (1971) assinalaram a ocorrência de larvas deste inseto danificando o sistema radicular de feijoeiro. Segundo esses autores, os sintomas do ataque se verificavam em reboleiras, sendo que as plantas atacadas amareleciam e as folhas secavam progressivamente. Em relação aos adultos desta espécie, os mesmos causam desfolha durante todo o ciclo da cultura, reduzindo a área fotossintética. Os danos mais significativos são verificados no estágio de plântula, pois podem consumir o broto apical, se ocorrerem altas populações de insetos e não houver área foliar disponível, causando a morte da planta. Em outros estágios, o dano é menor. Os adultos podem alimentar-se de flores e vagens, quando a incidência de adultos for alta na fase reprodutiva da planta (QUINTELA, 2005).

Para a cultura do milho, o prejuízo causado pela larva tem sido expressivo nos Estados do Sul e em algumas áreas das regiões Sudeste e Centro-Oeste. No Sul, em áreas onde os solos são geralmente ricos em matéria orgânica e retêm maior umidade, favorece a biologia das larvas. Em áreas irrigadas das regiões

Sudeste e Centro-Oeste, onde várias culturas hospedeiras são cultivadas em sucessão, os danos tem sido representativos. As larvas alimentam-se das raízes, reduzindo a capacidade das plantas em absorver água e nutrientes, tornando-as menos produtivas e sujeitas ao acamamento, causando perdas quando a colheita é realizada mecanicamente. Para esta cultura, têm sido relatadas perdas na produção variando entre 10 e 13% devido ao ataque, quando ocorre alta infestação desta praga (VIANA, 2010).

No que se refere à cultura da batata, França e Barbosa (1987), descrevem as vaquinhas do gênero *Diabrotica* como uma das principais pragas, sendo seu grau de importância variável de acordo com a região, podendo reduzir a produção em até 33%. Segundo Gassen (1989), os adultos alimentam-se da parte aérea de plantas, enquanto as larvas, dos tubérculos. Em outra cultura na qual o ataque das larvas ocorre diretamente na estrutura a ser comercializada, o amendoimzeiro, Lourenção et al. (1982) relatam que no cultivo da seca de 1982, plantio de fevereiro, no município de Urânia, SP, ocorreu forte infestação de larvas de *D. speciosa* em 4,5 alqueires de amendoim, danificando o sistema radicular e as vagens das plantas. A área foi cultivada com irrigação e tratada com o inseticida carbofuran, no plantio, e o cultivar utilizado foi o Tatu. As raízes, as radículas e a parte subterrânea dos ginóforos apresentavam pronunciadas lesões decorrentes da alimentação das larvas e, não raro, estavam totalmente cortadas. As vagens tinham orifícios por onde as larvas penetravam para se alimentar nos grãos. O ataque ocorreu antes da fase de maturação dos grãos que, quando atacados se tornavam totalmente deformados e sem valor comercial. Em função da alta infestação verificada através de inspeções nessa lavoura, foi considerada antieconômica a colheita da área cultivada.

Dentre as pragas das cucurbitáceas, este crisomelídeo assume grande importância econômica, por danificar as plantas desde sua germinação até a época de colheita dos frutos. Os adultos consomem as folhas das plantas, deixando orifícios típicos de seu ataque, além de atuarem como vetores de algumas viroses nestas culturas (BARBOSA; FRANÇA, 1982; BOFF; GANDIN, 1992). Segundo Dhillon e Wehner (1991), estes insetos são as pragas mais importantes das cucurbitáceas e quando atacam as plântulas, podem causar sua morte. No Brasil

não existem dados qualitativos e quantitativos dos prejuízos que esse inseto tem causado às lavouras (MILANEZ; PARRA, 2000).

Na cultura da soja, as vaquinhas, causam desfolhamento severo em soja, causando injúrias principalmente nas partes mais tenras das plantas (LINK; COSTA, 1978). De acordo com Rezende, Rossetto e Miranda (1980), além da alimentação em folhas, frequentemente esta praga corta os pecíolos das plantas. O número de pecíolos cortados por *D. speciosa* também foi uma forma de comparar a resistência e o comportamento de cinco populações de soja, que foi semelhante ao encontrado para a porcentagem de área foliar consumida, onde o genótipo PI 227687 se destacou como altamente resistente, quando comparado com os genótipos Santa-Rosa e Paraná. Ávila e Parra (2002) ressaltam que em condições de campo, na ausência de um hospedeiro preferencial, as larvas de *D. speciosa* podem utilizar soja ou feijoeiro como hospedeiros alternativos para alimentação e reprodução.

2.4. Controle de *Diabrotica speciosa*

Diversos métodos de controle são relatados para *D. speciosa*, sendo os principais relatados a seguir. Primeiro, destaca-se o controle biológico, sendo esta uma tática promissora para o manejo da praga. Vários inimigos naturais são descritos atacando adultos da vaquinha, sendo de ocorrência mais frequente as espécies de parasitoides *Celatoria bosqi* Blanchard (Diptera: Tachinidae), *Centistes gasseni* Shaw (Hymenoptera: Braconidae), além dos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok. e *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. O controle de larvas, especialmente com fungos, tem grande potencial para ser implementado em condições de campo (ÁVILA; MILANEZ, 2004).

Vários trabalhos têm mostrado que a isca de “taiuiá” *Cayaponia tayuya* (Vell.) Cogn. (Cucurbitaceae) e outras cucurbitáceas com o mesmo nome popular, utilizadas como controle comportamental, podem ser associadas ao controle biológico de *D. speciosa* e *Cerotoma* sp., como o uso de esporos de *B. bassiana* e *M. anisopliae* (DAOUST; PEREIRA, 1986ab) e de *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791) com esporos de *B. bassiana* (MAGALHÃES et al., 1986), e no controle químico, com a utilização de inseticidas (KOCH, 1981).

Quanto a este último método de controle mencionado, diversos produtos estão registrados para as diferentes fases do inseto (AGROFIT, 2013), por exemplo, inseticidas à base de thiamethoxan (neonicotinoide), aplicados na forma de tratamento de sementes para o controle de larvas, e endossulfam (ciclodienoclorado), sendo a aplicação realizada por pulverização, com o objetivo de se controlar os adultos.

Ressalta-se também a importância da Resistência de Plantas a Insetos, que de acordo com Smith (2005) é a soma das qualidades constitutivas geneticamente herdadas que resultam em uma planta de uma cultivar ou espécie ser menos injuriada do que uma planta suscetível, na qual há falta destas qualidades. O mesmo autor menciona que os efeitos da resistência de plantas sobre artrópodes pode se manifestar por antibiose, na qual a biologia do artrópode praga é adversamente afetada, ou por antixenose, onde a planta age como uma hospedeira pobre e a praga então seleciona uma planta hospedeira alternativa. Panda e Khush (1995) citam a tolerância, conceituando esta como uma característica genética de uma planta que a protege contra uma população de inseto a qual poderia causar danos a uma variedade hospedeira suscetível, não ocorrendo perdas na rentabilidade econômica e não afetando a taxa de aumento populacional da praga alvo.

Para a cultura da soja, vários autores na literatura relatam genótipos que se comportaram como resistentes a insetos desfolhadores, em experimentos realizados em campo e laboratório, bem como ainda avaliaram algumas características das plantas, quais sejam, as químicas ou morfológicas, correlacionando tais fatores como as possíveis causas para a manifestação da resistência (BOIÇA JÚNIOR et al., 2011). Neste contexto, Lara et al. (1999), estudando a preferência alimentar de adultos de *D. speciosa* por genótipos de soja, concluíram que, o genótipo de soja PI 274454 manifesta resistência do tipo não preferência para alimentação, em testes com e sem chance de escolha, utilizando-se discos foliares. Rossetto et al. (1981), avaliando a preferência alimentar de *D. speciosa* por genótipos de soja em teste com chance de escolha, em condições de casa de vegetação, observaram que o genótipo PI 227687 foi o menos preferido para alimentação em relação aos genótipos comerciais e as outras duas PI's (PI 229358 e PI 171451), as quais foram intermediárias.

3. REFERÊNCIAS

AGROFIT 2013. Disponível em:

<http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 17 jan. 2013.

AMANTE, E.; FIGUEIREDO JÚNIOR, E. Nota prévia sobre a ocorrência da larva da *Diabrotica speciosa* Germar, 1824 (Coleoptera. Galerucidae), em raízes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FEIJÃO, 1., 1971, Campinas. **Resumos**. p.37-38.

ARRUDA-GATTI, I. C.; VENTURA, M. U. Iscas contendo cucurbitacinas para o manejo de *Diabrotica* spp. **Semina: Ciência Agrárias**, Londrina, v.24, n.2, p.331-336, 2003.

ÁVILA, C. J.; MILANEZ, J. M. Larva-alfinete. In: SALVADORI, J. R.; ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. da (Ed.). **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo; Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz Alta: Fundacep Fecotrigo, 2004. p. 345-378.

ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em diferentes hospedeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 5, 739-743, 2002.

ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Influência da temperatura na fecundidade e longevidade de adultos de *Diabrotica speciosa*. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 76, n. 3, p. 392-399, 2001.

ÁVILA, C. J. **Técnica de criação e influência do hospedeiro e da temperatura no desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) Coleoptera: Chrysomelidae**. 1999. 102 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

BARBOSA, S.; FRANÇA, F. H. Pragas das cucurbitáceas e seu controle. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n. 85, p. 54-56, 19

BOFF, M. I. C.; GANDIN, E. C. L. Principais pragas da cultura da melancia e seu controle. **Agropecuário Catarinense**, Florianópolis, v. 5, p. 39-41, 1992.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; CAMPOS, A. P. Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. In: BUSOLI, A. C.; ANDRADE, D. J.; JANINI, J. C.; BARBOSA, C. L.; FRAGA, D. F.; SANTOS, L. C.; RAMOS, T. O.; PAES, V. S. (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola – III**. Jaboticabal: Multipress, 2010. p. 11-22.

BOIÇA JÚNIOR, A. L.; SILVA, A. G.; BOTTEGA, D. B.; RODRIGUES, N. E. L.; SOUZA, B. H. S.; PEIXOTO, M. L.; SOUZA, J. R. Resistência de plantas e uso de produtos naturais como táticas de controle no manejo integrado de pragas. In: BUSOLI, A. C.; FRAGA, D. F.; SANTOS, L. C.; ALENCAR, J. R. C. C.; GRIGOLLI, J. F. J.; JANINI, J. C.; SOUZA, L. A.; VIANA, M. A.; FUNICHELLO, M. (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola – IV**. Jaboticabal: Multipress, 2011. p. 139-158.

CONAB. **Grãos**: acompanhamento da safra brasileira – safra 2011/2012. Brasília, 2012. 40 p. Disponível em:

<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_10_11_14_19_05_boletim_outubro-2011.pdf> Acesso em: 22 jun. 2012.

DAOUST, R. A.; PEREIRA, R. M. Stability of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on beetle attracting tubers and cowpea foliage in Brazil. **Environmental Entomology**, Maryland, v. 15, n. 6, p.1237-1243, 1986a.

DAOUST, R. A.; PEREIRA, R. M. Survival of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Moniliales) conidia on cadavers of cowpea pests stored outdoors and in laboratory in Brazil. **Environmental Entomology**, Maryland, v. 15, n. 3, p.642-647, 1986b.

DHILLON, N. P. S.; WEHNER, T. C. Host-plant resistance to insects in cucurbits-germplasm resources, genetics and breeding. **Tropical Pest Management**, Basingstoke, v.37, n. 4, p. 421-428, 1991.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja - Região Central do Brasil 2004**: a soja no Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 242 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 6).

FRANÇA, F. H.; BARBOSA, S. O controle de pragas da batata. In: REIFSCHEIDE, F. J. B. (Ed.). **Produção de Batata**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1987. p. 73-84.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; DE BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM,

J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 902 p.

GASSEN, D. N. **Insetos subterrâneos prejudiciais às culturas no sul do Brasil**. Passo Fundo : Embrapa: CNPT, 1989, 49p. (Embrapa-CNPT. Documentos, 13).

GAZZONI, D. L. **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. 1062p.

HASSEL, M.P. Detecting regulation in patchily distributed animal populations. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 56, p. 705-713, 1987.

IZAGUIRRE, J. A. R.; RAMOS, T. C. Estudios preliminares del comportamiento de crisomelídeos em áreas de campos de soja. **Revista Centro Agrícola**, Santa Clara, v.14, p.71-79, 1987.

JAENIKE, J. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. **Theoretical Population Biology**, New York, v. 14, n. 3, p. 350-356, 1978.

KOCH, N. Tayuyá: controle biológico da vaquinha do feijoeiro. **Revista Brasileira de Extensão Rural**, Brasília, v.2, p.3, 1981.

KRYSAN, L. J. Introduction: biology, distribution and identification of pest *Diabrotica*. In: KRYSAN, J. L.; MILLER, T. A. (eds.). **Methods for the study of pest *Diabrotica***. New York: Springer-Verlag, 1986. p. 1-23.

LARA, F. M.; ELIAS, J. M.; BALDIN, E. L. L.; BARBOSA, J. C. Preferência alimentar de *Diabrotica speciosa* (Germ.) e *Cerotoma* sp. por genótipos de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, n.4, p. 947-951, 1999.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2.ed. São Paulo: Icone, 1991. 336p.

LAUMANN, R.; NEIVA, P. R.; PIRES, C. S. S.; SCHMIDT, F. G. V.; BORGES, M. **Ritmos diários de atividades comportamentais de *Diabrotica speciosa* (Germ., 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) relacionados à temperatura**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 6 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Comunicado Técnico, 90).

LINK, D.; COSTA, E. C. Danos causados por crisomelídeos em soja. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, Santa Maria, v. 8, p. 245-250, 1978.

LOPES, I. V. Uma liderança ameaçada. **Revista Conjuntura Econômica**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 58 p. 40- 41. 2004.

LOURENÇÃO, A. L.; ROSSETTO, C. J.; LASCA, D. H. C.; PALLA, V. L.; PALLA, G. J. Ocorrência de larvas de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) danificando vagens e sistema radicular de amendoimzeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 41, n. 10, p. 241-243, 1982.

MAGALHÃES, B. P.; LORD, J. C.; DAOUST, R. A.; ROBERTS, D. W. Efeito de *Beauveria bassiana* sobre *Cerotoma arcuata* (Olivier, 1791) (Coleoptera: Chrysomelidae) após exposição de esporos do fungo a tubérculos de taiuiá (*Ceratosanthes hilariana*). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 2, n. 15, p. 327-334, 1986.

MARQUES, G. B. C.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Danos causados por larvas e adultos de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 1983-1986. 1999.

MARTINS, D. C.; BALDIN, E. L. L.; MARQUES, M. A. S. G. M. Atração e consumo de *Diabrotica speciosa* Germ. (Coleoptera: Chrysomelidae) por genótipos de feijoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, p. 41-49, 2004.

MAYHEW, P. J. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. **Oikos**, Copenhagen, v. 79, p. 417-428. 1997.

MENEGATTI, A. L. A.; BARROS, A. L. M. Análise comparativa dos custos de produção entre soja transgênica e convencional: um estudo de caso para o Estado do Mato Grosso do Sul. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 45, n. 1, p. 163-183, 2007.

MILANEZ, J. M.; PARRA, J. R. P. Preferência de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) para oviposição em diferentes tipos e umidade de solos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 155-158, 2000.

MILANEZ, J. M. **Técnicas de criação e bioecologia de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)**. 1995. 102 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

PANDA, N.; KHUSH, G. S. **Host plant resistance to insects**. Guilford: Biddles, 1995. 431 p.

PEARMAN, P. B.; WILBUR, H. M. Changes in population dynamics resulting from oviposition in a subdivided habitat. **American Naturalist**, Chicago, v. 135, n. 5, p. 706-723, 1990.

QUINTELA, E. D. **Cultivo do Feijão Irrigado na Região Noroeste de Minas Gerais**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. (Embrapa Arroz e Feijão. Sistemas de Produção, 5).

RAMIRO, Z. A.; BATISTA FILHO, A.; MACHADO, L. A. Levantamento de pragas e inimigos naturais em seis cultivares de soja. **O Biológico**, São Paulo, v. 53, n. 1/6, p. 7-29, 1987.

RESETARITS, W. J.; WILBUR, H. M. Choice of oviposition site by *Hyla chrysoscelis*: role of predators and competitors. **Ecology**, Tempe, v. 70, n. 1, p. 220-228, 1989.

REZENDE, J. A. M.; ROSSETTO, C. J.; MIRANDA, M. A. C. Comportamento de populações paternas e F₁ de soja em relação a *Colaspis* sp. e *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824). **Bragantia**, Campinas, v. 39, n. 3, p. 15-20, 1980.

ROSSETTO, C. J.; NAGAI, V.; IGUE, T.; ROSSETTO, D.; MIRANDA, M. A. C. Preferência de alimentação de adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar) e *Cerotoma arcuata* (Olivier) em variedades de soja. **Bragantia**, Campinas, v. 40, n. 1, p. 179-183, 1981.

SILVA, A. G. D. A.; GONÇALVES, C. R.; GALVÃO, D. M.; GONÇALVES, A. J. L.; GOMES, J.; SILVA, M. N.; SIMONI, L. **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seu parasitas e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1968. 622 p. (Parte 2).

SMITH, C. M. **Plant resistance to arthropods**. Dordrecht: Springer, 2005. 423 p.

VIANA, P. A. **Manejo de *Diabrotica speciosa* na Cultura do Milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 6 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 141).

CAPÍTULO 2 – NÃO PREFERÊNCIA PARA ALIMENTAÇÃO E TOLERÂNCIA EM GENÓTIPOS DE SOJA AO ATAQUE DE *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

RESUMO - Esta pesquisa teve por objetivo avaliar a não preferência para alimentação e tolerância em genótipos de soja ao ataque de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824). Os experimentos foram divididos em três partes, sendo que no primeiro foram avaliadas a atratividade e a área foliar consumida por adultos de *D. speciosa* em genótipos de soja, utilizando-se discos foliares. Na segunda parte, avaliou-se o efeito da utilização de plantas jovens de genótipos de soja na preferência alimentar de adultos de *D. speciosa*. Na terceira e última parte, estudou-se a não preferência para alimentação de larvas de *D. speciosa* por plantas de genótipos de soja. Nas três etapas, foram realizados testes com chance de escolha, utilizando-se o delineamento em blocos casualizados, e testes sem chance de escolha, empregando-se o delineamento inteiramente casualizado. Utilizando-se discos foliares, o genótipo PI 274454 é o menos preferido para alimentação *D. speciosa*, em teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, além de PI 274454, os genótipos IGRA RA 626 RR, Dowling e PI 227687 são os menos consumidos. Oferecendo-se plantas jovens, as menores porcentagens de área foliar consumida por adultos de vaquinhas são observadas nos genótipos IAC 100 e PI 227687, em teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, PI 227687 e IGRA RA 626 RR apresentam menor área foliar consumida. No ensaio com larvas, o genótipo IGRA RA 626 RR é altamente resistente, e PI 274454 e BRSGO 8360 são moderadamente resistentes, em teste com chance de escolha.

Palavras-chave: *Glycine max*, larva-alfinete, Resistência de Plantas a Insetos, tricomas, vaquinha

CHAPTER 2 – NON PREFERENCE FOR FEEDING AND TOLERANCE ON SOYBEAN GENOTYPES TO THE ATTACK OF *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

ABSTRACT – This research aimed to evaluate the non preference for feeding and tolerance on soybean genotypes to the attack of *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824). The experiments were divided in three parts, being on the first one assessed the attractiveness and leaf area consumed by *D. speciosa* adults on soybean genotypes, using leaf discs. In the second part, the effect of the use of soybean genotypes young plants on the feeding preference of *D. speciosa* was evaluated. In the third and last part, the non preference for feeding of *D. speciosa* larvae for soybean genotypes plants was studied. In all steps, free-choice tests were performed, using the randomized blocks design, and no-choice experiments, employing the completely randomized design. Using leaf discs, the genotype PI 274454 is the least preferred for feeding of *D. speciosa*, in free-choice test. In no-choice test, in addition to PI 274454, the genotypes IGRA RA 626 RR, Dowling and PI 227687 are the least consumed. Offering young plants, lower percentages of adults' leaf intake are observed on the genotypes IAC 100 and PI 227687, in free-choice test. In no-choice test, PI 227687 and IGRA RA 626 RR show the lower leaf intake. In the assay with larvae, the genotype IGRA RA 626 RR is highly resistant, and PI 274454 and BRSGO 8360 are moderately resistant, in free-choice test.

Keywords: corn rootworm, *Glycine max*, Host Plant Resistance, leaf beetle, trichomes

1. Introdução

A subtribo Diabroticina (Coleoptera: Chrysomelidae) abrange muitas espécies polífagas e oligófagas que se alimentam de muitas culturas agrícolas, além de plantas ornamentais e selvagens. O gênero *Diabrotica* Chevrolat inclui o maior número de espécies pragas, atacando algumas das culturas mais importantes, sendo consideradas umas das principais pragas da América, em razão do consumo de folhas, frutos e flores pelos adultos ou pela alimentação de raízes e tubérculos pelas larvas. Na América do Sul, a espécie mais comum e problemática é *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Link e Costa 1978).

Os adultos desta praga, conhecidos como vaquinhas, causam desfolhamento severo em soja (*Glycine max* [L.] Merrill), e injúrias em partes tenras de quase todas as culturas (Link e Costa 1978), podendo acarretar danos significativos, principalmente, se o ataque for direcionado aos cotilédones, quando pode ocasionar crescimento anormal da planta ou mesmo levá-la à morte (Martins et al. 2004).

As larvas desta espécie, chamadas vulgarmente de larva-alfinete, têm sido consideradas uma das principais pragas subterrâneas de diversas culturas. O prejuízo causado pela larva para essas culturas tem sido expressivo nos Estados do Sul e em algumas áreas das regiões Sudeste e Centro-Oeste. No Sul, em áreas onde os solos são geralmente ricos em matéria orgânica e retêm maior umidade, favorece a biologia das larvas. Em áreas irrigadas das regiões Sudeste e Centro-Oeste, onde várias culturas hospedeiras são cultivadas em sucessão, os danos tem sido representativos. (Viana 2010).

Cabrera Walsh (2003) apresentou resultados nos quais indicam que *D. speciosa* é mais polífaga do que *Diabrotica viridula* (F.) ou *Acalyma bivittula* (Kirsch), tanto na fase larval quanto adulta. Dessa forma, a praga alvo do presente estudo tem sido criada, com maior ou menor sucesso, em raízes de soja, milho (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum vulgare* Vill), abóbora (*Cucurbita moschata* [Duchesne] Poiret), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L.).

Estratégias de manejo para o controle da vaquinha são restritos aos químicos. Adultos são controlados por pulverizações foliares com inseticidas os quais perdem

seus efeitos rapidamente e ocorre reinfestações na cultura. Para evitar isso, os agricultores normalmente fazem várias aplicações durante o ciclo. Quanto às larvas, estas são controladas por aplicações de inseticidas no solo, produtos estes que são caros e perigosos ao ambiente (Arruda-Gatti e Ventura 2003).

Um dos métodos alternativos de controle desses insetos é o uso de plantas resistentes, que oferece uma série de vantagens, inclusive a de se integrar perfeitamente em programas de manejo de pragas (Lara 1991). O uso de variedades resistentes, além de diminuir a população de insetos-praga, quase não interfere no meio ambiente; seu efeito é cumulativo e persistente; não é poluente; não acarreta ônus ao custo de produção e, finalmente, não exige conhecimento específico, por parte dos agricultores, para a sua utilização (Boiça Júnior e Campos 2010).

A não preferência foi originalmente definida por Painter (1951) como o grupo de caracteres da planta e respostas de artrópodes os quais resultam que uma planta seja menos danificada do que outra, faltando estes mesmos caracteres e respostas de artrópodes. A tolerância, de acordo com Smith (2005) é a soma das qualidades genéticas hereditárias de uma planta que podem prove-la habilidade para resistir ou se recuperar de uma injúria causada por um inseto.

Esta pesquisa teve por objetivo avaliar a não preferência para alimentação e tolerância em genótipos de soja, ao ataque de *D. speciosa*.

2. Material e Métodos

Os testes descritos a seguir foram realizados com sementes fornecidas pela Embrapa Soja, situada em Londrina, PR, Brasil.

2.1. Atratividade e área foliar consumida por adultos de *D. speciosa*, utilizando-se discos foliares de genótipos de soja

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, do Departamento de Fitossanidade/FCAV/UNESP, sob temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Com a finalidade de

avaliar a atratividade e a área foliar consumida em discos foliares de plantas de genótipos de soja, com aproximadamente 60 dias de idade, por adultos de *D. speciosa*, foram realizados experimentos com e sem chance de escolha, com 10 genótipos, quais sejam IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, BRS Valiosa RR, Dowling, IGRA RA 516 RR, PI 227687, PI 274454 e BR 16.

Para o teste com chance de escolha, foram utilizadas arenas de vidro de 26,2 cm de diâmetro e 5,0 cm de altura, distribuindo-se discos foliares de 2,54 cm de diâmetro dos respectivos genótipos sobre papel filtro umedecido em água deionizada, sendo em seguida liberados 10 insetos por repetição. No teste sem chance de escolha, foram utilizadas placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro e 1,2 cm de altura, distribuindo-se um disco foliar por repetição, de cada um dos respectivos genótipos, colocados sobre papel filtro umedecido em água deionizada. Em cada arena (placa de Petri), foi introduzido um adulto da vaquinha.

A atratividade foi avaliada a 1, 3, 5, 10, 15 e 30 minutos e a 1, 2, 6, 12, e 24 horas após o início do experimento no teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, a avaliação foi realizada a 1, 3, 5, 10, 15 e 30 minutos e a 1, 2, 6, 12, 24, 30 e 35 horas. Imediatamente após o término dos experimentos, avaliou-se a área foliar consumida (AFC) (cm²) em cada genótipo, utilizando-se aparelho medidor de área foliar (Modelo 3000A, LI-COR, Lincoln, NE). Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados para o teste com chance de escolha e inteiramente casualizado para o teste sem chance de escolha, perfazendo-se 10 repetições.

Realizou-se ainda a quantificação de tricomas, utilizando-se um microscópio estereoscópico (aumento 40x). As contagens foram feitas em duas áreas circulares de 3,14 mm² (raio = 1 mm), uma à esquerda e outra à direita da nervura principal, equidistante desta e da margem do folíolo, nas partes abaxial e adaxial de um folíolo superior totalmente expandido, somando-se ao final o número total de tricomas por tratamento. Dez repetições foram utilizadas para cada genótipo.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett) (Silva e Azevedo 2006), para verificar a necessidade de transformação dos dados, e se necessário, qual a transformação mais adequada. Foi realizada a análise de variância (Anova) pelo teste F, sendo as

médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Devido à ocorrência de dados não normais e não homocedásticos, e/ou à alta quantidade de zeros, todos os dados foram transformados em $\log(x+5)$, exceto os dados referentes aos tricomas, os quais foram transformados em $\log(x)$.

2.2. Utilização de plantas jovens de genótipos de soja na preferência alimentar de adultos de *D. speciosa*

Os experimentos foram executados em condições de laboratório, sob temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, tendo por objetivo a avaliação da preferência alimentar de adultos de *D. speciosa* pelos 10 genótipos mencionados no item anterior, realizando-se testes com e sem chance de escolha.

As plantas utilizadas nesses experimentos se desenvolveram em condições de casa de vegetação, em substrato composto por solo, areia e esterco, na proporção 3:1:1, sendo o volume dos recipientes utilizados de 300 mL. Após a emissão das duas primeiras folhas verdadeiras (aproximadamente 15 dias de idade), as plantas foram conduzidas ao laboratório, para o início dos experimentos. No teste com chance de escolha, as plantas foram acondicionadas equidistantemente em gaiolas de vidro de 40 cm de comprimento, 30 cm de largura e 30 cm de altura, liberando-se em seguida os insetos. Em teste sem chance de escolha, os recipientes plásticos nos quais as plantas estavam se desenvolvendo foram cobertos por recipientes de mesmo volume, 300 mL, sendo vedados em seguida por fita adesiva, formando-se uma gaiola, com a finalidade de se evitar a fuga dos insetos.

No teste com chance de escolha, a atratividade foi avaliada a 5, 10, 15 e 30 minutos e a 1, 2, 6, 12, 24, 30 e 35 horas, e em teste sem chance de escolha a 5, 10, 15 e 30 minutos e a 1, 2, 6, 12, 24, 30, 48 e 72 horas após a liberação dos insetos. Foram avaliados a área foliar consumida nos dois folíolos verdadeiros ao término de ambos os experimentos, atribuindo-se notas e porcentagens de área foliar consumida. As notas concedidas variaram entre 0 a 10, sendo: nenhum consumo = 0; 1 a 10% = 1; 11 a 20% = 2; 21 a 30% = 3; 31 a 40% = 4; 41 a 50% = 5; 51 a 60% = 6; 61 a 70% = 7; 71 a 80% = 8; 81 a 90% = 9; 91 a 100% = 10. Foi

utilizado o delineamento em blocos casualizados para o teste com chance de escolha e inteiramente casualizado para o teste sem chance de escolha, executando-se oito repetições.

Paralelamente à realização dos experimentos, realizou-se a quantificação do número de tricomas, utilizando-se um microscópio estereoscópico (aumento 40x). As avaliações foram feitas em duas áreas circulares de 3,14 mm² (raio = 1 mm), uma à esquerda e outra à direita da nervura principal, equidistante desta e da margem do folíolo, nas partes abaxial e adaxial de um folíolo superior totalmente expandido, somando-se ao término o número total de tricomas por tratamento. Dez repetições foram utilizadas para cada genótipo.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett) (Silva e Azevedo 2006), para verificar a necessidade de transformação dos dados, e se necessário, qual a transformação mais adequada. Foi realizada a análise de variância (Anova) pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Devido à ocorrência de dados não normais e não homocedásticos, e/ou à alta quantidade de zeros, todos os dados foram transformados em $\log(x+5)$, exceto os dados referentes aos tricomas, os quais foram transformados em $\log(x)$.

2.3. Tolerância de plantas de genótipos de soja ao ataque de larvas de *D. speciosa*

Os testes foram executados sob condições de casa de vegetação, em instalações pertencentes ao Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Fitossanidade da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Foram infestadas cada planta de soja, de aproximadamente 15 dias de idade, com duas larvas de *D. speciosa* de oito dias de idade, larvas estas oriundas da criação de manutenção conduzida neste laboratório, baseando-se na metodologia proposta por Ávila et al. (2000).

O substrato utilizado para o desenvolvimento das plantas de soja, em ambos os testes, foi areia peneirada e esterilizada em estufa (Modelo AS200S, QUIMIS, Diadema, SP), à 110 °C por 24 horas. Os genótipos utilizados nestes experimentos

foram selecionados de acordo com os resultados obtidos no experimento descrito no item “2.1”, quais sejam: IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, PI 227687 e PI 274454.

No teste com chance de escolha, foram utilizados cinco recipientes com formato sextavado (seis compartimentos) (Fig. 1), sendo que em cada compartimento (15 cm de comprimento, 8 cm de largura e 15 cm de altura) foram mantidas três plantas. Em quatro recipientes, larvas de *D. speciosa* foram liberadas ao centro dos mesmos, na razão de duas larvas por planta, abrindo-se as comportas que fechavam as entradas dos compartimentos uma hora após a soltura das larvas, possibilitando a escolha das mesmas pelas plantas de soja dos diferentes genótipos. Desta forma, foram utilizados seis genótipos, realizando-se 12 repetições (plantas). As plantas dos genótipos de soja do quinto recipiente representaram a testemunha, sem infestação. No teste sem chance escolha, foram utilizados recipientes plásticos de 700 mL, nos quais foi mantida apenas uma planta de soja, liberando-se duas larvas, realizando-se 10 repetições. Como testemunha, foram utilizadas plantas dos mesmos genótipos, sem infestação de larvas, perfazendo-se o mesmo número de repetições.

Em ambos os testes, tanto as plantas submetidas ao ataque das larvas quanto às plantas utilizadas como testemunha, foram submetidas ao processo de secagem em estufa (Modelo AS200S, QUIMIS, Diadema, SP), à 60 °C por 48 horas, para posteriormente se avaliar a porcentagem de redução dos seguintes caracteres de plantas submetidas ao ataque da praga: altura de plantas (cm), número de folíolos, massa seca da parte aérea e do sistema radicular (mg), além da avaliação da nota injúria, sendo esta última com escalas de notas idênticas às mencionadas no item “2.2”, neste caso, avaliando a porcentagem de área consumida nas raízes das plantas nas quais as larvas da praga se alimentaram, comparando-as com plantas não submetidas ao ataque das larvas-alfinete.

Por conseguinte, empregou-se a seguinte fórmula: $X = (MA - MD)/MA * 100$, para avaliar a porcentagem (%) de redução das variáveis altura, número de folíolos, massa seca da parte aérea e do sistema radicular, onde X = % de redução; MA = Valor do parâmetro na testemunha (sem infestação do inseto); MD = Valor do parâmetro no tratamento (com infestação do inseto).

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett) (Silva e Azevedo 2006), para verificar a necessidade de transformação dos dados, e caso seja necessário, qual a transformação mais adequada. Foi realizada a análise de variância (Anova) pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Devido à ocorrência de dados não normais e não homocedásticos, e/ou presença de zeros, os dados foram transformados em $\log(x+5)$.

3. Resultados

3.1. Atratividade e área foliar consumida por adultos de *D. speciosa*, utilizando-se discos foliares de genótipos de soja

No teste com chance de escolha, houve diferenças significativas quanto à atratividade às duas ($F = 3,01$; $gl = 9$; $P < 0,0038$) e seis ($F = 1,98$; $gl = 9$; $P < 0,0526$) horas. Às duas horas, os genótipos menos atrativos foram DM 339, IGRA RA 516 RR, PI 227687, PI 274454 e BR 16, enquanto Dowling foi o genótipo que atraiu o maior número de insetos (Tabela 1). Às seis horas, os genótipos menos atrativos foram IAC 100 e BR 16, ao passo que o genótipo Dowling apresentou o maior número de insetos atraídos. Quanto à área foliar consumida ($F = 5,66$; $gl = 9$; $P < 0,0000$), os genótipos menos consumidos foram IAC 100 e PI 274454, enquanto o genótipo BRSGO 8360 apresentou maior área foliar consumida (Tabela 1).

Diferenças significativas foram observadas no teste sem chance de escolha apenas para área foliar consumida ($F = 2,40$; $gl = 9$; $P < 0,0174$), sendo os genótipos com menor valor de consumo IGRA RA 626 RR, Dowling, PI 227687 e PI 274454, à medida que BRSGO 8360 e IGRA RA 516 RR foram os mais preferidos para a alimentação de *D. speciosa* (Tabela 2).

Analisando-se o número médio de tricomas, em plantas de soja com cerca de 60 dias de idade, observa-se diferenças significativas nas três variáveis avaliadas, quais sejam, tricomas nas partes adaxial e abaxial, e número total (Tabela 3). Considerando a região adaxial ($F = 25,07$; $gl = 9$; $P < 0,0000$), os genótipos menos

pilosos foram Dowling e IGRA RA 516 RR, à medida que PI 227687 se destacou pela maior quantidade de tricomas. Com referência ao número médio de tricomas da parte abaxial ($F = 21,02$; $gl = 9$; $P < 0,0000$), o genótipo Dowling possuiu a menor quantidade, enquanto que os genótipos IAC 100 e PI 274454 se despontaram pela maior pilosidade. Por fim, em relação ao número total de tricomas ($F = 24,29$; $gl = 9$; $P < 0,0000$), dois genótipos se destacaram, pela menor e maior quantidade de tricomas. O genótipo Dowling se caracterizou pela menor quantidade de tricomas, ao passo que o genótipo PI 227687 apresentou-se como o mais piloso.

3.2. Utilização de plantas jovens de genótipos de soja na preferência alimentar de adultos de *D. speciosa*

Verificam-se diferenças significativas, no teste com chance de escolha, para alguns tempos a respeito da atratividade, assim como na porcentagem de área foliar consumida (Tabela 4). Aos 10 minutos ($F = 2,70$; $gl = 9$; $P < 0,0100$), os genótipos menos atrativos foram IAC 100, IGRA RA 626 RR, BRS Valiosa RR, PI 274454 e BR 16, enquanto BRSGO 8360 se destacou com o maior número de insetos. Com 15 minutos após o início do experimento ($F = 4,03$; $gl = 9$; $P < 0,0004$), os genótipos IAC 100, IGRA RA 626 RR, DM 339, Dowling, IGRA RA 516 RR, PI 227687, PI 274454 e BR 16 foram os genótipos que atraíram a menor quantidade de insetos, à medida que BRSGO 8360 se isolou com o maior número médio de insetos. À uma hora após a liberação dos insetos ($F = 2,61$; $gl = 9$; $P = 0,0125$), nos genótipos IGRA RA 626 RR, PI 227687 e BR 16 se observou o menor número médio de insetos, enquanto opostamente, o genótipo BRSGO 8360 atraiu a maior quantidade de insetos. Após 24 horas da soltura dos insetos ($F = 4,56$; $gl = 9$; $P < 0,0001$), foram observados os menores números médios de insetos nos genótipos IAC 100, IGRA RA 626 RR, DM 339, PI 227687, PI 274454 e BR 16. Por outro lado, no genótipo BRS Valiosa RR foi verificado o mais alto valor médio. Às 30 horas do início do ensaio ($F = 3,80$; $gl = 9$; $P < 0,0007$), o genótipo IAC 100 se destacou ao não atrair nenhum inseto, diferindo significativamente dos genótipos BRSGO 8360, BRS Valiosa RR e Dowling. Com 35 horas de experimento ($F = 4,39$; $gl = 9$; $P < 0,0002$), os genótipos que atraíram menor número de insetos foram IAC 100, PI 227687 e PI

274454. Em contrapartida, o genótipo Dowling foi o mais atrativo (Tabela 4). No que se refere à média de atratividade ($F = 4,13$; $gl = 9$; $P < 0,0003$), os genótipos que atraíram menor número de insetos no decorrer do experimento foram IAC 100, IGRA RA 626 RR, PI 227 687, PI 274454 e BR 16, ao passo que no genótipo BRSGO 8360 foram registrados os maiores número de insetos.

Em relação aos resultados de nota (injúria) ($F = 2,21$; $gl = 9$; $P < 0,0329$), IAC 100 e PI 227687 apresentaram os menores valores, à medida que BRSGO 8360, BRS Valiosa RR, Dowling e IGRA RA 626 RR alcançaram os mais altos valores. A respeito da porcentagem de área foliar consumida ($F = 3,56$; $gl = 9$; $P < 0,0013$), os genótipos IAC 100 e PI 227687 foram os menos consumidos pelos insetos, enquanto que o genótipo IGRA RA 516 RR foi o mais preferido para alimentação de *D. speciosa* (Tabela 4).

No teste sem chance de escolha, observam-se diferenças significativas para atratividade às 72 horas, nota (injúria) e área foliar consumida (Tabela 5). Com 72 horas de experimento ($F = 2,13$; $gl = 9$; $P < 0,0382$), não se encontrou nenhum inseto no genótipo BRS Valiosa, enquanto que IGRA RA 626 RR obteve o maior número médio de insetos. Em relação à nota ($F = 2,09$; $gl = 9$; $P < 0,0419$), PI 227687 obteve menor valor, ao contrário de BRS Valiosa e Dowling, os quais apresentaram as maiores notas. Quanto à área foliar consumida ($F = 2,25$; $gl = 9$; $P < 0,0286$), os genótipos IGRA RA 626 RR e PI 227687 obtiveram foram as menos consumidas, ao contrário de BRS Valiosa RR, Dowling e IGRA RA 516 RR, os quais foram os mais preferidos para alimentação da vaquinha.

Em relação ao número de tricomas, em plantas de aproximadamente 15 dias, verificam-se diferenças significativas em todas as análises (Tabela 6). Nas três variáveis avaliadas, é possível detectar dois genótipos que se destacaram, em razão da menor e maior quantidade de tricomas. No que se refere ao menor número de tricomas, o genótipo IGRA RA 626 RR se mostrou menos piloso nas partes adaxial ($F = 43,99$; $gl = 9$; $P < 0,0000$) e abaxial ($F = 33,00$; $gl = 9$; $P < 0,0000$), assim como na somatória ($F = 40,26$; $gl = 9$; $P < 0,0000$). De forma contrária, o genótipo BR 16 apresentou as maiores quantidades de tricomas nas partes adaxial e abaxial, e consequentemente, no número total.

3.3. Tolerância de plantas de genótipos de soja ao ataque de larvas de *D. speciosa*

Em teste com chance de escolha, houve diferenças significativas para todas as variáveis avaliadas, exceto para as notas de injúria (Tabela 7). Em relação à altura ($F = 3,59$; $gl = 5$; $P < 0,0071$), os genótipos que apresentaram menor porcentagem de redução foram PI 274454, IGRA RA 626 RR e BRSGO 8360, enquanto contrariamente os genótipos DM 339 e IAC 100 tiveram os maiores índices (Tabela 7). No que se refere à porcentagem de redução do número de folíolos ($F = 10,10$; $gl = 5$; $P < 0,0000$), as menores reduções foram verificadas em PI 227687, DM 339 e IGRA RA 626 RR, ressaltando-se que não se verificou decréscimo para os dois últimos genótipos, à medida que os genótipos BRSGO 8360, IAC 100 e PI 274454 possuíram os maiores valores. Quanto à porcentagem de redução da massa seca da parte aérea ($F = 4,23$; $gl = 5$; $P < 0,0025$), os genótipos BRSGO 8360 e PI 227687 possuíram os menores índices, ao passo que IAC 100 obteve o maior valor. A respeito da porcentagem de redução de massa seca do sistema radicular ($F = 4,19$; $gl = 5$; $P < 0,0027$), os menores valores foram encontrados para IGRA RA 626 RR e PI 274454, enquanto que para o genótipo PI 227687 houve o maior valor.

No teste sem chance de escolha, observam-se diferenças significativas apenas para altura de plantas ($F = 5,84$; $gl = 5$; $P < 0,0002$), sendo o genótipo IAC 100 àquele que sofreu menor porcentagem de redução, à medida que os genótipos BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, PI 227687 e PI 274454 apresentaram os maiores índices (Tabela 8).

4. Discussão

De acordo com os resultados apresentados nas tabelas 1, 2, 4 e 5, a resistência de alguns genótipos é manifestada em testes com e sem chance de escolha. Os dados obtidos em testes através da utilização de discos foliares de plantas com aproximadamente 60 dias de idade (Tabelas 1 e 2), estão de acordo com os dados obtidos por Lara et al. (1999), os quais verificaram que o genótipo de soja PI 274454 manifesta resistência do tipo não preferência para alimentação, em

testes com e sem chance de escolha, utilizando-se discos foliares. Além disso, mencionaram que o mesmo genótipo manifesta essa resistência ao ser utilizado como extrato aquoso.

Rossetto et al. (1981) constataram, em teste com chance de escolha, em condições de casa de vegetação, que o genótipo PI 227687 foi o menos preferido para alimentação de *D. speciosa*, em relação aos genótipos comerciais e as outras duas PI's (PI 229358 e PI 171451). Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa, a qual demonstrou que o genótipo PI 227687 foi o genótipo no qual as vaquinhas menos se alimentaram, de forma semelhante ao genótipo IAC 100. Provavelmente, os genótipos PI 227687 e IAC 100 fornecem condições nutricionais desfavoráveis ao inseto e/ou possuem menores quantidades de substâncias atraentes e estimulantes para alimentação, e/ou maiores teores de substâncias repelentes e deterrentes.

Em relação à densidade de tricomas de plantas de aproximadamente 60 dias de idade (ensaio com discos foliares), diferenças significativas foram observadas em todas as avaliações. O genótipo PI 274454 apresentou o segundo maior número total de tricomas, e no teste com chance de escolha o mesmo se destacou como o menos preferido para alimentação. Opostamente, o genótipo BRSGO 8360 se caracterizou como um dos menos pilosos, sendo este um dos mais consumidos nos testes com e sem chance de escolha (Tabelas 1 e 2).

Considerando o número médio de tricomas de plantas de aproximadamente 15 dias de idade (ensaio com plantas) (Tabela 6), verificaram-se diferenças significativas em todas as avaliações. O genótipo PI 227687 apresentou um dos maiores números totais de tricomas, sendo este um dos genótipos menos consumidos em testes com e sem chance de escolha (Tabelas 4 e 5). Em contrapartida, o genótipo IGRA RA 516 RR se caracterizou como um dos menos pilosos, sendo este um dos mais preferidos para a alimentação da vaquinha, em testes com e sem chance de escolha.

Conforme se verifica nos dois parágrafos anteriores, a tendência é de que os genótipos menos consumidos sejam aqueles que apresentam um dos maiores números totais de tricomas, como PI 274454 e PI 227687, ao passo que geralmente os genótipos que tiveram maior área foliar consumida frente ao ataque das

vaquinhas apresentaram as menores densidades de tricomas, como IGRA RA 516 RR. É importante salientar, de acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, através de diferentes formas de execução de experimentos e idade de plantas utilizadas, que provavelmente os tricomas sejam estruturas auxiliares na manifestação de resistência de plantas de genótipos de soja ao ataque de *D. speciosa*, ou seja, não são as únicas estruturas responsáveis pela manifestação da resistência dos genótipos, mas somadas às outras características formam parte de um conjunto conhecido por causas de resistência. Piubelli et al. (2005) afirmam que o genótipo PI 227687 foi o genótipo mais usado globalmente como recurso de resistência à insetos desfolhadores, enquanto o genótipo PI 274454 foi usado similarmente no Brasil. Veiga et al. (1999) mencionam que a mais alta concentração do isoflavonoide rutina foi encontrada no genótipo PI 227687, quando comparado com os outros genótipos. Além disso, eles afirmam que a concentração de rutina em folhas de IAC 100, genótipo que também se destaca por ser pouco consumido pelas vaquinhas, foi similar àquela encontrada em PI 227687. Piubelli et al. (2005) relatam que o isoflavonoide genistina foi observada em todos os genótipos resistentes (PI 274454, PI 227687 e IAC 100), e a sua concentração em PI 274454 foi aproximadamente duas vezes mais alta do que em outros genótipos resistentes.

Acredita-se, com base nas análises dos testes de preferência alimentar de adultos de *D. speciosa* por genótipos de soja, nas diferentes formas de execução descritas, que as quantidades de isoflavonoides possam variar dependendo da idade da planta a ser utilizada, assim como pela forma como os folíolos são oferecidos (discos foliares ou folíolos não destacados de plantas jovens), uma vez que ao se retirar um disco foliar, o mesmo não faz mais parte da planta e, por conseguinte, não mais receberá qualquer tipo de substância que a planta poderia emitir.

Realizando-se uma análise dos dados referentes à preferência alimentar de larvas de *D. speciosa* por plantas de genótipos de soja, em teste com chance de escolha (Tabela 7), de forma geral, o genótipo IGRA RA 626 RR se destaca como altamente resistente, contendo uma das menores porcentagens de redução para as variáveis altura, número de folíolos e massa seca do sistema radicular. Os genótipos PI 274454, PI 227687 e BRSGO 8360 expressaram moderada resistência frente ao

ataque da praga, possuindo, o genótipo PI 274454, uma das menores porcentagens de redução de altura e massa seca do sistema radicular, ficando ainda em posição intermediária em relação à porcentagem de redução da massa seca da parte aérea. O genótipo PI 227687 se caracterizou pelas menores porcentagens de redução de folíolos e massa seca da parte aérea, se situando de forma intermediária em relação à altura. Por outro lado, o genótipo BRSGO 8360 possuiu uma das mais baixas porcentagens de redução altura e massa seca da parte aérea, estando em posição intermediária em relação à massa seca do sistema radicular. Em teste sem chance de escolha, porém, diferenças significativas foram observadas apenas para porcentagem de redução de altura, onde o genótipo IAC 100 se destacou com o menor índice (0,55%) (Tabela 8). Tomaso (1997) em experimento de não preferência para alimentação de larvas de *D. speciosa* por genótipos de feijoeiro, em teste com chance de escolha, com metodologia semelhante a presente pesquisa, não detectou diferenças significativas entre os genótipos estudados.

De forma geral, para os testes de preferência alimentar de larvas, em teste sem chance de escolha, novos ensaios devem ser realizados, estudando-se o número mais adequado das mesmas por planta, a fim de se tentar discriminar genótipos de soja resistentes a *D. speciosa*, nesta fase. Além disso, para adultos e larvas, seria ainda interessante avaliar a resistência de genótipos de soja a *D. speciosa* utilizando-se plantas de diferentes idades, com a finalidade de se obter dados referentes aos vários períodos de desenvolvimento das plantas de soja.

5. Conclusões

Utilizando-se discos foliares, o genótipo PI 274454 é o menos preferido para alimentação *D. speciosa*, em teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, além de PI 274454, os genótipos IGRA RA 626 RR, Dowling e PI 227687 são os menos consumidos.

Oferecendo-se plantas jovens, as menores porcentagens de área foliar consumida por adultos de vaquinhas são observadas nos genótipos IAC 100 e PI

227687, em teste com chance de escolha. Em teste sem chance de escolha, PI 227687 e IGRA RA 626 RR apresentam menor área foliar consumida.

No ensaio com larvas, o genótipo IGRA RA 626 RR é altamente resistente, e PI 274454 e BRSGO 8360 são moderadamente resistentes, em teste com chance de escolha.

6. Referências

Arruda-Gatti, I. C., e M. U. Ventura. 2003. Iscas contendo cucurbitacinas para o manejo de *Diabrotica* spp. Semin. Cienc. Agrar. 24: 331-336.

Ávila, C. J., A. C. P. Tabai e J. R. P. Parra. 2000. Comparação de técnicas para criação de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em dietas natural e artificial. An. Soc. Entomol. Bras. 29: 257-267.

Boiça Júnior, A. L., e A. P. Campos. 2010. Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. pp. 11-22. In A. C. Busoli, D. J. Andrade, J. C. Janini, C. L. Barbosa, D. F. Fraga, L. C. Santos, T. O. Ramos, e V. S. Paes (eds.), **Tópicos em Entomologia Agrícola – III**. Multipress, Jaboticabal, SP.

Cabrera Walsh, G. 2003. Host range and reproductive traits of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms, with notes on other species of Diabroticina. Environ. Entomol. 32: 276-285.

Lara, F. M., J. M. Elias, E. L. L. Baldin, e J. C. Barbosa. 1999. Preferência alimentar de *Diabrotica speciosa* (Germ.) e *Cerotoma* sp. por genótipos de soja. Sci. Agric. 56: 947-951.

Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. 2nd ed. Icone, São Paulo, SP.

Link, D., e E. C. Costa. 1978. Danos causados por crisomelídeos em soja. Rev. Cent. Cienc. Rurais. 8: 245-250.

Martins, D. C.; E. L. L. Baldin, e M. A. S. G. M. Marques. 2004. Atração e consumo de *Diabrotica speciosa* Germ. (Coleoptera: Chrysomelidae) por genótipos de feijoeiro. Arq. Inst. Biol. 71: 41-49.

Painter, R. H. 1951. Insect resistance in crop plants. University of Kansas Press, Lawrence, KS.

Piubelli, G. C., C. B. Hoffmann-Campo, F. Moscardi, S. H. Miyakubo, e M. C. N. Oliveira. 2005. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatilis*? J. Chem. Ecol. 31: 1509-1525.

Rossetto, C. J., V. Nagai, T. Igue, D. Rossetto, e M. A. C. Miranda. 1981. Preferência de alimentação de adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar) e *Cerotoma arcuata* (Olivier) em variedades de soja. Bragantia. 40: 179-183.

Silva, F. A. S., e C. A. V. A. Azevedo. 2006. New version of the Assistat-Statistical Assistance Software, pp. 393-396. In Proceedings, Congress: World Congress on Computers in Agriculture. Publication 4. American Society of Agricultural and Biological Engineers, Orlando.

Smith, C. M. 2005. Plant resistance to arthropods. Springer, Dordrecht, NE.

Tomaso, C. A. 1997. Flutuação populacional, avaliação da resistência de genótipos e da não preferência para alimentação de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijoeiro, na região de Jaboticabal, SP. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal.

Veiga, R. F. A., C. J. Rossetto, L. F. Razera, P. B. Gallo, N. Bertoletto, P. F. Medina, O. Tisselli Filho, e J. Cione. 1999. Caracterização morfológica e agronômica do cultivar de soja 'IAC-100'. Instituto Agronômico (Boletim Técnico 177), Campinas, SP.

Viana, P. A. 2010. Manejo de *Diabrotica speciosa* na Cultura do Milho. http://www.cnpm.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/.../Circ_141.pdf

Tabela 1. Número médio de adultos de *Diabrotica speciosa* atraídos e área foliar consumida (AFC) (cm²) por disco foliar de genótipos de soja, em testes com chance de escolha. Temperatura= 25±2 °C, U.R= 70±10% de U.R. e fotofase 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

GENÓTIPOS	TEMPOS												A.F.C. (cm ²)
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	MÉDIA	
IAC 100	0,00	0,00	0,00	0,20	0,30	0,00	0,20	0,40ab	0,00a	0,20	0,00	0,12	0,12a
BRSGO 8360	0,10	0,40	0,20	0,20	0,30	0,30	0,60	0,50ab	0,40ab	0,40	0,20	0,33	1,13c
IGRA RA 626 RR	0,20	0,30	0,20	0,30	0,40	0,30	0,40	0,50ab	0,20ab	0,20	0,60	0,33	0,83bc
DM 339	0,20	0,10	0,10	0,10	0,00	0,00	0,10	0,10a	0,10ab	0,10	0,10	0,09	0,26ab
BRS Valiosa RR	0,30	0,20	0,10	0,30	0,10	0,10	0,20	0,50ab	0,30ab	0,20	0,40	0,24	0,67abc
Dowling	0,20	0,20	0,10	0,10	0,10	0,20	0,20	1,30b	0,80b	0,50	0,30	0,36	0,79bc
IGRA RA 516 RR	0,10	0,10	0,10	0,00	0,00	0,20	0,10	0,10a	0,40ab	0,20	0,10	0,13	0,67abc
PI 227687	0,10	0,30	0,20	0,10	0,20	0,10	0,10	0,30a	0,40ab	0,20	0,60	0,24	0,30ab
PI 274454	0,20	0,10	0,10	0,20	0,40	0,20	0,30	0,10a	0,20ab	0,30	0,30	0,22	0,13a
BR 16	0,10	0,20	0,30	0,30	0,40	0,20	0,30	0,30a	0,00a	0,00	0,10	0,20	0,38ab
F (Tratamento)	0,51 ^{ns}	0,91 ^{ns}	0,56 ^{ns}	0,60 ^{ns}	1,56 ^{ns}	0,81 ^{ns}	1,05 ^{ns}	3,01**	1,98*	0,98 ^{ns}	1,59 ^{ns}	1,69 ^{ns}	5,66**
C.V.(%)	4,22	4,45	4,02	4,64	4,57	4,24	5,22	6,43	5,74	4,94	5,66	2,41	4,52

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em log (x+5). ^{ns}, não significativo; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$;

Tabela 2. Número médio de adultos de *Diabrotica speciosa* atraídos e área foliar consumida (AFC) (cm²) por disco foliar de genótipos de soja, em teste sem chance de escolha. Temperatura= 25±2 °C, U.R= 70±10% de U.R. e fotofase 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

GENÓTIPOS	TEMPOS														A.F.C. (cm ²)
	1'	3'	5'	10'	15'	30'	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	30 h	35 h	MÉDIA	
IAC 100	0,20	0,20	0,20	0,30	0,30	0,40	0,40	0,30	0,20	0,20	0,20	0,10	0,00	0,23	0,45ab
BRSGO 8360	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,20	0,40	0,20	0,30	0,20	0,10	0,16	0,70b
IGRA RA 626 RR	0,00	0,00	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,30	0,00	0,10	0,10	0,10	0,06	0,33a
DM 339	0,40	0,40	0,40	0,40	0,50	0,50	0,50	0,50	0,10	0,20	0,20	0,00	0,00	0,32	0,46ab
BRS Valiosa RR	0,00	0,20	0,20	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,10	0,00	0,40	0,00	0,10	0,19	0,56ab
Dowling	0,00	0,10	0,20	0,20	0,20	0,30	0,20	0,30	0,30	0,10	0,50	0,10	0,00	0,19	0,37a
IGRA RA 516 RR	0,20	0,20	0,20	0,30	0,40	0,30	0,30	0,30	0,10	0,10	0,10	0,20	0,10	0,22	0,69b
PI 227687	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,10	0,10	0,30	0,00	0,10	0,05	0,29a
PI 274454	0,20	0,20	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,20	0,00	0,20	0,20	0,00	0,26	0,34a
BR 16	0,20	0,30	0,30	0,20	0,40	0,40	0,40	0,20	0,10	0,10	0,30	0,30	0,20	0,26	0,48ab
F (Tratamento)	1,66 ^{ns}	1,11 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,39 ^{ns}	1,66 ^{ns}	1,73 ^{ns}	1,06 ^{ns}	0,76 ^{ns}	0,71 ^{ns}	0,81 ^{ns}	1,00 ^{ns}	0,67 ^{ns}	1,07 ^{ns}	2,40*
C.V.(%)	3,70	4,21	4,44	4,71	4,86	4,80	4,74	4,88	4,46	3,45	4,94	3,68	2,95	2,81	3,03

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em log (x+5). ^{ns}, não significativo; *, $P < 0,05$

Tabela 3. Número (média $\pm$ erro padrão) de tricomas presentes em folíolos de plantas de genótipos de soja com aproximadamente 60 dias de idade. Jaboticabal, SP, 2012.

Genótipos	Tricomas		
	adaxial	Abaxial	Total
IAC 100	23,15 $\pm$ 1,65cd	33,80 $\pm$ 3,53c	56,95 $\pm$ 5,07cd
BRS GO 8360	9,45 $\pm$ 1,35ab	17,90 $\pm$ 2,60ab	27,35 $\pm$ 3,78ab
IGRA RA 626 RR	10,20 $\pm$ 0,71ab	17,25 $\pm$ 1,27ab	27,45 $\pm$ 1,91ab
DM 339	14,60 $\pm$ 1,23bc	20,10 $\pm$ 1,45bc	34,70 $\pm$ 2,40bc
BRS Valiosa RR	10,75 $\pm$ 2,08ab	20,60 $\pm$ 3,19b	31,35 $\pm$ 5,22ab
Dowling	8,60 $\pm$ 2,23a	12,40 $\pm$ 3,13a	21,00 $\pm$ 5,30a
IGRA RA 516 RR	7,40 $\pm$ 0,32a	18,75 $\pm$ 1,53b	26,15 $\pm$ 1,55ab
PI 227687	44,55 $\pm$ 5,52e	69,15 $\pm$ 7,19d	113,70 $\pm$ 12,40e
PI 274454	25,75 $\pm$ 2,02de	32,75 $\pm$ 2,77c	58,50 $\pm$ 4,35d
BR 16	13,70 $\pm$ 2,27ab	24,15 $\pm$ 2,63bc	37,85 $\pm$ 4,74bcd
F (Tratamento)	25,06**	21,02**	24,29**
C.V.(%)	14,27	11,20	9,38

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em $\log(x)$. **, $P < 0,01$

Tabela 4. Número médio de adultos de *Diabrotica speciosa* atraídos, nota de injúria e área foliar consumida (AFC) (%), utilizando-se plantas jovens (15 dias de idade) de genótipos de soja, em teste com chance de escolha. Temperatura= 25±2 °C, U.R= 70±10% de U.R. e fotofase 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

GENÓTIPOS	TEMPOS												NOTA	A.F.C. (%)
	5'	10'	15'	30'	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	30 h	35 h	MÉDIA		
IAC 100	0,00	0,13a	0,00a	0,50	0,50ab	0,75	0,75	0,50	0,13a	0,00a	0,25a	0,32a	0,63a	2,25a
BRSO 8360	0,88	1,88b	3,00b	2,13	3,50b	3,13	3,13	3,38	1,88ab	2,13b	1,38abc	2,40b	3,00c	32,19ab
IGRA RA 626 RR	0,13	0,13a	0,38a	0,38	0,13a	0,25	0,38	0,50	0,75a	0,13ab	0,63ab	0,34a	1,50ab	9,25ab
DM 339	0,38	0,63ab	0,75a	0,50	0,75ab	1,00	0,38	0,38	0,50a	0,50ab	0,63ab	0,58ab	1,63ab	12,94ab
BRS Valiosa RR	0,50	0,13a	0,88ab	1,00	1,75ab	1,88	2,13	2,88	3,13b	2,00b	2,50bc	1,70ab	2,75c	22,69ab
Dowling	0,38	0,88ab	0,75a	1,25	1,13ab	1,38	1,88	1,38	1,38ab	2,00ab	2,88c	1,39ab	3,50c	31,13ab
IGRA RA 516 RR	0,38	0,63ab	0,50a	0,50	1,00ab	1,25	2,13	2,50	1,50ab	1,38ab	1,00abc	1,16ab	3,50c	38,89b
PI 227687	0,13	0,25ab	0,25a	0,38	0,38a	0,38	0,13	0,38	0,13a	0,13ab	0,50a	0,27a	0,63a	1,31a
PI 274454	0,25	0,00a	0,00a	0,13	0,50ab	0,50	0,75	0,50	0,00a	0,63ab	0,38a	0,33a	1,00ab	4,00ab
BR 16	0,00	0,13a	0,13a	0,13	0,25a	0,13	0,25	1,00	0,38a	0,75ab	1,25abc	0,40a	1,50ab	12,00ab
F (Tratamento)	0,70 ^{ns}	2,70**	4,03**	2,13 ^{ns}	2,61*	1,65 ^{ns}	2,87 ^{ns}	3,22 ^{ns}	4,56**	3,80**	4,39**	4,13**	2,21*	3,56**
C.V.(%)	7,80	8,61	9,86	10,10	12,36	13,95	12,83	13,14	11,03	10,53	9,80	8,58	13,80	33,41

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em $\log(x+5)$. ^{ns}, não significativo; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$

Tabela 5. Número médio de adultos de *Diabrotica speciosa* atraídos, nota de injúria e área foliar consumida (AFC) (%), utilizando-se plantas jovens (15 dias de idade) de genótipos de soja, em teste sem chance de escolha. Temperatura= 25±2 °C, U.R.= 70±10% de U.R. e fotofase 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

GENÓTIPOS	TEMPOS											MÉDIA	NOTA	A.F.C. (%)
	5'	10'	15'	30'	1 h	2 h	6 h	12 h	24 h	30 h	48 h	72 h		
IAC 100	0,50	0,25	0,50	0,50	0,50	0,75	0,25	0,13	0,00	0,00	0,25	0,25ab	0,32	0,38abc 1,63ab
BRSGO 8360	0,25	0,38	0,25	0,38	0,38	0,25	0,25	0,13	0,00	0,25	0,13	0,25ab	0,24	0,75abc 3,81ab
IGRA RA 626 RR	0,25	0,25	0,25	0,38	0,25	0,38	0,13	0,00	0,13	0,13	0,13	0,13ab	0,20	0,13ab 0,13a
DM 339	0,13	0,63	0,13	0,25	0,13	0,50	0,13	0,13	0,00	0,00	0,00	0,13ab	0,18	0,38abc 2,81ab
BRS Valiosa RR	0,13	0,25	0,13	0,13	0,13	0,13	0,25	0,00	0,25	0,25	0,25	0,00a	0,16	1,63c 13,44b
Dowling	0,25	0,38	0,25	0,63	0,38	0,50	0,38	0,38	0,25	0,00	0,25	0,38ab	0,33	1,38c 10,38b
IGRA RA 516 RR	0,00	0,00	0,38	0,38	0,50	0,50	0,13	0,13	0,25	0,38	0,25	0,75b	0,30	1,25bc 9,81b
PI 227687	0,25	0,25	0,38	0,50	0,38	0,13	0,13	0,38	0,00	0,00	0,13	0,25ab	0,23	0,00a 0,00a
PI 274454	0,13	0,13	0,25	0,25	0,50	0,25	0,00	0,38	0,13	0,13	0,13	0,13ab	0,20	0,63abc 2,81ab
BR 16	0,25	0,13	0,38	0,25	0,13	0,38	0,13	0,25	0,13	0,13	0,25	0,13ab	0,21	0,38abc 1,06ab
F (Tratamento)	0,81 ^{NS}	1,23 ^{NS}	0,51 ^{NS}	0,74 ^{NS}	0,89 ^{NS}	1,34 ^{NS}	0,58 ^{NS}	1,14 ^{NS}	0,94 ^{NS}	1,30 ^{NS}	0,39 ^{NS}	2,13*	1,16 ^{NS}	2,09* 2,25*
C.V.(%)	4,64	4,85	5,19	5,39	5,23	5,24	4,39	4,36	3,60	3,69	4,44	4,49	1,84	9,42 29,26

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em log (x+5). ^{NS}, não significativo; *, $P < 0,05$

Tabela 6. Número (média $\pm$ erro padrão) de tricomas presentes em folíolos de plantas de genótipos de soja com aproximadamente 15 dias de idade. Jaboticabal, SP, 2012.

Genótipos	Tricomas		
	adaxial	abaxial	total
IAC 100	23,90 $\pm$ 2,59d	37,05 $\pm$ 4,19de	60,95 $\pm$ 6,13def
BRS GO 8360	10,15 $\pm$ 0,95bc	14,80 $\pm$ 1,50ab	24,95 $\pm$ 2,33bc
IGRA RA 626 RR	4,30 $\pm$ 0,53a	9,00 $\pm$ 1,06a	13,30 $\pm$ 1,50a
DM 339	17,25 $\pm$ 1,17cd	18,95 $\pm$ 1,47bc	36,20 $\pm$ 2,43cd
BRS Valiosa RR	23,50 $\pm$ 5,86d	35,05 $\pm$ 8,00cd	58,55 $\pm$ 13,77de
Dowling	33,20 $\pm$ 2,89ef	51,70 $\pm$ 4,53ef	84,90 $\pm$ 6,74fg
IGRA RA 516 RR	6,00 $\pm$ 0,50ab	13,60 $\pm$ 1,63ab	19,60 $\pm$ 1,23ab
PI 227687	36,25 $\pm$ 3,38ef	31,20 $\pm$ 1,71cde	67,45 $\pm$ 4,60ef
PI 274454	30,30 $\pm$ 3,78de	38,20 $\pm$ 5,20de	68,50 $\pm$ 8,55ef
BR 16	53,90 $\pm$ 5,87f	82,35 $\pm$ 9,06f	136,25 $\pm$ 13,93g
F (Tratamento)	43,99**	33,00**	40,26**
C.V.(%)	13,64	11,40	9,46

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em $\log(x)$. **, $P < 0,01$

Tabela 7. Porcentagem de redução das variáveis altura (cm), folíolos (nº), massas secas da parte aérea e do sistema radicular (mg), e notas de injúria nas radículas e na raiz principal de plantas de genótipos de soja submetidas ao ataque de larvas de *Diabrotica speciosa*, em teste com chance de escolha. Jaboticabal, SP, 2012.

Genótipos	Porcentagens de redução				nota de injúria	
	altura (cm)	folíolos (nº)	massa seca parte aérea (mg)	massa seca sistema radicular (mg)	nas radículas	na raiz principal
IAC 100	8,31 ± 3,21b	12,50 ± 4,62b	24,46 ± 7,05b	20,61 ± 8,77ab	0,67 ± 0,43	0,42 ± 0,26
BRSGO 8360	0,78 ± 0,78a	11,88 ± 2,79b	4,63 ± 2,97a	22,41 ± 7,60ab	1,42 ± 0,60	0,67 ± 0,36
IGRA RA 626 RR	2,41 ± 1,89a	0,00 ± 0,00a	8,33 ± 3,96ab	3,75 ± 2,55a	0,42 ± 0,26	0,25 ± 0,18
DM 339	7,44 ± 2,32b	0,00 ± 0,00a	19,44 ± 6,57ab	8,33 ± 2,93ab	0,17 ± 0,17	0,08 ± 0,08
PI 227687	5,47 ± 3,27ab	3,13 ± 3,13a	2,08 ± 2,08a	35,88 ± 8,14b	0,92 ± 0,67	0,00 ± 0,00
PI 274454	0,48 ± 0,48a	11,11 ± 2,37b	6,55 ± 3,57ab	6,11 ± 3,89a	0,25 ± 0,18	0,50 ± 0,42
F (Tratamento)	3,59**	10,10**	4,23**	4,19**	1,60 ^{ns}	1,00 ^{ns}
C.V.	27,00	26,07	34,33	36,14	10,42	8,18

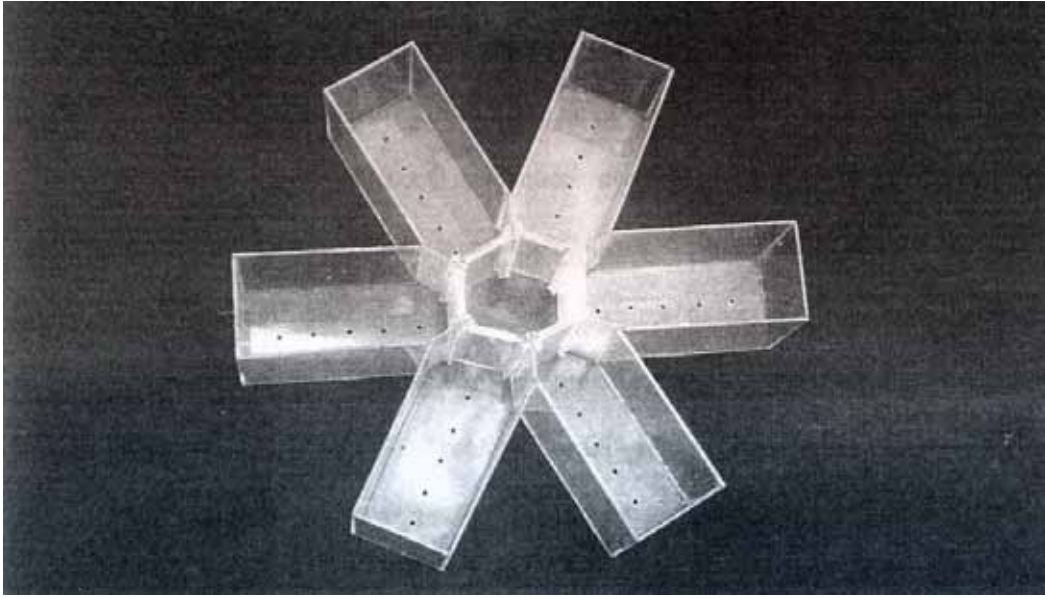
Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em $\log(x+5)$. ^{ns}, não significativo; **, $P < 0,01$

Tabela 8. Porcentagem de redução das variáveis altura (cm), folíolos (nº), massas secas da parte aérea e do sistema radicular (g), e notas de injúria nas radículas e na raiz principal de plantas de genótipos de soja submetidas ao ataque de larvas de *Diabrotica speciosa*, em teste sem chance de escolha. Jaboticabal, SP, 2012.

Genótipos	Porcentagens de redução				nota de injúria	
	altura (cm)	folíolos (nº)	massa seca parte aérea (g)	massa seca sistema radicular (g)	nas radículas	na raiz principal
IAC 100	0,55 ± 0,56a	1,94 ± 0,32	10,00 ± 4,80	6,79 ± 4,95	2,20 ± 1,08	1,70 ± 0,91
BRSGO 8360	8,62 ± 2,12b	14,55 ± 3,18	15,56 ± 4,39	10,45 ± 4,17	1,30 ± 0,56	1,60 ± 0,67
IGRA RA 626 RR	12,01 ± 2,06b	12,57 ± 3,36	17,59 ± 4,72	12,37 ± 5,10	1,40 ± 0,62	1,20 ± 0,57
DM 339	3,13 ± 1,20ab	8,75 ± 3,57	12,82 ± 3,24	6,25 ± 2,68	0,60 ± 0,31	0,60 ± 0,43
PI 227687	13,88 ± 3,86b	18,48 ± 6,37	20,00 ± 7,28	21,58 ± 9,06	1,00 ± 0,89	2,50 ± 0,98
PI 274454	11,85 ± 2,97b	16,16 ± 3,53	12,31 ± 3,92	27,50 ± 6,14	1,30 ± 0,70	1,60 ± 0,70
F (Tratamento)	5,84**	2,18 ^{ns}	0,40 ^{ns}	2,09 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,75 ^{ns}
C.V.	23,94	30,51	32,88	36,82	16,46	16,39

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em log (x+5). ^{ns}, não significativo; **, $P < 0,01$

Fig. 1. Recipiente utilizado em experimento de não preferência para alimentação de larvas de *Diabrotica speciosa*, em teste com chance de escolha.



CAPÍTULO 3 - METODOLOGIA DE PESQUISA E PREFERÊNCIA PARA OVIPOSIÇÃO DE *Diabrotica speciosa* (GERMAR) POR GENÓTIPOS DE SOJA

Resumo - Este estudo teve por objetivo avaliar métodos de pesquisa, aplicá-los para teste de não preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja, assim como avaliar a correlação entre o número de ovos e consumo foliar. Os experimentos foram divididos em quatro partes, nos quais foram avaliados a influência dos fatores plantas de soja e cobertura do solo (Latossolo Roxo eutrófico) na oviposição de *D. speciosa*, a padronização do número de casais de *D. speciosa* e idade de plantas de soja e, por fim, teste de não preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja, avaliando a relação entre número de ovos e consumo foliar, em condições de laboratório. Fêmeas de *D. speciosa* preferem ovipositar no solo em comparação à apenas sobre plantas de soja, com maior quantidade de ovos onde há planta de soja se desenvolvendo no solo. O genótipo PI 274454 apresenta resistência do tipo não preferência para oviposição, em teste com chance de escolha, enquanto BRSGO 8360 é mais preferido para oviposição. Não houve diferenças significativas quanto ao número de casais de *D. speciosa* e idade de plantas de soja, na oviposição. Os genótipos foram normalmente ovipositados, não havendo relação com consumo foliar, exceto para IGRA RA 626 RR, o qual apresentou correlação positiva significativa. A metodologia desenvolvida nesta pesquisa foi adequada para a discriminação dos genótipos de soja quanto à resistência a *D. speciosa*.

Palavras-chave: antixenose, *Glycine max*, larva-alfinete, Resistência de Plantas a Insetos, vaquinhas

CHAPTER 3 - RESEARCH METHODOLOGY AND OVIPOSITION PREFERENCE OF *Diabrotica speciosa* (GERMAR) FOR SOYBEAN GENOTYPES

Abstract - This study aimed to assess research methods, apply them to test of non preference for oviposition of *D. speciosa* for soybean genotypes, as well as to evaluate the correlation between the number of eggs and leaf intake. The experiments were divided in four parts, assessing the influence of the factors soybean plants and soil covering (eutrophic dusky red latosols) on the oviposition of *D. speciosa*, the standardization of the number of *D. speciosa* couples and soybean plants ages and last, test of non preference for oviposition of *D. speciosa* for soybean genotypes, evaluating the relationship with the leaf intake, in laboratory conditions. Females of *D. speciosa* prefer to lay eggs on soil, concerning to only on soybean plants, with highest number of eggs in the presence of soybean plant developing on the soil. PI 274454 shows non preference for oviposition resistance type, in free-choice test, whereas BRSGO 8360 is the most preferred for oviposition. There were not differences concerning the number *D. speciosa* couples and the age of soybean plants, on oviposition. The genotypes were normally oviposited, having no relation with leaf intake, except to IGRA RA 626 RR, which showed significative positive correlation. The developed methodology in this research was adequate for the genotypes discrimination concerning the resistance to *D. speciosa*.

Key-words: antixenosis, corn rootworm, *Glycine max*, Host Plant Resistance, leaf beetle

1. Introdução

Na América do Sul, as espécies de crisomelídeos mais prejudiciais para a agricultura são as da Subfamília Diabroticinae, Tribo Galerucini, especialmente as do gênero *Diabrotica* (Chevrolat, 1844) (Coleoptera: Chrysomelidae), sendo *Diabrotica speciosa* (Germar) a mais comumente encontrada (Cabrera Walsh, 2003). Esta espécie já está estabelecida em diversos Estados brasileiros e em alguns países da América do Sul, como Argentina (De La Fuente et al., 2003), e apresenta expressão econômica por ser uma praga polífaga, causando danos às culturas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), milho (*Zea mays* L.), soja (*Glycine max* [L.] Merrill), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e batata (*Solanum tuberosum* L.), devido às injúrias causadas na planta, e também por ser agente vetor de patógenos, principalmente vírus (Laumann et al., 2003).

Diabrotica speciosa é uma praga cujas larvas possuem hábito subterrâneo, alimentando-se de raízes e tubérculos de algumas espécies vegetais (Milanez e Parra, 2000). Uma série de plantas hospedeiras foi listada por Silva et al. (1968) num total de 80 citações bibliográficas. Podem causar o atraso no desenvolvimento e aumentar a suscetibilidade das plantas ao tombamento (Boff e Gandin, 1992; Marques et al., 1999).

Muitas espécies de crisomelídeos (Galerucinae), caso de *D. speciosa*, realizam a postura no solo, onde completam seu ciclo biológico (Milanez e Parra, 2000). Para muitos insetos fitófagos, a seleção hospedeira para oviposição exerce um forte impacto sobre a dinâmica populacional e o sucesso reprodutivo dos indivíduos (Hassel, 1987; Pearman e Wilbur, 1990; Mayhew, 1997), uma vez que pode afetar o acesso dos imaturos ao hospedeiro, seu desenvolvimento e sobrevivência (Resetarits e Wilbur, 1989). Durante o processo de busca, as fêmeas podem utilizar sinais físicos e químicos do hospedeiro e, de acordo com a teoria de otimização da oviposição, elas selecionam hospedeiros que incrementem seu sucesso reprodutivo e aumentem as possibilidades de sobrevivência da progênie (Jaenike, 1978).

Nos últimos anos, diversos estudos têm demonstrado a ação dos voláteis induzidos de plantas no comportamento de seleção hospedeira de insetos (Mayhew,

1997; Bruinsma et al., 2007). Porém, espécies monófagas de *Diabrotica* ou com uma quantidade restrita de plantas hospedeiras para o seu desenvolvimento imaturo, podem utilizar plantas hospedeiras alternativas para completar o seu ciclo biológico na falta de um hospedeiro preferencial (Branson e Krysan, 1981). Ávila e Parra (2002), estudando o desenvolvimento de *D. speciosa* em diferentes hospedeiros concluíram que, em condições de campo, na ausência de um hospedeiro preferencial, as larvas dessa espécie podem utilizar plantas de soja ou feijoeiro como hospedeiros alternativos para alimentação e reprodução.

As larvas de *D. speciosa* são controladas quase que exclusivamente por aplicações de inseticidas no solo, produtos estes que são dispendiosos e perigosos ao meio ambiente (Arruda-Gatti e Ventura, 2003). Por outro lado, o uso de variedades resistentes, além de diminuir a população de insetos-praga, quase não interfere no meio ambiente; seu efeito é cumulativo e persistente; não é poluente; não acarreta ônus ao custo de produção e, não exige conhecimento específico, por parte dos agricultores, para a sua utilização (Boiça Júnior e Campos, 2010).

Este estudo teve por objetivo avaliar métodos de pesquisa, aplicá-los para teste de não preferência para oviposição de *D. speciosa* em plantas de genótipos de soja, e avaliar a correlação entre o número de ovos por planta e área foliar consumida.

2. Material e Métodos

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, sob condições de temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Os indivíduos adultos de *D. speciosa* utilizados nos experimentos foram provenientes da criação de manutenção do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, conforme metodologia proposta por Ávila et al. (2000). Os experimentos foram divididos em quatro partes, quais sejam: influência dos fatores planta e cobertura do solo (Latossolo Roxo eutrófico) (Centurion et al., 1995) na preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de soja; número de ovos de *D. speciosa* por planta com diferentes números de casais;

preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de soja de diferentes idades e não preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja, avaliando a correlação entre número de ovos e área foliar consumida.

Nos três primeiros experimentos, a cultivar utilizada foi BRSGO 8360, sendo esta selecionada como padrão de suscetibilidade através de ensaios prévios (Costa et al., 2012). Em todos os experimentos, as plantas foram mantidas em recipientes plásticos de 700 mL preenchidos com substrato composto por solo (Latosolo Roxo eutrófico) (Centurion et al., 1995), areia e esterco, na proporção de 3:1:1, cultivadas em casa de vegetação e, por ocasião da instalação dos experimentos as plantas foram conduzidas ao laboratório. Os substratos de oviposição foram umedecidos diariamente e, antes da instalação dos ensaios, os adultos eram alimentados com folhas de feijoeiro, cultivar IAC Carioca-Tybatã, para se evitar a ocorrência de um possível condicionamento pré-imaginal, característica apresentada por alguns insetos adultos, onde os mesmos preferem se alimentar ou ovipositar na planta da qual já se alimentou anteriormente (Lara, 1991).

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett) (Silva e Azevedo, 2006). Foi realizada a análise de variância (ANOVA) pelo teste F, sendo suas médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para análise estatística, os dados transformados em $\log(x+5)$, em função da não normalidade e não homocedasticidade, além da ocorrência de zeros. Para verificar a existência de correlação entre as variáveis número de ovos e porcentagem de consumo foliar, realizou-se a análise de correlação linear simples de Pearson.

2.1. Influência dos fatores planta e cobertura do solo na preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de soja

Foram utilizadas plantas com 10 dias após a emergência, estudando os seguintes tratamentos: (1) planta com solo coberto por papel filtro; (2) planta com solo exposto, ou seja, forrado com cinco unidades de gaze tingida com coloração negra; e (3) placa de Petri forrada com algodão umedecido, sendo este coberto por cinco unidades de tecido gaze tingida com coloração negra. No tratamento 1, os

indivíduos foram impedidos de entrar em contato com o solo. No tratamento 2, o contato dos insetos com o solo (gaze) foi permitido e o tratamento 3 foi composto por placas de Petri de 8,0 cm de diâmetro forradas com algodão umedecido com água deionizada, com a superfície coberta por gaze, sendo as placas de Petri colocadas na superfície dos recipientes plásticos de 700 mL, para se situarem na mesma altura dos demais tratamentos. As plantas foram acondicionadas equidistantemente em gaiolas de vidro de 40 cm de comprimento e 30 cm de altura, liberando-se seis casais por gaiola.

As unidades de tecido gaze foram lavadas em água corrente, sendo os ovos ali contidos imediatamente retidos em tecido *voile* de 900 cm², para sua posterior quantificação. Os números de ovos foram avaliados após 24, 48, 72 e 96 horas, sendo ainda quantificado o número total de ovos, por auxílio de um microscópio estereoscópio de 40 x de aumento (Modelo SZ40, Olympus). Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com três tratamentos e oito repetições.

2.2. Número de ovos de *D. speciosa* por planta com diferentes números de casais

Foram utilizadas plantas com 10 dias após a emergência e os tratamentos empregados foram os seguintes: um casal, dois casais e quatro casais por planta/gaiola. Em cada repetição, o solo foi coberto por cinco unidades de tecido gaze tingido com tinta preta de colorir tecido, para que os ovos ficassem retidos nestes para a posterior quantificação. As plantas foram acondicionadas individualmente em gaiolas plásticas cilíndricas de 60,0 cm de altura e 20,0 cm de diâmetro, liberando-se posteriormente os números de casais pré-estabelecidos.

As unidades de tecido gaze foram lavadas em água corrente, sendo os ovos ali contidos imediatamente retidos em tecido *voile* de 900 cm², para sua posterior quantificação. O número de ovos foi quantificado às 48, 72 e 96 horas após a liberação dos insetos, sendo ainda quantificado o número total de ovos, com auxílio de um microscópio estereoscópio de 40 x de aumento (Modelo SZ40, Olympus). O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três tratamentos e oito repetições.

2.3. Preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de soja de diferentes idades

Neste experimento, os tratamentos utilizados foram: plantas de 5, 10 e 20 dias de idade. Em cada repetição, o solo foi coberto por cinco unidades de tecido gaze tingido com tinta preta de colorir tecido, para a posterior retenção e quantificação do número de ovos. As plantas foram acondicionadas equidistantemente em gaiolas de vidro de 40 cm de lados, 30 cm de largura e 30 cm de altura, liberando-se o número mais adequado de casais de *D. speciosa* por planta, determinado pelo experimento anterior.

As unidades de tecido gaze foram lavadas em água corrente, sendo os ovos ali contidos imediatamente retidos em tecido *voile* de 900 cm², para sua posterior quantificação. A contagem de ovos foi realizada a partir das 48 horas, avaliando-se ainda as 72 e 96 horas, quantificando ao final do experimento o número total de ovos, com auxílio de um microscópio estereoscópio de 40 x de aumento (Modelo SZ40, Olympus). Foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados com três tratamentos e oito repetições.

2.4. Teste de não preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja, avaliando a correlação entre número de ovos e área foliar consumida

Neste último experimento, foi avaliada a resistência do tipo não preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja, utilizando-se as metodologias mais adequadas, indicadas por testes que precederam o presente, analisando-se ainda a existência de uma possível correlação entre o número de ovos e consumo foliar por adultos de *D. speciosa*. O consumo foliar foi avaliado por porcentagem visual de injúria, sendo os valores, médias de notas de dois avaliadores. Os genótipos utilizados neste experimento foram escolhidos de acordo com seleção anteriormente realizada (Costa et al., 2012), quais sejam: IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, PI 227687 e PI 274454. Em cada repetição, o solo foi forrado por cinco unidades de tecido gaze tingido com tinta negra de colorir tecido, para a posterior retenção e quantificação do número de ovos. As plantas foram

acondicionadas em igual distância em relação às outras, no interior de gaiolas de vidro de 40 cm de comprimento, 30 cm de largura e 30 cm de altura.

As unidades de tecido gaze foram lavadas em água corrente, sendo os ovos ali contidos imediatamente acondicionados em tecido *voile* de 900 cm², para sua posterior quantificação. A quantidade de ovos foi avaliada as 48, 72 e 96 horas, com auxílio de um microscópio estereoscópio de 40 x de aumento (Modelo SZ40, Olympus), somando-se ao término do experimento o número total de ovos. Utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, com seis tratamentos e oito repetições.

3. Resultados

Em relação aos dados referentes aos fatores planta e cobertura do solo na preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de soja, verificam-se diferenças significativas a partir de 48 horas, assim como no número total de ovos (Tabela 1). Às 48, 72 e 96 horas, maior número de ovos sempre foi encontrado em planta com solo exposto (2), ao passo que, em planta com solo coberto (1), não foram encontrados ovos. Analisando-se o número total de ovos, observa-se maior número de ovos no tratamento 2, com média de 102,25 ovos, diferindo significativamente do tratamento 1, no qual não foram encontrados ovos, e do tratamento 3, com 18,88 ovos. Os dados obtidos neste estudo evidenciam a forte influência que a planta exerce junto ao solo na oviposição de *D. speciosa*, corroborando Lara (1991), que menciona que há uma cadeia de estímulos da planta que provoca uma cadeia de respostas do inseto, o que leva o inseto a utilizar ou não a planta para abrigo, oviposição ou alimentação.

Ocorreu número baixo médio de ovos de *D. speciosa* por tratamento às 24 horas, provavelmente em razão do estresse sofrido pelos insetos na identificação dos indivíduos machos e fêmeas para a formação dos casais utilizados nos ensaios. Portanto, para os experimentos subsequentes, as avaliações foram realizadas a partir de 48 horas após as suas instalações.

No experimento de número de casais de *D. speciosa* por planta de soja, não houve diferenças significativas no número de ovos entre os tratamentos em qualquer um dos tempos avaliados, assim como no total de ovos (Tabela 2). Dessa forma, no

terceiro e quarto experimentos, utilizou-se um casal de *D. speciosa* por planta de soja.

No teste de preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de soja com diferentes idades, não foram verificadas diferenças significativas em qualquer tempo avaliado, bem como no número total de ovos entre os tempos. Nos ensaios seguintes, foram utilizadas plantas de 10 dias de idade.

No teste de não preferência para oviposição de *D. speciosa* por plantas de genótipos de soja, observam-se diferenças significativas às 48 horas e no número total de ovos, assim como na porcentagem de consumo foliar. Às 48 horas e na somatória dos tempos, BRSGO 8360 foi o genótipo mais ovipositado, com médias de 15,88 e 18,75 ovos por planta, respectivamente, ao passo que PI 274454 apresentou um dos menores números médios de ovos por planta às 48 horas, com 1,13 ovos, e menor valor no total, com 1,38 ovos. Em relação à porcentagem de consumo foliar, os genótipos DM 339, IGRA RA 626 RR e BRSGO 8360 foram os mais consumidos, com 16,25%, 15,54% e 14,13% de área injuriada, respectivamente, enquanto PI 227687 foi o genótipo no qual os insetos menos se alimentaram, com consumo médio de 1,25% da área foliar das plantas (Tabela 4).

Em relação à correlação entre número de ovos de *D. speciosa* e porcentagem de consumo foliar, houve correlação significativa apenas para o genótipo IGRA RA 626 RR (Figura 1C), evidenciando que as cadeias de estímulos de alimentação e oviposição se somaram, ao contrário dos outros genótipos (Figura 1A, 1B, 1D, 1E e 1F), onde os insetos adultos preferiram se alimentar de folhas de determinados genótipos, dos quais as folhas provavelmente fornecem melhores condições nutricionais e possuem maior quantidade de substâncias atraentes e estimulantes para alimentação do que repelentes e deterrentes, enquanto as fêmeas procuram por plantas de genótipos adequados para realizarem a oviposição, os quais devem fornecer as melhores condições para o desenvolvimento de suas larvas até o estágio adulto, através da alimentação das raízes.

4. Discussão

Observando-se o experimento em que se estudaram os fatores planta de soja e cobertura do solo (Tabela 1), verifica-se a importância para as fêmeas de *D. speciosa* do local para oviposição, que é o solo, sendo que em recipientes nos quais havia planta se desenvolvendo, foram registradas as maiores quantidades de ovos. Embora insetos do gênero *Diabrotica* ovipositem sobre vários substratos úmidos, como areia, solo, algodão bruto e papel, a presença de alimento fresco, em especial o hospedeiro larval, irá grandemente estimular a oviposição (Branson et al., 1975, dados não publicados), sugerindo que fêmeas do gênero *Diabrotica* normalmente escolhem um hospedeiro adequado para as larvas.

No experimento de preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja (Tabela 4), evidencia-se que a diferença do número de ovos entre os genótipos foi muito grande, sendo a quantidade de ovos presentes em BRSGO 8360 treze vezes maior que o encontrado em PI 274454. A maioria dos casos de deterrência para oviposição têm claramente demonstrado que parecem ser mecanismos específicos evoluídos, por exemplo, a marcação por determinados semioquímicos, isto é, uma adaptação evolutiva para reduzir a subsequente competição larval entre indivíduos de mesma espécie (Nufio e Papaj, 2001). No entanto, Howlett e Clarke (2005), concluíram que para o crisomelídeo *Chrysophtharta bimaculata* (Olivier), a deterrência para oviposição é provavelmente um produto de restrições oviposicionais, em vez de um mecanismo evoluído.

De acordo com os resultados apresentados no terceiro experimento (Tabela 3), não há influência na oviposição de *D. speciosa* quando se comparam as idades das plantas de soja, podendo a manifestação da resistência do tipo não preferência para oviposição ser notada em idades nas quais as plantas de soja são suscetíveis ao ataque de larvas de *D. speciosa*. A teoria de otimização da oviposição, isto é, àquela que afirma que as fêmeas selecionam hospedeiros que incrementem seu sucesso reprodutivo e aumentem as possibilidades de sobrevivência da progênie, tem sido bastante discutida e, embora não possa ser aplicada para algumas espécies de insetos (Valladares e Lawton, 1991), diversos estudos têm evidenciado sistemas em que ela foi validada (Johnson et al., 2006). Há pesquisas que

demonstraram que as fêmeas tendem a evitar condições de baixa qualidade nutricional, competição ou risco de predação (Byers e Kendal, 1982; Johnson et al., 2006), preferindo ovipositar em plantas que proporcionem maior sobrevivência e ganho de peso à sua progênie.

De acordo com Cabrera Walsh (2003), um campo relativamente inexplorado do comportamento de insetos do gênero *Diabrotica* é o relacionamento entre as preferências para oviposição e alimentação. Na presente pesquisa, observou-se a correlação positiva significativa entre número de ovos de *D. speciosa* e consumo foliar para o genótipo IGRA RA 626 RR (Figura 1C), ao passo que para os outros genótipos isso não ocorreu (Figuras 1A, 1B, 1D, 1E e 1F), corroborando Lara (1991), que afirma que o comportamento de oviposição e alimentação podem variar frente a diferentes substratos, ressaltando-se a importância da correlação entre as variáveis número de ovos e área foliar consumida ser avaliada por genótipo de soja, conforme realizado na presente pesquisa. Dessa forma, pode se inferir que plantas do genótipo IGRA RA 626 RR estimularam de maneira semelhante a oviposição e alimentação de *D. speciosa*, e provavelmente as folhas e raízes de plantas deste genótipo fornecem condições semelhantes para o desenvolvimento e alimentação, de larvas e adultos de *D. speciosa*, respectivamente.

Cabrera Walsh (2003), estudando o relacionamento de diferentes hospedeiros de *D. speciosa* para alimentação e oviposição, concluiu que os hospedeiros preferidos para a alimentação de *D. speciosa* não são, em qualquer maneira, associados aos hospedeiros adequados para oviposição e para o desenvolvimento de larvas, onde o hospedeiro adequado para alimentação de adultos foi abóbora, à medida que para oviposição foi milho. Contudo, a presente pesquisa demonstrou que para se verificar a correlação entre alimentação e oviposição, o fator genótipo é determinante.

De acordo com Hammack et al. (1999) e Boriani et al. (2006), os voláteis de plantas com atividade repelente podem ser usados em áreas marginais aos cultivos, a fim de se prevenir a migração das fêmeas em período de oviposição e, conseqüentemente, a colonização por esses insetos. Por outro lado, os voláteis com ação atraente podem ser empregados em armadilhas de captura, a fim de se monitorar e/ou controlar a população de fêmeas presentes no cultivo. Além disso, o

uso de armadilhas contendo voláteis de plantas na atração de fêmeas em período de oviposição pode ser vantajoso quando utilizado isoladamente ou em associação com outros métodos, como os feromônios sexuais, uma vez que age diretamente sobre as fêmeas e, assim, contribui diretamente na redução populacional da geração seguinte. Dessa forma, o genótipo PI 274454 surge como alternativa de planta repelente nas áreas marginais de cultivos comerciais de soja, diminuindo a presença de fêmeas de *D. speciosa* na área. De maneira contrária, os voláteis de plantas de BRSGO 8360 poderiam ser utilizadas em armadilhas de captura e associadas a outros métodos de controle, tais como a aplicação de inseticidas de contato, de acordo com as premissas do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

No começo da década de 90, uma raça de *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte) tornou-se estabelecida no cinturão do milho dos Estados Unidos da América, tendo-se adaptado à prática de rotação (milho-soja) pela oviposição em campos de soja, os quais deveriam então ser rotacionados para lavoura de milho no ano seguinte (Gray et al., 1998). Contudo, a presente pesquisa demonstra a importância de se estudar a resistência de plantas a insetos, detectando genótipos que se comportam de forma distinta da média, ou seja, expressam resistência. Dessa forma, este tipo de estudo seria de suma importância para a subsequente utilização de genótipos resistentes em áreas que realizam o cultivo de diferentes culturas, como no cinturão do milho dos Estados Unidos, a fim de se reduzir a densidade da praga na entressafra. Nesse contexto, a presente pesquisa discriminou genótipos que são menos preferidos para a oviposição de *D. speciosa*, o que os torna uma interessante opção na rotação com culturas como o milho, reduzindo a pressão populacional da praga na lavoura.

5. Conclusões

Fêmeas de *D. speciosa* preferem ovipositar em solos onde há planta de soja se desenvolvendo.

O genótipo PI 274454 apresenta resistência do tipo não preferência para oviposição por *D. speciosa*, em teste com chance de escolha.

BRSGO 8360 apresenta maior preferência para oviposição pela vaquinha.

Os genótipos foram ovipositados, não havendo relação com consumo foliar, exceto IGRA RA 626 RR, o qual apresentou correlação positiva significativa.

A metodologia desenvolvida nesta pesquisa foi adequada para a discriminação dos genótipos de soja quanto à sua resistência a *D. speciosa*.

6. Referências

- Arruda-Gatti, I.C., e M.U. Ventura. 2003. Iscas contendo cucurbitacinas para o manejo de *Diabrotica* spp. Semin. Cienc. Agrar. 24:331-336.
- Ávila, C.J., C.P. Tabai, e J.R.P. Parra. 2000. Comparação de técnicas para criação de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em dietas natural e artificial. An. Soc. Entomol. Bras. 29:257-267.
- Ávila, C.J., e J.R.P. Parra. 2002. Desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em diferentes hospedeiros. Cienc. Rural. 32: 739-743.
- Boff, M.I.C., e C.L. Gandin. 1992. Principais pragas da cultura da melancia e seu controle. Agropecu. Catarin. 5:39-41.
- Boiça Júnior, A.L., e A.P. Campos. 2010. Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. In: A. C. Busoli, D.J. Andrade, J.C. Janini, C.L. Barbosa, D.F. Fraga, L.C. Santos, T.O. Ramos, and V.S. Paes, editores, Tópicos em Entomologia Agrícola – III. Multipress, Jaboticabal. p. 11-22.
- Boriani, M., M. Agosti, J. Kissand, e C.R. Edwards. 2006. Sustainable management of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae), in infested areas: experiences in Italy, Hungary and the USA. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 36:531-537.

- Branson, T.F., e J.L. Krysan. 1981. Feeding and oviposition behavior and life cycle strategies of *Diabrotica*: an evolutionary view with implications for pest management. *Environ. Entomol.* 10:826-831.
- Branson, T.F., P.L. Guss, J.L. Krysan, e G.R. Sutter. 1975. Corn rootworms: laboratory rearing and manipulation. U.S. Department of Agriculture, Agric. Res. Serv. Bull. NC-28.
- Bruinsma, M., N.M. Van dam, J.J.A. Van loon, e M. Dicke. 2007. Jasmonic acid-induced changes in *Brassica oleracea* affect oviposition preference of two specialist herbivores. *J. Chem. Ecol.* 33:655-668.
- Byers, R.A., e W.A. Kendal. 1982. Effects of plants genotypes and root nodulation on growth and survival of *Sitona* spp. larvae (Coleoptera: Curculionidae). *Environ. Entomol.* 11:440-443.
- Cabrera Walsh, G. 2003. Host range and reproductive traits of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms, with notes on other species of Diabroticina. *Environ. Entomol.* 32:276-285.
- Centurion, J.F., I. Andrioli, J. Marques Júnior, e D.G. Marcgiori. 1995. Características de latossolos roxos desenvolvidos de rochas alcalinas e básicas de Jaboticabal, SP. *Sci. Agric.* 52:226-232.
- Costa, E.N., B.H.S. Souza, D.B. Bottega, F.Q. Oliveira, e A.L. Boiça Júnior. 2012. Atratividade e consumo foliar de adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) por genótipos de soja. Resumo apresentado no: Congresso Brasileiro de Soja. Embrapa Soja, Cuiabá, MT. 11-14 Jun.

- De La Fuente, E. B., S. A. Suárez, e C. M. Ghera. 2003. Weed and insect communities in wheat crops with different management practices. *Agron. J.* 95:1542-1549.
- Gray, M. E., E. Levine, e H. Oloumi-Sadeghi. 1998. Adaptation to crop rotation: western and northern rootworms respond uniquely to a cultural practice. *Rec. Res. Dev. Entomol.* 2: 19-31.
- Hammack, L., B.E. Hibbard, C.W. Holyoke, M. Kline, e D.M. Leva. 1999. Behavioral response of corn rootworm adults to host plant volatiles perceived by western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ. Entomol.* 28:961-967.
- Hassel, M.P. 1987. Detecting regulation in patchily distributed animal populations. *J. Anim. Ecol.* 56:705-731.
- Howlett, B.G., e A.R. Clarke. 2005. Oviposition deterrence is likely an effect, not a mechanism, in the leaf-bettle *Chrysophtharta bimaculata* (Olivier) (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Insect. Behav.* 18:609-618.
- Jaenike, J. 1978. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology.* 14:350-356.
- Johnson, S.N., A.N.E. Birch, P.J. Gregory, e P.J. Murray. 2006. The 'mother knows best' principle: should soil insects be included in the preference-performance debate? *Ecol. Entomol.* 31:395-401.
- Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. 2. ed. Ícone, São Paulo.
- Laumann, R., P.R. Neiva, C.S.S. Pires, F.G.V. Schimidt, e M. Borges. 2003. Ritmos diários de atividades comportamentais de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824)

(Coleoptera: Chrysomelidae) relacionados à temperatura. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília. (Comunicado Técnico, 90).

Marques, G.B.C., C.J. Ávila, e J.R.P. Parra. 1999. Danos causados por larvas e adultos de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae). Pesqui. Agropecu. Bras. 34:1983-1986.

Mayhew, P.J. 1997. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. Oikos. 79:417-428.

Milanez, J.M., e J.R.P. Parra. 2000. Preferência de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) para oviposição em diferentes tipos e umidade de solos. An. Soc. Entomol. Bras. 29:155-158.

Nufio, C.R., e D.R. Papaj. 2001. Host marking behavior in phytophagous insects and parasitoids. Entomol. Exp. Appl. 99:273-293.

Pearman, P.B. e H.M. Wilbur. 1990. Changes in population dynamics resulting from oviposition in a subdivided habitat. American Naturalist. 135:706-723.

Resetarits, W.J., e H.M. Wilbur. 1989. Choice of oviposition site by *Hyla chrysoscelis*: role of predators and competitors. Ecology. 70:220-228.

Silva, F. A. S., e C. A. V. A. Azevedo. 2006. New version of the Assistat-Statistical Assistance Software. Resumo apresentado no: World Congress on Computers in Agriculture. American Society of Agricultural and Biological Engineers, Orlando, FL. 24-26 Jul.

Silva, A.G.A., C.R. Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silva, e et al. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitas e predadores. Serviço de Defesa Sanitária Vegetal, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.

Valladares, G., e J.H. Lawton. 1991. Host-plant selection in the Holly leaf-miner: does mother knows best? J. Anim. Ecol. 60:227-240.

Figura 1. Análise da correlação linear simples de Pearson entre as variáveis número de ovos e porcentagem de consumo foliar de *Diabrotica speciosa* em plantas de genótipos de soja.

Tabela 1. Número (média ± erro padrão) de ovos de *Diabrotica speciosa* em diferentes tratamentos e horas após a liberação dos adultos. Temperatura: 25 ± 1 °C; U. R.: 70 ± 10%; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

Tratamento	Número de ovos ¹				
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	Total
planta (solo coberto)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
planta (solo exposto)	4,13 ± 3,84	40,00 ± 17,41 b	47,63 ± 13,40 b	10,50 ± 3,25 b	102,25 ± 36,33 c
gaze + algodão (sem planta)	2,50 ± 1,44	11,13 ± 4,42 a	3,88 ± 1,91 a	1,38 ± 0,71 a	18,88 ± 6,64 b
F (Tratamento)	0,91 ^{ns}	13,54**	50,29**	32,74**	37,34**
C.V.(%)	28,08	27,35	18,08	13,16	18,35

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em log (x+5). ^{ns} = não significativo; ** = significativo a 1%.

Tabela 2. Número (média $\pm$ erro padrão) de ovos de *Diabrotica speciosa* por números de casais e horas após a liberação dos adultos. Temperatura: $25 \pm 1^\circ$ C; U. R.: $70 \pm 10\%$; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

Tratamento	Número de ovos ¹			
	48 horas	72 horas	96 horas	Total
um casal por planta	0,75 $\pm$ 0,41	4,88 $\pm$ 2,89	1,38 $\pm$ 0,96	7,00 $\pm$ 2,93
dois casais por planta	6,38 $\pm$ 4,10	3,38 $\pm$ 3,23	2,00 $\pm$ 0,89	11,75 $\pm$ 7,99
quatro casais por planta	6,88 $\pm$ 4,26	5,00 $\pm$ 1,85	0,88 $\pm$ 0,30	12,75 $\pm$ 5,78
F	1,54 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,44 ^{ns}
C. V. (%)	28,70	29,55	15,10	26,36

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em $\log(x+5)$. ^{ns} = não significativo.

Tabela 3. Oviposição (média $\pm$ erro padrão) de *Diabrotica speciosa* em plantas de soja com diferentes dias de idade e horas após a liberação dos adultos. Temperatura: 25 ± 1 °C; U. R.: $70 \pm 10\%$; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

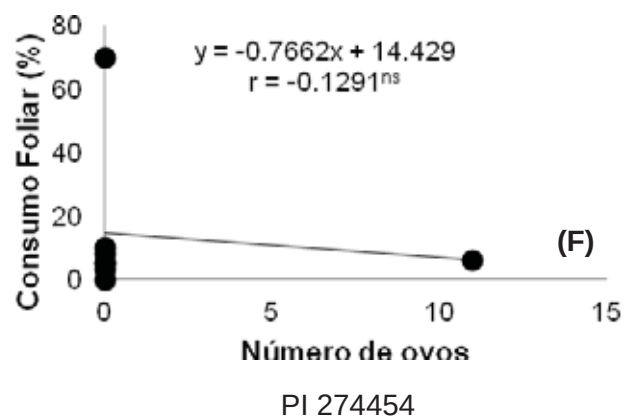
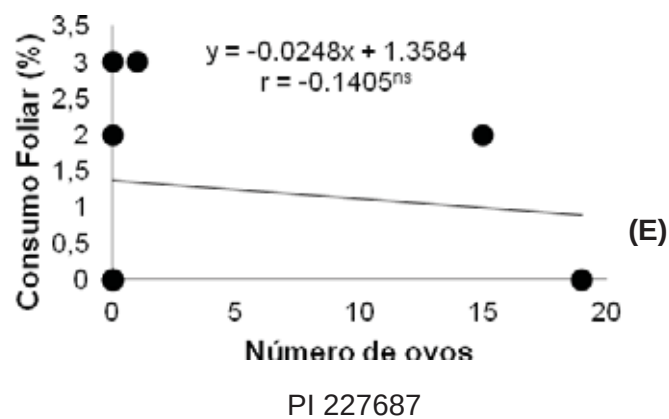
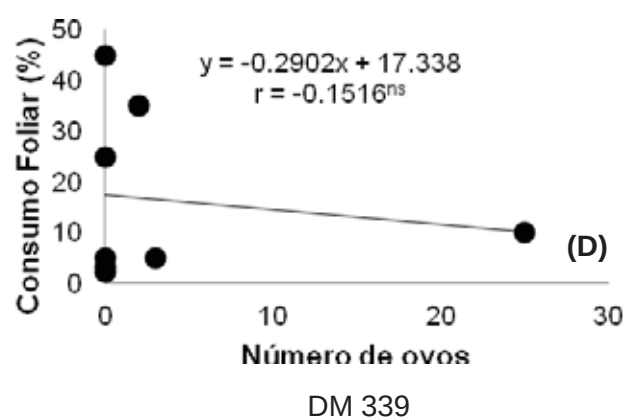
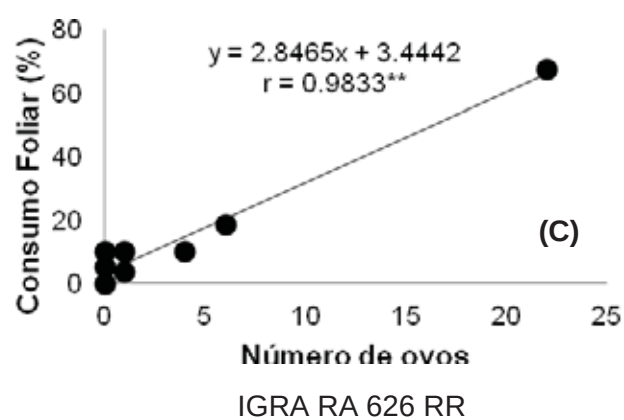
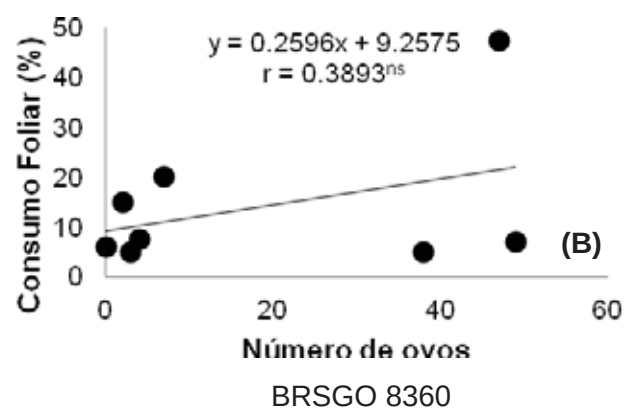
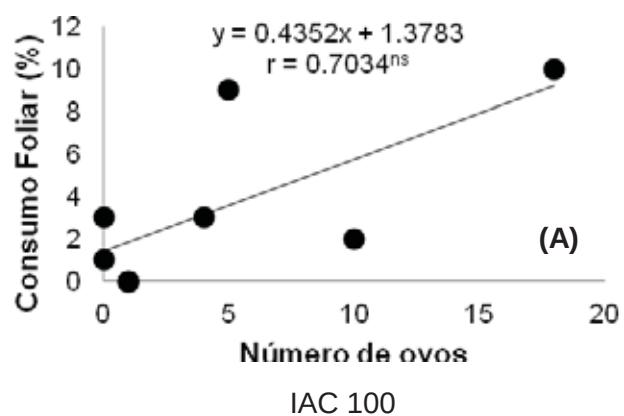
Tratamento	Número de ovos ¹			
	48 horas	72 horas	96 horas	Total
plantas com 5 dias de idade	4,13 $\pm$ 2,46	1,50 $\pm$ 1,36	1,25 $\pm$ 0,53	6,88 $\pm$ 4,01
planta com 10 dias de idade	4,75 $\pm$ 4,75	2,63 $\pm$ 1,28	2,00 $\pm$ 0,96	9,38 $\pm$ 6,34
plantas com 20 dias de idade	0,63 $\pm$ 0,38	0,00 $\pm$ 0,00	1,63 $\pm$ 1,12	2,25 $\pm$ 1,10
F	0,57 ^{ns}	2,29 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,49 ^{ns}
C.V.(%)	31,96	17,53	19,04	34,40

¹Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise, os dados foram transformados em $\log(x+5)$. ^{ns} = não significativo.

Tabela 4. Número (média $\pm$ erro padrão) de ovos de *Diabrotica speciosa* em plantas de genótipos de soja e horas após a liberação dos adultos e porcentagem (média $\pm$ erro padrão) de consumo foliar, em teste com chance de escolha. Temperatura: 25 ± 1 °C; U. R.: $70 \pm 10\%$; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

Tratamento	Número de ovos				Consumo foliar	
	48 horas	72 horas	96 horas	Total		(%)
IAC 100	$3,13 \pm 2,21$ ab	$0,13 \pm 0,13$	$1,63 \pm 1,12$	$4,88 \pm 2,22$ ab		$3,50 \pm 1,38$ ab
BRSO 8360	$15,88 \pm 7,04$ b	$1,63 \pm 0,56$	$1,25 \pm 1,00$	$18,75 \pm 7,70$ b		$14,13 \pm 5,13$ b
IGRA RA 626 RR	$2,63 \pm 2,23$ ab	$1,25 \pm 0,84$	$0,38 \pm 0,18$	$4,25 \pm 2,65$ ab		$15,54 \pm 7,67$ b
DM 339	$1,50 \pm 1,50$ ab	$2,25 \pm 1,59$	$0,00 \pm 0,00$	$3,75 \pm 3,06$ ab		$16,25 \pm 5,86$ b
PI 227687	$0,88 \pm 0,88$ a	$2,63 \pm 1,78$	$0,88 \pm 0,64$	$4,38 \pm 2,78$ ab		$1,25 \pm 0,49$ a
PI 274454	$1,13 \pm 1,13$ ab	$0,25 \pm 0,25$	$0,00 \pm 0,00$	$1,38 \pm 1,38$ a		$13,38 \pm 8,16$ ab
F	$2,67^*$	$1,06^{ns}$	$1,56^{ns}$	$2,53^*$		$3,92^{**}$
C.V.(%)	29,20	17,78	11,50	28,91		24,13

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para a análise os dados foram transformados em $\log(x+5)$. ^{ns} = não significativo; * = significativo a 5%; ** = significativo a 1%.



CAPÍTULO 4 - GRAUS DE ANTIBIOSE DE GENÓTIPOS DE SOJA A *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

RESUMO - Esta pesquisa teve por objetivo discriminar genótipos de soja resistentes a *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824), do tipo antibiose, determinando-se os graus. Foram utilizados seis genótipos de soja, de acordo com seleção anterior, quais sejam: IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, PI 227687 e PI 274454. Foi adotado um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e 10 repetições. Cada repetição foi constituída por 10 plantas de soja e 10 larvas de *D. speciosa*, na infestação inicial, dobrando-se o número de plantas na transferência, 10 dias após a infestação inicial, utilizando-se vermiculita de granulometria fina como substrato. Neste experimento, foram avaliados os seguintes caracteres: número de machos, fêmeas e total de insetos emergidos, viabilidade (porcentagem), razão sexual, peso (mg) de machos e fêmeas, período larva a adulto e longevidade (sem alimento) de *D. speciosa*. Conclui-se-se que: os genótipos DM 339 e PI 274454 são altamente resistentes; PI 227687 é moderadamente resistente; IAC 100 e IGRA RA 626 RR são suscetíveis; e BRSGO 8360, altamente suscetível.

Palavras-chave: biologia de insetos, *Glycine max*, larva-alfinete, Resistência de Plantas a Insetos

CHAPTER 4 - SOYBEAN GENOTYPES ANTIBIOSIS DEGREES TO *Diabrotica speciosa* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

ABSTRACT – This research aimed discriminating resistant soybean genotypes to *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824), antibiosis type, determining the degrees. Six soybean genotypes were used, according to previous selection, which were: IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, PI 227687 and PI 274454. A completely randomized design was adopted, with six treatments and 10 replicates. Each replicate was constituted by 10 soybean plants and 10 larvae of *D. speciosa*, in the initial infestation, doubling the number of plants in the transferring, 10 days after the initial infestation, using fine-grained vermiculite as substrate. In this experiment, the following characters were assessed: number of males, females and total of emerged insects, viability (percentage), sex ratio, male and female weight (mg), larva to adult period and longevity (without food) of *D. speciosa*. We concluded that: the genotypes DM 339 and PI 274454 are highly resistant; PI 227687 is moderately resistant; IAC 100 and IGRA RA 626 RR are susceptible; and BRSGO 8360, highly susceptible.

Keywords: *Glycine max*, Host Plant Resistance to Insects, insects biology, corn rootworm

1. Introdução

O gênero *Diabrotica* (Chevrolat, 1844) (Coleoptera: Chrysomelidae) inclui algumas das pragas mais prejudiciais que ocorrem em toda a América (Cabrera Walsh 2003). Nas últimas décadas, a importância das espécies desse gênero tem aumentado em razão das sérias injúrias causadas por espécies nativas em plantas de diversas culturas no continente Americano (Krysan 1986, Tollefson 1998). *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) já está estabelecida em diversos estados brasileiros, e apresenta expressão econômica por ser uma praga polífaga causando danos, entre outras, às culturas de soja (*Glycine max* [L.] Merrill), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), milho (*Zea mays* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e batata (*Solanum tuberosum* L.), devido às injúrias causadas na planta, e também em alguns casos pode ser agente vetor de patógenos, principalmente vírus (Laumann et al. 2003).

Esta espécie de inseto, também chamada de vaquinha, é uma das mais abundantes e prejudiciais pragas das culturas no Brasil (Christensen 1942, EPPO 2005) e apresenta um risco para o continente Europeu, assim como outras espécies da América do Norte (EPPO 2005). É um inseto polífago e a alimentação das raízes pelas larvas provoca crescimento atrofiado de numerosas espécies de plantas (EPPO 2005) e ataca cerca de 90 espécies de plantas cultivadas e ornamentais (Cabrera Walsh e Cabrera 2003).

Para o controle desta praga, o maior problema adicional é o risco ambiental associado ao controle químico com tratamentos inseticidas (Ávila e Nakano 2000). Esta modalidade demanda quantidades relativamente grandes de ingrediente ativo por área, o que eleva os custos e pode causar contaminação dos lençóis freáticos principalmente em solos arenosos (Pereira et al. 2005).

Um dos métodos alternativos de controle desses insetos é o uso de plantas resistentes, que oferece uma série de vantagens, inclusive a de se integrar perfeitamente em programas de manejo de pragas (Lara 1991). O uso de variedades resistentes, além de diminuir a população de insetos-praga, não interfere no meio ambiente; seu efeito é cumulativo e persistente; não é poluente; não acarreta ônus ao custo de produção e, finalmente, não exige conhecimento específico, por parte

dos agricultores, para a sua utilização (Boiça Júnior e Campos 2010). Plantas com resistência natural, geralmente apresentam sistema radicular mais desenvolvido ou emitem novas raízes, suportando melhor o ataque larval (Viana 2010).

Introduções das linhagens de soja PI 171451, PI 227658 e PI 229358, têm sido utilizadas desde o início da década de 70 como fontes de resistência a insetos desfolhadores, como *D. speciosa* (Rezende e Miranda 1980).

A categoria de resistência de plantas conhecida por antibiose ocorre quando os efeitos negativos de uma planta resistente afetam a biologia de um artrópode, ao tentar usá-la como hospedeira. Os efeitos antibióticos de uma planta resistente variam de moderado a letal, e podem resultar de fatores químicos e morfológicos (Smith 2005). De acordo com Boiça Júnior et al. (2012) ao se comparar o comportamento de genótipos ao ataque ou oviposição de um determinado inseto, as plantas apresentam diferentes níveis de resposta, denominados graus de resistência, os quais são classificados da seguinte forma, de acordo com o nível observado: a) imunidade – conceito puramente teórico, uma vez que, na prática, a presença de um inseto sequer sobre a planta, realizando “mordida” ou “picada” de prova já descarta essa qualidade; b) alta resistência – quando a cultivar ou o genótipo sofre pouco dano em relação ao dano médio sofrido pelas demais cultivares em teste; c) resistência moderada – diz-se que uma cultivar é moderadamente resistente quando ela sofre dano pouco menor que o dano médio observado nas demais cultivares; d) suscetibilidade – uma cultivar é suscetível quando o dano observado é semelhante àqueles verificados nas plantas dos outros genótipos ou cultivares; e) alta suscetibilidade – esse grau de resistência ocorre quando uma planta de determinado genótipo ou cultivar apresenta dano médio bem maior do que aqueles visualizados nas plantas das demais cultivares.

Desta forma, esta pesquisa teve por objetivo discriminar genótipos de soja resistentes a *D. speciosa*, do tipo antibiose, determinando-se os graus.

2. Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, SP, no Departamento de Fitossanidade,

Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos, à temperatura de 25 ± 1 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A criação de *D. speciosa* utilizada para a elaboração desse experimento foi conduzida de acordo com metodologia proposta por Ávila et al. (2000), sendo utilizadas raízes da cultivar de milho AL-Piratininga para a alimentação dos insetos na fase larval, e folhas da cultivar de feijoeiro IAC Carioca-Tybatã para a alimentação de adultos das vaquinhas, sendo estes acondicionados em gaiolas retangulares de 40 cm de comprimento por 30 cm de largura e por 30 cm de altura.

Para a obtenção de ovos de *D. speciosa*, foram utilizadas placas de Petri (14 cm de diâmetro 2 cm de altura), contendo, ao fundo, algodão hidrófilo umedecido e, sobre este, gaze de coloração preta. Os ovos foram retirados do substrato de oviposição, lavando-se a gaze em água corrente sobre um tecido fino *voile*, onde ficaram retidos. Para evitar a contaminação por fungos durante o período de incubação, os ovos foram tratados com solução de sulfato de cobre (CuSO_4) a 1%, durante dois minutos e, em seguida, transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro e 1 cm de altura), forradas com papel filtro umedecido, (Ávila et al. 2000).

Ainda para a criação, realizou-se a infestação inicial de larvas neonatas, em recipientes de 17 cm de diâmetro por 9 cm de altura, e sua transferência 10 dias após esta infestação (larvas sobreviventes, do total de 70 larvas inoculadas), onde foram utilizados recipientes de 27 cm de altura por 16 cm de altura e por 9,5 cm de altura. No fundo destes recipientes plásticos foram preenchidos por 40 g de vermiculita de granulometria fina umedecida com 50 g de água deionizada, onde posteriormente foram colocadas as plantas e liberadas as larvas. Na transferência das larvas, as quantidades de vermiculita e água deionizada a serem utilizadas foram dobradas, a fim de se criar um ambiente propício para o desenvolvimento larval e pupal de *D. speciosa*.

Para a condução do experimento, seguiu-se a sequência e metodologia da criação relatada anteriormente, utilizando-se, porém, plantas dos genótipos de soja testados, quais sejam: IAC 100, BRSGO 8360, IGRA RA 626 RR, DM 339, PI 227687 e PI 274454, selecionados de acordo com resultados obtidos em experimentos anteriores (Costa et al. 2012). Realizou-se também tratamento com o

fungicida carbendazim + thiram (Derosal Plus[®]), a 200 ml do produto comercial para 100 kg de sementes.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos (genótipos) e 10 repetições. Cada repetição foi constituída por 10 plantas de soja e 10 larvas de *D. speciosa*, na infestação inicial, totalizando 100 plantas e 100 larvas por tratamento. Por ocasião da transferência (10 dias após infestação inicial), as larvas sobreviventes foram trasladadas para outro recipiente, com quantidades idênticas de vermiculita e água, conforme mencionadas anteriormente, dobrando-se apenas o número de plantas, a fim de se fornecer maior quantidade de alimento para os insetos na fase imatura (raízes de soja). Para ambos os processos, infestação inicial e transferência, foram utilizados recipientes plásticos de 12 cm de diâmetro por 9,5 cm de altura. Neste experimento foram avaliados os seguintes caracteres: número de machos, fêmeas e total de insetos emergidos, viabilidade (porcentagem), razão sexual, peso (mg) de machos e fêmeas, em balança analítica de precisão (modelo AS200S, Florham Park, NJ), período larva a adulto e longevidade (sem alimento) de *D. speciosa*.

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (Bartlett) (Silva e Azevedo 2006). Foi realizada a análise de variância (Anova) pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Em caso de dados fora da normalidade e homocedásticos, estes foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$. Em caso de dados heterocedásticos, estes foram transformados em $\log(x+5)$, em razão dos valores zeros obtidos.

3. Resultados

Diferenças significativas foram observadas entre os genótipos de soja ao analisar as seguintes variáveis biológicas: número de machos, fêmeas e total de insetos emergidos, viabilidade e razão sexual, todas apresentaram diferenças significativas (Tabela 1). Em relação ao número de machos emergidos ($F = 4,44$; gl = 5; $P < 0,0019$), os maiores valores foram encontrados para os genótipos BRSGO 8360 e IGRA RA 626 RR, ao passo que nos genótipos DM 339 e PI 227687 não foi

registrada a ocorrência de indivíduos deste sexo. Em relação às demais variáveis citadas, o genótipo BRSGO 8360 se destacou com os maiores valores. Analisando-se o número de fêmeas emergidas ($F = 5,43$; $gl = 5$; $P < 0,0004$), BRSGO 8360 despontou pelo mais alto valor, enquanto que os genótipos DM 339, PI 227687 e PI 274454, apresentaram os menores valores. Quanto ao número total de insetos emergidos ($F = 6,57$; $gl = 5$; $P < 0,0001$), o genótipo BRSGO 8360 apresentou maior número médio, diferindo significativamente dos genótipos DM 339 e PI 274454. No que se refere à viabilidade do período larva a adulto ($F = 6,82$; $gl = 5$; $P < 0,0001$), BRSGO 8360 proporcionou o maior índice, à medida que os menores valores foram verificados para os genótipos DM 339 e PI 274454. Para razão sexual ($F = 2,52$; $gl = 5$; $P < 0,0401$), o genótipo BRSGO 8360 também se destacou, diferindo significativamente do genótipo PI 274454, caracterizando BRSGO 8360 como o genótipo mais adequado para o desenvolvimento de indivíduos de *D. speciosa* com equilíbrio na proporção sexual.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, houve diferenças significativas para as variáveis peso de fêmeas e longevidade de adultos de *D. speciosa*. Em relação ao peso de fêmeas ($F = 4,53$; $gl = 5$; $P < 0,0083$), o maior valor foi encontrado para IGRA RA 626 RR, o qual diferiu significativamente de IAC 100 e PI 227687. Para a variável longevidade (sem alimento) ($F = 5,19$; $gl = 5$; $P < 0,0006$), os indivíduos oriundos do genótipo BRSGO 8360 permaneceram vivos por mais tempo, enquanto que indivíduos criados nos genótipos DM 339, PI 227687 e PI 274454 viveram por período de tempo mais curto.

4. Discussão

Os resultados obtidos nesse experimento demonstram que, de forma geral, os genótipos DM 339, PI 227687 e PI 274454 foram os menos adequados para o desenvolvimento de *D. speciosa*, apresentando resistência por antibiose ao ataque da praga, enquanto que nos genótipos IAC 100, BRSGO 8360 e IGRA RA 626 RR encontraram-se resultados favoráveis ao desenvolvimento do inseto. Sugere-se, numa análise geral, a classificação dos genótipos nos seguintes graus de resistência: DM 339 e PI 274454, como altamente resistentes; PI 227687,

moderadamente resistente; IAC 100 e IGRA RA 626 RR, suscetíveis; e BRSGO 8360, altamente suscetível.

Ávila e Parra (2002), estudando o desenvolvimento de *D. speciosa* em diferentes hospedeiros, concluíram que em condições de campo, na ausência de um hospedeiro preferencial, as larvas dessa espécie podem utilizar plantas de soja ou feijoeiro como hospedeiros alternativos para alimentação e reprodução. No Brasil, Corseuil et al. (1974) relataram que larvas deste inseto se alimentam de raízes de plantas de soja. Hofmann-Campo et al. (2000) mencionam que esta praga vem causando preocupação a sojicultores da região oeste e sudoeste do Estado do Paraná.

No começo da década de 90, uma raça de *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte) tornou-se estabelecida no cinturão do milho dos Estados Unidos da América, tendo-se adaptado à prática de rotação milho-soja pela oviposição em campos de soja, os quais deveriam então ser rotacionados para lavoura de milho no ano seguinte (Gray et al. 1998). Contudo, a presente pesquisa demonstra a importância de se estudar a resistência de plantas a insetos, detectando genótipos que se comportam de forma distinta da média, ou seja, que expressem resistência. Dessa forma, este tipo de estudo seria de suma importância para a subsequente utilização de genótipos resistentes em áreas que realizam o cultivo de diferentes culturas, como no cinturão do milho dos Estados Unidos e mesmo no Brasil, a fim de se reduzir a densidade da praga na entressafra. O genótipo DM 339, conforme verificado na presente pesquisa, é um material altamente resistente, e o fato de ser comercial o torna uma opção na tentativa de reduzir o nível populacional de *D. speciosa*.

Ávila e Parra (2002) avaliando o desenvolvimento de *D. speciosa* em diferentes hospedeiros, concluíram que a viabilidade de insetos que se alimentaram de raízes do genótipo de soja IAC-8 foi de 30,1%, próximo ao encontrado para BRSGO 8360 na presente pesquisa, 31,00%. No entanto, ao se comparar diferentes hospedeiros no desenvolvimento de um inseto, é importante ter conhecimento dos graus de resistência dos genótipos que se está estudando, tendo-se em vista a dissimilaridade entre os genótipos na presente pesquisa, os quais apresentaram valores de viabilidade que variaram entre 2 a 31%.

Dunbar (2011), avaliando o efeito de variedades de soja a *D. v. virgifera*, concluíram que não houve diferenças significativas entre as variedades com os genes *rag1*, *rag1/rag3* e uma isolinha suscetível da variedade *rag1* na sobrevivência, produção de ovos ou área foliar consumida das variedades de soja e, que apesar destas variedades serem resistentes a *Aphis glycines* Matsumura, as mesmas parecem não impor seleção natural contra a resistência de *D. v. virgifera* na rotação milho-soja. Os mesmos autores mencionam que a utilização de variedades que reduzem a aptidão de *D. v. virgifera* devem auxiliar no retardamento da evolução da resistência de insetos pragas. Por outro lado, a presente pesquisa detectou materiais altamente resistentes, ressaltando-se a importância do estudo com materiais de diversas procedências, comparando linhagens e cultivares, por exemplo.

5. Conclusões

Os genótipos DM 339 e PI 274454 são altamente resistentes do tipo antibiose; PI 227687 é moderadamente resistente; IAC 100 e IGRA RA 626 RR são suscetíveis; e BRSGO 8360, altamente suscetível.

6. Referências

- Ávila, C. J., A. C. P. Tabai e J. R. P. Parra. 2000. Comparação de técnicas para criação de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em dietas natural e artificial. An. Soc. Entomol. Bras. 29: 257-267.
- Ávila, C. J., e J. R. P. Parra. 2002. Desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em diferentes hospedeiros. Cienc. Rural. 32 :739-743.
- Ávila, C. J., e O. Nakano. 2000. Efeito do regulador de crescimento lufenuron na reprodução de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae). An. Soc. Entomol. Bras. 28: 293–299.
- Boiça Júnior, A. L., e A. P. Campos. 2010. Resistência de plantas a insetos: ensino, pesquisa e extensão. pp. 11-22. In A. C. Busoli, D. J. Andrade, J. C. Janini, C. L. Barbosa, D. F. Fraga, L. C. Santos, T. O. Ramos, e V. S. Paes (eds.), **Tópicos em Entomologia Agrícola – III**. Multipress, Jaboticabal, SP.

Boiça Júnior, A. L., B. H. S. Souza, D. B. Bottega, N. E. L. Rodrigues, M. L. Peixoto, E. N. Costa, Z. A. Ribeiro. 2012. Resistência de plantas e produtos naturais no controle de pragas em culturas agrícolas. pp. 151-171. *In* A. C. Busoli, J. F. J. Grigolli, L. A. Souza, M. M. Kubota, E. N. Costa, L. A. O. Santos, J. C. Netto, M. A. Viana (eds.), **Tópicos em Entomologia Agrícola – V.** Multipress, Jaboticabal, SP.

Cabrera Walsh, G. 2003. Host range and reproductive traits of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms, with notes on other species of Diabroticina. *Environ. Entomol.* 32: 276-285.

Cabrera Walsh, G., e N. Cabrera. 2003. Distribution and hosts of the pestiferous and other common diabroticites from Argentina and Southern South America: a geographic and systematic view. *In* P. H. Jolivet, J. A. Santiago-Blay, e M. Schmitt (eds.), *New contributions to the biology of Chrysomelidae.* SPB Academic Publishers, The Hague, The Netherlands (in press).

Christensen, J. R. 1942. Estudio sobre el género *Diabrotica* Chevrolat en Argentina. *Rev. Fac. Agron. Vet., Univ. B. Aires.* 10: 464-516.

Corseuil, E., F. A. Cruz, e L. M. C. Meyer. 1974. Insetos nocivos à soja no Rio Grande do Sul. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agricultura, Depto. Fitotecnia, Setor Entomologia, Porto Alegre, RS.

Costa, E. N., B. H. S. Souza, D. B. Bottega, F. Q. Oliveira, e A. L. Boiça Júnior. 2012. Atratividade e consumo foliar de adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) por genótipos de soja. *In* Proceedings, Congress: Congresso Brasileiro de Soja. Embrapa Soja, Publication 6, Cuiabá, MT.

Dunbar, M. W. 2011. Distribution of two rotation-resistant corn pests in eastern Iowa and effects of soybean varieties on biology of *Diabrotica virgifera virgifera*. Master in Sciences thesis, dissertation, Iowa State University, Ames.

EPPO. 2005. http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Diabrotica_speciosa/DS_DiAbroticaspeciosa.pdf

Gray, M. E., E. Levine, e H. Oloumi-Sadeghi. 1998. Adaptation to crop rotation: western and northern rootworms respond uniquely to a cultural practice. *Rec. Res. Dev. Entomol.* 2: 19-31.

Hoffmann-Campo, C. B., F. Moscardi, B. S. Corrêa-Ferreira, L. J. Oliveira, D. R. Sosa-Gómez, A. R. Panizzi, I. C. Corso, D. L. Gazzoni, e E. B. de Oliveira. 2000. Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado. http://ag20.cnptia.embrapa.br/Rep ositorio/circtec30_000g46xpyyv02wx5ok0iuqaqkbbpq943.pdf

Krysan, J. L. 1986. Introduction: biology, distribution, and identification of pest *Diabrotica*. pp. 1-23. In J. L. Krysan, e T. A. Miller (eds.), Methods for the study of pest *Diabrotica*. Springer, New York.

Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. 2nd ed. Icone, São Paulo, SP.

Laumann, R., P. R. Neiva, C. S. S. Pires, F. G. V. Schmitz, M. Borges. 2003. Ritmos diários de atividades comportamentais de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) relacionados à temperatura. <http://cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/cot090.pdf>

Pereira, T., M. U. Ventura, e F. A. Marques. 2005. Comportamento de larvas de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) em resposta ao CO₂ e a plântulas de espécies cultivadas. Cienc. Rural. 35: 981-985.

Rezende, J. A. M., e M. A. C. MIRANDA. 1980. Performance of F1 generation of soybean in relation to *Colaspis* sp. and *Diabrotica speciosa*. Soyb. Genet. Newsl. 7: 21-22.

Silva, F. A. S., e C. A. V. A. Azevedo. 2006. New version of the Assistat-Statistical Assistance Software, pp. 393-396. In Proceedings, Congress: World Congress on Computers in Agriculture. Publication 4. American Society of Agricultural and Biological Engineers, Orlando.

Smith, C. M. 2005. Plant resistance to arthropods. Springer, Dordrecht, NE.

Tollefson, J. J. 1998. Rootworm areawide management program in Iowa. J. Agric. Entomol. 15: 351-357.

Viana, P. A. 2010. Manejo de *Diabrotica speciosa* na Cultura do Milho. http://www.cnpm.embrapa.br/publicacoes/publica/2010/.../Circ_141.pdf

Tabela 1. Número médio de machos, fêmeas e total de insetos emergidos, viabilidade total (%) e razão sexual (média $\pm$ erro padrão) de indivíduos de *Diabrotica speciosa* alimentados em diferentes genótipos de soja. Temperatura: 25 ± 1 °C; U.R: $70 \pm 10\%$; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

Genótipo	Número de machos ¹	Número de fêmeas ²	Número total de insetos ¹	Viabilidade total (%) ¹	Razão sexual ¹
IAC 100	0,50 $\pm$ 0,17ab	1,20 $\pm$ 0,44ab	1,70 $\pm$ 0,54abc	17,00abc	0,46 $\pm$ 0,13ab
BRSO 8360	1,10 $\pm$ 0,28b	1,90 $\pm$ 0,50b	3,10 $\pm$ 0,74c	31,00c	0,52 $\pm$ 0,12b
IGRA RA 626 RR	1,30 $\pm$ 0,52b	1,00 $\pm$ 0,33ab	2,30 $\pm$ 0,72bc	23,00bc	0,32 $\pm$ 0,11ab
DM 339	0,00 $\pm$ 0,00a	0,20 $\pm$ 0,13a	0,20 $\pm$ 0,13a	2,00a	0,20 $\pm$ 0,13ab
PI 227687	0,10 $\pm$ 0,10a	0,30 $\pm$ 0,15a	0,40 $\pm$ 0,22ab	4,00ab	0,25 $\pm$ 0,13ab
PI 274454	0,30 $\pm$ 0,21ab	0,00 $\pm$ 0,00a	0,30 $\pm$ 0,21a	3,00a	0,00 $\pm$ 0,00a
F	4,44**	5,43**	6,57**	6,82**	2,52*
C.V.	7,72	8,83	11,65	31,20	4,06

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$). *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$.

¹Para análise os dados foram transformados em $\log(x+5)$; ²Para análise os dados foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$.

Tabela 2. Peso de machos e fêmeas (mg), período de larva a adulto (dias) e longevidade de adulto (média $\pm$ erro padrão) de indivíduos de *Diabrotica speciosa* alimentados em diferentes genótipos de soja. Temperatura: 25 ± 1 °C; U.R: $70 \pm 10\%$; Fotofase: 12 horas. Jaboticabal, SP, 2012.

Genótipo	Peso de machos (mg)	Peso de fêmeas (mg)	Período larva a adulto (dias) ¹	Longevidade (dias) ²
IAC 100	7,12 $\pm$ 0,28	6,23 $\pm$ 0,81a	31,00 $\pm$ 0,42	1,90 $\pm$ 0,44ab
BRSO 8360	8,06 $\pm$ 0,55	7,93 $\pm$ 0,46ab	31,23 $\pm$ 0,32	2,59 $\pm$ 0,30b
IGRA RA 626 RR	9,00 $\pm$ 0,47	8,94 $\pm$ 0,48b	29,52 $\pm$ 0,44	2,10 $\pm$ 0,47ab
DM 339	-(³)	-(³)	-(³)	0,60 $\pm$ 0,40a
PI 227687	-(³)	5,00a	30,50 $\pm$ 0,29	0,55 $\pm$ 0,30a
PI 274454	8,23 $\pm$ 1,45	-(³)	28,67 $\pm$ 0,33	0,65 $\pm$ 0,43a
F	1,73 ^{ns}	4,53**	3,89 ^{ns}	5,19**
C.V.	21,16	27,80	6,02	10,59

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P < 0,05$). **, $P < 0,01$; ^{ns}, não significativa.

¹Para análise os dados foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$; ²Para análise os dados foram transformados em $\log(x+5)$.

(³) Dados não analisados devido ao número insuficiente de repetições.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa abrangeu os três tipos de Resistência de Plantas a Insetos, quais sejam: não preferência (alimentação e oviposição), antibiose e tolerância, além de desenvolver metodologias de pesquisa.

No segundo capítulo, “Não preferência para alimentação e tolerância em genótipos de soja ao ataque de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae)”, objetivou-se com os dois primeiros experimentos, quais sejam, discos foliares e plantas jovens, avaliar a resistência de genótipos de soja. Em ambos os experimentos, houve diferenças significativas em relação ao consumo foliar em testes com e sem chance de escolha. Entretanto, verifica-se que a manifestação de resistência é distinta, ao comparar-se as duas modalidades experimentais. O genótipo PI 274454 é o mais resistente quando se utiliza discos foliares, não ocorrendo o mesmo quando se oferece folhas de plantas jovens de soja, não as removendo da planta. Evidencia-se, de forma geral, que o genótipo PI 227687 é o genótipo mais resistente, analisando-se conjuntamente os resultados com discos foliares e plantas jovens. Com base nestas informações, sugere-se a realização de novas pesquisas de resistência de plantas a insetos comparando-se diferentes formas de experimento e idades de plantas, conforme realizados nesta pesquisa, a fim de obter resultados mais concisos. Esta consideração é de extrema relevância, tendo-se em vista a distinção do número de tricomas presentes nas plantas em diferentes idades, o que possivelmente ocorre com as concentrações das substâncias isoflavonoides presentes nas mesmas. Estas mesmas reflexões são relevantes para o terceiro experimento, no qual foi estudada a preferência alimentar das larvas, conhecidas como larvas-alfinete, onde não houve muitas diferenças significativas no teste sem chance de escolha. Desta forma, poderia se estudar o número mais adequado de larvas por planta, com o intuito de discriminar possíveis genótipos resistentes nestes testes.

No terceiro capítulo, “Metodologia de pesquisa e preferência para oviposição de *Diabrotica speciosa* (Germar) por genótipos de soja”, comprovou-se que a despeito de *D. speciosa* ter como comportamento a oviposição no solo, a presença da planta se desenvolvendo no solo é fator determinante para atrair as fêmeas, para

a consequente oviposição. Este fato ficou mais claro ao se observar os resultados do teste de não preferência para oviposição de *D. speciosa* por genótipos de soja, onde a presença de ovos no genótipo suscetível, BRSGO 8360, foi treze vezes maior em relação ao genótipo resistente, PI 274454.

Finalmente, no quarto capítulo, intitulado “Graus de antibiose de genótipos de soja a *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae)”, foi possível classificar os genótipos em estudo quanto aos diferentes níveis de resistência. Neste trabalho, ficou comprovado que o maior ou menor sucesso do inseto em relação ao seu desenvolvimento em plantas de soja, depende do genótipo no qual ele está se alimentando. Informações obtidas em experimentos deste tipo podem auxiliar na escolha do genótipo a ser cultivado em determinadas áreas, principalmente em áreas de rotação de culturas, por exemplo, milho-soja, onde a escolha correta pode implicar em menor densidade populacional da praga na safra seguinte. Conforme relatado no quarto capítulo, nos Estados Unidos, a espécie *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte) vem causando grandes problemas em áreas que utilizam a rotação milho-soja, principalmente na região conhecida como “Corn Belt”. Portanto, conhecendo-se genótipos menos favoráveis à biologia do inseto e que de preferência sejam comerciais, como por exemplo, o genótipo DM 339, caracterizado como altamente resistente na pesquisa, torna possível a diminuição dos prejuízos causados pela praga.

Conforme se verifica no decorrer desta pesquisa como um todo, descobertas vieram à luz, hipóteses foram testadas, sugestões para o emprego em áreas de cultivo foram feitas e, principalmente, aspectos relevantes foram indicados para a realização de novas investigações, que podem trazer ainda mais conhecimento para a área da Entomologia Agrícola. Além disso, esses resultados podem ser empregados em campo, com a finalidade de se transferir o conhecimento desenvolvido no laboratório e continuar trabalhando por uma agricultura mais limpa, com a redução e racionalização do uso de agrotóxicos.