

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

***Helicoverpa armigera* E *Spodoptera frugiperda*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE): DIETA ARTIFICIAL,
PRODUTOS PARA CONTROLE E EFEITOS EM
POLINIZADORES**

**Caio Cesar Truzi
Engenheiro Agrônomo**

2020

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

***Helicoverpa armigera* E *Spodoptera frugiperda*
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE): DIETA ARTIFICIAL,
PRODUTOS PARA CONTROLE E EFEITOS EM
POLINIZADORES**

Discente: Caio Cesar Truzi

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Luis Andrade e Silva

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

2020

T874h Truzi, Caio Cesar
Helicoverpa armigera e Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae): Dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores / Caio Cesar Truzi. -- Jaboticabal, 2020
156 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Sergio Antonio De Bortoli
Coorientador: Márcio Luis Andrade e Silva

1. Criação de insetos. 2. Extratos vegetais. 3. Inseticidas. 4. Toxicidade. 5. Organismo não alvo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

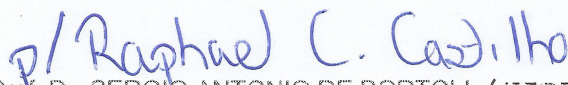
TÍTULO DA TESE: *Helicoverpa armigera* E *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE): DIETA ARTIFICIAL, PRODUTOS PARA CONTROLE E EFEITOS EM POLINIZADORES

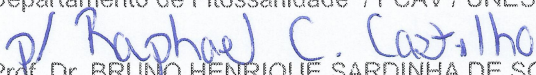
AUTOR: CAIO CESAR TRUZI

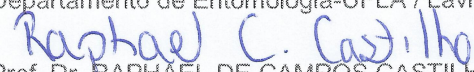
ORIENTADOR: SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

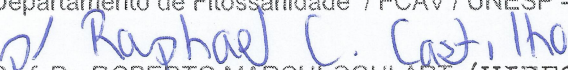
COORIENTADOR: MARCIO LUÍS ANDRADE E SILVA

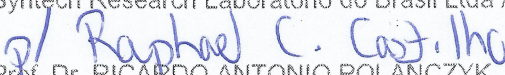
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. BRUNO HENRIQUE SARDINHA DE SOUZA (VIDEOCONFERÊNCIA)
Departamento de Entomologia-UFLA / Lavras/SP


Prof. Dr. RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Prof. Dr. ROBERTO MARCHI GOULART (VIDEOCONFERÊNCIA)
Syntech Research Laboratório do Brasil Ltda / Piracicaba/SP


Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 20 de março de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CAIO CESAR TRUZI – Natural de Araraquara, SP, nascido em 23 de Junho de 1993. Técnico em Agropecuária, com título obtido em Março de 2011, pelo Colégio Técnico Agrícola “José Bonifácio” da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo. Durante o curso técnico, foi bolsista do CNPq de Iniciação Científica Júnior, durante 1 ano, na área de tolerância de soja transgênica ao herbicida “glyphosate”, sob orientação da Profa. Dra. Núbia Maria Correia. Engenheiro Agrônomo graduado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), UNESP, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, em Março de 2016. Durante a graduação foi bolsista por 3 anos do Programa de Educação Tutorial (PET Eng. Agrônômica) da SESu/MEC. O trabalho de conclusão de curso da graduação teve como título “Efeitos de genótipos de girassol no desenvolvimento e na preferência alimentar de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), em condições de laboratório”, com orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli e coorientação da Profa. Dra. Alessandra Marieli Vacari. Iniciou, em Março de 2016, o Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola), na mesma instituição, porém em Julho de 2017 converteu o curso de Mestrado para o de Doutorado Direto, sob a orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli e coorientação do Prof. Dr. Márcio Luis Andrade e Silva, sendo bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo nº 2018/00045-8). Desde 2019 faz parte da Sociedade Entomológica do Brasil – Jovem (SEB Jovem), como representante da região Sudeste.

“O que tem de ser tem muita força, tem uma força enorme.”

João Guimarães Rosa
Livro “Grande Sertão: Veredas”

Ofereço

Aos meus pais, Clovis e Silvia, pelo amor, apoio, palavras de incentivo e compreensão durante toda a minha caminhada.

Dedico

Ao meu filho Théo, que chegou este ano para trazer muita alegria em nossas vidas.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, pela proteção, pela benção, pelas oportunidades e por estar ao meu lado durante minha jornada.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, ao Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, por toda a confiança depositada em mim, pela excelente orientação, atenção, paciência, compreensão e conhecimentos imprescindíveis para a realização deste trabalho e para a minha formação profissional e pessoal.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Márcio Luis Andrade e Silva, da Universidade de Franca (UNIFRAN), pela disponibilização do extrato e por todo o apoio para a realização deste trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela convivência e ensinamentos transmitidos no decorrer do curso.

À Natalia Fernanda Vieira, por ser tão especial e pela caminhada conjunta durante todo o período de pós-graduação, dividindo conselhos, apoio, carinho, amor, compreensão e alegrias.

Ao meu irmão Diego, minha cunhada Raquel, meu sobrinho Enzo e toda minha família, por todos os momentos compartilhados.

À Marisa Clemente Rodrigues, pelos ensinamentos, pela colaboração e oportunidade da realização dos ensaios com abelhas.

Aos integrantes do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), Natalia Fernanda Vieira, Joice Mendonça de Souza, Gilmar da Silva Nunes, Camila Pires Cardoso, Beatriz Ferracini, Marcelle Bezerra Silva, Aimée Regali Seleglim, Iwlianny Luiza Pereira dos Santos, Matheus Moreira Dantas Pinto, Paula Sayuri Taguti, Dagmara Gomes Ramalho e Lauany Cavalcante dos Santos.

Agradeço em especial à Natalia, Gilmar, Beatriz, Joice e Marcelle por terem colaborado diretamente na realização deste trabalho, pela amizade e pelos momentos de descontração.

Aos colegas e alunos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela convivência, bons momentos e amizade durante todo o curso.

A Bayer, Grupo Vitae, Koppert do Brasil, SouAgro Agropecuária e Agrandas Sementes pela concessão dos inseticidas, sementes e fertilizantes utilizados neste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de estudos, processo nº 2018/00045-8.

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

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vii
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	4
2.1. Criação de insetos.....	4
2.2. <i>Helicoverpa armigera</i>	5
2.3. <i>Spodoptera frugiperda</i>	7
2.4. Manejo Integrado de <i>Helicoverpa armigera</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	10
2.4.1. Controle químico	11
2.4.2. Controle biológico com entomopatógenos	12
2.4.3. Extrato de plantas.....	14
2.5. Efeito de inseticidas em abelhas	16
3. Referências	17
CAPÍTULO 2 – Consumo e utilização de alimento e parâmetros da história de vida de <i>Helicoverpa armigera</i> (Lepidoptera: Noctuidae) criada em dietas com variação proteica.....	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT	39
1. Introdução	40
2. Material e métodos.....	41
2.1. Criação de <i>H. armigera</i>	41
2.2. Dietas artificiais utilizadas	41
2.3. Índices de consumo e utilização de alimento	43
2.4. Parâmetros biológicos	44
2.5. Análises estatísticas	45
3. Resultados	46
3.1. Índices de consumo e utilização de alimento	46
3.2. Parâmetros biológicos	47

4. Discussão.....	51
5. Conclusão	55
6. Referências	55
CAPÍTULO 3 – Dieta artificial com variação proteica para criação de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).....	59
RESUMO.....	59
ABSTRACT	60
1. Introdução	61
2. Material e métodos.....	62
2.1. Criação de <i>S. frugiperda</i>	62
2.2. Dietas artificiais utilizadas	63
2.3. Índices de consumo e utilização de alimento	63
2.4. Parâmetros de desenvolvimento	65
2.5. Análises estatísticas	66
3. Resultados	67
3.1. Índices de consumo e utilização de alimento	67
3.2. Parâmetros de desenvolvimento	68
4. Discussão.....	72
5. Conclusão	76
6. Referências	76
CAPÍTULO 4 – Toxicidade e repelência de extrato de <i>Piper cubeba</i> e inseticidas comerciais para <i>Helicoverpa armigera</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae), e fitotoxicidade do extrato em milho e soja.....	80
RESUMO.....	80
ABSTRACT	81
1. Introdução	82
2. Material e métodos.....	83
2.1. Preparo do extrato hexânico de <i>Piper cubeba</i>	84
2.2. Fitotoxicidade do extrato hexânico de <i>Piper cubeba</i>	84
2.3. Toxicidade de produtos via ingestão	85
2.4. Repelência de produtos para lagartas.....	86
2.5. Análises estatísticas	87

3. Resultados	88
3.1. Fitotoxicidade do extrato hexânico de <i>Piper cubeba</i>	88
3.2. Toxicidade de produtos via ingestão	91
3.3. Repelência de produtos para lagartas.....	93
4. Discussão	95
5. Conclusão	98
6. Referências	99
CAPÍTULO 5 – Efeitos de concentrações subletais de inseticidas químico, biológico e extrato de <i>Piper cubeba</i> no desenvolvimento e na utilização de alimento por <i>Helicoverpa armigera</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae).....	105
RESUMO.....	105
ABSTRACT	106
1. Introdução	107
2. Material e métodos.....	108
2.1. Criação dos insetos.....	108
2.2. Inseticidas	109
2.3. Estimativa de concentrações letais	109
2.4. Efeitos subletais em parâmetros biológicos	110
2.5. Efeitos subletais no consumo e utilização de alimento.....	111
2.6. Análises estatísticas	112
3. Resultados	113
3.1. Estimativa de concentrações letais	113
3.2. Efeitos subletais em parâmetros biológicos	114
3.3. Efeitos subletais no consumo e utilização de alimento.....	119
4. Discussão.....	122
5. Conclusão	126
6. Referências	126
CAPÍTULO 6 – Efeitos por contato e ingestão de inseticida químico, bioinseticidas e extrato de <i>Piper cubeba</i> em abelhas, em condições de laboratório.....	133
RESUMO.....	133

ABSTRACT	134
1. Introdução	135
2. Material e métodos	136
2.1. Produtos utilizados	137
2.2. Ação por contato em <i>A. mellifera</i>	137
2.3. Ação por ingestão em <i>A. mellifera</i>	138
2.4. Análises estatísticas	139
3. Resultados	139
3.1. Ação por contato em <i>A. mellifera</i>	139
3.2. Ação por ingestão em <i>A. mellifera</i>	141
4. Discussão	143
5. Conclusão	146
6. Referências	147
CAPÍTULO 7 – Considerações finais	153
REFERÊNCIAS	155

***Helicoverpa armigera* E *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE):
DIETA ARTIFICIAL, PRODUTOS PARA CONTROLE E EFEITOS EM
POLINIZADORES**

RESUMO – *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) são insetos cosmopolitas, polívoros e que causam danos tanto na fase vegetativa quanto na reprodutiva de vários cultivos. Entre os métodos disponíveis para controle, os mais utilizados são o químico e a utilização de plantas *Bt*, porém o uso incorreto resultou em diversos relatos de resistência a esses dois métodos. Deste modo, surgiu a necessidade de novas tecnologias e produtos para o controle desses insetos-praga, sendo que o controle biológico com bactérias e vírus, e extratos de plantas podem ser ferramentas importantes frente a esses problemas. Além da resistência, outro problema que o uso incorreto dos inseticidas pode causar é a toxicidade a organismos não alvo, como as abelhas *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), que vem sofrendo com a mortalidade causada por esses produtos. Para a realização de pesquisas que auxiliem e aprimorem os programas de Manejo Integrado de *H. armigera* e *S. frugiperda*, é essencial uma metodologia de criação que permita a obtenção de uma grande quantidade de indivíduos, sendo que dietas artificiais adequadas auxiliam a criação em grande escala. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito de diferentes níveis proteicos na dieta artificial para criação destas espécies, o efeito agudo das concentrações letais e os efeitos subletais de inseticidas químicos, biológicos e de extrato da planta *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae) em *H. armigera* e *S. frugiperda*, além da toxicidade por contato e ingestão desses produtos para *A. mellifera*, bem como avaliar a fitotoxicidade do extrato em plantas de milho e soja. Foram avaliadas 3 formulações de dieta artificial, sendo uma utilizada na criação de rotina e duas modificadas, com o dobro da quantidade de proteína e com a metade. Os teores proteicos mais baixos ou mais elevados na dieta de *H. armigera* afetaram negativamente os aspectos biológicos e nutricionais da espécie, enquanto *S. frugiperda* não teve seu crescimento populacional afetado, podendo ser utilizada a dieta com menor quantidade de proteína para redução no custo de criação. Visando fornecer informações ao manejo desses lepidópteros-praga, foi utilizado o inseticida químico flubendiamida (Belt®), os biológicos VPN-HzSNPV (Diplomata®), VPN-SfMNPV (CartuchoVIT®) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®) e o extrato hexânico de *P. cubeba*. O extrato de *P. cubeba* apresentou atividade inseticida apenas para lagartas de *S. frugiperda*, com mortalidade de 90,0%, e ação de repelência para ambas as espécies. Ao avaliar os parâmetros biológicos e os índices de consumo e utilização de alimento sob influência das concentrações subletais (CL₂₅ e CL₁₀), verificou-se que os inseticidas causaram alterações no período larval e pupal, no peso de pupas e na fecundidade, além de alterações no crescimento populacional e no comportamento de alimentação. Os produtos utilizados não causaram mortalidade significativa em *A. mellifera* por contato, entretanto por ingestão, após 48 horas, verificou-se maior mortalidade das abelhas com o bioinseticida à base de *Bt*, enquanto os menores percentuais de mortalidade

foram observados com o produto químico flubendiamida e com o baculovírus, VPN-SfMNPV, resultando também em maior número de visitas e de ingestão de alimento pelos insetos, por outro lado os menores valores de visita e ingestão foram para o extrato de *P. cubeba*. Espera-se que os resultados obtidos nesta tese forneçam subsídios para auxiliar a obtenção de insetos de qualidade para pesquisas, além de implementar alternativas para o controle de *H. armigera* e *S. frugiperda* em culturas de grande importância econômica, sem causar problemas às abelhas polinizadoras.

Palavras-chave: Criação de insetos, extratos vegetais, inseticidas, toxicidade, organismo não alvo.

***Helicoverpa armigera* AND *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE): ARTIFICIAL DIET, PRODUCTS TO CONTROL AND EFFECTS ON
POLLINATORS**

ABSTRACT – *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) are cosmopolitan, polyphagous insects that cause damage both in the vegetative and in the reproductive phase of several crops. Among the methods available for its control, the most used are the chemical and the use of *Bt* plants, however the incorrect use has resulted in several reports of resistance to both methods. Thus, there was a need to development of new technologies and products for the control of these pest insect, and biological control with bacteria and viruses, and plant extracts can be important tools in the face of these problems. In addition to resistance, another problem that the incorrect use of pesticides can cause is toxicity to non-target organisms, such as honey bees *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae), which has been suffering from the mortality caused by these products. In order to carry out research that helps and improve the Integrated Management programs of *H. armigera* e *S. frugiperda*, a rearing methodology is essential that allows the obtaining of a large number of individuals, and adequate artificial diets assist the rearing on a large scale. In this sense, the aim of this research was to investigate the effect of diferente protein levels in the artificial diet for the rearing of these species, the acute effect of lethal concentrations and the sublethal effects of chemical and biological pesticides, and plant extract from the plant *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae) on *H. armigera* and *S. frugiperda*, in addition to the contact and ingestion toxicity of these products to *A. mellifera*, as well as to evaluate the phytotoxicity of the extract in maize and soybean plants. Three formulations of artificial diet were evaluated, one used in routine rearing and two modified, with double amount of protein and the other with half. The lower or higher levels in the diet of *H. armigera* negatively affected the biological and nutritional aspects of the species, while *S. frugiperda* did not have its population growth affected, and the diet with lower protein level can be used to reduce the cost of rearing. In order to provide information on the management of these lepidopteran pests, the chemical pesticide flubendiamide (Belt®), the biological NPV-HzSNPV (Diplomata®), NPV-SfMNPV (CartuchoVIT®) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®) and the hexane extract of *P. cubeba*. The extract of *P. cubeba* showed insecticidal activity only for *S. frugiperda* larvae, with mortality of 90,0%, and repellent action for both species. When evaluating the biological parameters and the food consumption utilization indexes under influence of sublethal concentrations (LC₂₅ and LC₁₀), it was found that the pesticides caused changes in the larval and pupal periods, in the pupae weight and fertility, in addition to changes population growth and feeding behavior. The products used did not cause significant mortality in *A. mellifera* by contact, however by ingestion, after 48 hours, there was a higher mortality of honey bees with the *Bt*-based biopesticide, while the lowest percentages of total mortality were observed in the chemical product flubendiamide and the baculovirus, NPV-SfMNPV, also resulting in a higher number of visits and food intake by insects, on the other hand

the lowest values of visit and intake were for the extract of *P. cubeba*. It is hoped that the results obtained in this thesis will provide help to obtain quality insects for researches, in addition to implementing alternatives for the control of *H. armigera* and *S. frugiperda* in cultures of great economic importance, without problems to pollinating bees.

Keywords: Insect rearing, plant extracts, insecticides, toxicity, non-target organism.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma importante praga de diferentes culturas agrícolas no mundo todo. A espécie possui adaptação em diversos ambientes, estabelecendo-se desde regiões tropicais até aquelas de clima temperado, além de apresentar características como polifagia, diapausa facultativa, grande capacidade de dispersão e alto potencial reprodutivo (Fitt, 1989; Kurban et al., 2005).

A lagarta-militar ou lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), é um inseto originário das zonas tropical e subtropical das Américas, que está amplamente distribuído no continente americano (Luginbill, 1928; Cruz, 1995; Moreira et al., 2003). Esse inseto apresenta capacidade de adaptação em diferentes latitudes e longitudes, além de ser polífago, tendo como hospedeiros mais de 300 espécies de plantas, distribuídas em 76 famílias (Silva et al., 1968; Ali et al., 1989; Cruz, 1995; Montezano et al., 2018).

Para a realização de pesquisas básicas e aplicadas em Entomologia, o que inclui o desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), é essencial ter uma metodologia de criação para obtenção do número necessário de insetos de qualidade, evitando que o pesquisador não conheça a procedência dos indivíduos e que fique dependente de seu período de ocorrência (Parra, 2009; De Bortoli et al., 2018). No caso de espécies polífagas devem ser consideradas as diferentes plantas utilizadas para a alimentação, assim como seus teores de proteínas e carboidratos, que estão diretamente relacionados com o desenvolvimento do inseto (Sarate et al., 2012).

As perdas causadas por *H. armigera* em culturas como algodão, soja, milho, feijão e tomate superam o total de US\$ 2 bilhões desde 2012, que é o ano do suposto primeiro surto no Brasil (Lopes-da-Silva et al., 2014). Em relação ao controle de *H. armigera*, o emprego de inseticidas químicos é a principal tática utilizada, por ser, muitas vezes, uma intervenção de ação rápida e de fácil disponibilidade no mercado. Porém, com a pressão de seleção devido ao uso

indiscriminado desses produtos, vários casos de resistência a inseticidas foram relatados no mundo, resultando em controle ineficiente das populações do inseto (Gunning et al., 1998; Martin et al., 2000; Ahmad et al., 2001; Kranthi et al., 2002; Building e Arhabhata, 2007).

Face aos problemas causados pelos inseticidas sintéticos ao ambiente e ao homem, surgiu nas últimas décadas a percepção da necessidade de se desenvolver tecnologias e produtos para o controle de insetos-praga que sejam eficientes, seguros, seletivos aos inimigos naturais, biodegradáveis, viáveis economicamente e com aplicabilidade em programas de MIP (Viegas Júnior, 2003).

O controle biológico de insetos com a utilização de fungos, vírus, bactérias e nematoides entomopatogênicos é uma estratégia importante para o MIP, pois esse método geralmente é seletivo a insetos não alvos, afeta características biológicas e reprodutivas dos insetos-praga, e muitas vezes é compatível com outros métodos de controle, além de normalmente apresentar baixa toxicidade ao homem e outros animais (Alves, 1998). Dentre esses microrganismos, os baculovírus e a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) (Bacillales: Bacillaceae) (*Bt*) possuem eficiência no controle de *H. armigera* e *S. frugiperda*, sendo ferramenta importante frente aos problemas com populações resistentes aos inseticidas químicos (Valicente e Tuelher, 2009; Fathipour e Sedaratian, 2013; Jakka et al., 2014b).

Além de diferentes produtos disponíveis no mercado a base de *B. thuringiensis*, com o avanço da biotecnologia novas técnicas para o controle de pragas foram desenvolvidas, sendo que uma delas foi a introdução de genes dessa bactéria em plantas, o que passou a ser um dos principais métodos de controle utilizados para *S. frugiperda*, reduzindo, conseqüentemente, o uso de inseticidas em campo (Meissle et al., 2010; Benbrook, 2012; Niu et al., 2014). Porém, na última década, os relatos de resistência de *S. frugiperda* às proteínas tóxicas do *Bt* aumentaram devido, principalmente, a má utilização da tecnologia, a grande capacidade reprodutiva do inseto e o curto intervalo entre suas gerações (Shelton et al., 2000; Storer et al., 2010; Tabashnik et al., 2013; Jakka et al., 2014a).

Outra opção para o controle de insetos-praga são os compostos oriundos do metabolismo secundário de plantas, presentes nos diferentes extratos vegetais, em suas combinações ativas isoladas ou em misturas, que podem ter ação inseticida

aguda ou crônica e uma ampla gama de novos sítios de ação nos organismos-alvo, constituindo-se substâncias bioativas normalmente compatíveis com programas de MIP e, deste modo, mesmo que não estejam disponíveis para comercialização, podem colaborar para a síntese de novos inseticidas (Shapiro et al., 1994; Villalobos, 1996; Duke et al., 2000; Medeiros et al., 2005).

Extratos de plantas pertencentes à família Piperaceae, particularmente do gênero *Piper*, o mais representativo da família, possuem relatos de uso que vão da farmacologia à entomologia, apresentando atividade inseticida para coleópteros, hemípteros e lepidópteros da Ordem Noctuidae, incluindo *H. armigera* e *S. frugiperda* (Miranda et al., 2003; Agra et al., 2007; Debonsi et al., 2008; De Castro et al., 2008; Lima et al., 2009; Dos Santos et al., 2017).

Um dos pontos importantes a ser considerado no momento da escolha do produto para o manejo da espécie-praga é a toxicidade para organismos não alvo, como as abelhas, *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). Sabe-se que a população de abelhas está diminuindo no mundo devido a diversos fatores, incluindo o uso de inseticidas, o que afeta direta ou indiretamente a produção de diversos cultivos agrícolas (Potts et al., 2010; Freitas e Pinheiro, 2012; van der Sluijs et al., 2013; Baron et al., 2014; Goulson et al., 2015).

Um programa de MIP para controle de *H. armigera* e de *S. frugiperda* pode se basear em algumas táticas, como a utilização de inseticidas químicos, bioinseticidas à base de vírus e bactérias, além de inseticidas “naturais” extraídos de plantas. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito de diferentes níveis proteicos na dieta artificial para criação destas espécies, determinar o efeito agudo das concentrações letais e os efeitos subletais de inseticidas químicos, biológicos e de extrato de planta em *H. armigera* e *S. frugiperda*, além da toxicidade por contato e ingestão desses produtos para *A. mellifera*, bem como avaliar a fitotoxicidade do extrato em plantas de milho e soja.

2. Revisão de literatura

2.1. Criação de insetos

O desenvolvimento de uma metodologia para criação massal, em condições de laboratório, é um dos grandes desafios encontrados pelos pesquisadores que buscam opções para criação dos insetos, principalmente devido à grande diversidade e características das diferentes espécies (Cohen, 2015). Neste sentido, parte dos estudos realizados devem avaliar o melhor alimento (física e quimicamente) a ser oferecido ao inseto, para que este seja nutricionalmente adequado e proporcione sucesso no estabelecimento de sua metodologia de criação (Simpson et al., 2004; Parra et al., 2010).

Em criações massais, o alimento natural que o inseto consome pode ser substituído por dietas artificiais, uma ferramenta capaz de propiciar a produção de insetos em larga escala, facilitando a realização de estudos em diversas áreas da Entomologia, incluindo o desenvolvimento de programas de MIP (Vanderzant, 1966; Cohen, 2015; De Bortoli et al., 2017).

A primeira espécie de inseto a ser criada com dieta artificial, desde a fase de ovo até a adulta, foi *Calliphora vomitoria* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Calliphoridae), em uma dieta composta por peptona, extrato de carne, amido e minerais, como descrito no trabalho de Bogdanow em 1908 (Thompson e Simpson, 2009). No Brasil, Gallo et al. (1969) foram os primeiros a obterem sucesso na multiplicação de um inseto com dieta artificial, utilizando a fórmula proposta por Hensley e Hammond (1968) para a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).

Uma dieta artificial ideal para criação massal de insetos deve, além de atender às exigências nutricionais, propiciar uma alta viabilidade larval, com sobrevivência superior a 75%, gerar adultos com alta capacidade reprodutiva, manter a qualidade ao longo das gerações, ser de baixo custo e fácil preparo, com ingredientes de fácil aquisição, além de permitir o armazenamento por longos períodos e, se possível, promover o desenvolvimento de diferentes espécies de insetos (Singh, 1983; Parra, 2012).

Dentre os constituintes importantes para a nutrição da maioria das espécies de insetos estão os aminoácidos, como a arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina, que compõem o grupo dos chamados aminoácidos essenciais (House, 1969). Esses aminoácidos possuem importantes funções nos processos metabólicos dos insetos, sendo limitantes para o crescimento/desenvolvimento, devendo ser fornecidos em dietas artificiais por meio de fontes de proteínas como o feijão, a soja, a caseína e o germe de trigo (Vanderzant, 1974; Scriber e Slansky Jr., 1981).

2.2. *Helicoverpa armigera*

Helicoverpa armigera pode se estabelecer de regiões tropicais até aquelas com clima temperado e, devido a essa capacidade, apresenta ampla distribuição na Europa, Ásia, África e Oceania (Zalucki et al., 1986; Fitt, 1989; Guo, 1997; Kurban et al., 2005; Guoqing et al., 2011).

No ano de 2013 esta praga foi detectada em várias regiões agrícolas do Brasil, com relatos de ocorrência nos estados de Goiás, Mato Grosso, Bahia, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, São Paulo e Piauí (Czepak et al., 2013a; Gabriel, 2013). No mesmo ano foi detectada no Paraguai, em 2014 na Argentina, em 2015 nos Estados Unidos e, no ano seguinte no Uruguai (Senave, 2013; Murúa et al., 2014; Aphis, 2015; Castiglioni et al., 2016). Alguns pesquisadores, no entanto, indicam que *H. armigera* já estava presente em território brasileiro desde 2008, porém em baixo nível populacional (Sosa-Gómez et al., 2016).

Helicoverpa armigera pode desenvolver de 2 a 11 gerações por ano, dependendo das condições climáticas, além de ter grande potencial reprodutivo, visto que uma fêmea pode colocar até 3.000 ovos (Shanower e Romeis, 1999; EPPO, 2007). Seus ovos são colocados isolados e preferencialmente à noite, tendo formato oval e coloração branco-amarelada, que se torna marrom-escuro próximo da eclosão das lagartas, que ocorre entre três a sete dias após a postura (EPPO, 1981; Ali et al., 2009; Truzzi et al., 2017).

O estágio larval apresenta de 5 a 6 ínstaes e se prolonga por cerca de 15 dias, sendo que, no primeiro e segundo ínstaes as lagartas são pouco móveis, com coloração variando de amarelo acinzentado a castanho claro, e tamanho de até 5 mm de comprimento. A partir do terceiro ínstar larval, começa ocorrer grande variação na coloração das lagartas, podendo ser de marrom alaranjado a castanha escuro no início do período, se tornando mais clara com o desenvolvimento. No quarto ínstar apresenta o primeiro segmento abdominal em formato de “sela”, devido à presença de tubérculos escuros, bem visíveis. No quinto e sexto ínstaes, a coloração do corpo pode ser marrom ou verde, podendo chegar a 34 mm de comprimento (Hardwick, 1965; EPPO, 1981; Czepak et al., 2013b; Guedes et al., 2013; Santos, 2016). Outra característica marcante das lagartas é que, quando perturbadas, encurvam a cápsula cefálica até o primeiro par de falsas pernas (Czepak et al., 2013a) (Figura 1).

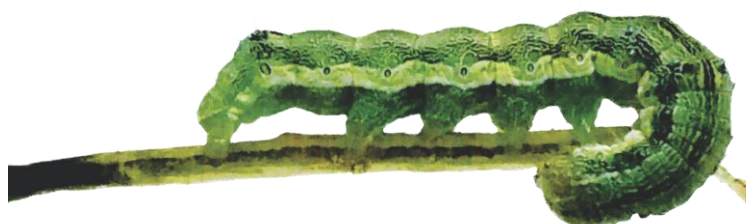


Figura 1. Lagarta de *Helicoverpa armigera* (Foto: Caio Cesar Truzi).

A pupa de *H. armigera* é do tipo obtecta e ocorre no solo, com duração de 10 a 14 dias, podendo entrar em diapausa conforme as condições climáticas (Ali et al., 2009; Truzi et al., 2017). No início do período, as pupas possuem coloração verde-claro, porém com a evolução do processo de esclerotização ao fim de 24 horas, passam a apresentar coloração marrom-mógn, com formato fusiforme e comprimento variando entre 12 a 20 mm (Dias, 2005; Ali et al., 2009).

O adulto apresenta nas margens das asas anteriores uma linha em posição superior com sete a oito manchas, além de uma faixa marrom ampla, irregular e transversal; na parte central ocorre uma marca em forma de vírgula. As asas posteriores são mais claras e na extremidade apical apresentam uma borda marrom escura, com uma mancha clara no centro (EPPO, 1981). As fêmeas vivem em média

entre 8,2 e 11,7 dias, enquanto os machos têm longevidade de 7,5 a 9,2 dias (Ali et al., 2009; Truzzi et al., 2017).

Uma importante característica de *H. armigera* é a polifagia, sendo relatada sua ocorrência em mais de 200 espécies de plantas, cultivadas ou não, pertencentes a cerca de 45 famílias (Reed e Pawar, 1982; Pawar et al., 1986; Fitt, 1989; Pogue, 2004; Ali et al., 2009). A espécie foi encontrada em alfafa, algodão, amendoim, batata, canola, crotalária, feijão, fumo, girassol, grão-de-bico, guandu, linhaça, milho, milheto, nabo forrageiro, soja, sorgo, tabaco, tomate, trigo, pastagens, algumas espécies dos gêneros *Prunus* e *Citrus*, couve-flor e repolho (Chandra e Rai, 1974; Gahukar, 2002; Multani e Sohi, 2002; Kakimoto et al., 2003; EPPO, 2007; Guedes et al., 2013; Bueno e Castro, 2014; Salvadori e Suzana, 2014; Pratissoli et al., 2015).

O ciclo completo de desenvolvimento de *H. armigera* se dá em cerca de 30 a 40 dias, variando com o hospedeiro e com as condições climáticas (Guedes et al., 2013; Truzzi et al., 2017). As lagartas de *H. armigera* causam danos pela alimentação em órgãos vegetativos, como folhas e hastes, além de estruturas reprodutivas, como botões florais, frutos, maçãs, espigas e inflorescências, podendo causar deformações, podridões e até a queda destas estruturas (Cunningham et al., 1999).

2.3. *Spodoptera frugiperda*

Spodoptera frugiperda é originária das zonas tropicais e subtropicais das Américas, com ampla distribuição no continente americano, sendo encontrada da Argentina até a região sul dos Estados Unidos e, no final do inverno americano, pode alcançar a região norte do país e o sul do Canadá (Luginbill, 1928; Cruz, 1995; Moreira et al., 2003; Nagoshi e Meagher, 2008). Em 2016 foi constatada na África e, em 2018, na Índia, ampliando sua área de ocorrência rapidamente e também se tornando uma grande ameaça aos cultivos dessas regiões (Goergen et al., 2016; Stokstad, 2017; Ganiger et al., 2018).

No Brasil, os primeiros relatos desse inseto ocorreram nos estados de Pernambuco, Distrito Federal, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, porém devido à disponibilidade de alimento e das

condições ambientais favoráveis durante todo o ano, ampliou sua ocorrência para todo o território nacional (Leiderman e Sauer, 1953; Cruz, 1995; Cruz et al., 2013).

Os ovos de *S. frugiperda* têm formato circular em vista superior e oblonga esferoidal visto de perfil, sendo colocados agrupados em massas de 50 a 300 ovos, em camadas sobrepostas, que pode variar de uma a quatro, além de serem cobertos por escamas. Os ovos são inicialmente de coloração verde-clara, passando a cor alaranjada e, posteriormente, quando próximos da eclosão das lagartas, que ocorre de 3 a 5 dias após a oviposição, ficam escurecidos (Cruz, 1995; Murúa e Virila, 2004; Cruz et al., 2008).

A fase larval apresenta 6 ínstaes e se completa em 12 a 30 dias, dependendo da temperatura e do substrato alimentar (Cruz, 1995; Murúa e Virila, 2004). As lagartas recém-eclodidas se alimentam primeiramente do cório do ovo antes de procurar alimento vegetal, apresentando coloração esbranquiçada, com tamanho aproximado de 1,9 mm (Cruz, 1995; Busato et al., 2004). No segundo ínstar permanecem com a coloração esbranquiçada e apresentam uma mancha marrom clara no dorso; no terceiro ínstar passam a ter coloração marrom-clara dorsalmente e esverdeada ventralmente, com comprimento médio entre 6,3 e 6,5 mm. No quarto e quinto ínstaes as lagartas apresentam coloração dorsal marrom-escura e a cabeça marrom-avermelhada, alcançando cerca de 18 mm de comprimento (Cruz, 1995; Ávila et al., 1997; Pogue, 2002). No último ínstar têm coloração marrom-acinzentada dorsalmente, podendo chegar a 35 mm de comprimento. As características que diferenciam *S. frugiperda* de outros gêneros são as suturas da cabeça que formam um “Y” invertido, além dos quatro tubérculos dispostos em forma de trapézio nos segmentos abdominais (Cruz, 1995; Pogue, 2002; Valicente, 2015) (Figura 2).



Figura 2. Lagarta de *Spodoptera frugiperda* (Foto: Caio Cesar Truzzi).

A pupa de *S. frugiperda* é do tipo obtecta, ocorrendo no solo e com duração de 8 a 25 dias, variação essa em função principalmente da temperatura. No início desta fase as pupas apresentam coloração verde-claro, porém vão escurecendo com o passar do tempo, ficando quase pretas próximo à emergência do adulto. Tem formato fusiforme, com cremáster consistindo de dois espinhos pequenos e comprimento entre 13 a 16 mm (Cruz, 1995; Valicente, 2015).

Na fase adulta as fêmeas apresentam as asas anteriores cinza-claro, enquanto as posteriores são esbranquiçadas com uma fina linha escura na margem externa. Os machos possuem as asas posteriores semelhantes às das fêmeas e as anteriores de coloração cinza-escura, com uma mancha clara e ovalada na região mediana, que se une na metade das asas a outra em forma de “V”. Os adultos podem alcançar 45 mm de envergadura e 25 mm de comprimento, vivendo em torno de 13 dias, podendo colocar até 2.000 ovos (King e Saunders, 1984; Cruz, 1995; Pogue, 2002; Cruz et al., 2008).

Spodoptera frugiperda é uma das principais pragas da cultura do milho e tem adquirido maior importância na soja pela frequente ocorrência. É um inseto polífago que, além dessas duas culturas, tem mais de 300 espécies de plantas como hospedeiros, como milheto, trigo, sorgo, arroz, cana-de-açúcar, algodão, feijão, amendoim, batata, tomate, couve e repolho, distribuídas em cerca de 76 famílias (Silva et al., 1968; Ali et al., 1989; Cruz, 1995; Barros et al., 2010; Farias, 2010; Papa e Celoto, 2011; Montezano et al., 2018). O ciclo completo de desenvolvimento de *S. frugiperda* se dá em 30 a 40 dias, dependendo da alimentação, temperatura e umidade, podendo desenvolver de 6 a 9 gerações por ano (Valverde et al., 1995; Murúa e Virla, 2004; Afonso et al., 2009).

Na cultura do milho, onde é considerada praga-chave, pode reduzir a produção em até 20%, devido à alimentação nas folhas, sendo que, no primeiro ínstar, são capazes apenas de raspar uma das faces das folhas, enquanto nos ínstars seguintes conseguem perfurar as folhas, dirigindo-se ao “cartucho” da planta, onde podem destruí-lo completamente quando alcançam o quarto e quinto ínstars. A lagarta também é capaz de penetrar no colmo, fazer galerias e prejudicar o crescimento da planta, ocasionando o sintoma conhecido como “coração morto”, além de também poder danificar a espiga no estágio final da cultura. Ainda, pode

causar danos quando ocorre na fase inicial de desenvolvimento da cultura, provocando o corte total ou parcial da base do colmo, o que pode resultar na morte das plantas recém germinadas (Cruz, 1995; Casmuz et al., 2010; Grigolli e Lourenção, 2013).

2.4. Manejo Integrado de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda*

Segundo Kogan (1998), MIP consiste de um “sistema de decisão para uso de táticas de controle, isoladas ou associadas harmoniosamente, numa estratégia de manejo baseada em análises de custo/benefício que levam em conta o interesse e/ou impacto nos produtores, sociedade e ambiente”.

Para a tomada correta de decisão é necessário a realização de monitoramento e identificação da espécie, sendo que no caso da *H. armigera* pode ser realizado o monitoramento de adultos por meio de armadilhas luminosas ou de feromônio sexual, sendo que a utilização de feromônio pode ser mais eficiente devido a especificidade, o que resulta em maior facilidade na contagem e identificação dos insetos (Hartstack et al., 1973; Klun et al., 1979; Ávila et al., 2013; Fathipour e Sedaratian, 2013). Outra alternativa é a observação e contagem do número de lagartas nas plantas (van Hamburg, 1981; Rogers e Brier, 2010; Ávila et al., 2013). Para *S. frugiperda*, o monitoramento pode ser realizado com a captura de adultos em armadilhas com feromônio sexual ou através da avaliação de danos em plantas (Davis et al., 1992; Batista-Pereira et al., 2006b). A avaliação visual de danos na cultura do milho é baseada na escala proposta por Davis et al. (1992) composta por notas relativas a intensidade da injúria nas folhas do cartucho, sendo que as notas variam de 0 (nenhum sintoma) até 9 (sintomas severos/cartucho destruído).

Após a determinação do nível populacional, deve-se escolher o melhor método de controle e a época de sua implementação, considerando o nível de ação para a espécie-praga na cultura hospedeira (Pedigo et al., 1986; Fathipour e Sedaratian, 2013). Este nível indica o momento economicamente correto para que um método de controle seja realizado, evitando, assim, que a população do inseto

atinja níveis que resultem danos econômicos significativos à cultura (Pedigo et al., 1986).

2.4.1. Controle químico

Dentre as táticas de controle do MIP, a principal utilizada para *H. armigera* e *S. frugiperda* é a utilização de inseticidas químicos, por ser, muitas vezes, uma intervenção de ação rápida e de fácil disponibilidade no mercado. Esses produtos normalmente são organofosforados, carbamatos, piretroides e espinosinas. Entretanto, o uso indiscriminado dos mesmos provoca pressão de seleção nos insetos, o que já resultou em seleção de resistência de diversas pragas a esses produtos em várias regiões do mundo, não produzindo um controle eficiente das populações dos insetos-praga. Adicionalmente, os inseticidas sintéticos passaram a contaminar o ambiente por persistirem na natureza como resíduos tóxicos muito além do tempo desejado (Gunning et al., 1998; McCaffery, 1998; Ndumu, 1999; Martin et al., 2000; Ahmad et al., 2001; Kranthi et al., 2002; Building e Arhabhata, 2007; Fathipour e Sedaratian, 2013; Valicente, 2015).

Devido aos relatos de resistência a inseticidas como piretroides, carbamatos e organofosforados, *H. armigera* é conhecida como uma praga de difícil controle em diversos países (Armes et al., 1992; Ahmad et al., 2001; Kranthi et al., 2002). No Brasil, após a espécie ser detectada, foi realizado o registro emergencial de inseticidas, porém alguns desses produtos, como espinosade e metomil, não têm se mostrado eficientes para o seu controle (Embrapa, 2013; Gadhiya et al., 2014; Hussain et al., 2015; Vivan et al., 2017). Para *S. frugiperda* há relatos de resistência a diversos grupos químicos, como organofosforados, piretroides, carbamatos, benzoilfeniluréias e espinosinas (Omoto et al., 2000; Yu et al., 2003; Yu, 2006; Yu e McCord, 2007; Ríos-Díez e Saldamando-Benjumea, 2011; Carvalho et al., 2013).

Para evitar ou retardar a seleção de populações resistentes, algumas estratégias de manejo devem ser adotadas, incluindo aplicações de produtos apenas quando o nível populacional da praga atingir o nível de controle; utilizar inseticidas, em rotação de grupos químicos e modos de ação diferentes; utilizar inseticidas seletivos aos inimigos naturais presentes na área; e associar o controle

químico ao biológico (Desneux et al., 2007; Gentz et al., 2010; Rogers e Brier, 2010; Fathipour e Sedaratian, 2013; Laurentis, 2017).

As diamidas derivadas do ácido ftálico apresentam características importantes para o MIP, como alta eficiência de controle e relativa segurança para inimigos naturais de insetos (Lahm et al., 2009; Brugger et al., 2010). Além disso, essas diamidas não induziram respostas em células de ratos, devido à divergência estrutural entre os receptores de mamíferos e de insetos (Ebbinghaus-Kintscher et al., 2006; Sattelle et al., 2008). Portanto, inseticidas do grupo químico das diamidas são considerados menos tóxicos ao homem e aos agentes de controle biológico, quando comparado aos demais grupos.

A descoberta dessas moléculas aconteceu durante a década de 1940, com estudos realizados a partir de extratos da casca de *Ryania speciosa* Vahl, 1796 (Malpighiales: Salicaceae), uma planta nativa da América do Sul e Central, onde foram identificadas uma série de moléculas com atividade inseticida, denominadas rianoides, que possuem ação paralisante (Edwards et al., 1948; Ware, 1982; Jefferies et al., 1997). Dentre os rianoides descobertos, a rianodina apresentou afinidade a canais de Ca^{2+} , culminando no desenvolvimento das diamidas derivadas do ácido ftálico, que são moléculas com atuação nos receptores da rianodina (Campbell et al., 1987; Sattelle et al., 2008).

As diamidas do ácido ftálico provocam um rápido aumento na concentração de cálcio citosólico livre nos neurônios, por agirem diretamente no início da contração muscular (Cordova et al., 2006; Lahm et al., 2007). Devido ao efeito das diamidas, o inseto cessa a alimentação, fica paralisado e, em consequência, morre (Hannig et al., 2009).

2.4.2. Controle biológico com entomopatógenos

O controle biológico é uma das táticas de controle do MIP, envolvendo a utilização de predadores, parasitoides e entomopatógenos. Esse método de controle é importante para o manejo de *H. armigera* e *S. frugiperda*, devido particularmente a existência de populações resistentes aos inseticidas sintéticos e por poder ser utilizado em associação com outros tipos de controle, o que tem tornado

fundamental o emprego de bioinseticidas no manejo dessas pragas (Polanczyk e Alves, 2005; Valicente e Tuelher, 2009; Fathipour e Sedaratian, 2013; Valicente, 2015; Souza et al., 2017).

A bactéria *B. thuringiensis* é, dentre os entomopatógenos, a mais estudada e utilizada no MIP (Bravo et al., 2011). Durante a esporulação e/ou fase estacionária, esse microrganismo produz cristais proteicos que atuam na fase larval dos lepidópteros e que, após a ingestão, são solubilizados no intestino médio ocorrendo a ativação das toxinas (proteínas Cry). Essas toxinas se ligam a receptores específicos localizados no epitélio intestinal dos insetos, formando poros que favorecem o extravasamento do conteúdo intestinal para a hemocoele. Com isso, a lagarta cessa a alimentação e morre (Knowles, 1994; Copping e Menn, 2000; Bravo et al., 2007).

Alguns estudos comprovaram a eficiência desse microrganismo no controle das lagartas de *H. armigera* e *S. frugiperda*, além de citarem a ocorrência de efeitos subletais, os quais normalmente prejudicam o desenvolvimento do inseto. Para se conseguir o melhor controle desses insetos, é importante considerar o tamanho dos mesmos, visto que lagartas recém-eclodidas são mais suscetíveis do que as de segundo ínstar ou mais velhas (Avilla et al., 2005; Li e Bouwer, 2012; Ríos-Díez et al., 2012; Fathipour e Sedaratian, 2013).

Entretanto, também existem relatos de resistência de *H. armigera* a proteínas de *B. thuringiensis* e, no caso da *S. frugiperda*, ocorre resistência principalmente a plantas *Bt*, devido à pressão de seleção que ocorre pela exposição contínua a essas plantas, propiciando um cenário favorável para evolução da resistência, caso as estratégias de prevenção não sejam devidamente implementadas (Gunning et al., 2005; Alvi et al., 2012; Bernardi, 2012; Omoto et al., 2016).

Os baculovírus são os mais estudados dentre os grupos de vírus entomopatogênicos, sendo a família deste grupo composta pelos nucleopoliedrovírus (NPV) e granulovírus (GV), os quais são diferenciados pelos seus corpos de oclusão. Após a ingestão desses corpos de oclusão, sua matriz proteica é dissolvida no intestino médio, devido ao pH alcalino, ocorrendo então a liberação dos vírions, que penetram nas células epiteliais do intestino médio e são transportados para o núcleo, onde liberam seu DNA, iniciando o processo de

replicação viral. Este processo produz a forma não oclusa que passa a infectar os outros tecidos do inseto. A forma oclusa é produzida apenas nos estágios finais de infecção viral, quando ocorre a produção dos poliedros, sendo que nos estágios finais, ocorre a ruptura das células e a liberação desses poliedros no ambiente, devido a morte do inseto e a liquefação de seus tecidos corpóreos (Martignoni e Iwai, 1986; Federici, 1997; Bueno et al., 2012; Haase et al., 2015).

Alguns pesquisadores constataram eficiente controle de *H. armigera* e *S. frugiperda* por baculovirus, sendo importante ressaltar que os melhores resultados são obtidos com lagartas menores, principalmente de primeiro e segundo ínstares (Moore et al., 2004; Jeyarani et al., 2010; Souza et al., 2017; Cuartas-Otálora et al., 2019).

2.4.3. Extrato de plantas

A utilização de extratos vegetais que contêm compostos oriundos do metabolismo secundário de plantas, suas combinações ativas isoladas ou em misturas, que podem apresentar ação inseticida aguda ou crônica, capaz de causar a morte, repelir ou inibir a oviposição do inseto, além de alterar os sistemas de alimentação e hormonal, podendo se tornar uma alternativa viável para o MIP (Copping e Menn, 2000; Nascimento et al., 2003; Navickiene et al., 2007; Messiano et al., 2008; Vieira et al., 2009; Vendramini et al., 2012; Hsu et al., 2013).

Desses extratos podem ser obtidos inseticidas botânicos naturais para o uso direto no controle de pragas ou, ainda, possibilitar a descoberta de novas moléculas que permitirão a formulação de produtos sintéticos (Shapiro et al., 1994; Villalobos, 1996; Duke et al., 2000; Medeiros et al., 2005). Além disso, a utilização desses produtos poderá contribuir para a redução das doses ou aplicações de inseticidas químicos utilizados na agricultura, reduzir a contaminação do ambiente, bem como tornar mais lento a seleção de populações resistentes dos insetos (Machado et al., 2007; Oliveira et al., 2007).

Os inseticidas naturais foram largamente utilizados para o controle de pragas até a década de 1940, quando, devido ao incremento das pesquisas com agroquímicos, os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço (Pires, 1978;

Corrêa, 2006). Desde a Idade Antiga foram empregadas mais de 2000 espécies de plantas para combater insetos, porém poucas foram e são exploradas comercialmente, podendo-se citar aquelas que apresentam em sua composição piretrinas, rotenoides e alcaloides (Addor, 1994). Esses extratos podem ser utilizados associados com outros métodos de controle, podendo concorrer para a manutenção do equilíbrio ambiental, não deixando resíduos e não apresentando ação tóxica a outros animais, incluindo o homem, reduzindo os efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada dos inseticidas organossintéticos.

Na família Piperaceae, o gênero *Piper* é o mais representativo, com mais de 1000 espécies de plantas que crescem como ervas, arbustos ou árvores (Junqueira et al., 2007). Extratos de plantas deste gênero, assim como outros da família Piperaceae, possuem relatos de uso que vão desde a farmacologia até a entomologia, como substâncias que apresentam atividade biológica, particularmente como inseticidas para coleópteros, hemípteros e lepidópteros da Ordem Noctuidae, incluindo *H. armigera* e *S. frugiperda* (Agra et al., 2007; De Castro et al., 2008; Lima et al., 2009; Dos Santos et al., 2017).

A pimenta cubeba, *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae), caracteriza-se pela produção de compostos como amidas, ácidos benzoicos, lignanas e alcaloides, apresentando relatos de utilização para fins medicinais, como no tratamento de diversas doenças, tendo ação anti-inflamatória (Lago et al., 2004; Elfahmi et al., 2007; Aneja et al., 2010). A piperina é uma das amidas isoladas de *Piper* spp., substância que apresenta atividade inseticida relatada contra lepidópteros, incluindo *S. frugiperda* (Estrela et al., 2003; Batista-Pereira et al., 2006a).

O extrato hexânico de frutos de *P. cubeba* já foi avaliado para adultos de *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) e *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae), apresentando ação inseticida quando aplicado de topicamente em concentrações acima de 30 µg/inseto. Além da ação inseticida, o extrato e, principalmente, o fruto em pó, apresenta repelência para *S. oryzae* quando aplicado em plantas de trigo (Su, 1990).

Uma das limitações para a utilização de extratos é a fitotoxicidade que pode ser ocasionada, sendo que na maioria das vezes há carência de informações a esse

respeito (Isman et al., 1990; Costa et al., 2004). Deste modo, além de verificar a atividade inseticida do extrato, é importante também avaliar possíveis efeitos da aplicação sobre a planta hospedeira da praga.

2.5. Efeito de inseticidas em abelhas

Os insetos polinizadores dependem da vegetação e do ambiente para sobrevivência, portanto, como os inseticidas utilizados representam fonte direta de contaminação dos sistemas agrícolas rotineiramente explorados e visitados pelos polinizadores, as abelhas podem entrar em contato com esses produtos de forma direta ou pela ingestão de recursos contaminados, como néctar, pólen, resinas e água (Freitas e Pinheiro, 2012).

Dentre os insetos mais importantes para a polinização de culturas agrícolas encontra-se a abelha, *A. mellifera* (Garibaldi et al., 2013), existindo relatos recentes e frequentes de que a população desses insetos vem diminuindo em todo o mundo, sendo que as evidências sugerem que isso vem ocorrendo devido à combinação de fatores bióticos e abióticos, com uma das causas sendo o uso indiscriminado de inseticidas (Potts et al., 2010; Lebuhr et al., 2013; Pettis et al., 2013; van der Sluijs et al., 2013; Baron et al., 2014; Goulson et al., 2015).

Além da morte das abelhas, a contaminação pelos inseticidas pode prejudicar o forrageamento, reduzir a longevidade e o peso dos insetos e afetar a vitalidade da colônia, além de resultar em mudanças comportamentais e fisiológicas, afetando os produtos apícolas e, de maneira indireta, ocasionando redução na produção de diversas culturas agrícolas por problemas com a polinização (Colin et al., 2004; Pettis et al., 2004; Beliën et al., 2009; Freitas e Pinheiro, 2012).

Os problemas causados particularmente pelos inseticidas químicos aos organismos não alvo, incluindo as abelhas, estimularam o uso de produtos naturais, por exemplo inseticidas botânicos, como uma alternativa no controle de pragas (Copping e Menn, 2000; Duke et al., 2000; Biondi et al., 2012; Decourtye et al., 2013). Entretanto, apesar de vários estudos com diferentes extratos de plantas em insetos-praga, seus efeitos em outros organismos necessitam de novas pesquisas (Xavier et al., 2015).

3. Referências

Addor RW (1994) Insecticides. In.: Godfrey CRA (Eds.) **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcel Dekker, p. 1-62.

Afonso APS, Wrege M, Martins JFS, Nava DE (2009) Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. **Arquivos do Instituto Biológico** 76:607-612.

Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM (2007) Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 17:114-140. DOI: 10.1590/S0102-695X2007000100021

Ahmad M, Arif MI, Zahoor A (2001) Resistance to carbamate insecticides in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. **Crop Protection** 20:427-432. DOI: 10.1016/S0261-2194(00)00168-X

Ali A, Luttrell RG, Pitre HN, Davis FM (1989) Distribution of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses on cotton. **Environmental Entomology** 18:881-885. DOI: 10.1093/ee/18.5.881

Ali A, Choudhury RA, Ahmad Z, Rahman F, Khan FR, Ahmad SK (2009) Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection** 4:99-106.

Alves SB (1998) Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In.: Alves SB (Eds.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 21-38.

Alvi AHK, Sayyed AH, Naeem M, Ali M (2012) Field evolved resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in Pakistan. **PLoS ONE** 7:e47309. DOI: 10.1371/journal.pone.0047309

Aneja KR, Joshi R, Sharma C, Aneja A (2010) Antimicrobial efficacy of fruit extracts of two *Piper* species against selected bacterial and oral fungal pathogens. **Brazilian Journal of Oral Sciences** 9:421-426. DOI: 10.20396/bjos.v9i4.8641724

Aphis - Animal and plant health inspection service (2015) For information and action, 2015. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/owb/downloads/DA-2015-43.pdf>. Acesso em: 06 jul. 2017.

Armes NJ, Jadhav DR, Bond GS, King ABS (1992) Insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* in South India. **Pesticide Science** 34:355-364. DOI: 10.1002/ps.2780340409

Ávila CJ, Degrande PE, Gomez AS (1997) **Insetos-pragas: reconhecimento, comportamento, danos e controle**. Dourados: EMBRAPA/CPAO, 5 p. (Circular Técnica, 5).

Ávila CJ, Vivan LM, Tomquelski GV (2013) **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas**. Dourados: EMBRAPA/CPAO, 12 p. (Circular Técnica, 23).

Avilla C, Vargas-Osuna E, Gonzalez-Cabrera J, Ferre J, Gonzalez-Zamora JE (2005) Toxicity of several δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Spain. **Journal of Invertebrate Pathology** 90:51-54. DOI: 10.1016/j.jip.2005.04.003

Baron GL, Raine NE, Brown MJF (2014) Impacto of chronic exposure to a pyrethroid pesticide on bumblebees and interactions with a trypanosome parasite. **Journal of Applied Ecology** 51:460-469. DOI: 10.1111/1365-2664.12205

Barros EM, Torres JB, Bueno AF (2010) Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology** 39:996-1001. DOI: 10.1590/S1519-566X2010000600023

Batista-Pereira LG, Castral TC, Silva MTM, Amaral BR, Fernandes JB, Vieira PC, Silva MFGF, Corrêa AG (2006a) Insecticidal activity of synthetic amides on *Spodoptera frugiperda*. **Zeitschrift für Naturforschung C** 61:196-202. DOI: 10.1515/znc-2006-3-408

Batista-Pereira LG, Stein K, Paula AF, Moreira JA, Cruz I, Figueiredo MLC, Perri Jr. J, Corrêa AL (2006b) Isolation, identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the brazilian population of *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Chemical Ecology** 32:1085-1099. DOI: 10.1007/s10886-006-9048-5

Beliën T, Kellers J, Heylen K, Keulemans W, Billen J, Arckens L, Huybrechts R, Gobin B (2009) Effects of sublethal doses of crop protection agents on honey bee (*Apis mellifera*) global colony vitality and its potential link with aberrant foraging activity. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences** 74:245-253.

Benbrook CM (2012) Impacts of genetically engineered crops on pesticide use in the U.S. – the first sixteen years. **Environmental Sciences Europe** 24:1-13. DOI: 10.1186/2190-4715-24-24

Bernardi O (2012) **Avaliação do risco de resistência de lepidópteros-praga (Lepidoptera: Noctuidae) à proteína Cry1Ac expressa em soja MON 87701 x MON 89788 no Brasil**. 144 f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Biondi A, Mommaerts V, Smagghe G, Viñuela E, Zappalà L, Desneux N (2012) The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. **Pest Management Science** 68:1523-1536. DOI: 10.1002/ps.3396

Bravo A, Gill SS, Soberón M (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon** 49:423-435. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022

Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill SS, Soberón M (2011) *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 41:423-431. DOI: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006

Brugger KE, Cole PG, Newman IC, Parker N, Scholz B, Suvagia P, Walkerf G, Hammond TG (2010) Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps. **Pest Management Science** 66:1075-1081. DOI: 10.1002/ps.1977

Bueno AF, Sosa-Gómez DR, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F, Bueno RCOF (2012) Inimigos naturais das pragas da soja. In.: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira, BS, Moscardi F (Eds.) **Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, p. 493-630.

Bueno AF, Castro C de (2014) O manejo integrado de pragas na cultura do girassol. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, p. 55-64.

Building BM, Arhabhata S (2007) Status of insecticide resistance in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). **Journal of Central European Agriculture** 8:171-182. DOI: 10.5513/jcea.v8i2.449

Busato GR, Grützmacher AD, Oliveira AC, Vieira EA, Zimmer PD, Kopp MM, Bandeira JM, Magalhães TR (2004) Análise da estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) associadas às culturas de milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology** 31:525-529. DOI: 10.1590/S1519-566X2004000600008

Campbell KP, Knudson CM, Imagawa T, Leung AT, Sutko JL, Kahl SD, Raab CR, Madson L (1987) Identification and characterization of the high affinity [3H]Ryanodine receptor of the junctional sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release channel. **Journal of Biological Chemistry** 262:6460-6463.

Carvalho RA, Omoto C, Field LM, Williamson MS, Bass C (2013) Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS ONE** 8:e62268. DOI: 10.1371/journal.pone.0062268

Casmuz A, Juárez ML, Socías MG, Murúa MG, Prieto S, Medina S, Willink E, Gastaminza G (2010) Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina** 69:209-231.

Castiglioni E, Clérison RP, Chiaravalle W, Jonas AA, Ugalde G, Jerson VCG (2016) Primer registro de ocurrencia de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) en soja, en Uruguay. **Agrociencia** 20:31-35.

Chandra BKN, Rai OS (1974) Two new ornamental host plants of *Heliothis armigera* Hubner in India. **Indian Journal of Horticulture** 31:198.

Cohen AC (Eds.) (2015) **Insect diets: Science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 473p.

Colin ME, Bonmatin JM, Moineau I, Gaimon C, Brun S, Vermandere JP (2004) A method to quantify and analyse the foraging activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology** 47:387-395. DOI: 10.1007/s00244-004-3052-y

Copping LG, Menn JJ (2000) Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science** 56:651-676. DOI: 10.1002/1526-4998(200008)56:8<651::AID-PS201>3.0.CO;2-U

Cordova D, Benner EA et al. (2006) Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84:196-214. DOI: 10.1016/j.pestbp.2005.07.005

Corrêa RS (2006) **Toxicidade de extratos de *Lonchocarpus floribundus* Benth (timbó) sobre *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (pulgão preto do Citros) (Sternorrhyncha: Aphididae)**. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

Costa ELN, Silva RFP, Fiuza LM (2004) Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia** 26:173-185.

Cruz I (1995) **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS, 45 p. (Circular Técnica, 21).

Cruz I, Valicente FH, Santos JP, Waquil JM, Viana PA (2008) Pragas do milho. In.: Cruz I (Eds.) **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 17-120.

Cruz I, Valicente FH, Viana PA, Mendes SM (2013) **Risco potencial das pragas de milho e de sorgo no Brasil**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 40 p. (Documentos, 150).

Cuartas-Otálora PE, Gómez-Valderrama JA, Ramos AE, Barrera-Cubillos, GP, Villamizar-Rivero LF (2019) Bio-insecticidal potential of nucleopolyhedrovirus and granulovirus mixtures to control the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Viruses** 11:1-14. DOI: 10.3390/v11080684.

Cunningham JP, Zalucki MP, West SA (1999) Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behavior and control of a polyphagous pest. **Bulletin of Entomological Research** 89:201-207. DOI: 10.1017/S0007485399000310

Czepak C, Albernaz KC, Vivan LM, Guimarães HO, Carvalhais T (2013a) Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 43:110-113. DOI: 10.1590/S1983-40632013000100015

Czepak C, Ávila CJ, Vivan LM, Albernaz KC (2013b) Praga da vez. **Cultivar Grandes Culturas** 176:4-11.

Davis FM, Ng SS, Williams WP (1992) **Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm**. Mississippi: MAFES/MSU, 9 p. (Technical Bulletin, 186).

Debonsi HM, Miranda JE, Murata AT, De Bortoli SA, Kato MJ, Bolsani VS, Furlan M (2008) Isobutyl amides – potente compounds for controlling *Diatraea saccharalis*. **Pest Management Science** 65:47-51. DOI:10.1002/os.1643

De Bortoli SA, Truzzi CC, Nunes GS, Magalhães GO, Vieira NF, Santos NA, Cardoso CP (2018) Criação de insetos para pesquisa e alimentação. In.: Castilho RC, Truzzi CC, Pinto CPG (Eds.) **Tópicos em entomologia agrícola - XI**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., p. 13-40.

De Bortoli SA, Vacari AM, De Bortoli CP (2017) Criação de insetos: Passado, presente e futuro. In.: Castilho RC, Barilli DR, Truzzi CC (Eds.) **Tópicos em entomologia agrícola - X**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., p. 13-26.

Decourtye A, Henry M, Desneux N (2013) Overhaul pesticide testing on bees. **Nature** 497:188. DOI: 10.1038/497188a

Desneux N, Decourtye A, Delpuech J (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440

Duke SO, Dayan FE, Rimando AM (2000) Natural products and herbicide discovery. In.: Cobb AH, Kirkwood RC (Eds.) **Herbicides and their mechanisms of action**. Sheffield: Sheffield Academic Press, p. 105-133.

De Castro MJP, Da Silva PHS, Pádua LEM (2008) Atividade de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista Ciência Agronômica** 39:437-442.

Dias R (2005) **Limitação natural de *Helicoverpa armigera* (Hbn) em tomate indústria no Ribatejo**: parasitoides e predadores. 70 f. Relatório (Trabalho de Graduação em Engenharia Agrônômica) - Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Dos Santos TLB, Turchen LM, Dall'Oglio EL, Butnariu AR, Pereira MJB (2017) Phytochemical of *Piper* essential oil and acute toxicity against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 12:484-489. DOI: 10.5039/agraria.v12i4a5482

Ebbinghaus-Kintscher U, Luemmen P, Lobitz N, Schulte T, Funke C, Fischer R, Masaki T, Yasokawa N, Tohnishi M (2006) Phthalic acid diamides activate ryanodine sensitive Ca^{2+} release channels in insects. **Cell Calcium** 39:21-33. DOI: 10.1016/j.ceca.2005.09.002

Edwards GA, Weiant EA, Slocombe AG (1948) The action of ryanodine on the contractile process in striated muscle. **Science** 108:330-332. DOI: 10.1126/science.108.2804.330

Elfahmi, Ruslan K, Batterman S, Bos R, Kayser O, Woerdenbag HJ, Quax WJ (2007) Lignan profile of *Piper cubeba*, an Indonesian medicinal plant. **Biochemical Systematics and Ecology** 35:397-402. DOI: 10.1016/j.bse.2007.01.003

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (2013) Ações emergenciais propostas pela Embrapa para o manejo integrado de *Helicoverpa* spp. em áreas agrícolas. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/10180/1602515/A%C3%A7%C3%B5es+emergenciais+propostas+pela+Embrapa+-+Documento+oficial/3a569ce1-c132-4bfa-8314-bc993ce8b920>>. Acesso em: 08 mai. 2018.

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization (1981) **Data sheets on quarantine organisms n°110: *Helicoverpa armigera***. Paris: EPPO. (Bulletin, 11).

EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization (2007) Data sheets on quarantine pests: *Helicoverpa armigera*. Disponível em <http://www.eppo.int/QUARANTINE/insects/Helicoverpa_armigera/HELIAR_ds.pdf>. Acesso em: 06 jul. 2017.

Estrela JLV, Guedes RNC, Maltha CRA, Fazolin M (2003) Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 32:343-346. DOI: 10.1590/S1519-566X2003000200022

Farias JR (2010) **Milho Bt e inseticidas no manejo de lepidópteros-praga**. 116 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

Fathipour Y, Sedaratian A (2013) Integrated management of *Helicoverpa armigera* in soybean cropping systems. In.: El-Shemy H (Eds.) **Soybean – Pest resistance**. Cairo: InTech, p. 231-280.

Federici BA (1997) Baculovirus pathogenesis. In.: Miller LK (Eds.) **The baculoviruses**. New York: Plenum Press, p. 33-59.

Fitt GP (1989) The ecology of *Heliothis* in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology** 34:17-52. DOI: 10.1146/annurev.en.34.010189.000313

Freitas BM, Pinheiro JN (2012) **Polinizadores e pesticidas: Princípios e manejo para os agroecossistemas brasileiros**. Brasília: MMA, 112 p.

Gabriel D (2013) **Lagarta *Helicoverpa*: mais um sério problema**. São Paulo: Instituto Biológico. (Comunicado Técnico, 186). Disponível em: <http://www.biológico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=186>. Acesso em: 02 jul. 2017.

Gadhiya HA, Borad PK, Bhut JB (2014) Effectiveness of synthetic insecticides against *Helicoverpa armigera* (Hubner) hardwick and *Spodoptera litura* (Fabricius) infesting groundnut. **The Bioscan** 9:23-26.

Gahukar RT (2002) Population dynamics of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) on rose flowers in central India. **Journal of Entomological Research** 26:265-276.

Gallo D, Wiendl FM, Willians RN, Berti Filho E (1969) Método de criação artificial da broca da cana-de-açúcar para emprego no seu controle. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENTOMOLOGIA, **Resumo...** Recife, p. 4.

Ganiger PC, Yeshwanth HM, Muralimohan K, Vinay N, Kumar ARV, Chandrashekara K (2018) Occurrence of the new invasive pest, fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in the maize fields of Karnataka, India. **Current Science** 115:621-623. DOI: 10.18520/cs/v115/i4/621-623

Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I et al. (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. **Science** 339:1608-1611. DOI: 10.1126/science.1230200

Gentz MC, Murdoch G, King GF (2010) Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. **Biological Control** 52:208-215. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.07.012

Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamo M (2016) First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS ONE** 11:e0165632. DOI: 10.1371/journal.pone.0165632

Goulson D, Nicholls E, Botías C, Rotheray EL (2015) Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. **Science** 347:1255957. DOI: 10.1126/science.1255957

Grigolli JFJ, Lourenção ALF (2013) Pragas do milho safrinha. In.: Roscoe R, Lourenção ALF, Grigolli JFJ, Melotto MA, Pitol C, Miranda RAS, Barros R, Melo EP (Eds.) **Tecnologia e produção: milho safrinha e culturas de inverno 2013**. Maracaju: Fundação MS, p.112-114.

Guedes JVC, Arnemann JA, Perini CR, Arruè A, Rohrig A (2013) Manejar ou perder. **Cultivar Grandes Culturas** 176:12-16.

Gunning RV, Moores GD, Devonshire AL (1998) Insensitive acetylcholinesterase causes resistance to organophosphates in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Science** 54:319-320. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9063(1998110)54:3<319::AID-PS839>3.0.CO;2-6

Gunning RV, Dang HT, Kemp FC, Nicholson IC, Moores GD (2005) New resistance mechanism in *Helicoverpa armigera* threatens transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin. **Applied and Environmental Microbiology** 71:2558-2563. DOI: 10.1128/AEM.71.5.2558-2563.2005

Guo YY (1997) Progress in the researches on migration regularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. **Acta Entomologica Sinica** 40:1-6.

Guoqing L, Zhaojun H, Lili M, Xiaoran Q, Changkun C, Yinchang W (2001) Natural oviposition-deterrent chemicals in female cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). **Journal of Insect Pathology** 47:951-956. DOI: 10.1016/S0022-1910(01)00051-8

Haase S, Sciocco-Cap A, Romanowski V (2015) Baculovirus insecticides in Latin America: Historical overview, current status and future perspectives. **Viruses** 7:2230-2267. DOI: 10.3390/v7052230

Hannig GT, Zeigler M, Marcon PG (2009) Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. **Pest Management Science** 65:969-974. DOI: 10.1002/ps.1781

Hardwick DF (1965) The corn earworm complex. **Memoirs of the Entomological Society of Canada** 40:1-246. DOI: 10.4039/entm9740fv

Hartstack AW, Hollingsworth JP, Ridgway RL, Coppedge JR (1973) A population dynamics study of the bollworm and the tobacco budworm with light traps. **Environmental Entomology** 2:244-252. DOI: 10.1093/ee/2.2.244

Hensley SD, Hammond AM (1968) Laboratory techniques for rearing the sugarcane borer on an artificial diet. **Journal of Economic Entomology** 61:1742-1743. DOI: 10.1093/jee/61.6.1742

House HL (1969) Effects of different proportions of nutrients on insects. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 12:651-669. DOI: 10.1111/j.1570-7458.1969.tb02560.x

Hsu WS, Yen JH, Wang YS (2013) Formulas of components of citronella oil against mosquitoes (*Aedes aegypti*). **Journal of Environmental Science and Health, Part B** 48:1014-1019. DOI: 10.1080/03601234.2013.816613

Hussain D, Saleem M, Ghouse G, Abbas M (2015) Insecticide resistance in field populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomological Science** 50:119-128. DOI: 10.18474/JES14-24.1

Isman MB, Koul O, Luczynski A, Kaminski J (1990) Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 38:1406-1411. DOI: 10.1021/jf00096a024

Jakka SRK, Knight VR, Jurat-Fuentes JL (2014a) Fitness costs associated with field-evolved resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 107:342-351. DOI: 10.1603/ec13326

Jakka SRK, Knight VR, Jurat-Fuentes JL (2014b) *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) with field-evolved resistance to Bt maize are susceptible to Bt pesticides. **Journal of Invertebrate Pathology** 122:52-54. DOI: 10.1016/j.jip.2014.08.009

Jefferies PR, Yu P, Casida JE (1997) Structural modifications increase the insecticidal activity of ryanodine. **Pest Management Science** 51:33-38. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9063(199709)51:1<33::AID-PS605>3.0.CO;2-Z

Jeyarani S, Sathiah N, Karuppuchamy P (2010) Field efficacy of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus isolates against *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton and chickpea. **Plant Protection Science** 46:116-122. DOI: 10.17221/30/2009-pps

Junqueira APF, Perazzo FF, Souza GHB, Maistro EL (2007) Clastogenicity of *Piper cubeba* (Piperaceae) seed extract in an in vivo mammalian cell system. **Genetics and Molecular Biology** 30:656-663. DOI: 10.1590/S1415-47572007000400025

Kakimoto T, Fujisaki K, Miyatake T (2003) Egg laying preference, larval dispersion, and cannibalism in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America** 96:793-798. DOI: 10.1603/0013-8746(2003)096[0793:ELPLDA]2.0.CO;2

King ABS, Saunders JL (Eds.) (1984) **The invertebrate pests of annual food crops in Central America**. London: Overseas Development Administration, 166p.

Klun JA, Plimmer JR, Bierl-Leonhardt BA, Sparks AN, Chapman OL (1979) Trace chemicals: the essence of sexual communication systems in *Heliothis* species. **Science** 204:1328-1330. DOI: 10.1126/science.204.4399.1328

Knowles BH (1994) Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ -endotoxins. **Advances in Insect Physiology** 24:275-308. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60085-5

Kogan M (1998) Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. **Annual Review of Entomology** 43:243-270. DOI: 10.1146/annurev.ento.43.1.243

Kranthi KR, Jadhav DR, Kranthi S, Wanjari S, Ali SS, Russel DA (2002) Insecticide resistance in five major insect pests of cotton in India. **Crop Protection** 21:449-460. DOI: 10.1016/S0261-2194(01)00131-4

Kurban A, Yoshida A, Izumi Y, Sonoda S, Tsumuki H (2005) Pupal diapause of *Helicoverpa armigera*: sensitive stage for photoperiodic induction. **Applied Entomology and Zoology** 40:457–460. DOI: 10.1303/aez.2005.457

Lago JH, Ramos CS et al. (2004) Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. **Journal of Natural Products** 67:1783-1788. DOI: 10.1021/np030530j

Lahm GP, Stevenson TM et al. (2007) Rynaxypyrtm: A new insecticidal anthranilic diamide that acts as a potent and selective ryanodine receptor activator. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters** 17:6274-6279. DOI: 10.1016/j.bmcl.2007.09.012

Lahm GP, Cordova D, Barry JD (2009) New and selective ryanodine receptor activators for insect control. **Bioorganic and Medicinal Chemistry** 17:4127-4133. DOI: 10.1016/j.bmc.2009.01.018

Laurentis VL de (2017) ***Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): Táticas para o manejo integrado**. 120 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Leiderman L, Sauer HFG (1953) A lagarta dos milharais (*Laphygma frugiperda*, Abbot e Smith, 1797). **O biológico** 19:98-105.

Lebuhn G, Droege S et al. (2013) Detecting insect pollinator declines on regional and global scales. **Conservation Biology** 27:113-120. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2012.01962.x

Li H, Bouwer G (2012) Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. **Journal of Invertebrate Pathology** 109:110-116. DOI: 10.1016/j.jip.2011.10.005

Lima RK, Cardoso MG, Moraes JC, Melo BA, Rodrigues VG, Guimarães PL (2009) Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC. sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica** 39:377-382. DOI: 10.1590/S0044-59672009000200016

Lopes-da-Silva M, Sanches MM, Stancioli AR, Alves G, Sugayama R (2014) The role of natural and human-mediated pathways for invasive agricultural pests: A historical analysis of cases from Brazil. **Agricultural Sciences** 5:634-646. DOI: 10.4236/as.2014.57067

Luginbill PH (1928) **The fall armyworm**. Washington: USDA, 73 p. (Technical Bulletin, 34).

Machado LA, Silva VB, Oliveira MM (2007) Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico** 69:103-106.

Martignoni ME, Iwai PJ (Eds.) (1986) **A catalogue of viral diseases of insects, mites, and ticks**. Portland: USDA, 51p.

Martin T, Ochoa GO, Hala NF, Wassal J, Waissayre M (2000) Pyrethroid resistance in cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in West Africa. **Pest Management Science** 56:549–554. DOI: 10.1002/(SICI)1526-4998(200006)56:6<549::AID-PS160>3.0.CO;2-Y

McCaffery AR (1998) Resistance to insecticides in Heliiothine Lepidoptera: a global view. **Philosophical Transactions of the Royal Society B** 353:1735-1750. DOI: 10.1098/rstb.1998.0326

Medeiros CAM, Boiça Júnior AL, Torres AL (2005) Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia** 64:227-232. DOI: 10.1590/S0006-87052005000200009

Meissle M, Mouron P et al. (2010) Pests, pesticide use and alternative options in European maize production: current status and future prospects. **Journal of Applied Entomology** 134:357-375. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2009.01491.x

Messiano GG, Vieira L, Machado MB, Lopes LMX, De Bortoli SA, Zuckerman-Schpector (2008) Evaluation of insecticidal activity of diterpenes and lignans from *Aristolochia malmeana* against *Anticarsia gemmatilis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 56:2655-2659. DOI: 10.1021/jf703594z

Miranda JE, Navickiene HMD, Couto RHN, De Bortoli SA, Kato, MJ, Bolzani VS, Furlan M (2003) Suscetibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Apidologie** 34:409-415. DOI: 10.1051/apido:2003036

Montezano DG, Specht A, Sosa-Gómez DR, Roque-Specht VF, Sousa-Silva JC, Paula-Moraes SV, Peterson JA, Hunt TE (2018) Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology** 26:286-300. DOI: 10.4001/003.026.0286

Moore SD, Pittaway T, Bouwer G, Fourie JG (2004) Evaluation of *Helicoverpa armigera* nucleo polyhedron virus (HearNPV) for control of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on citrus in South Africa. **Biocontrol Science and Technology** 14:239-250. DOI: 10.1080/09583150310001655666

Moreira MD, Miranda JE, Silva CAD, Souza Júnior JDA, Azevedo AIB (2003) Aspectos biológicos e exigências térmicas da lagarta militar (*Spodoptera* sp.) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO. **Anais...** Goiânia: [s.n.], 2003. CD-ROM.

Multani JS, Sohi AS (2002) *Helicoverpa armigera* (Hubner) on carnation, *Dianthus caryophyllus* Linn. in Punjab. **Insect Environment** 8:82.

Murúa G, Virla E (2004) Population parameters of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasses in Tucuman (Argentina). **Acta Zoológica Mexicana** 20:199-210.

Murúa MG, Scalora FS, Navarro FR, Cazado LE, Casmuz A, Villagrán ME, Lobos E, Gastaminza G (2014) First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist** 97:854-856. DOI: 10.1653/024.097.0279

Nagoshi RN, Meagher RL (2008) Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist** 91:546-554. DOI: 10.1653/0015-4040-91.4.546

Nascimento IR, Murata AT, De Bortoli SA, Lopes LMX (2003) Insecticidal activity of chemical constituents from *Aristolochia pubescens* against *Anticarsia gemmatilis* larvae. **Pest Management Science** 60:413-416. DOI: 10.1002/ps.805

Navickiene HMD, Miranda JE, De Bortoli SA, Kato MJ, Bolzani VS, Furlan M (2007) Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum*: potent compound with potential for the control of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. **Pest Management Science** 63:399-403. DOI: 10.1002/ps.1340

Ndumu PA (1999) Agrochemical from natural products. **Phytoterapy Research** 532-548.

Niu Y, Yang F, Dungal V, Huang F (2014) Larval survival and plant injury of Cry1F-susceptible, -resistant, and -heterozygous fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on non-Bt and Bt corn containing single or pyramided genes. **Crop Protection** 59:22-28. DOI: 10.1016/j.cropro.2014.01.005

Oliveira MSS, Roel AR, Arruda EJ, Marques AS (2007) Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia** 31:326-331. DOI: 10.1590/S1413-70542007000200009

Omoto C, Shimidt FB, Silva RB, Zucchi TD, Risco MDM, Travalini C, Thomazini T, Takaki SC (2000) Bases for an insecticide resistance management of *Spodoptera frugiperda* in corn in Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, **Abstract...** Londrina: Embrapa Soja, 2000.

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head GP (2016) Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science** 72:1727-1736. DOI: 10.1002/ps.4201

Papa G, Celoto FJ (2011) Inseticida ao dessecar?. **Cultivar Grandes Culturas** 143:22-24.

Parra JRP (2009) A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In.: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 91-174.

Parra JRP (2012) The evolution of artificial diets and their interactions in science and technology. In.: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Raton: CRC Press, p. 51-92.

Parra JRP, Panizzi AR, Haddad ML (2012) Nutritional indices for measuring food intake and utilization. In.: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Raton: CRC Press, p. 13-49.

Pawar CS, Bhatnagar VS, Jadhav DR (1986) *Heliothis* species and their natural enemies, with their potential for biological control. **Proceedings Indian Academy of Sciences** 95:695-703. DOI: 10.1007/BF03179484

Pedigo LP, Hutchins SH, Higley LG (1986) Economic injury levels in theory and practice. **Annual Review of Entomology** 31:341-368. DOI: 10.1146/annurev.en.31.010186.002013

Pettis JS, Lichtenberg EM, Andree M, Stitzinger J, Rose R (2013) Crop pollination exposes honey bees to pesticides which alters their susceptibility to the gut pathogen *Nosema ceranae*. **PLoS ONE** 8:e70182. DOI: 10.1371/journal.pone.0070182

Pires JM (1978) Ichthyotoxic plants - botanical aspects. **Ciência e Cultura** 32:37-41.

Pogue MG (2002) A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society** 43:1-201.

Pogue MG (2004) A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). **Annals of the Entomological Society of America** 97:1222-1226. DOI: 10.1603/0013-8746(2004)097[1222:ANSOHZ]2.0.CO;2

Polanczyk RA, Alves SB (2005) Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia** 74:24-33.

Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE (2010) Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. **Trends in Ecology & Evolution** 25:345-353. DOI: 10.1016/j.tree.2010.01.007

Pratissoli D, Lima VLS, Pirovani VD, Lima WL (2015) Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. **Horticultura Brasileira** 33:101-105. DOI: 10.1590/S0102-053620150000100016

Reed W, Pawar CS (1982) *Heliothis*: a global problem. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON *Heliothis* MANAGEMENT, **Proceedings...** Patancheru: ICRISAT, 418p.

Ríos-Díez JD, Saldamando-Benjumea CI (2011) Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) strains from central Colombia to two insecticides, methomyl and lambda-cyhalothrin: a study of the genetic basis of resistance. **Journal of Economic Entomology** 104:1698-1705. DOI: 10.1603/ec11079

Ríos-Díez JD, Siegfried B, Saldamando-Benjumea CI (2012) Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) strains from central Colombia to Cry1Ab and Cry1Ac entotoxins of *Bacillus thuringiensis*. **Southwestern Entomologist** 37:281-293. DOI: 10.3958/059.037.0304

Rogers DJ, Brier HB (2010) Pest-damage relationships for *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on vegetative soybean. **Crop Protection** 29:39-46. DOI: 10.1016/j.cropro.2009.08.016

Salvadori JR, Suzana CS (2014) Saldo da *Helicoverpa*. **Cultivar Grandes Culturas** 187:26-28.

Santos LQ (2016) **Biologia e caracterização morfológica de imaturos e adultos de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera, Noctuidae, Heliothinae).** 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

Sarate PJ, Tamhane VA, Kotkar HM, Ratnakaran N, Susan N, Gupta VS, Giri AP (2012) Developmental and digestive flexibilities in the midgut of a polyphagous pest, the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Journal of Insect Science** 12:1-16. DOI: 10.1673/031.012.4201

Sattelle DB, Cordova D, Cheek TR (2008) Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemical. **Invertebrate Neuroscience** 8:107-119. DOI: 10.1007/s10158-008-0076-4

Scriber JM, Slansky Jr. F (1981) The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26:183-211. DOI: 10.1146/annurev.en.26.010181.001151

Senave - Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas (2013) Senave en alerta tras ingreso de peligrosa plaga agrícola. Disponível em: <<http://www.abc.com.py/edicion-imprensa/economia/senave-en-alerta-tras-ingreso-de-peligrosa-plaga-agricola-629240.html>>. Acesso em: 06 jul. 2017.

Shanower TG, Romeis J (1999) Insect pests of pigeonpea and their management. **Annual Review of Entomology** 44:77-96. DOI: 10.1146/annurev.ento.44.1.77

Shapiro M, Robertson JL, Webb RE (1994) Effect of neem seed extract upon the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and its nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Economic Entomology** 87:356-360. DOI: 10.1093/jee/87.2.356

Shelton AM, Tang JD, Roush RT, Metz TD, Earle ED (2000) Field test on managing resistance to Bt-engineered plants. **Nature Biotechnology** 18:339-342. DOI: 10.1038/73804

Silva AGA, Gonçalves CR, Galvão, DM, Gonçalves AJL, Gomes J, Silva NM, Simoni L (Eds.) (1968) **Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil, seus parasitos e predadores**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 622p.

Simpson SJ, Sibly RM, Lee KP, Behmer ST, Raubenheimer D (2004) Optimal foraging when regulating intake of multiple nutrients. **Animal Behaviour** 68:1299-1311. DOI: 10.1016/j.anbehav.2004.03.003

Singh P (1983) A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. **Insect Science and its Application** 4:357-362. DOI: 10.1017/S1742758400002393

Sosa-Gómez DR, Specht A et al. (2016) Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** 60:101-104. DOI: 10.1016/j.rbe.2015.09.008

Souza CSF, Valicente FH, Fadini MAM, Polanczyk RA (2017) Action spectrum of *Baculovirus spodoptera* on Lepidoptera pests. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 16:52-60. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v16n1p52-60

Stokstad E (2017) New crop pest takes Africa at lightning speed. **Science** 356:473-474. DOI: 10.1126/science.356.6337.473

Storer NP, Babcock JM, Schlenz M, Meade T, Thompson GD, Bing JW, Huckaba RM (2010) Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology** 103:1031-1038. DOI: 10.1603/EC10040

Su HCF (1990) Biological activities of hexane extract of *Piper cubeba* against rice weevils and cowpea weevils (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomological Science** 25:16-20.

Tabashnik B, Brévault T, Carriere Y (2013) Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology** 31:1-12. DOI: 10.1038/nbt.2597

Thompson SN, Simpson SJ (2009) Nutrition. In.: Resh V, Cardé R (Eds.) **Encyclopedia of insects**. Cambridge: Academic Press, p. 807-813.

Truzzi CC, Vieira NF, Laurentis VL de, Vacari AM, De Bortoli SA (2017) Development and feeding behavior of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on different sunflower genotypes under laboratory conditions. **Arthropod-Plant Interactions** 11:797-805. DOI: 10.1007/s11829-017-9534-4

Valicente FH (2015) **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 13 p. (Circular Técnica, 208).

Valicente FH, Tuelher ES (2009) **Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 14 p. (Circular Técnica, 114).

Valverde L, Toledo ZDA, Popich S (1995) Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Zoológica Lilloana** 43:131-143.

van der Sluijs JP, Simon-Delso N, Goulson D, Maxim L, Bonmatin JM, Belzunces LP (2013) Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability** 5:293-305. DOI: 10.1016/j.cosust.2013.05.007

van Hamburg, H (1981) The inadequacy of egg counts as indicators of threshold levels for control of *Heliothis armigera* on cotton. **Journal of the Entomological Society of South Africa** 44:289-295.

Vanderzant ES (1966) Defined diets for phytophagous insects. In.: Smith CN (Eds.) **Insect colonization and mass production**. New York/London: Academic Press, p. 273-303.

Vanderzant ES (1974) Development, significance, and application of artificial diets for insects. **Annual Review of Entomology** 19:139-160. DOI: 10.1146/annurev.en.19.010174.001035

Vendramini MC, Mathias MI, De Faria AU, Furquim KC, De Souza LP, Bechara GH, Roma GC (2012) Action of andiroba oil (*Carapa guianensis*) on *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females: morphophysiological evaluation of reproductive system. **Microscopy Research & Technique** 75:1745-1754. DOI: 10.1002/jemt.22126

Viegas Júnior CJ (2003) Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova** 26:390-400. DOI: 10.1590/S0100-40422003000300017

Vieira L, Pascoli IC, De Bortoli SA, Lopes LMX (2009) Efeito de extratos de *Aristolochia lagesiana* (Aristolochiaceae) sobre a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico** 76:627-633.

Villalobos MJP (1996) **Plaguicidas naturales de origen vegetal**: estado actual de la investigacion. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca Y Alimentacion, 35 p.

Vivan LM, Torres JB, Fernandes PLS (2017) Activity of selected formulated biorational and synthetic insecticides against larvae of *Helicoverpa armigera*. **Journal of Economic Entomology** 110:118-126. DOI: 10.1093/jee/tow244

Ware GW (Eds.) (1982) **Fundamentals of pesticides**: a self-instruction guide. Fresno: Thomson Publications, 257p.

Xavier VM, Message D, Picanço MC, Chediak M, Santana Júnior PA, Ramos RS, Martins JC (2015) Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. **Journal of Insect Science** 15:137. DOI: 10.1093/jisesa/iev110

Yu SJ (2006) Intensity of acetylcholinesterase in a field strain of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84:135-142. DOI: 10.1016/j.pestbp.2005.06.003

Yu SJ, McCord E (2007) Lack of cross-resistance to indoxacarb in insecticide-resistant *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Pest Management Science** 63:63-67. DOI: 10.1002/ps.1309

Yu SJ, Nguyen SN, Abo-Elghar GE (2003) Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 77:1-11. DOI: 10.1016/S0048-3575(03)00079-8

Zalucki MP, Daglish G, Firempong S, Twine PH (1986) The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know?. **Australian Journal of Zoology** 34:779-814. DOI: 10.1071/ZO9860779

CAPÍTULO 2 – Consumo e utilização de alimento e parâmetros da história de vida de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) criada em dietas com variação proteica¹

RESUMO – *Helicoverpa armigera* (Hübner) é uma importante praga de cultivos em todo o mundo e vários estudos têm focado no seu desenvolvimento com diferentes dietas artificiais. No entanto, são escassos estudos que avaliam o consumo e a utilização de alimento pelo inseto em dietas nutricionalmente diferentes. O objetivo deste estudo foi avaliar a biologia e comparar o consumo e a utilização de alimento por lagartas de *H. armigera* em dietas com variação nos níveis de proteínas, fornecidas pelos diferentes ingredientes utilizados nas dietas. O índice nutricional, a taxa de consumo relativo, a taxa metabólica relativa, a taxa de crescimento relativo e a digestibilidade aparente foram maiores na dieta com nível de proteína superior ao ideal. Por outro lado, a eficiência de conversão do alimento digerido foi menor, resultando em um maior custo metabólico. Para os aspectos biológicos, a sobrevivência larval foi maior na dieta com teor ideal de proteína e menor para a dieta com nível mais elevado de proteína. O período pupal foi maior para a dieta com maior teor de proteína, enquanto a sobrevivência pupal foi menor. Entre as dietas avaliadas, a dieta com teor de proteína ideal contendo 75 g de feijão branco, 60 g de germe de trigo, 30 g de farelo de soja, 30 g de leite em pó, 37,5 g de levedura como fonte proteica, resultou em maior taxa líquida de reprodução, menor tempo para a população duplicar em número e maiores taxas de crescimento populacional. Os resultados sugerem que teores de proteína mais baixos ou mais elevados na dieta de *H. armigera* afetam negativamente os aspectos biológicos da espécie.

Palavras-chave: biologia de insetos, criação massal, nutrição.

¹Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado na revista Journal of Insect Science 19:1-7, 2019.

CHAPTER 2 – Food consumption utilization, and life history parameters of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) reared on diets of varying protein level

ABSTRACT – *Helicoverpa armigera* (Hübner) is an important pest of crops worldwide, and several studies have focused on its development with different artificial diets. However, studies evaluating the insect's food consumption and utilization using nutritionally different diets are scarce. The aim of this study was to evaluate the biology and to compare the consumption and use of food by *H. armigera* larvae on diets with different protein levels provided by different dietary ingredients used in the diets. The nutritional index, the relative consumption rate, the relative metabolic rate, the relative growth rate, and the apparent digestibility were higher in the diet with higher than the optimum level of protein. On the other hand, the conversion efficiency of digested food was lower, resulting in a higher metabolic cost. In terms of biological aspects, larval survival was higher for the diet with optimal protein content and lower for the diet with a higher protein level. The pupal period was longer for the diet with a higher protein content, while pupal survival was lower. Among the diets evaluated, the diet with the ideal protein containing white bean 75 g, wheat germ 60 g, soy bran 30 g, milk powder 30 g, brewer's yeast 37.5 g as the protein sources resulted in a higher net reproductive rate, a shorter time for the population to double in number, and the highest rates of population growth. The results suggest that lower or higher protein contents in the diets of *H. armigera* negatively affect the biological aspects of this specie.

Keywords: insect biology, mass rearing, nutrition.

1. Introdução

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma importante praga de culturas agrícolas no mundo, destacando-se por ser polífaga, apresentar diapausa facultativa, ter alta capacidade de dispersão, adaptação a diferentes ambientes e alto potencial reprodutivo (Fitt, 1989; CABI, 2014). Esta espécie-praga pode se alimentar de órgãos vegetativos e estruturas reprodutivas, causando perdas que somadas ao custo de controle atingem aproximadamente US\$ 5 bilhões no mundo todo (Lammers e Macleod, 2007; Fathipour e Sedaratian, 2013).

Embora vários estudos tenham avaliado dietas artificiais para *H. armigera*, poucos foram realizados analisando seu consumo e a utilização do alimento em dietas nutricionalmente diferentes. Sabe-se que o desenvolvimento larval é dependente da proporção de proteínas e carboidratos e que a digestão de proteínas durante o período larval é um processo complexo, sendo realizado por proteases presentes no intestino do inseto (Kotkar et al., 2009; Sarate et al., 2012). Em outras espécies de lepidópteros, como *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), dietas pobres em proteínas e carboidratos influenciam vários de seus aspectos biológicos (Bouayad et al., 2008).

O desenvolvimento de dietas artificiais adequadas para a criação de insetos possibilitou grande avanço nos programas de Manejo Integrado de Pragas e, para isso, o consumo e a utilização de alimento são condições básicas para o crescimento, desenvolvimento e a reprodução dos insetos, uma vez que a quantidade e a proporção de nutrientes da dieta na fase larval influenciam a aceitação do alimento, além de afetar o desempenho dos adultos (Panizzi e Parra, 2009). Esses aspectos podem causar efeitos mais ou menos severos na biologia dos insetos, facilitando, dificultando ou até mesmo impedindo o seu desenvolvimento (Scriber e Slansky Jr., 1981; Behmer, 2009; Panizzi e Parra, 2009; Schowalter, 2011; Parra, 2012; Cohen, 2015).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar aspectos da história de vida e comparar o consumo e a utilização de alimento por lagartas de *H. armigera* criadas em dietas contendo três níveis de proteínas.

2. Material e métodos

A criação de *H. armigera* e os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP. Os insetos foram mantidos em condições controladas de laboratório (temperatura de 25 ± 1 °C; umidade relativa de $70 \pm 10\%$; fotoperíodo de 12 horas de luz/12 horas de escuro).

2.1. Criação de *H. armigera*

Lagartas de *H. armigera* foram acondicionadas em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura) contendo dieta artificial descrita por Greene et al. (1976), com modificações, sendo monitoradas até atingirem o estágio pupal. Na fase pupal, foram separadas por sexo e transferidas para gaiolas de cópula e oviposição constituídas por tubos de PVC (20,0 cm diâmetro × 20,0 cm altura), forrados internamente com papel toalha e apoiadas sobre pratos plásticos (23,5 cm diâmetro × 3,0 cm altura), também forrados com papel toalha, tendo a parte superior fechada com tecido de malha fina (tipo voile) preso por elástico. Foram acondicionados 20 casais por gaiola, sendo eles alimentados com solução de mel a 10% embebida em um pedaço de algodão acondicionado no interior de uma tampa plástica (3,0 cm diâmetro × 1,5 cm altura). Os ovos, colocados no papel toalha, foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos (25,0 cm × 15,0 cm × 12,0 cm), onde permaneceram até a eclosão das lagartas.

2.2. Dietas artificiais utilizadas

As dietas artificiais utilizadas foram modificadas a partir daquela descrita por Greene et al. (1976) para a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Foram utilizadas três formulações, sendo uma modificada da dieta de Greene et al. (1976) (D₁) e duas variando a quantidade de proteína total, uma contendo o dobro da quantidade (D₂) e outra a metade (D₃). As composições

das dietas estão especificadas na Tabela 1, com a mistura de vitaminas utilizada nas dietas descrita na Tabela 2.

Tabela 1. Composição das dietas artificiais para *Helicoverpa armigera*.

Componentes	D ₁	D ₂	D ₃
Feijão branco	75,00 g	150,00 g	37,50 g
Germe de trigo	60,00 g	120,00 g	30,00 g
Farelo de soja	30,00 g	60,00 g	15,00 g
Leite em pó	30,00 g	60,00 g	15,00 g
Levedura	37,50 g	75,00 g	18,75 g
Ácido ascórbico	3,6 g	3,6 g	3,6 g
Ácido sórbico	1,8 g	1,8 g	1,8 g
Metil parahidroxibenzoato (Nipagin®)	3,0 g	3,0 g	3,0 g
Solução vitamínica	9,0 mL	9,0 mL	9,0 mL
Tetraciclina	0,12 g	0,12 g	0,12 g
Formaldeído (40%)	3,6 mL	3,6 mL	3,6 mL
Ágar	23,0 g	23,0 g	23,0 g
Água destilada	1400 mL	1400 mL	1400 mL

D₁ – Dieta artificial modificada de Greene et al. (1976) utilizada na criação.

D₂ – Dieta artificial modificada de Greene et al. (1976), com o dobro de proteína.

D₃ – Dieta artificial modificada de Greene et al. (1976), com a metade de proteína.

Tabela 2. Composição da solução vitamínica utilizada nas dietas artificiais.

Componentes	Quantidade
Niacinamida	4,0 mg
Pantotenato de cálcio	4,0 mg
Tiamina HCl	1,0 mg
Riboflavina	2,0 mg
Piridoxina HCl	1,0 mg
Biotina	0,08 mg
Vitamina B12	0,008 mg
Água destilada	400 mL

2.3. Índices de consumo e utilização de alimento

Quando as lagartas atingiram o quarto ínstar, determinado quando elas atingiram cerca de 12,0 mm de comprimento (Ali et al., 2009) e apresentavam tubérculos escuros na região dorsal do primeiro segmento abdominal (Matthews, 1999), 10 indivíduos foram removidos das placas de Petri, pesados, mortos por congelamento e secos em estufa. Outros 10 insetos foram pesados e mantidos nas placas de Petri, onde ao atingirem o quinto ínstar, com o comprimento de aproximadamente 20,0 mm (Ali et al., 2009), confirmado pela presença das exúvias, foi realizado o mesmo procedimento citado anteriormente. Além disso, as sobras da dieta e os excrementos dos insetos durante o quarto ínstar, além de 10 cubos da dieta artificial, semelhantes aos utilizados nos experimentos, foram pesados e secos em estufa. Após um período de secagem de 3 dias, as dietas, as lagartas e os excrementos foram pesados. Com isso, o peso seco das lagartas, do alimento consumido e o ganho de peso das lagartas foram obtidos para a utilização na determinação dos índices de consumo e utilização de alimento.

A metodologia proposta por Waldbauer (1968), modificada por Scriber e Slansky Jr. (1981), foi utilizada para determinar os índices de nutrição quantitativa do quarto ínstar da fase larval, sendo que para o cálculo desses índices foram empregados os seguintes parâmetros (em peso de matéria seca):

T = duração do período de alimentação (dias);

A_f = peso do alimento fornecido ao inseto (g);

A_r = peso da sobra do alimento fornecido ao inseto (g) após T ;

F = peso do excremento produzido (g) durante T ;

$B = (I - F) - M$ = ganho de peso pela lagarta (g) durante T ;

$\bar{B}$ = peso médio das lagartas (g) durante T ;

I = peso do alimento ingerido (g) durante T ;

$I - F$ = alimento assimilado (g) durante T ;

$M = (I - F) - B$ = alimento metabolizado durante T (g).

Os índices de consumo e utilização de alimento para cada tratamento foram determinados utilizando as seguintes equações:

$$\text{Taxa de consumo relativo (g/g/dia) - RCR} = \frac{I}{\bar{B} \times T}$$

$$\text{Taxa de crescimento relativo (g/g/dia) - RGR} = \frac{B}{B \times T}$$

$$\text{Taxa metabólica relativa (g/g/dia) - RMR} = \frac{M}{B \times T}$$

$$\text{Digestibilidade aproximada (\%) - AD} = \frac{I-F}{I} \times 100$$

$$\text{Eficiência de conversão do alimento ingerido (\%) - ECI} = \frac{B}{I} \times 100$$

$$\text{Eficiência de conversão do alimento digerido (\%) - ECD} = \frac{B}{I-F} \times 100$$

$$\text{Custo metabólico (\%) - CM} = 100 - \text{ECD}$$

2.4. Parâmetros biológicos

Para cada dieta, 60 lagartas recém-eclodidas (< 24 horas) foram mantidas individualmente em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura), onde foram monitoradas até atingir o estágio pupal. Foram fornecidos cubos de dieta artificial (2,0 cm × 2,0 cm), que foram substituídos quando aproximadamente 80% haviam sido consumidos. Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: período larval, sobrevivência larval, peso de pupas com 24 horas, razão sexual, período pupal e sobrevivência pupal.

A partir da emergência dos adultos foram preparadas gaiolas cilíndricas de PVC (10,0 cm diâmetro × 20,0 cm altura) com a parte superior fechada com tecido de malha fina (tipo voile) fixado com elástico, apoiadas em uma tampa plástica (15,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura) e revestidas internamente com papel toalha. Foram liberados dois casais de *H. armigera* emergidos no mesmo dia em cada gaiola, sendo observadas 4 repetições por tratamento, sendo cada gaiola considerada uma repetição. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10% embebida em um pedaço de algodão acondicionado no interior de uma tampa plástica (3,0 cm diâmetro × 1,5 cm altura). Pelas observações diárias foram determinadas a fecundidade de fêmeas (ovos/fêmea) e a longevidade de machos e fêmeas.

Com os parâmetros biológicos obtidos também foram estimados aqueles necessários para a construção de tabelas de vida de fertilidade, segundo Birch (1948), Silveira Neto et al. (1976), Southwood (1978) e Price (1984), sendo eles: $x =$

ponto médio de cada idade das fêmeas parentais, idade esta considerada desde a fase de ovo; l_x = expectativa de vida até a idade x , expressa como uma fração de uma fêmea; m_x = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade x e que originarão fêmeas; $l_x.m_x$ = número total de fêmeas nascidas na idade x . Os parâmetros de crescimento resultantes da tabela de vida foram R_0 = taxa líquida de aumento populacional; T = tempo médio de uma geração; r_m = taxa intrínseca de aumento; λ = razão finita de aumento. Também foi determinado D_t , que é o tempo necessário para a população duplicar em número, de acordo com Krebs (1994).

Os parâmetros de crescimento (R_0 , T , r_m , λ e D_t) foram calculados utilizando as seguintes equações:

$$R_0 = \sum(l_x.m_x)$$

$$T = \sum(x.l_x.m_x) / \sum(l_x.m_x)$$

$$r_m = \ln R_0 / T$$

$$\lambda = e^{r_m}$$

$$D_t = \ln(2) / r_m$$

2.5. Análises estatísticas

Os resultados dos índices nutricionais e das características biológicas de adultos de *H. armigera* nas diferentes dietas foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett para determinar a normalidade e homogeneidade de variância. Os dados de RCR, RGR, RMR, ECD, peso fresco e seco de lagartas, período pupal foram transformados em raiz de $x + 0,5$ para atender aos requisitos da análise de variância (ANOVA) e depois analisados utilizando PROC ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de período larval, sobrevivência larval, peso de pupas, período pupal, sobrevivência pupal, fecundidade de fêmeas, longevidade de machos e de fêmeas foram comparados pelo teste de Student Newman Keuls ($P < 0,05$). As análises foram realizadas por meio do software SAS (SAS Institute, 2015).

Os parâmetros populacionais de tabela de vida de fertilidade foram estimados de acordo com o método Jackknife para estimar os intervalos de confiança e permitir

comparações entre os tratamentos, conforme descrito por Maia et al. (2000). As estimativas foram realizadas utilizando-se o software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

3.1. Índices de consumo e utilização de alimento

O maior peso fresco de *H. armigera*, no quinto ínstar, foi obtido em D₃, enquanto em D₂ as lagartas apresentaram o menor valor, com variação superior a 60 mg. Em relação ao peso seco, todos os tratamentos foram semelhantes (Figura 1).

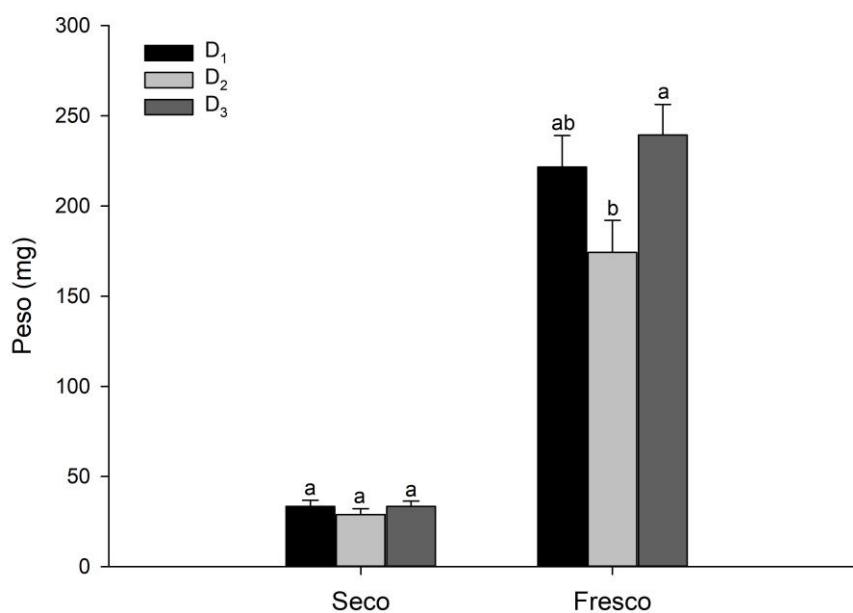


Figura 1. Peso seco e fresco de lagartas de *Helicoverpa armigera* criadas nas dietas artificiais. D₁ – Dieta utilizada na criação; D₂ – Dieta com o dobro de proteína; D₃ – Dieta com a metade de proteína.

A taxa de consumo relativo (RCR), a taxa metabólica relativa (RMR) e a digestibilidade aparente (AD), que representam a percentagem do alimento que foi efetivamente assimilada, foram maiores em D₂. Para D₁ e D₃, esses índices foram menores e semelhantes entre si, diferindo em AD, que foi menor para D₃ (Tabela 3).

Tabela 3. Índices nutricionais de *Helicoverpa armigera* nas dietas artificiais.

Índices	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
RCR (g/g/dia)	2,3 ± 0,40b ¹	5,5 ± 6,48a	1,9 ± 0,08b
RGR (g/g/dia)	0,7 ± 0,00b	1,6 ± 0,41a	0,5 ± 0,01b
RMR (g/g/dia)	0,7 ± 0,18b	2,5 ± 0,46a	0,3 ± 0,02b
AD (%)	58,4 ± 2,42b	73,2 ± 2,17a	45,8 ± 10,22c
ECI (%)	30,8 ± 1,90a	30,3 ± 1,21a	29,1 ± 2,21a
ECD (%)	54,4 ± 4,55a	41,9 ± 2,50b	63,8 ± 1,93a
CM (%)	45,6 ± 4,55b	58,1 ± 2,50a	36,2 ± 1,93b

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

D₁ – Dieta utilizada na criação; D₂ – Dieta com o dobro de proteína; D₃ – Dieta com a metade de proteína.

Em relação à taxa de crescimento relativo (RGR), os menores valores foram para D₁ (0,7 g/g/dia) e D₃ (0,5 g/g/dia), enquanto para a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) os valores foram semelhantes nas três dietas, variando de 29,1 a 30,8%. Por outro lado, a eficiência de conversão do alimento digerido (ECD) foi menor em D₂ (41,9%), o que provocou maior custo metabólico (CM) nesta dieta (58,1%), sendo maiores para D₁ (54,4%) e D₃ (63,8%), com CM menores (45,6% e 36,2%, respectivamente) (Tabela 3).

3.2. Parâmetros biológicos

Para o período larval, os insetos alimentados com as diferentes dietas não apresentaram diferenças significativas, variando de 18,2 a 21,0 dias, sendo a sobrevivência neste período maior para D₁ (60,0%) e menor para D₂ (21,9%), com D₃ apresentando sobrevivência intermediária (40,0%) (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros biológicos dos estágios larval e pupal de *Helicoverpa armigera* nas dietas artificiais.

Características	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
Período larval (dias)	18,2 ± 0,53a ¹	20,9 ± 1,54a	21,0 ± 4,97a
Sobrevivência larval (%)	60,0 ± 7,29a	21,9 ± 4,63b	40,0 ± 7,29ab
Peso de pupas (mg)	335,2 ± 10,23a	337,6 ± 12,29a	310,6 ± 9,08a
Razão sexual	0,4 ± 0,05a	0,4 ± 0,25a	0,3 ± 0,09a
Período pupal (dias)	14,9 ± 0,36b	18,5 ± 1,06a	14,6 ± 0,21b
Sobrevivência pupal (%)	42,5 ± 5,00a	10,0 ± 4,68b	32,5 ± 6,37a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

D₁ – Dieta utilizada na criação; D₂ – Dieta com o dobro de proteína; D₃ – Dieta com a metade de proteína.

O peso de pupas com 24 horas de idade e a razão sexual não diferiram significativamente entre as dietas avaliadas, com o peso variando entre 310,6 e 337,6 mg e a razão sexual de 0,3 a 0,4. As diferentes dietas influenciaram o período pupal de *H. armigera*, com a duração maior para D₂ (18,5 dias) e semelhantes entre D₁ (14,9 dias) e D₃ (14,6 dias). A porcentagem de sobrevivência das pupas foi menor em D₂ (10,0%), enquanto D₁ e D₃ apresentaram taxas semelhantes (42,5% e 32,5%, respectivamente) (Tabela 4).

Na fase adulta, não houve diferença significativa tanto para longevidade dos machos quanto das fêmeas de *H. armigera*. Entretanto, as fêmeas apresentaram longevidade maior quando comparado aos machos em mais de 3 dias. As diferentes dietas não tiveram impacto na fecundidade das fêmeas, que variou entre 206,5 a 268,7 ovos/fêmea (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros biológicos de adultos de *Helicoverpa armigera* nas dietas artificiais.

Características	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
Longevidade de machos (dias)	6,7 ± 1,96a ¹	5,5 ± 1,55a	5,0 ± 1,12a
Longevidade de fêmeas (dias)	10,1 ± 1,84a	9,2 ± 1,31a	9,1 ± 1,33a
Fecundidade (ovos/fêmea)	229,7 ± 77,60a	268,7 ± 65,10a	206,5 ± 28,02a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

D₁ – Dieta utilizada na criação; D₂ – Dieta com o dobro de proteína; D₃ – Dieta com a metade de proteína.

O período reprodutivo de *H. armigera* começou 1 dia após a emergência das fêmeas, sendo que a duração média do ciclo reprodutivo foi de 12, 10 e 11 dias, quando as lagartas se alimentaram nas dietas D₁, D₂ e D₃, respectivamente. As fêmeas produziram 8,9 fêmeas por dia quando a forma jovem foi alimentada com D₁, 25,5 com D₂ e 8,0 com D₃. No total foram obtidas 142,6, 332,2 e 120,3 fêmeas quando as lagartas de *H. armigera* se alimentaram nas dietas D₁, D₂ e D₃, respectivamente (Figura 2). A dieta D₂ foi aquela que proporcionou a maior prole, mas foi também a que apresentou menor sobrevivência, com apenas 10,0% dos indivíduos atingindo a fase adulta.

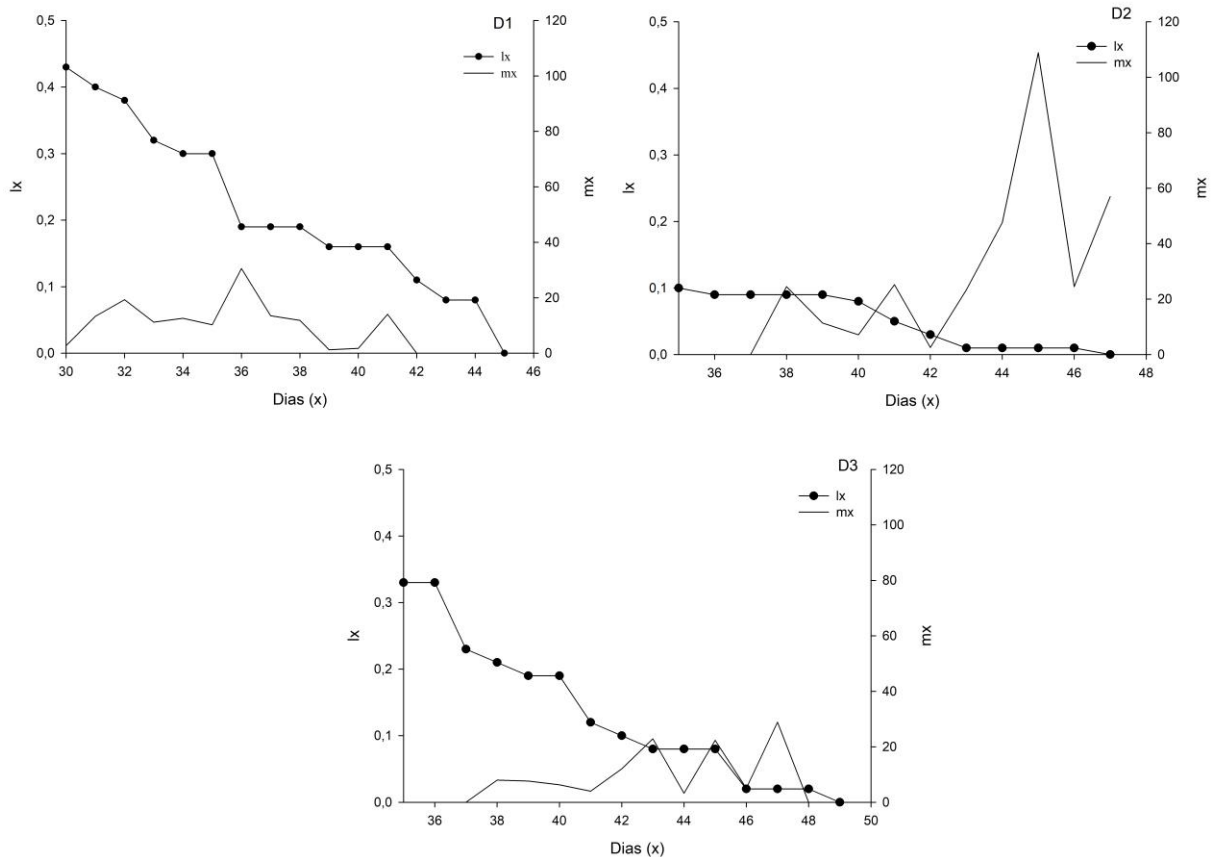


Figura 2. Número médio de descendentes por fêmea (mx) e taxa de sobrevivência (lx) de *Helicoverpa armigera* nas dietas artificiais. D₁ – Dieta utilizada na criação; D₂ – Dieta com o dobro de proteína; D₃ – Dieta com a metade de proteína.

A tabela de vida de fertilidade mostrou diferenças entre as dietas avaliadas. A taxa líquida de reprodução (R_0), apesar de ser numericamente maior para D₁, foi semelhante entre todos os tratamentos, variando de 22,7 a 61,3 fêmeas/fêmea por geração. Em relação à duração média da geração (T), o menor valor foi encontrado para D₁ (30,1 dias), enquanto D₃ (36,8 dias) apresentou o maior valor. A taxa intrínseca de aumento (r_m) foi maior para D₁ (0,139) e menor para D₃ (0,087), variando em 0,052 fêmeas/fêmea/dia. A razão finita de aumento (λ) também foi maior para D₁ (1,146), apresentando valores semelhantes entre D₂ (1,096) e D₃ (1,089). O tempo para a população duplicar em número (Dt) foi significativamente menor para D₁ (4,9 dias), enquanto para D₃ foi de 7,9 dias, sendo, portanto, necessários 3 dias a mais para a população duplicar o número de indivíduos quando as lagartas foram alimentadas com essa dieta (Tabela 6).

Tabela 6. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Helicoverpa armigera* nas dietas artificiais.

Características	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
R ₀	61,3a ¹ (-20,37 – 143,00)	23,7a (-108,66 – 156,05)	22,7a (-4,65 – 50,11)
r _m	0,139a (0,1044 – 0,1756)	0,091ab (-0,0791 – 0,2605)	0,087b (0,0557 – 0,1180)
λ	1,146a (1,1045 – 1,1866)	1,096b (0,9123 – 1,2816)	1,089b (1,0554 – 1,1233)
T	30,1c (25,01 – 35,31)	36,0b (34,29 – 37,81)	36,8a (35,89 – 37,70)
Dt	4,9b (3,62 – 6,21)	7,4ab (-9,45 – 24,28)	7,9a (4,87 – 10,86)

¹Médias (intervalo de confiança) seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste t de Student ($P > 0,05$).

D₁ – Dieta utilizada na criação; D₂ – Dieta com o dobro de proteína; D₃ – Dieta com a metade de proteína.

Assim, a D₁ proporcionou a maior taxa líquida de reprodução, o menor tempo para a população duplicar em número e as maiores taxas de crescimento populacional (Tabela 6).

4. Discussão

Ao se comparar o consumo, a utilização de alimento e alguns dos parâmetros de desenvolvimento de *H. armigera* com as lagartas criadas em dietas com diferentes teores de proteínas, foram identificadas algumas diferenças significativas nas análises.

O maior peso fresco das lagartas de quarto ínstar apresentou relação com o teor de proteína, sendo que quanto menor o teor de proteína testado nas dietas, maior foi o peso das lagartas. Esses resultados diferem daqueles encontrados por Sarate et al. (2012) que, alimentando as lagartas com diversas plantas hospedeiras, observaram que dietas ricas em proteínas e/ou carboidratos resultaram em maior

peso das lagartas e menor período larval, com a massa corpórea seca das lagartas não diferindo entre as diferentes dietas.

Em relação aos parâmetros nutricionais, a taxa de consumo relativo (RCR), que representa a quantidade de alimento ingerido por unidade de peso do inseto por dia, e a taxa metabólica relativa (RMR), que indica a quantidade de alimento gasto em metabolismo por unidade de peso, foram maiores para a dieta com maior teor de proteína, demonstrando que as lagartas precisam de uma maior quantidade de alimento para atender às suas necessidades nutricionais, particularmente em função da maior quantidade de proteína exigida para seu desenvolvimento.

A digestibilidade aparente (AD), que representa a porcentagem de alimento ingerido que é efetivamente assimilado pelo inseto, também foi maior para a dieta com maior teor de proteína, sendo menor para a dieta com teor de proteína mais baixo, sugerindo que a quantidade de alimento assimilado pelo inseto apresentou relação com o nível de proteína. Portanto, em dietas ricas em proteína é necessário uma maior ingestão de alimento para satisfazer as necessidades nutricionais do inseto, provavelmente devido ao desbalanço da relação entre nutrientes.

Em relação à taxa de crescimento relativo (RGR), que indica o ganho de biomassa pelo inseto em relação ao seu peso, os menores valores foram encontrados para as dietas com menor quantidade de proteína, entretanto para a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI), que representa a porcentagem do alimento ingerido que é transformado em biomassa, não houve diferença entre as três dietas. A eficiência de conversão do alimento digerido (ECD) mostrou que, para dietas com alto teor de proteína, ocorreu uma baixa conversão da dieta em biomassa. Devido a esta baixa eficiência, essa dieta apresentou um elevado custo metabólico (CM).

As diferentes quantidades de proteína presente nas dietas não influenciaram a duração do período larval, que variou de 18,2 a 21,0 dias, com sobrevivência larval apresentando menor percentual na dieta mais rica em proteína, demonstrando que níveis elevados deste nutriente na dieta podem prejudicar o crescimento populacional de *H. armigera*. Hamed e Nadeem (2008) avaliaram diferentes dietas artificiais para criação de *H. armigera* em laboratório e encontraram período larval variando entre 15,6 e 42,8 dias, enquanto Truzzi et al. (2017), utilizando dieta artificial

semelhante a D_1 , obtiveram período larval médio de 14,6 dias, valor inferior ao observado no presente estudo.

A variação do teor de proteína não influenciou o peso de pupas e a razão sexual, evidenciando que o teor mínimo utilizado já foi suficiente para manter os parâmetros dentro da normalidade, como mostram os estudos de Hamed e Nadeem (2008) e Truzzi et al. (2017). No entanto, o período pupal foi influenciado, sendo que a dieta rica em proteína prolongou esta fase do ciclo de vida do inseto. Em dieta à base de sementes de algodão e farinha de castanha d'água, foram encontrados valores semelhantes (Hamed e Nadeem, 2008), sendo que em dieta artificial, este período foi mais curto (Truzzi et al., 2017).

A sobrevivência dos insetos na fase larval e pupal foi menor na dieta com alto teor de proteína, indicando, neste caso, a influência negativa de elevados níveis de proteína na biologia dessa espécie.

As dietas fornecidas durante o período larval não provocaram alterações na longevidade dos adultos, salientando-se que as fêmeas apresentaram maior longevidade que os machos, o que também foi observado em outros estudos com dietas diferentes (Ali et al., 2009; Jha et al., 2014; Truzzi et al., 2017), valores considerados dentro da normalidade para a espécie.

A fecundidade das fêmeas também não foi afetada pelas diferentes concentrações de proteínas na alimentação das lagartas, sendo que os valores encontrados foram baixos quando comparados a outros estudos, que relataram valores entre 440 a mais de 2500 ovos/fêmea utilizando plantas hospedeiras e dieta similar a D_1 (Razmjou et al., 2013; Naseri et al., 2014; Truzzi et al., 2017).

Em relação à tabela de vida de fertilidade, para a taxa líquida de reprodução (R_0), Truzzi et al. (2017) encontraram valor mais alto para dieta artificial, com teor de proteína intermediário, obtendo 255 fêmeas/fêmea em cada geração. Para cultivares de soja, a taxa variou de 16,0 a 270,0 fêmeas/fêmea (Soleimannejad et al., 2010), enquanto com cultivares de tomate foi de 7,8 a 186,9 fêmeas/fêmea (Safuraie-Parizi et al., 2014), valores esses que englobam o que foi encontrado neste trabalho. A duração média da geração (T) foi influenciada pelo teor de proteína e, em níveis mais baixos de proteína, os insetos levaram mais tempo para completar o ciclo. A taxa intrínseca de aumento (r_m) também foi afetada pelo baixo nível de proteína, com

um menor número de fêmeas/fêmea sendo produzido por dia. Quando lagartas de *H. armigera* foram criadas em cultivares de soja os valores foram semelhantes, variando entre 0,084 a 0,114 fêmeas/fêmea/dia (Soleimannejad et al., 2010), mas para dieta artificial e para outras plantas hospedeiras, como feijão, girassol, grão de bico e tomate, valores maiores foram observados (Razmjou et al., 2013; Truzzi et al., 2017). Para a razão finita de aumento (λ), teores baixos e elevados de proteína resultaram em um menor número de fêmeas/fêmea*dia. *Helicoverpa armigera* apresentou o menor tempo para a população duplicar em número (D_t) na dieta D_1 , sendo de 4,9 dias, período este superior ao encontrado por Truzzi et al. (2017), que foi de 3,6 dias, trabalhando com dieta semelhante a D_1 .

A quantidade de proteína na formulação da dieta artificial e as informações sobre os aminoácidos presentes em cada componente proteico da dieta relacionam-se diretamente com o desempenho biológico do inseto. Nesse sentido, o feijão branco possui 19 g de proteína/100 g, o germe de trigo 23 g de proteína/100 g, o leite em pó 23 g de proteína/100g, a levedura de cerveja 43 g de proteína/100 g, o farelo de soja 35 g de proteína/100 g (Cohen, 2015; USDA, 2018).

Os insetos processam as proteínas de seus alimentos durante a digestão para obter os aminoácidos que necessitam, sendo eles, normalmente, arginina, histidina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina. Na ausência de um desses aminoácidos essenciais, o crescimento e o desenvolvimento podem ser bastante prejudicados (Chen, 1966). Aminoácidos não essenciais favorecem o crescimento devido a otimização no balanço de nutrientes e a boa organização das vias bioquímicas envolvidas na síntese desse grupo de aminoácidos. Por exemplo, alanina e glicina ou serina são necessárias para o crescimento ideal de *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae) (Nation, 2001).

Esses relatos podem explicar alguns resultados obtidos nesta pesquisa, em que a dieta com quantidade intermediária de proteína forneceu os melhores resultados biológicos para *H. armigera*. As fontes de proteínas utilizadas nas dietas, como germe de trigo e farelo de soja, fornecem aos insetos os 10 aminoácidos essenciais (leucina, isoleucina, valina, treonina, arginina, lisina, metionina, histidina, fenilalanina, triptofano) e 7 aminoácidos não essenciais (alanina, glicina, cisteína,

ácido glutâmico, ácido aspártico, tirosina e serina) (Cohen, 2015). Dessa maneira, possivelmente, as alterações encontradas nos parâmetros biológicos de *H. armigera* não foram devido às ausências de aminoácidos, particularmente os essenciais, mas talvez devido as suas concentrações relativas nas dietas da fase larval e, principalmente, por diferenças na relação carboidrato:proteína, que afetam o desenvolvimento da fase jovem, bem como o desempenho dos adultos, como citam Panizzi e Parra (2009).

Assim, no presente trabalho estudou-se a influência de diferentes níveis de proteína no desenvolvimento, crescimento populacional e índices de consumo e utilização de alimento de *H. armigera*, sendo que as informações obtidas podem ser utilizadas para adaptações de dietas ou até mesmo no desenvolvimento de novas dietas para criações massais desta espécie em biofábricas, salientando-se que estudos futuros devem ter também objetivo de analisar a influência de diferentes níveis proteicos em gerações sucessivas de *H. armigera*.

5. Conclusão

A dieta artificial mais adequada para criação massal de *H. armigera* em laboratório é a D₁ (75 g feijão branco, 60 g germe de trigo, 30 g farelo de soja, 30 g leite em pó e 37,5g levedura de cerveja), com menor e maior teor de proteínas interferindo negativamente no desenvolvimento da espécie-praga.

6. Referências

Ali A, Choudhury RA, Ahmad Z, Rahman F, Khan FR, Ahmad SK (2009) Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection** 4:99-106.

Behmer ST (2009) Insect herbivore nutrient regulation. **Annual Review of Entomology** 54:165-187. DOI: 10.1146/annurev.ento.54.110807.090537

Birch LC (1948) The intrinsic rate of natural increase of on insect population. **Journal of Animal Ecology** 17:15-26. DOI: 10.2307/1605

Bouayad N, Rharrabe K, Ghailani N, Sayah F (2008) Effects of different food commodities on larval development and alpha-amylase activity of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Products Research** 44:373-378. DOI: 10.1016/j.jspr.2008.02.012

CABI – Crop Protection Compendium (2014) *Helicoverpa armigera*. Disponível em: <<http://www.cabi.org/cpc/datasheet/26757>>. Acesso em: 03 jul. 2017.

Chen PS (1966) Amino acid and protein metabolism in insect development. **Advances in Insect Physiology** 3:53-132. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60186-1

Cohen AC (Eds.) (2015) **Insect diets**: Science and technology. Boca Raton: CRC Press, 473p.

Fathipour Y, Sedaratian A (2013) Integrated management of *Helicoverpa armigera* in soybean cropping systems. In.: El-Shemy H (Eds.) **Soybean – Pest resistance**. Cairo: InTech, p. 231-280.

Fitt GP (1989) The ecology of *Heliothis* in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology** 34:17-52. DOI: 10.1146/annurev.en.34.010189.000313

Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. DOI: 10.1093/jee/69.4.487

Hamed M, Nadeem S (2008) Rearing of *Helicoverpa armigera* (Hub.) on artificial diets in laboratory. **Pakistan Journal of Zoology** 40:447-450.

Jha RK, Tuan SJ, Chi H, Tang LC (2014) Life table and consumption capacity of corn earworm, *Helicoverpa armigera*, fed asparagus, *Asparagus officinalis*. **Journal of Insect Science** 14:1-17. DOI: 10.1093/jis/14.1.34

Kotkar HM, Sarate PJ, Tamhane VA, Gupta VS, Giri AP (2009) Responses of midgut amylases of *Helicoverpa armigera* to feeding on various host plants. **Journal of Insect Physiology** 55:663-670. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2009.05.004

Krebs CJ (Eds.) (1994) **Ecology**: the experimental analysis of distribution and abundance. New York: Harper Collins College Publishers, 801p.

Lammers JW, Macleod A (2007) **Report of a Pest Risk Analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808)**. Netherlands: Plant Protection Service and Central Science Laboratory, 18p.

Maia AHN, Luiz AJB, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life parameters using Jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology** 93:511-518. DOI: 10.1603/0022-0493-93.2.511

Matthews M (Eds.) (1999) *Heliothinae moths of Australia: a guide to pest bollworms and related noctuid groups*. Melbourne: CSIRO, 320p.

Naseri B, Golparvar Z, Razmjou J, Golizadeh A (2014) Age-stage, two-sex life table of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on different bean cultivars. **Journal of Agricultural Science and Technology** 16:19-32.

Nation JL (Eds.) (2001) **Insect physiology and biochemistry**. Boca Raton: CRC Press, 485p.

Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) (2009) **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: EMBRAPA, 1163p.

Parra JRP (2012) The evolution of artificial diets and their interactions in Science and technology. In.: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) **Insect bioecology and nutrition for integrated pest management**. Boca Raton: CRC Press, p. 51-92.

Price PW (Eds.) (1984) **Insect ecology**. New York: John Willey, 607p.

Razmjou J, Naseri B, Hemati SA (2013) Comparative performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. **Journal of Pest Science** 87:29-37. DOI: 10.1007/s10340-013-0515-9

Safuraie-Parizi S, Fathipour Y, Talebi AA (2014) Evaluation of tomato cultivars to *Helicoverpa armigera* using two-sex life table parameters in laboratory. **Journal of Asia-Pacific Entomology** 17:837-844. DOI: 10.1016/j.aspen.2014.08.004

Sarate PJ, Tamhane VA, Kotkar HM, Ratnakaran N, Susan N, Gupta VS, Giri AP (2012) Developmental and digestive flexibilities in the midgut of a polyphagous pest, the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Journal of Insect Science** 12:1-16. DOI: 10.1673/031.012.4201

SAS Institute (2015) SAS/IML® 14.1 User`s guide. Cary: SAS Institute Inc.

Schowalter TD (Eds.) (2011) Insect ecology: an ecosystem approach. San Diego: Elsevier, 650p.

Scriber JM, Slansky Jr. F (1981) The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26:183-211. DOI: 10.1146/annurev.en.26.010181.001151

Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Villa Nova NA (Eds.) (1976) **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 419p.

Soleimannejad S, Fathipour Y, Moharramipour S, Zalucki MP (2010) Evaluation of potential resistance in seeds of different soybean cultivars to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) using demographic parameters and nutritional indices. **Journal of Economic Entomology** 103:1420-1430. DOI: 10.1603/EC10022

Southwood TRE (Eds.) (1978) **Ecological methods**. London: Chapman and Hall, 524p.

Truzzi CC, Vieira NF, Laurentis VL de, Vacari AM, De Bortoli SA (2017) Development and feeding behavior of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on different sunflower genotypes under laboratory conditions. **Arthropod-Plant Interactions** 11:797-805. DOI: 10.1007/s11829-017-9534-4

USDA – United States Department of Agriculture (2018) National nutrients database. Disponível em: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

Waldbauer GP (1968) The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology** 5:229-288. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60230-1

CAPÍTULO 3 – Dieta artificial com variação proteica para criação de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

RESUMO – *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga de grande expressão econômica, que pode se alimentar de mais de 60 espécies vegetais. Como é polífaga, encontra plantas hospedeiras que apresentam constituições físicas e químicas bastante variáveis, o que pode influenciar o desenvolvimento larval, sendo que os teores de proteínas e carboidratos são importantes fatores a serem considerados para que o inseto apresente um desenvolvimento biológico adequado. Neste contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar parâmetros de desenvolvimento do inseto, além de comparar o consumo e a utilização de alimento pelas lagartas de *S. frugiperda* criadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína, em condições de laboratório. Foram utilizadas três formulações de dieta artificial, sendo uma delas a utilizada na criação de rotina do laboratório (D₁), e outras duas modificadas, uma delas contendo a metade da quantidade de proteína (D₂) e a outra com o dobro da quantidade (D₃). Foram observadas diferenças nas taxas de consumo relativo (RCR) e de crescimento relativo (RGR) e na eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) para lagartas de quarto ínstar de *S. frugiperda*. A proteína presente na dieta influenciou a duração dos períodos larval e pupal e o peso de pupas, porém não alterou a sobrevivência dos insetos, a fecundidade e a longevidade dos adultos. Os diferentes níveis de proteína presentes na dieta artificial não influenciam negativamente o crescimento populacional de *S. frugiperda*, sendo assim, esses três níveis podem ser utilizados para criação massal em laboratório, restando saber qual a repercussão que pode ter em gerações sucessivas do inseto.

Palavras-chave: criação massal, nutrição, nível de proteína, lagarta-do-cartucho.

CHAPTER 3 – Artificial diet with protein variation for rearing *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT – *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is a highly economical pest that can feed on more than 60 plant species. As it is polyphagous, it finds host plants that have present quite variable physical and chemical constitutions, which may influence larval development, and the protein and carbohydrate contents are important factors to be considered for the insect to present an adequate biological development. In this context, the aim of this study was to evaluate insect development parameters, as well as to compare the food consumption utilization of *S. frugiperda* reared in diets with different protein levels under laboratory conditions. Three artificial diet formulations were used, one of which was used for routine laboratory rearing (D₁), and two others modified, one containing half the amount of protein (D₂) and the other containing twice the amount (D₃). Differences were observed in relative consumption (RCR) and relative growth rates (RGR) and efficiency of conversion of ingested food (ECI) for *S. frugiperda* fourth instar larvae. The protein present in the diet influenced the duration of larval and pupal periods and pupal weight, but did not affect insect survival, fecundity and longevity of adults. The different protein levels present in the artificial diet of *S. frugiperda* do not negatively influence population growth of *S. frugiperda*, so these three levels can be used for mass rearing in the laboratory, and it remains to be seen what repercussions it may have on successive generations of the insect.

Keywords: mass rearing, nutrition, protein level, fall armyworm.

1. Introdução

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma importante praga da cultura do milho, podendo também se alimentar de mais de 300 espécies de plantas, incluindo algumas de grande interesse econômico, como soja, algodão, cana-de-açúcar e trigo (Barros et al., 2010; Silva et al., 2017; Montezano et al., 2018). Essa espécie apresenta ampla distribuição no continente americano e vem ganhando maior importância devido aos relatos de ocorrência na África e na Índia (Clark et al., 2007; Goergen et al., 2016; Ganiger et al., 2018).

Caracterizar e quantificar os parâmetros biológicos, as necessidades nutricionais e o comportamento dos insetos é muito importante para o desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), sendo que esses estudos são bastante facilitados com a disponibilidade de insetos oriundos de criação massal mantida em condições de laboratório (Panizzi e Parra, 2009). Neste sentido, diversos estudos foram realizados visando desenvolver uma metodologia de criação utilizando dieta artificial para *S. frugiperda*, que seja capaz de fornecer grande quantidade de indivíduos com boa qualidade biológica (Silva e Parra, 2013).

É sabido que insetos herbívoros polípagos dispõem de plantas nutricionalmente diferentes (química e fisicamente) para alimentação, o que pode influenciar diretamente o desenvolvimento larval, sendo que um importante fator nutricional a ser considerado é o teor de proteínas e de carboidratos, especialmente suas proporções, que são componentes fundamentais para o crescimento e o desenvolvimento, principalmente por fazerem parte da composição de enzimas e de hormônios (Bae e Sicher, 2004; Sarate et al., 2012). Para lepidópteros, como *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) foi observado que dietas pobres em proteínas promovem alterações no período de desenvolvimento, no peso e na mortalidade de lagartas, na taxa de pupação, na porcentagem de emergência de adultos e nos índices de consumo e utilização de alimentos (Borzoui et al., 2018; Truzzi et al., 2019).

No contexto da nutrição de insetos, ainda não foram bem explorados os impactos da proporção de nutrientes na dieta artificial para *S. frugiperda*, o que é

capaz de resultar em efeitos positivos ou negativos no desenvolvimento da fase larval, da mesma maneira que pode alterar parâmetros biológicos da fase adulta, como a capacidade reprodutiva do inseto (Scriber e Slansky Jr., 1981; Panizzi e Parra, 2009; Cohen, 2015).

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar alguns parâmetros do desenvolvimento de *S. frugiperda*, comparando também o consumo e a utilização do alimento por lagartas alimentadas com dietas contendo diferentes teores de proteína, em condições de laboratório.

2. Material e métodos

A criação de *S. frugiperda* e os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), , Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP. Os insetos foram mantidos em condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotoperíodo (12 horas de luz/12 horas de escuro).

2.1. Criação de *S. frugiperda*

Lagartas de *S. frugiperda* foram mantidas individualmente em placas de Petri (6,0 cm diâmetro $\times$ 2,0 cm altura) contendo dieta artificial proposta por Kasten Jr. et al. (1978), permanecendo nesses recipientes até se transformarem em pupas. As pupas foram separadas por sexo e transferidas para gaiolas de cópula e oviposição constituídas por tubos de PVC (20,0 cm diâmetro $\times$ 20,0 cm altura), revestidos internamente com papel sulfite, fechados na parte superior com tecido de malha fina (tipo voile) preso com elástico e colocados sobre um prato plástico (23,5 cm diâmetro $\times$ 3,0 cm altura) revestido com papel toalha. Foram acondicionados 20 casais por gaiola e alimentados com solução de mel a 10%, embebida em um pedaço de algodão disposto no interior de uma tampa plástica (3,0 cm diâmetro $\times$ 1,5 cm altura). Os ovos coletados no papel sulfite foram acondicionados em recipientes plásticos (25,0 cm $\times$ 15,0 cm $\times$ 12,0 cm) até a eclosão das lagartas.

2.2. Dietas artificiais utilizadas

Foram utilizadas três formulações de dietas artificiais tendo como base a proposta por Kasten Jr. et al. (1978). Uma foi a dieta recomendada pelos autores (D₁), e as outras duas modificadas a partir dela, contendo a metade (D₂) e o dobro (D₃) da quantidade proteica. As composições das dietas, com as respectivas quantidades de ingredientes, estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição das dietas artificiais utilizadas para criação de *Spodoptera frugiperda*.

Componentes	D ₁	D ₂	D ₃
Feijão branco cozido	240,0 g	120,0 g	480,0 g
Germe de trigo cru	120,0 g	60,0 g	240,0 g
Levedura	72,0 g	36,0 g	144,0 g
Ácido ascórbico	7,3 g	7,3 g	7,3 g
Ácido sórbico	2,4 g	2,4 g	2,4 g
Metil parahidroxibenzoato (Nipagin®)	4,4 g	4,4 g	4,4 g
Solução vitamínica ¹	10,0 mL	10,0 mL	10,0 mL
Tetraciclina	0,12 g	0,12 g	0,12 g
Formaldeído (10%)	6,0 mL	6,0 mL	6,0 mL
Ágar	20,0 g	20,0 g	20,0 g
Água destilada	1000 mL	1000 mL	1000 mL

¹Niacinamida – 4,0 mg; Pantotenato de cálcio – 4,0 mg; Tiamina HCl – 1,0 mg; Riboflavina – 2,0 mg; Piridoxina HCl – 1,0 mg; Ácido fólico – 1,0 mg; Biotina – 0,08 mg; Vitamina B12 – 0,008 mg; Água destilada – 400 mL.

D₁ – Dieta artificial de Kasten Jr. et al. (1978) utilizada na criação.

D₂ – Dieta artificial modificada de Kasten Jr. et al. (1978), com a metade da proteína.

D₃ – Dieta artificial modificada de Kasten Jr. et al. (1978), com o dobro da proteína.

2.3. Índices de consumo e utilização de alimento

No momento em que as lagartas atingiram o quarto ínstar, determinado pelas exúvias, 10 insetos foram retirados das placas de Petri, pesados, mortos por congelamento e levados à estufa para secagem até peso constante. Outros 10 insetos foram pesados e mantidos nas placas de Petri, onde, ao atingirem o quinto

ínstar, confirmado pela presença das exúvias, foi realizado o mesmo procedimento citado para as primeiras 10 lagartas. Além disso, as sobras da dieta e os excrementos dos insetos durante o quarto ínstar e 10 cubos de dieta artificial, iguais aos oferecidos às lagartas, foram pesados e levados à estufa para secagem também até peso constante. Após 3 dias de secagem foram obtidos os pesos secos das lagartas, das dietas e dos excrementos. Assim foram obtidos os parâmetros necessários para a determinação dos índices de consumo e utilização de alimento do quarto ínstar larval, segundo Waldbauer (1968) e Scriber e Slansky Jr. (1981). Deste modo, foram obtidos os seguintes parâmetros (baseados na matéria seca):

T = duração do período de alimentação (dias);

A_f = peso do alimento fornecido ao inseto (g);

A_r = peso da sobra do alimento fornecido ao inseto (g) após T ;

F = peso do excremento produzido (g) durante T ;

$B = (I - F) - M$ = ganho de peso pela lagarta (g) durante T ;

$\bar{B}$ = peso médio das lagartas (g) durante T ;

I = peso do alimento ingerido (g) durante T ;

$I - F$ = alimento assimilado (g) durante T ;

$M = (I - F) - B$ = alimento metabolizado durante T (g).

Os índices de consumo e utilização de alimento para cada tratamento foram determinados utilizando as seguintes equações:

$$\text{Taxa de consumo relativo (g/g/dia) - RCR} = \frac{I}{\bar{B} \times T}$$

$$\text{Taxa de crescimento relativo (g/g/dia) - RGR} = \frac{B}{\bar{B} \times T}$$

$$\text{Taxa metabólica relativa (g/g/dia) - RMR} = \frac{M}{\bar{B} \times T}$$

$$\text{Digestibilidade aproximada (\%) - AD} = \frac{I-F}{I} \times 100$$

$$\text{Eficiência de conversão do alimento ingerido (\%) - ECI} = \frac{B}{I} \times 100$$

$$\text{Eficiência de conversão do alimento digerido (\%) - ECD} = \frac{B}{I-F} \times 100$$

$$\text{Custo metabólico (\%) - CM} = 100 - \text{ECD}$$

2.4. Parâmetros de desenvolvimento

Cinquenta lagartas recém-eclodidas (com menos de 24 horas) foram individualizadas em placas de Petri (6,0 cm diâmetro $\times$ 2,0 cm altura), contendo cubos de dieta artificial (2,0 cm $\times$ 2,0 cm) que foram substituídos quando aproximadamente 80% havia sido consumido. Os insetos foram divididos em 10 repetições por tratamento, sendo observados diariamente durante todo o período larval e pupal. Os parâmetros biológicos obtidos foram: período larval, sobrevivência larval, peso pupal após 24 horas, razão sexual, período pupal e sobrevivência pupal.

Foram liberados dois casais de mariposas, recém emergidas, em gaiolas cilíndricas de PVC (10,0 cm diâmetro $\times$ 20,0 cm altura), fechadas na porção superior com tecido de malha fina (tipo voile), forradas internamente com papel sulfite e apoiadas sobre uma tampa plástica (15,0 cm diâmetro $\times$ 2,0 cm altura) forrada com papel filtro. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% embebida em um pedaço de algodão acondicionado no interior de uma tampa plástica (3,0 cm diâmetro $\times$ 1,5 cm altura). Foram observadas diariamente 4 repetições (gaiolas) por tratamento, determinando-se a fecundidade (ovos/fêmea) e a longevidade de machos e fêmeas.

Posturas com cerca de 100 ovos foram coletadas e acondicionadas em placas de Petri (15,0 cm diâmetro $\times$ 2,0 cm altura) para determinação da viabilidade dos ovos e o tempo necessário para eclosão das lagartas.

Com os parâmetros biológicos obtidos foram estimados aqueles necessários para a construção de tabelas de vida de fertilidade, segundo Birch (1948), Silveira Neto et al. (1976), Southwood (1978) e Price (1984), sendo eles: x = ponto médio de cada idade das fêmeas parentais, idade esta considerada desde a fase de ovo; l_x = expectativa de vida até a idade x , expressa como uma fração de uma fêmea; m_x = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade x e que originarão fêmeas; $l_x.m_x$ = número total de fêmeas nascidas na idade x . Os parâmetros de crescimento resultantes da tabela de vida são: R_0 = taxa líquida de aumento populacional; T = tempo médio de uma geração; r_m = taxa intrínseca de aumento; λ = razão finita de aumento. Determinou-se também o D_t , que é o tempo necessário para a população duplicar em número, segundo Krebs (1994).

Os parâmetros de crescimento (R_0 , T , r_m , λ e Dt) foram calculados utilizando-se as seguintes equações:

$$R_0 = \sum(lx.mx)$$

$$T = \sum(x.lx.mx) / \sum(lx.mx)$$

$$r_m = \ln R_0 / T$$

$$\lambda = e^{r_m}$$

$$Dt = \ln(2) / r_m$$

2.5. Análises estatísticas

Os resultados obtidos para os parâmetros biológicos e os índices de consumo e utilização de alimento para *S. frugiperda* nas diferentes dietas foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett para determinar a normalidade e a homogeneidade da variância. Os resultados de fecundidade de fêmeas, longevidade de machos e os índices de consumo e alimentação atenderam os requisitos da análise de variância (ANOVA). Os dados de longevidade de fêmeas foram transformados em $\log(x+1)$ e depois analisados utilizando o PROC ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados referentes ao período larval, sobrevivência larval, peso de pupas, razão sexual, período pupal e sobrevivência pupal foram comparados pelo teste de Student Newman Keuls ($P < 0,05$). As análises foram conduzidas utilizando-se o software SAS (SAS Institute, 2015).

Os parâmetros para a construção das tabelas de vida de fertilidade foram estimados de acordo com o método Jackknife, para estimar os intervalos de confiança dos parâmetros e para permitir a comparação entre os tratamentos, conforme descrito por Maia et al. (2000). As estimativas foram calculadas por meio do software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

3.1. Índices de consumo e utilização de alimento

O peso seco de lagartas de quinto ínstar de *S. frugiperda* foi semelhante entre os tratamentos, variando entre 21,9 e 32,7 mg. Em relação ao peso fresco, o maior valor foi obtido em D₁, enquanto D₂ apresentou peso intermediário e em D₃ as lagartas apresentaram o menor peso, com variação superior a 90 mg (Figura 1).

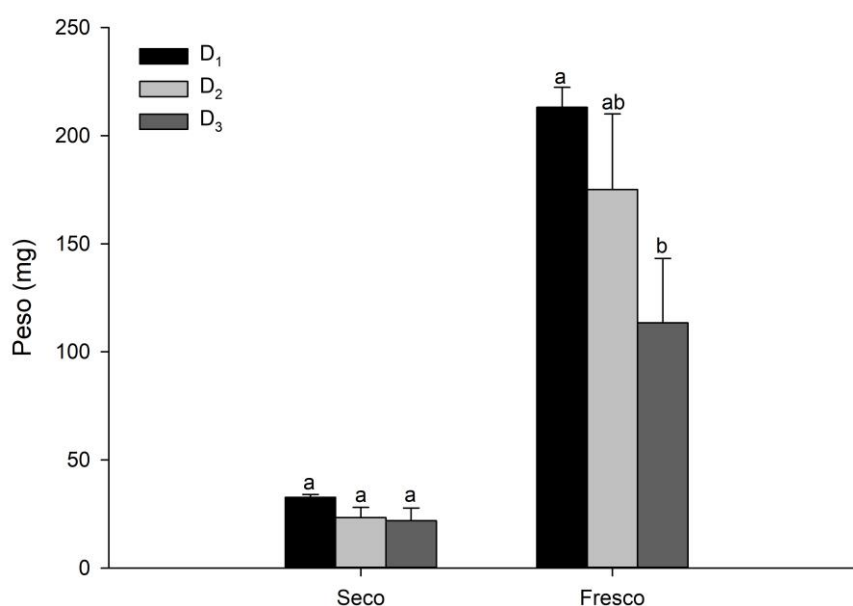


Figura 1. Peso seco e fresco de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dietas artificiais contendo diferentes teores de proteína. D₁ – Dieta artificial utilizada na criação; D₂ – Dieta artificial modificada com a metade da proteína; D₃ – Dieta artificial modificada com o dobro da proteína.

A taxa de consumo relativo (RCR) e a taxa de crescimento relativo (RGR), que representam a quantidade de alimento ingerido e o ganho de biomassa pelo inseto, respectivamente, foram maiores em D₃ (4,69 g/g/dia e 1,44 g/g/dia, respectivamente). A D₁ proporcionou o menor índice para RCR (2,04 g/g/dia), enquanto D₃ apresentou o maior RGR (1,44 g/g/dia) (Tabela 2).

Tabela 2. Índices nutricionais de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dietas artificiais contendo diferentes teores de proteína.

Índices	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
RCR (g/g/dia)	2,04 ± 0,09b ¹	3,55 ± 0,77ab	4,69 ± 0,96a
RGR (g/g/dia)	0,65 ± 0,02b	0,90 ± 0,15b	1,44 ± 0,27a
RMR (g/g/dia)	0,46 ± 0,08a	1,14 ± 0,47a	1,39 ± 0,41a
AD (%)	55,09 ± 4,08a	54,44 ± 4,64a	62,93 ± 6,29a
ECI (%)	32,22 ± 1,34a	26,17 ± 1,41b	30,32 ± 2,37ab
ECD (%)	61,42 ± 5,44a	52,28 ± 6,59a	50,98 ± 7,24a
CM (%)	38,57 ± 5,44a	47,71 ± 6,59a	49,01 ± 7,24a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

D₁ – Dieta artificial utilizada na criação; D₂ – Dieta artificial modificada com a metade da proteína; D₃ – Dieta artificial modificada com o dobro da proteína.

Em relação à taxa metabólica relativa (RMR), à digestibilidade aproximada (AD), à eficiência de conversão do alimento digerido (ECD) e ao custo metabólico (CM), que envolvem a quantidade de alimento metabolizado, assimilado e convertido em biomassa, não foram observadas diferenças entre as dietas. Por outro lado, a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) foi maior para D₁ (32,22%), indicando que uma quantidade mais elevada do alimento ingerido foi transformado em biomassa, sendo esse índice menor para D₂ (26,17%) (Tabela 2).

3.2. Parâmetros de desenvolvimento

O período larval dos insetos alimentados nas diferentes dietas variou de 17,9 a 18,9 dias, sendo mais longo para a dieta com o dobro de proteína (D₃). A porcentagem de sobrevivência do período larval não apresentou diferença significativa nas três condições de teor de proteína, sendo sempre maior que 84,0% (Tabela 3).

O peso de pupas com 24 horas de idade foi maior para D₁ (288,2 mg), com redução para ambas as dietas com modificações nos teores de proteína, com valor

intermediário para D₃ e menor para D₂, respectivamente 275,0 mg e 246,1 mg. A razão sexual não diferiu entre os tratamentos, sendo 0,5 nas três dietas (Tabela 3).

Houve influência das dietas no período pupal de *S. frugiperda*, com a duração maior para D₁ (10,6 dias), intermediária para D₃ (10,3 dias) e menor para D₂ (10,2 dias). A porcentagem de sobrevivência até o final da fase pupal não apresentou diferença entre as dietas avaliadas, com valores acima de 78,0% nas três condições (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros biológicos das fases larval e pupal de *Spodoptera frugiperda*, com lagartas alimentadas com dietas artificiais contendo diferentes teores de proteína.

Características	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
Período larval (dias)	18,3 ± 0,22b ¹	17,9 ± 0,22b	18,9 ± 0,19a
Sobrevivência larval (%)	88,0 ± 4,64a	90,0 ± 4,28a	84,0 ± 5,24a
Peso de pupas (mg)	288,2 ± 4,06a	246,1 ± 4,55c	275,0 ± 4,09b
Razão sexual	0,5 ± 0,06a	0,5 ± 0,06a	0,5 ± 0,08a
Período pupal (dias)	10,6 ± 0,11a	10,2 ± 0,11b	10,3 ± 0,12ab
Sobrevivência pupal (%)	80,0 ± 5,71a	88,0 ± 4,64a	78,0 ± 5,92a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05). D₁ – Dieta artificial utilizada na criação; D₂ – Dieta artificial modificada com a metade da proteína; D₃ – Dieta artificial modificada com o dobro da proteína.

Na fase adulta as fêmeas de *S. frugiperda* apresentaram longevidade maior que os machos, não havendo diferença significativa para a longevidade de machos e fêmeas entre as dietas. A alimentação das lagartas também não influenciou a fecundidade das fêmeas, que variou entre 592,9 e 667,5 ovos/fêmea (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros biológicos de adultos de *Spodoptera frugiperda*, com lagartas alimentadas com dietas artificiais contendo diferentes teores de proteína.

Características	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
Longevidade de machos (dias)	8,1 ± 1,02a ¹	8,8 ± 0,44a	6,5 ± 1,13a
Longevidade de fêmeas (dias)	11,5 ± 1,36a	10,4 ± 0,73a	10,3 ± 0,49a
Fecundidade (ovos/fêmea)	667,5 ± 126,93a	618,6 ± 77,38a	592,9 ± 75,62a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

D₁ – Dieta artificial utilizada na criação; D₂ – Dieta artificial modificada com a metade da proteína; D₃ – Dieta artificial modificada com o dobro da proteína.

O período reprodutivo de *S. frugiperda* alimentada com as dietas artificiais começou 1 dia após a emergência das fêmeas. A duração média do período reprodutivo foi de 6, 10 e 12 dias, quando as lagartas foram alimentadas com D₃, D₂ e D₁, respectivamente. Os números totais de descendentes por fêmea e o período de sobrevivência dos insetos foram proporcionais, sendo maior para D₁, intermediária para D₂ e menor para D₃, apresentando de 677,2, 551,4 e 531,9 descendentes por fêmea e 45, 42 e 40 dias, respectivamente (Figura 2).

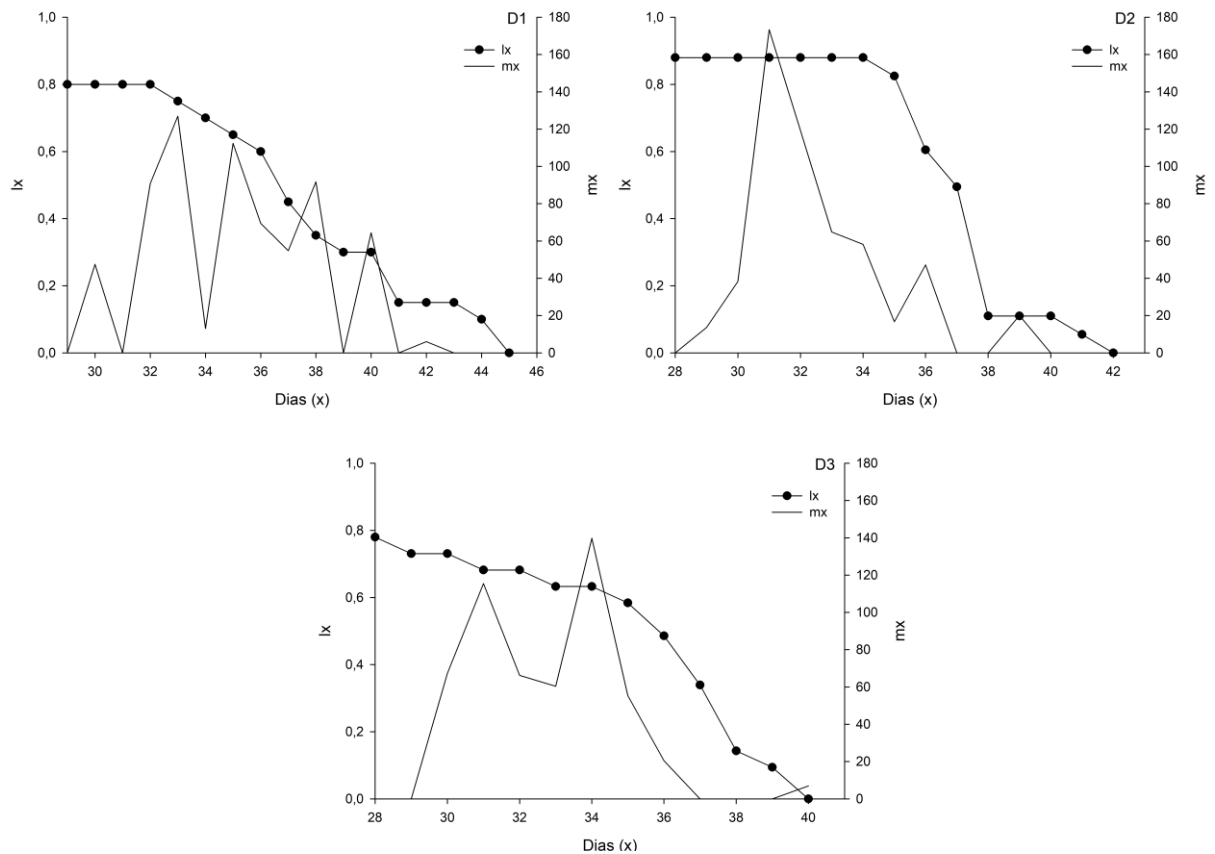


Figura 2. Número médio de descendentes por fêmea (m_x) e taxa de sobrevivência (l_x) de *Spodoptera frugiperda* nas dietas artificiais. D₁ – Dieta artificial utilizada na criação; D₂ – Dieta artificial modificada com a metade da proteína; D₃ – Dieta artificial modificada com o dobro da proteína.

Os resultados da tabela de vida de fertilidade para *S. frugiperda* não mostraram diferenças entre as dietas. A taxa líquida de reprodução (R_0) ficou entre 231,22 e 255,86 fêmeas/fêmea por geração. Numericamente, a maior taxa intrínseca de aumento (r_m) observada foi de 0,199 fêmeas/fêmea/dia, enquanto o valor máximo de razão finita de aumento (λ) foi de 1,220. Em relação à duração média da geração (T), seu valor variou entre 27,8 a 29,4 dias, sendo que foram necessários ao menos 3,5 dias para a população duplicar em número (D_t) (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Spodoptera frugiperda*, com lagartas alimentadas com dietas artificiais contendo diferentes teores de proteína.

Características	Dietas		
	D ₁	D ₂	D ₃
R ₀	248,77a ¹ (158,94 – 338,60)	255,86a (205,60 – 306,11)	231,22a (184,52 – 277,91)
r _m	0,187a (0,1635 – 0,2118)	0,199a (0,1931 – 0,2059)	0,191a (0,1785 – 0,2049)
λ	1,206a (1,1773 – 1,2354)	1,220a (1,2130 – 1,2287)	1,211a (1,1953 – 1,2272)
T	29,4a (26,94 – 31,86)	27,8a (27,17 – 28,42)	28,4a (27,15 – 29,64)
Dt	3,7a (3,19 – 4,17)	3,5a (3,36 – 3,58)	3,6a (3,36 – 3,86)

¹Médias (intervalo de confiança) seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste t de Student ($P > 0,05$).

D₁ – Dieta artificial utilizada na criação; D₂ – Dieta artificial modificada com a metade da proteína; D₃ – Dieta artificial modificada com o dobro da proteína.

4. Discussão

Ao comparar os índices de consumo e utilização de alimentos para lagartas de *S. frugiperda* em dietas com diferentes teores de proteína foram observadas algumas diferenças. A massa seca das lagartas foi semelhante nas três dietas, entretanto houve diferença no peso fresco de lagartas de quinto ínstar, com o maior peso observado na D₁, enquanto a dieta com menor teor de proteína proporcionou peso intermediário e a dieta mais rica o menor peso. Pinto et al. (2019) obtiveram resultados semelhantes ao avaliarem dietas artificiais com adição de milho verde ou farinha de milho na composição, com excessão para a dieta D₃ deste trabalho, que apresentou elevada redução no peso fresco dos insetos.

Os resultados referentes aos pesos das lagartas podem ser explicados através dos índices de consumo e utilização do alimento, visto que a taxa de consumo relativo (RCR), que representa a quantidade de alimento ingerido por unidade de peso do inseto por dia, e a taxa de crescimento relativo (RGR), que

demonstra o ganho de biomassa pelo inseto em relação ao seu peso por dia, foram maiores na dieta com o maior teor de proteína (D₃), indicando que as lagartas precisaram ingerir uma maior quantidade de alimento e proteína para atender suas necessidades nutricionais, o que levou a um maior ganho de peso. O maior RGR provavelmente ocorreu devido ao menor intervalo de tempo para troca de ínstar, o que pode ser confirmado ao se observar o menor peso fresco das lagartas nessa dieta.

Para a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI), que representa a porcentagem de alimento ingerido que foi transformado em biomassa, o maior valor foi na dieta D₁, demonstrando que houve maior aproveitamento dessa dieta pelo inseto, enquanto o menor valor foi observado na D₂. Quanto aos demais índices, as três dietas artificiais foram semelhantes, indicando que os teores de proteína não interferiram no metabolismo de *S. frugiperda*.

A quantidade do alimento consumido, assim como a sua qualidade nutricional, pode resultar em alterações na duração da fase larval de *S. frugiperda* como citam Pinto et al. (2019), fato este também observado no presente trabalho, uma vez que a quantidade de proteína existente na dieta influenciou o período larval, prolongando-o quando em níveis mais elevados, não prejudicando porém a sobrevivência dos insetos. Ao avaliar diferentes plantas como alimento para *S. frugiperda*, Silva et al. (2017) encontraram período larval variando entre 12,87 e 19,93 dias em milho e algodão, respectivamente, enquanto na dieta artificial de Greene et al. (1976) foi de 11,99 dias, sendo, portanto, resultados semelhantes e menores do que os obtidos neste estudo.

A dieta com maior teor de proteína resultou em redução no peso de pupas e na duração desta fase, enquanto níveis intermediários apresentaram pupas mais pesadas e com período mais longo, não havendo, entretanto, influência do alimento na sobrevivência pupal de *S. frugiperda*. Em relação à esse parâmetro biológico, Giongo et al. (2015), utilizando dieta artificial de Greene et al. (1976), obtiveram pupas com 279,51 mg de peso, valor semelhante ao obtido neste trabalho.

De acordo com Bernardi et al. (2014), pupas mais pesadas devem originar fêmeas de maior fecundidade, mesmo quando na fase larval são expostos a fatores adversos. Essa relação não foi observada no presente estudo, visto que a dieta

oferecida durante o período larval não interferiu na fecundidade das fêmeas e na longevidade dos adultos, o que pode ser devido ao fato de as três variações proteicas utilizadas terem fornecido peso de pupas semelhantes, com variação de apenas 42,1 mg. No entanto, os resultados encontrados nesta pesquisa foram bem menores quando comparados aos de outros estudos que citam valores entre 1061,0 e 1850,0 ovos/fêmea, porém com longevidade de fêmeas acima de 17 dias (Bernardi et al., 2014; Pinto et al., 2019). Como a duração da fase adulta foi reduzida em mais de 5 dias nesta pesquisa, mesmo utilizando dieta semelhante aos desses estudos, isso deve ter influenciado na redução do número de ovos/fêmea.

O resultado da tabela de vida de fertilidade não mostrou influência das dietas no crescimento populacional de *S. frugiperda*. A taxa líquida de aumento populacional (R_0) foi maior que 1, enquanto a intrínseca de aumento (r_m) e a razão finita de aumento (λ) foram positivas, indicando o crescimento da população. O tempo médio de uma geração (T) ficou entre 27,8 e 29,4 dias, demonstrando que o nível de proteína na dieta, dentro dos valores testados, não interferiu no ciclo total do inseto. Os parâmetros estimados apontam o crescimento populacional de *S. frugiperda*, sendo que o tempo necessário para a população duplicar em número (D_t) também foi semelhante, indicando que a população do inseto irá se reproduzir e crescer de forma semelhante nas três dietas utilizadas, até mesmo naquela com menor teor de proteína.

Ao avaliar o desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentada com planta de milho, Omoto et al. (2016) obtiveram valores semelhantes para os parâmetros da tabela de vida de fertilidade, exceto para o tempo de geração que foi mais longo do que o encontrado neste trabalho (36,6 dias), reforçando a afirmativa de que as dietas artificiais avaliadas são adequadas para criação de *S. frugiperda* em laboratório, pois também não ocorreu diferença no crescimento da população, havendo, ainda, uma certa aceleração no desenvolvimento do inseto quando comparado ao seu hospedeiro natural.

Alguns estudos sugerem que insetos herbívoros podem ter mecanismos comportamentais e/ou bioquímicos quando estão expostos à alimentos considerados nutricionalmente não ideais, conseguindo controlar o processo de ingestão com o objetivo de manter o equilíbrio nutricional (Behmer et al., 2002; Bede et al., 2007).

Nesse sentido, sabe-se que a fase larval do gênero *Spodoptera* apresenta respostas flexíveis após a ingestão desequilibrada de nutrientes e, para compensar a influência de proteínas na dieta, são capazes de metabolizar e utilizar o “esqueleto” de carboidratos dos aminoácidos, eliminando o excesso como resíduos nitrogenados (Lee et al., 2003; Lwalaba et al., 2010; Zhang et al., 2011). Isso justificaria a alteração de alguns índices de consumo e utilização de alimento, porém não interferindo no desenvolvimento e crescimento populacional de *S. frugiperda*, indicando que as modificações realizadas nas dietas artificiais não influenciaram significativamente a criação desta espécie.

Além disso, a redução na quantidade de ingredientes utilizados para criação massal é interessante, pois diminui o custo para elaboração da dieta e, conseqüentemente, o custo final de produção dos insetos. Por exemplo, o preço médio de 1 kg de feijão branco é de US\$2,55, de 1 kg de germe de trigo US\$3,21 e de 1 kg de levedura US\$4,90 (US\$1,00 = R\$ 4,89), o que resultaria em um custo de US\$1,35 desses ingredientes para 1000 mL de água na dieta artificial utilizada na criação (D₁) e de US\$0,68 na dieta com a metade da proteína (D₂). A redução no custo de criação de *S. frugiperda* é interessante para o desenvolvimento de pesquisas e, principalmente, para agentes de controle como *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Platygasteridae) e baculovirus (Haase et al., 2015; Vieira et al., 2017), que também teriam o seu custo reduzido, quando *S. frugiperda* for utilizada no processo de criação/produção.

Estudos futuros devem ser realizados para avaliar as concentrações de macro e micronutrientes, visando a elaboração de dietas mais adequadas para criação, assim como avaliar a interferência dos diferentes níveis de proteína em gerações sucessivas, visto que alguns dos componentes modificados nas dietas podem fornecer micronutrientes que são essenciais aos insetos, como a levedura que contém esteróis, sendo que a deficiência destes nutrientes pode ser detectada apenas após algumas gerações sucessivas (Cortes Ortiz et al., 2016).

5. Conclusão

Os diferentes níveis de proteína presentes nas dietas artificiais promoveram desenvolvimento semelhante de *S. frugiperda*, assim sendo, as três dietas artificiais avaliadas podem ser utilizadas para criação massal em laboratório, com redução no custo de produção para aquela com os menores teores.

6. Referências

Bae H, Sicher R (2004) Changes of soluble protein expression and leaf metabolite levels in *Arabidopsis thaliana* grown in elevated atmospheric carbon dioxide. **Field Crops Research** 90:61-73. DOI: 10.1016/j.fcr.2004.07.005

Barros EM, Torres JB, Bueno AF (2010) Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology** 39:996-1001. DOI: 10.1590/S1519-566X2010000600023

Bede JC, McNeil JN, Tobe SS (2007) The role of neuropeptides in caterpillar nutritional ecology. **Peptides** 28:185-196. DOI: 10.1016/j.peptides.2006.08.030

Behmer ST, Simpson SJ, Raubenheimer D (2002) Herbivore foraging in chemically heterogeneous environments: nutrients and secondary metabolites. **Ecology** 83:2489-2501. DOI: 10.1890/0012-9658(2002)083[2489:HFICHE]2.0.CO;2

Bernardi O, Sorgatto RJ, Barbosa AD, Domingues FA, Dourado PM, Carvalho RA, Martinelli S, Head GP, Omoto C (2014) Low susceptibility of *Spodoptera cosmioides*, *Spodoptera eridania* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to genetically-modified soybean expressing Cry1Ac protein. **Crop Protection** 58:33-40. DOI: 10.1016/j.cropro.2014.01.001

Birch LC (1948) The intrinsic rate of natural increase of on insect population. **Journal of Animal Ecology** 17:15-26. DOI: 10.2307/1605

Borzoui E, Bandani AR, Goldansaz SH, Talaei-Hassanlouei R (2018) Dietary protein and carbohydrate levels affect performance and digestive physiology of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology** 111:942-949. DOI: 10.1093/jee/tox360

Clark PL, Molina-Ochoa J, Martinelli S, Skoda SR, Isenhour DJ, Lee DJ, Krumm JT, Foster JE (2007) Population variation of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in the Western Hemisphere. **Journal of Insect Science** 7:1-10. DOI: 10.1673/031.007.0501

Cohen AC (Eds.) (2015) **Insect diets: Science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 473p.

Cortes Ortiz JA, Ruiz AT, Morales-Ramos JA, Thomas M, Rojas MG, Tomberlin JK, Yi L, Han R, Giroud L, Jullien RL (2016) Insect mass production technologies. In.: Dossey AT, Morales-Ramos J, Rojas MG (Eds.) **Insects as sustainable food ingredients: production, processing and food applications**. Cambridge: Academic Press, p. 153-201.

Ganiger PC, Yeshwanth HM, Muralimohan K, Vinay N, Kumar ARV, Chandrashekara K (2018) Occurrence of the new invasive pest, fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in the maize fields of Karnataka, India. **Current Science** 115:621-623. DOI: 10.18520/cs/v115/i4/621-623

Giongo AMM, Vendramim JD, Freitas SDL, Silva MFGF (2015) Growth and nutritional physiology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on Meliaceae fractions. **Revista Colombiana de Entomología** 41:33-40.

Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamo M (2016) First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS ONE** 11:e0165632. DOI: 10.1371/journal.pone.0165632

Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. DOI: 10.1093/jee/69.4.487

Haase S, Sciocco-Cap A, Romanowski V (2015) Baculovirus insecticides in Latin America: Historical overview, current status and future perspectives. **Viruses** 7:2230-2267. DOI: 10.3390/v7052230

Kasten Jr. P, Precetti AACM, Parra JRP (1978) Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura** 53:68-78.

Krebs CJ (Eds.) (1994) **Ecology**: the experimental analysis of distribution and abundance. New York: Harper Collins College Publishers, 801p.

Lee KP, Raubenheimer D, Behmer ST, Simpson SJ (2003) A correlation between macronutrient balancing and insect hostplant range: evidence from the specialist caterpillar *Spodoptera exempta* (Walker). **Journal of Insect Physiology** 49:1161-1171. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2003.08.013

Lwalaba D, Hoffmann KH, Woodring J (2010) Control of the release of digestive enzymes in the larvae of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology** 73:14-29. DOI: 10.1002/arch.20332

Maia AHN, Luiz AJB, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life parameters using Jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology** 93:511-518. DOI: 10.1603/0022-0493-93.2.511

Montezano DG, Specht A, Sosa-Gómez DR, Roque-Specht VF, Sousa-Silva JC, Paula-Moraes SV, Peterson JA, Hunt TE (2018) Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology** 26:286-300. DOI: 10.4001/003.026.0286

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head GP (2016) Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science** 72:1727-1736. DOI: 10.1002/ps.4201

Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) (2009) **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Brasília: EMBRAPA, 1163p.

Pinto JRL, Torres AF, Truzzi CC, Vieira NF, Vacari AM, De Bortoli SA (2019) Artificial corn-based diet for rearing *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Insect Science** 19:1-8. DOI: 10.1093/jisesa/iez052

Price PW (Eds.) (1984) **Insect ecology**. New York: John Willey, 607p.

Sarate PJ, Tamhane VA, Kotkar HM, Ratnakaran N, Susan N, Gupta VS, Giri AP (2012) Developmental and digestive flexibilities in the midgut of a polyphagous pest, the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Journal of Insect Science** 12:1-16. DOI: 10.1673/031.012.4201

SAS Institute (2015) SAS/IML® 14.1 User`s guide. Cary: SAS Institute Inc.

Scriber JM, Slansky Jr. F (1981) The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26:183-211. DOI: 10.1146/annurev.en.26.010181.001151

Silva CSB, Parra JRP (2013) New method for rearing *Spodoptera frugiperda* in laboratory shows that larval cannibalism is not obligatory. **Revista Brasileira de Entomologia** 57:347-349. DOI: 10.1590/S0085-56262013005000029

Silva DM da, Bueno AF, Andrade K, Stecca CS, Neves PMOJ, Oliveira MCN (2017) Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. **Scientia Agricola** 74:18-31. DOI: 10.1590/1678-992x-2015-0160

Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Villa Nova NA (Eds.) (1976) **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 419p.

Southwood TRE (Eds.) (1978) **Ecological methods**. London: Chapman and Hall, 524p.

Truzzi CC, Holzhausen HG, Álvaro JC, Laurentis VL, Vieira NF, Vacari AM, De Bortoli SA (2019) Food consumption utilization, and life history parameters of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) reared on diets of varying protein level. **Journal of Insect Science** 19:1-7. DOI: 10.1093/jisesa/iey138

Vieira NF, Pomari-Fernandes A, Lemes AAF, Vacari AM, De Bortoli SA, Bueno AF (2017) Cost of production of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) grown in natural and alternative hosts. **Journal of Economic Entomology** 110:2724-2726. DOI: 10.1093/jee/tox271

Waldbauer GP (1968) The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology** 5:229-288. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60230-1

Zhang B, Helen HS, Wang J, Liu H (2011) Performance and enzyme activity of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) under various nutritional conditions. **Agricultural Sciences in China** 10:737-746. DOI: 10.1016/S1671-2927(11)60057-6

CAPÍTULO 4 – Toxicidade e repelência de extrato de *Piper cubeba* e inseticidas comerciais para *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), e fitotoxicidade do extrato em milho e soja

RESUMO – *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) são pragas de culturas de grande importância econômica, como o milho e a soja. As principais táticas para o controle dessas pragas incluem aplicações de inseticidas químicos e biológicos, com o uso de extratos botânicos apresentando também certo destaque no controle de pragas, devido, além da ação inseticida, o efeito repelente que muitas vezes ocorre. Neste contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a fitotoxicidade do extrato hexânico de *Piper cubeba* (Piperales: Piperaceae) em plantas de milho e de soja, além de sua atividade inseticida e de repelência para lagartas de *H. armigera* e *S. frugiperda*, comparando com alguns produtos comerciais. A fitotoxicidade foi avaliada em plantas de milho no estágio V8-10 e em plantas de soja no estágio V7-V8 utilizando cinco concentrações do extrato. A toxicidade no inseto foi avaliada via ingestão utilizando-se dieta artificial tratada com soluções recomendadas do inseticida químico flubendiamida (Belt®); dos inseticidas biológicos VPN-HzSNPV (Diplomata®), VPN-SfMNPV (CartuchoVIT®) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®); além da maior concentração do extrato que não causa sintomas de fitotoxicidade. A mortalidade foi registrada diariamente até 10 dias após a ingestão. A repelência foi avaliada usando as concentrações subletais (CL₅₀) previamente estabelecidas, em testes de dupla e de múltipla chance de escolha. A fitotoxicidade do extrato em plantas de milho foi evidente em concentrações acima de 2,0%, enquanto em soja ocorreu acima de 0,5%. O extrato de *P. cubeba* não apresentou atividade inseticida para lagartas de *H. armigera*, mas resultou na mortalidade de 90,0% de *S. frugiperda* quando utilizado a 2,0%. Comparado aos demais produtos, *P. cubeba* apresentou atividade de repelência para ambos os insetos-praga. Os resultados desse trabalho mostram que o extrato de *P. cubeba* afeta o comportamento de *H. armigera* e *S. frugiperda* por sua ação repelente e, em concentrações não fitotóxicas ao milho, causa elevada mortalidade de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: fitotoxicidade, controle químico, controle biológico, manejo integrado.

CHAPTER 4 – Toxicity and repellency of *Piper cubeba* extract and commercial insecticides for *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), and the extract phytotoxicity in maize and soybean

ABSTRACT – *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) are pests of crops of great economic importance, such as maize and soybean. The main tactics to control these pests include applications of chemical and biological pesticides, with the use of botanical extracts also showing a certain prominence in pest control, due, in addition to the insecticidal action, the repellent effect that often occurs. In this sense, the aim of this work was to evaluate the phytotoxicity of the hexane extract of *Piper cubeba* (Piperales: Piperaceae) on maize and soybean plants, in addition to the insecticidal activity and repellency for *H. armigera* and *S. frugiperda* larvae, comparing with some commercial products. Phytotoxicity was evaluated in maize plants in stage V8-10 and in soybean plants in stage V7-V8 by using five concentrations of the extract. Insect toxicity was evaluated by ingestion using an artificial diet treated with recommended solutions of the chemical pesticide flubendiamide (Belt®); of the biological pesticides NPV-HzSNPV (Diplomata®), NPV-SfMNPV (CartuchoVIT®) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®); in addition to the higher concentration of the extract that did not cause symptoms of phytotoxicity. Mortality was recorded every day up to 10 days after ingestion. Repellency was evaluated using previously established sublethal concentrations (LC₅₀), in double and multiple-choice test. The phytotoxicity of the extract in corn plants was evident in concentrations above 2.0%, while in soybean it occurred above 0.5%. The *P. cubeba* extract did not show insecticidal activity for *H. armigera* larvae, but resulted in a mortality of 90.0% of *S. frugiperda* when used at 2.0%. Compared to the other products, *P. cubeba* showed repellent activity for both pest insects. The results of this work show that the extract of *P. cubeba* affects the behavior of *H. armigera* and *S. frugiperda* by its repellent action, and in non-phytotoxic concentrations to maize, causes high mortality of *S. frugiperda*.

Keywords: phytotoxicity, chemical control, biological control, integrated management.

1. Introdução

Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) tem ampla distribuição geográfica, sendo encontrada na África, América do Sul e Central, Ásia, Europa e Oceania (EPPO, 2019), enquanto *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) ocorre desde a América do Sul até a do Norte, além de ter ampliado sua ocorrência para o continente africano e asiático (Nagoshi e Meagher, 2008; Goergen et al., 2016; Ganiger et al., 2018). Ambas as espécies são polífas, com relatos de ocorrência em diversas espécies de plantas, incluindo culturas de grande importância econômica, como o milho e a soja (Barros et al., 2010; EPPO, 2019). Esses lepidópteros normalmente causam danos em função da alimentação em órgãos vegetativos e estruturas reprodutivas (Cunningham et al., 1999; Goergen et al., 2016).

A principal tática utilizada para o controle de *H. armigera* é a aplicação de inseticidas químicos. Porém, o uso indiscriminado tem resultado na seleção de populações resistentes, dificultando assim o controle dos insetos, além dos efeitos negativos causados no ambiente, nos trabalhadores e nos organismos não alvo (Fathipour e Sedaratian, 2013; Pimentel e Peshin, 2014). Para *S. frugiperda*, além da utilização de inseticidas químicos, também são empregadas plantas que expressam proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) (Bacillales: Bacillaceae) (*Bt*). Entretanto, também há relatos de resistência desta espécie aos inseticidas sintéticos e às plantas *Bt*, neste caso, principalmente devido à exposição contínua a essas plantas e a não implantação de áreas adequadas de refúgio (Carvalho et al., 2013; Omoto et al., 2016).

Devido a esses problemas, é essencial buscar novas medidas que sejam eficazes para o controle de *H. armigera* e *S. frugiperda*, sendo uma das alternativas a utilização de extratos botânicos, que podem apresentar efetiva atividade inseticida, repelência ou ainda alterar os processos alimentares e hormonais dos insetos, sendo também mais seguros para organismos benéficos quando comparados aos inseticidas convencionais (Vendramini et al., 2012; El-Wakeil, 2013). Como exemplo de plantas com potencial inseticida, pode-se destacar o gênero *Piper*, sendo que seu óleo essencial possui atividade comprovada contra coleópteros, hemípteros e

lepidópteros, incluindo noctuídeos, como *H. armigera* e *S. frugiperda* (Lima et al., 2009; Dos Santos et al., 2017). Uma das espécies do gênero, a pimenta cubeba, *Piper cubeba* L. (Piperales: Piperaceae), tem ação tóxica e de repelência constatada para *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) e *Callosobruchus chinensis* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Su, 1990; Chaubey, 2013). Entretanto, um dos problemas que os extratos podem causar é a toxicidade à planta na qual será aplicado (Ismail et al., 2012), sendo de extrema importância pesquisas com a finalidade de verificar a viabilidade de utilização destes produtos.

Neste sentido, este estudo teve como objetivo avaliar a fitotoxicidade do extrato hexânico de *P. cubeba* em plantas de milho e soja, além da atividade inseticida e a repelência para lagartas de *H. armigera* e *S. frugiperda*, comparando com produtos químicos e biológicos disponíveis comercialmente para controle dessas pragas.

2. Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) e em casa de vetação do), Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP. A população de *H. armigera* foi obtida da biofábrica Promip, situada em Engenheiro Coelho, SP, sendo os indivíduos fundadores (lagartas) coletados em plantios de soja e algodão no município de Barreiras, BA, e de soja em Guiratinga, MT, com 18 gerações em laboratório. A criação de *S. frugiperda* teve início com insetos oriundos da empresa Herbae, de Jaboticabal, SP, estando com 22 gerações em laboratório durante a realização dos experimentos. Os bioensaios foram conduzidos em condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotoperíodo (12 horas de luz/12 horas de escuro).

Para o teste de fitotoxicidade foi utilizado o milho híbrido, BG7049 (BioGene®), e a variedade de soja, BRS Tracajá (Embrapa®), ambos convencionais. A semeadura foi realizada em vasos plásticos (5 L), contendo um substrato constituído por três partes de terra, uma parte de areia e uma parte de composto

orgânico. Para o milho foi utilizado 7 g de adubo NPK 08-28-16 no plantio e, no estágio V4 (Ritchie e Hanway, 1993), foram aplicadas 7 g de adubo NPK 20-05-15. Para a soja, a adubação de plantio foi realizada com 2 g de adubo NPK 05-20-20 e a adubação de cobertura, no estágio V4 (Fehr e Caviness, 1977), com 3 g de adubo NPK 20-05-15. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação climatizada (temperatura de 25 ± 3 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e luz natural), sendo realizada irrigação diretamente no vaso, sempre que necessário.

2.1. Preparo do extrato hexânico de *Piper cubeba*

O extrato foi preparado na Universidade de Franca (UNIFRAN), Franca, SP, com 1005 g de sementes de *P. cubeba*. As sementes foram secas em estufa com circulação de ar durante dois dias, por 4 horas a cada dia, em temperatura de 100 °C. Em seguida, passaram pelo moinho de facas, sendo adicionado 2 litros de etanol para maceração, dando origem ao extrato etanólico bruto, que passou pelo processo de extração exaustiva, com agitação e posterior filtragem. O processo foi repetido por 3 vezes, obtendo-se um extrato mais claro. Na sequência foi realizada a partição desse extrato, sendo adicionado no funil de separação 500 mL de solução hidrometanólica, na proporção 9:1 (MeOH:Água) e, em seguida, 150 mL de hexano por 6 vezes. Posteriormente, a solução foi agitada e deixada em repouso para posterior separação da fração hexânica e hidrometanólica.

2.2. Fitotoxicidade do extrato hexânico de *Piper cubeba*

Plantas de milho no estágio V8-V10 (Ritchie e Hanway, 1993) e plantas de soja no estágio V7-V8 (Fehr e Caviness, 1977) foram pulverizadas até o ponto de escorrimento, com a utilização de um pulverizador manual (1,5 L) com compressão prévia, em casa de vegetação. Foram utilizadas seis concentrações do extrato hexânico de *P. cubeba* diluídas em água destilada (0,5%, 1,0%, 2,0%, 3,0%, 5,0% e 7,0%), além de um tratamento controle com água destilada. Foram avaliadas 5 repetições compostas por duas plantas, totalizando dez plantas por concentração. A avaliação visual de fitotoxicidade, considerando o grau de clorose e o enrugamento

das folhas, foi realizada a cada 24 horas, durante 7 dias, seguindo-se a escala proposta pelo Comitê de Métodos de Conselho Europeu de Pesquisa sobre Plantas Daninhas (EWRC, 1964) ,com as seguintes notas: 1 – Nulo; 2 – Muito leve; 3 – Leve; 4 – Baixa; 5 – Média; 6 – Quase forte; 7 – Forte; 8 – Muito forte e 9 – Total/Destruição completa.

2.3. Toxicidade de produtos via ingestão

Para avaliação da toxicidade, foi utilizada a metodologia descrita por George (2011), onde cubos (2,0 cm × 2,0 cm) da dieta artificial proposta por Greene et al. (1976) modificada, para *H. armigera*, e por Kasten Jr. et al. (1978), para *S. frugiperda*, foram mergulhados, individualmente e por 5 segundos, em soluções preparadas de acordo com as recomendações de cada inseticida comercial para *H. armigera* (Belt®, flubendiamida, 0,12 g i.a./L; Diplomata®, VPN-HzSNPV, 0,00695 g i.a./L) e *S. frugiperda* (Belt®, flubendiamida, 0,12 g i.a./L; CartuchoVIT®, VPN-SfMNPV, 0,0021 g i.a./L; XenTari®, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*, 1,89 g i.a./L), utilizando água destilada como diluente. No caso do extrato hexânico de *P. cubeba*, que não possui registro, as concentrações foram determinadas baseando-se no teste de fitotoxicidade, sendo utilizada a maior concentração que não causou sintomas às plantas. Posteriormente, os cubos de dieta foram secos em temperatura ambiente e, então, colocados individualmente em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura) contendo uma lagarta de segundo ínstar de *H. armigera* ou *S. frugiperda*. Para cada tratamento foram observadas 10 repetições, sendo cada repetição composta por 10 placas, totalizando 100 lagartas de cada espécie para cada produto. No tratamento controle, a dieta artificial foi tratada com água destilada. A avaliação de mortalidade foi realizada a cada 24 horas, até 10 dias após o início da alimentação. As lagartas foram registradas como mortas quando não se moviam ao serem tocadas com um pincel de cerdas finas.

2.4. Repelência de produtos para lagartas

Cubos de dieta artificial, semelhantes ao descrito no item anterior, foram mergulhados em soluções preparadas de acordo com as concentrações subletais (CL₅₀) estabelecidas previamente. Para *H. armigera* foram utilizadas as seguintes concentrações: Belt®, flubendiamida, 0,00072 g i.a./L; Diplomata®, VPN-HzSNPV, 0,00248 g i.a./L; Extrato hexânico de *P. cubeba* a 2,0%. Para *S. frugiperda* foram: Belt®, flubendiamida, 0,00089 g i.a./L; CartuchoVIT®, VPN-SfMNPV, 0,00040 g i.a./L; XenTari®, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*, 0,0516 g i.a./L; Extrato hexânico de *P. cubeba* a 1,2927%. No tratamento controle, a dieta foi mergulhada em água destilada.

O teste de dupla chance de escolha foi realizado em placas de Petri (15,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura), onde, de forma equidistante, foram colocados um cubo de cada tratamento, sendo comparados dois produtos por vez. No centro das placas foram liberadas 6 lagartas de segundo ínstar de *H. armigera* ou *S. frugiperda* (Figura 1A). No teste de múltipla chance de escolha, um cubo de cada tratamento foi distribuído de forma equidistante nas placas, sendo liberadas, no centro das placas, 3 lagartas de segundo ínstar para cada tratamento, totalizando 12 lagartas de *H. armigera* ou 15 lagartas de *S. frugiperda* (Figura 1B). Para cada teste foram observadas 10 repetições, com a repelência determinada pelo registro do número de lagartas presentes em cada cubo de dieta nos seguintes tempos de avaliação: 0,5, 1, 2, 24 e 48 horas após a liberação das lagartas.

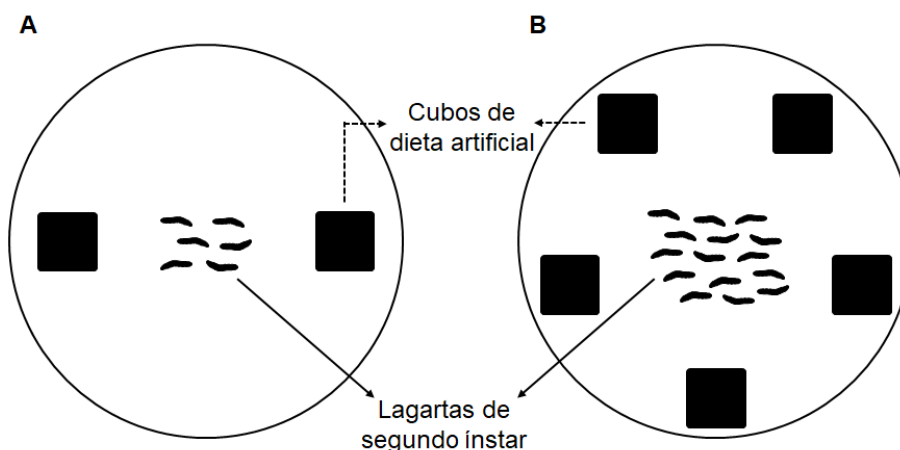


Figura 1. Esquema das arenas utilizadas para investigar a repelência de produtos para lagartas de segundo instar de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* em teste de dupla chance de escolha (A) e múltipla chance de escolha (B).

Com a média do número de lagartas presentes nos cubos de dieta artificial tratados com cada produto foi calculado o índice de repelência (IR), baseado na fórmula de Kogan (1972), confrontando-se os produtos dois a dois no teste com dupla chance de escolha e contra a testemunha no teste com múltipla chance de escolha. A equação utilizada foi a seguinte: $IR = 2A/(A+B)$, onde A = número de lagartas encontradas no tratamento A; e B = número de lagartas encontradas no tratamento B. Após o cálculo do IR foi adicionado/subtraído o valor do erro padrão da média (EP), sendo que $IA \pm EP > 1$, $= 1$ e < 1 indicam repelência do tratamento B, neutralidade (sem distinção entre os tratamentos) e repelência do tratamento A, respectivamente.

2.5. Análises estatísticas

Aos resultados de fitotoxicidade e mortalidade de lagartas foram aplicados os testes Kolmogorov e Bartlett, para verificar os pressupostos de normalidade e homogeneidade da variância, sendo, então, as médias comparadas pelo teste de Student Newman Keuls ($P < 0,05$). Os dados do teste de repelência atenderam os requisitos da análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo

teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises foram realizadas com o software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

3.1. Fitotoxicidade do extrato hexânico de *Piper cubeba*

Em plantas de milho foram observados sintomas de toxicidade de leves até fortes nas folhas, que variaram do enrugamento à clorose em diferentes graus durante as avaliações (Figura 2).



Figura 2. Escala de notas de toxicidade em plantas de milho. A) 1 – Nulo; B) 2 – Muito leve; C) 3 – Leve; D) 4 – Baixa; E) 5 – Média; F) 6 – Quase forte; G) 7 - Forte.

Os sintomas de toxicidade do extrato hexânico de *P. cubeba* em plantas de milho começaram a ficar evidentes em concentrações acima de 3,0% e após 2 dias da aplicação. A concentração de 7,0% provocou fitotoxicidade que variou de média a quase forte até o 7º dia após a aplicação, sendo que os sintomas foram mais severos quando comparados àqueles ocasionados pelas concentrações de 5,0 e 3,0%, que foram de leve a baixo. As concentrações de 2,0%, 1,0% e 0,5% apresentaram, no máximo, sintomas muito leves, não diferindo da testemunha pulverizada com água destilada (Tabela 1). Deste modo, as concentrações recomendadas do extrato visando o controle de lepidópteros-praga e que não causam danos às plantas de milho são de até 2,0%.

Tabela 1. Média das notas atribuídas nas avaliações visuais dos sintomas de toxicidade do extrato de *Piper cubeba* em plantas de milho, nos diferentes períodos após a aplicação (DAA).

Concentrações	Nota de fitotoxicidade						
	1 DAA	2 DAA	3 DAA	4 DAA	5 DAA	6 DAA	7 DAA
0,5%	1,2 ± 0,12 b ¹	1,2 ± 0,12 c	1,2 ± 0,12 c	1,2 ± 0,12 c	1,2 ± 0,12 c	1,0 ± 0,00 c	1,0 ± 0,00 c
1,0%	1,2 ± 0,12 b	1,5 ± 0,22 c	1,3 ± 0,12 c	1,3 ± 0,12 c	1,3 ± 0,12 c	1,3 ± 0,12 c	1,1 ± 0,1 c
2,0%	1,5 ± 0,00 ab	1,8 ± 0,12 c	1,6 ± 0,19 c	1,6 ± 0,19 c	1,6 ± 0,19 c	1,6 ± 0,19 c	1,6 ± 0,19 c
3,0%	1,5 ± 0,22 ab	3,8 ± 0,41 b	3,8 ± 0,41 b	4,0 ± 0,63 b	3,8 ± 0,54 b	3,8 ± 0,54 b	3,6 ± 0,48 b
5,0%	1,5 ± 0,22 ab	4,1 ± 0,24 b	4,1 ± 0,24 b	4,3 ± 0,34 b	3,8 ± 0,41 b	3,8 ± 0,41 b	3,8 ± 0,41 b
7,0%	2,5 ± 0,63 a	5,1 ± 0,37 a	5,5 ± 0,27 a	5,5 ± 0,27 a	5,3 ± 0,12 a	5,3 ± 0,12 a	5,3 ± 0,12 a
Testemunha	1,0 ± 0,00 b	1,0 ± 0,00 c	1,0 ± 0,00 c	1,0 ± 0,00 c	1,0 ± 0,00 c	1,0 ± 0,00 c	1,0 ± 0,00 c

¹Médias ± erro padrão seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

As folhas de soja mostraram sintomas de toxicidade variando de leve até muito forte, sendo o enrugamento o primeiro sinal, que evolui para a clorose em diferentes intensidades (Figura 3).



Figura 3. Escala de notas de toxicidade em plantas de soja. A) 1 – Nulo; B) 2 – Muito leve; C) 3 – Leve; D) 4 – Baixa; E) 5 – Média; F) 6 – Quase forte; G) 7 – Forte; H) 8 – Muito forte.

Plantas de soja pulverizadas com concentrações do extrato hexânico de *P. cubeba* acima de 1,0% começaram a apresentar sintomas de toxicidade logo na primeira avaliação (1 DAA). A maior concentração (7,0%) resultou em sintomas de fitotoxicidade de forte a muito forte durante todo o período de avaliação. Os tratamentos com 3,0 e 5,0% provocaram sintomas de leve a baixo, sendo com 2,0% mais reduzido. As plantas tratadas com 0,5% do extrato apresentaram, no máximo, nota 2 (muito leve), não diferindo em relação a testemunha nas últimas avaliações (Tabela 2). Assim, foi estabelecido que a concentração máxima do extrato a ser utilizada na soja é de 0,5%.

Tabela 2. Média das notas atribuídas nas avaliações visuais dos sintomas de toxicidade do extrato de *Piper cubeba* em plantas de soja, nos diferentes períodos após a aplicação (DAA).

Concentrações	Nota de fitotoxicidade						
	1 DAA	2 DAA	3 DAA	4 DAA	5 DAA	6 DAA	7 DAA
0,5%	1,3 ± 0,12 d ¹	1,3 ± 0,12 d	1,6 ± 0,10 e	1,6 ± 0,10 e	1,6 ± 0,10 e	1,3 ± 0,12 d	1,3 ± 0,12 d
1,0%	2,0 ± 0,22 c	3,1 ± 0,10 c	3,1 ± 0,10 d	3,2 ± 0,12 d	3,2 ± 0,12 d	2,9 ± 0,19 c	2,9 ± 0,19 c
2,0%	3,1 ± 0,10 b	3,1 ± 0,10 c	3,1 ± 0,10 d	3,3 ± 0,12 cd	3,3 ± 0,12 cd	3,1 ± 0,19 c	3,1 ± 0,19 c
3,0%	3,1 ± 0,19 b	3,5 ± 0,00 b	3,5 ± 0,00 c	3,5 ± 0,00 c	3,5 ± 0,00 c	3,5 ± 0,00 b	3,5 ± 0,00 b
5,0%	3,5 ± 0,00 b	3,5 ± 0,00 b	4,5 ± 0,00 b	4,5 ± 0,00 b	4,0 ± 0,00 b	3,5 ± 0,00 b	3,5 ± 0,00 b
7,0%	8,0 ± 0,00 a	8,0 ± 0,00 a	8,0 ± 0,00 a	8,0 ± 0,00 a	7,5 ± 0,00 a	7,5 ± 0,00 a	7,5 ± 0,00 a
Testemunha	1,0 ± 0,00 d	1,0 ± 0,00 e	1,0 ± 0,00 f	1,0 ± 0,00 f	1,0 ± 0,00 f	1,0 ± 0,00 d	1,0 ± 0,00 d

¹Médias ± erro padrão seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

3.2. Toxicidade de produtos via ingestão

Para *H. armigera* apenas flubendiamida provocou mortalidade de 100,0% das lagartas, enquanto o baculovírus VPN-HzSNPV causou 94,0% de mortalidade e o extrato de *P. cubeba* não apresentou atividade inseticida para as lagartas (Tabela 3).

Para *S. frugiperda*, flubendiamida resultou também na morte de 100,0% das lagartas, sendo que o *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* provocou mortalidade de 98,0%, enquanto o extrato de *P. cubeba* a 2,0% e o baculovírus VPN-SfMNPV causaram mortalidade intermediária, 90,0% e 84,0%, respectivamente, com o extrato na concentração de 0,5% provocando mortalidade de apenas 14,0% (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade de lagartas de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* após 10 dias.

Produtos	Mortalidade (%)	
	<i>Helicoverpa armigera</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i>
Flubendiamida	100,0 ± 0,00 a ¹	100,0 ± 0,00 a
VPN-HzSNPV	94,0 ± 3,06 b	–
VPN-SfMNPV	–	84,0 ± 4,99 b
<i>Bt</i> subsp. <i>aizawai</i>	–	98,0 ± 2,00 a
<i>Piper cubeba</i> 2,0%	2,0 ± 2,00 c	90,0 ± 4,47 b
<i>Piper cubeba</i> 0,5%	0,0 ± 0,00 c	14,0 ± 5,21 c
Controle	2,0 ± 2,00 c	4,0 ± 2,67 d

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

Flubendiamida e VPN-HzSNPV apresentaram atividade inseticida e causaram mortalidade de lagartas de *H. armigera* já no primeiro dia de avaliação, sendo a ação da flubendiamida mais rápida, matando os insetos em menor período de tempo, resultando em 100,0% de mortalidade após cinco dias. No mesmo intervalo de tempo, o inseticida biológico VPN-HzSNPV provocou mortalidade de 80,0% (Figura 4).

Para *S. frugiperda*, apenas flubendiamida causou mortalidade de lagartas um dia após o início da alimentação. No segundo dia de avaliação, o bioinseticida a base de *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* e o extrato de *P. cubeba* também provocaram mortalidade larval, observando-se os percentuais de 50,0% e 72,0%, respectivamente, enquanto o VPN-SfMNPV teve ação mais lenta, com início de atividade após 5 dias (Figura 4).

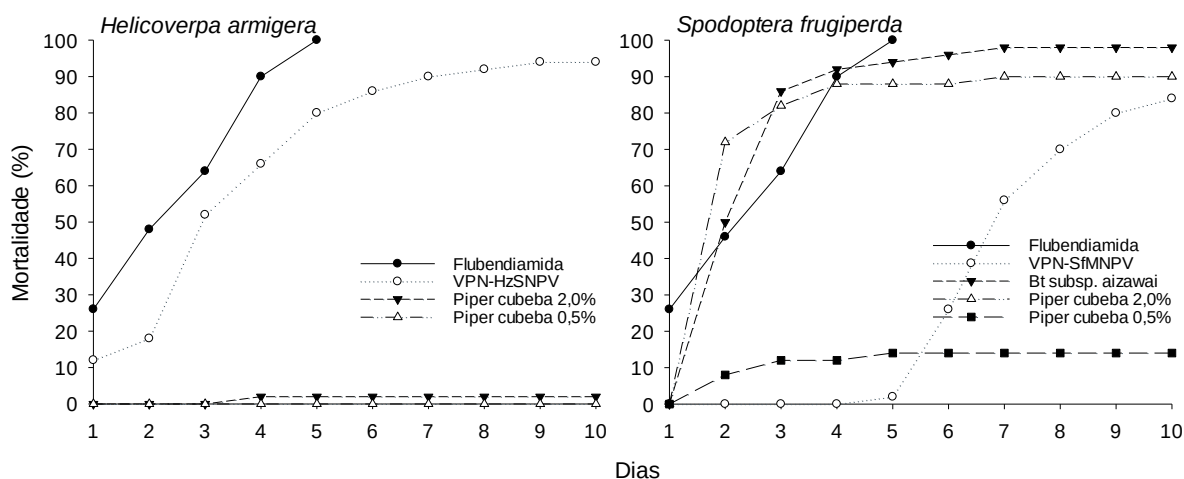


Figura 4. Mortalidade acumulada de lagartas de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* no período de 10 dias após ingestão dos produtos.

3.3. Repelência de produtos para lagartas

De acordo com a classificação de Kogan (1972), no teste com dupla chance de escolha, o extrato de *P. cubeba* foi repelente às lagartas de *H. armigera*, quando confrontado com todos os tratamentos, porém com maior ação comparado com a testemunha. O baculovírus HzSNPV foi neutro, enquanto flubendiamida se mostrou repelente em relação à testemunha e ao baculovírus (Figura 5A). Em condições de múltipla chance de escolha, o índice igual a 1 obtido sugere que o inseticida químico flubendiamida foi neutro, enquanto as lagartas foram repelidas pelo baculovírus e pelo extrato de *P. cubeba*, não havendo, entretanto, diferença significativa entre os tratamentos (Figura 5B).

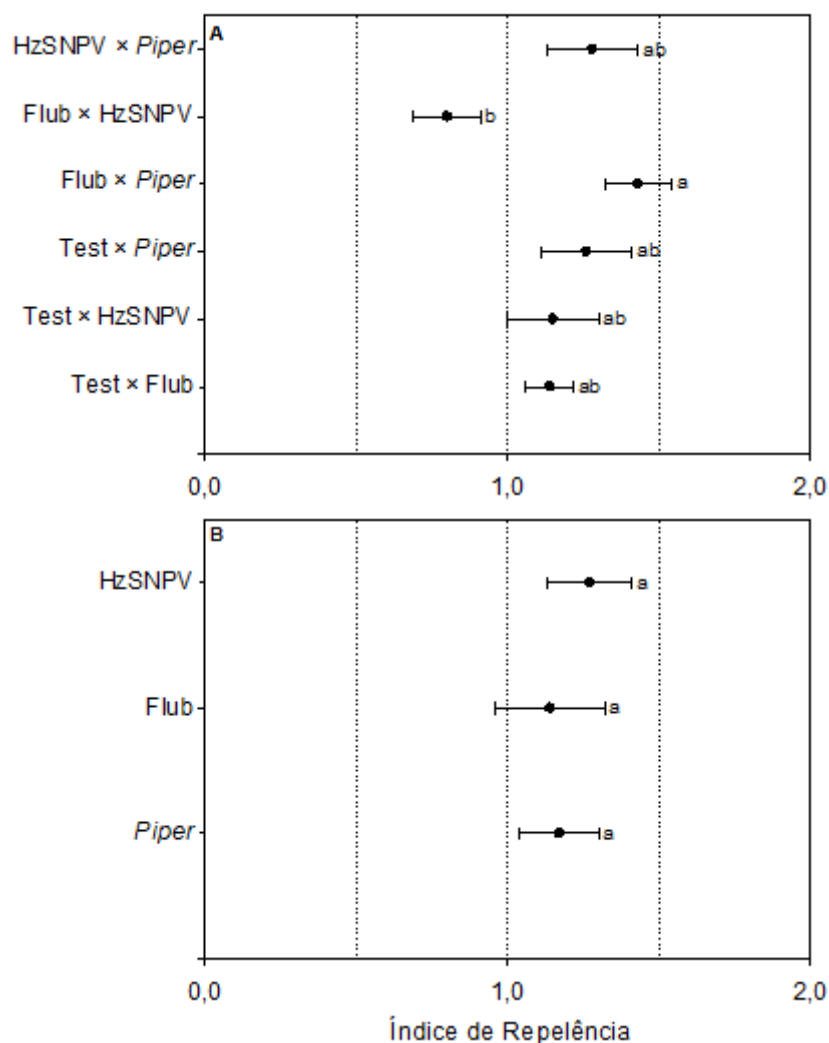


Figura 5. Índice de repelência dos produtos para lagartas de *Helicoverpa armigera* em testes com dupla (A) e múltipla (B) chance de escolha. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Quando os produtos foram confrontados dois a dois, o extrato de *P. cubeba* foi repelente para lagartas de *S. frugiperda* em todas as situações, enquanto o inseticida flubendiamida foi repelente comparado com a testemunha. Os outros produtos se mostraram neutros nas comparações (Figura 6A). Nos testes de múltipla chance de escolha, todos os produtos avaliados foram repelentes às lagartas (Figura 6B).

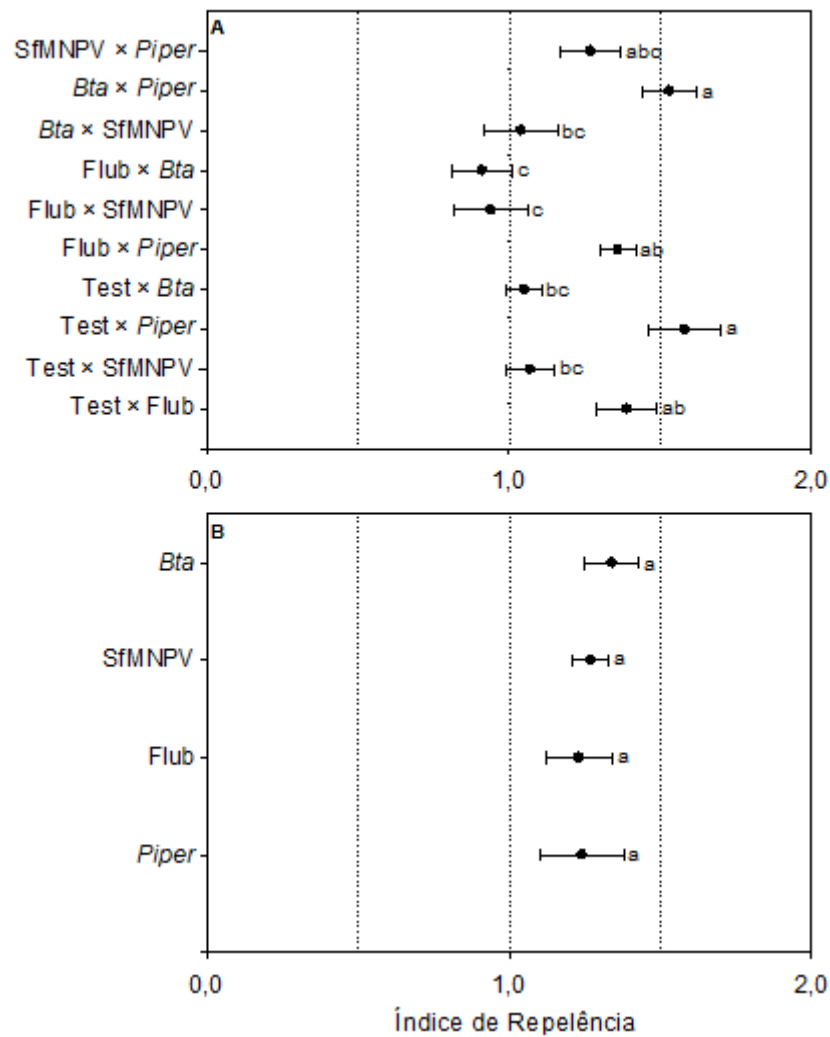


Figura 6. Índice de repelência dos produtos para lagartas de *Spodoptera frugiperda* em testes com dupla (A) e múltipla (B) chance de escolha. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

4. Discussão

Os resultados desse estudo mostraram que há fitotoxicidade do extrato hexânico de *P. cubeba* em milho e soja em concentrações acima de 2,0% e 0,5%, respectivamente, o que inviabilizaria a utilização desse produto nessas concentrações nessas culturas. Apesar de terem sido registradas as concentrações que causam essa atividade nas plantas, as piperáceas possuem mais de 600

compostos químicos (Stöhr et al., 2001), dificultando a determinação de quais seriam responsáveis pela ação fitotóxica.

De acordo com Siddiqui (2007), *Piper nigrum* L. apresenta compostos alelopáticos para dicotiledôneas e a fitotoxicidade de extratos dessa planta está associada à piperina, um dos compostos presentes em grandes quantidades nas piperáceas (Scott et al., 2004; Scott et al., 2008; Suwitchayanon et al., 2019). Comparada a *P. nigrum*, a atividade “herbicida” de *P. cubeba* é maior, sendo que os principais constituintes de seu extrato são compostos fenólicos, como as lignanas cubebina, yateína e hinoquinina (Elfahmi et al., 2007; Andriana et al., 2019). A sarmentina, uma das amidas encontradas em *Piper longum* L., também é fitotóxica por contato em mono ou dicotiledôneas e, quando aplicados no capim-arroz, *Echinochloa crus-galli* (L.), e na mostarda-do-campo, *Brassica kaber* L., causam enrugamento das folhas ou pequenas manchas negras nas folhas, 1 ou 2 horas após a pulverização (Huang et al., 2010). Entretanto, essas substâncias podem ser tóxicas às plantas de forma dose-dependente, ou seja, se utilizadas em baixas concentrações podem não causar toxicidade, podendo apresentar atividade inseticida, possibilitando, assim, o seu uso no manejo de pragas (Ahluwalia et al., 2014).

A eficácia de extratos de *Piper* como inseticidas botânicos tem sido correlacionada com a concentração de piperinas (Scott et al., 2005). Em relação a lepidópteros, o extrato hexânico de *Piper aduncum* L. causa alta mortalidade de *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidæ), com ação crescente conforme o incremento da concentração (Lucena et al., 2017). O potencial inseticida do óleo essencial de *Piper* spp. também foi relatado para *S. frugiperda* e para *H. armigera* (Lima et al., 2009; Dos Santos et al., 2017), porém não foram avaliados efeitos tóxicos nas plantas hospedeiras.

Nesta pesquisa, o extrato hexânico de *P. cubeba* não apresentou atividade inseticida em *H. armigera*, entretanto, a mortalidade de 90,0% obtida com a concentração de 2,0% para *S. frugiperda* pode ser comparada com inseticidas comerciais, o que possibilitaria a sua utilização em sistemas de produção de milho. Após a constatação da não eficiência do extrato para lagartas de *H. armigera* nas concentrações recomendadas de acordo com a fitotoxicidade, foram testadas

concentrações até 10,0% que confirmaram a inatividade do extrato nesta espécie. Extratos oriundos de sementes, folhas e caule de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) causaram mortalidade de 80% de *A. gemmatilis*, enquanto amidas isoladas das sementes dessa planta resultaram em 90% de mortalidade (Navickiene et al., 2007).

Portanto, o porcentual de mortalidade de extratos de *Piper* pode ser variável em relação à espécie da planta, à concentração utilizada e ao inseto-alvo (Lima et al., 2009; Brito et al., 2015; Krinski et al., 2018). Salienta-se ainda que, para serem utilizados no Manejo Integrado de Pragas (MIP), os inseticidas devem apresentar eficiência de controle maior que 80% (MAPA, 2015) e, sendo assim, o extrato hexânico de *P. cubeba* poderia ser trabalhado para controle de *S. frugiperda*.

Quanto aos bioinseticidas, a lagarta que ingere *B. thuringiensis* sofre a lise celular e a ruptura da membrana basal do intestino médio após 1 a 7 horas, sendo que, passados 1 a 3 dias da ingestão, o inseto morre pela falta de alimentação ou septicemia (Knowles, 1994), confirmando o tempo necessário para a morte de *S. frugiperda*. O baculovírus leva mais tempo para causar a mortalidade das lagartas quando comparado ao inseticida químico, que apresenta ação de choque devido ao seu mecanismo de ação, enquanto o bioinseticida tem um processo mais complexo de ação, que envolve a dissolução dos corpos de oclusão do vírus, a liberação dos “virions”, seu transporte para o núcleo, a replicação e a infecção dos tecidos, para então causar a morte do inseto (Bueno et al., 2012; Haase et al., 2015). Já o extrato hexânico de *P. cubeba* causou mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* após 2 dias da exposição, resultado semelhantes aos obtidos por Estrela (2001) com diferentes amidas análogas à piperina, que observou redução na sobrevivência dos insetos no 3º dia. Sabe-se que essas piperinas possuem modo de ação neurotóxico nos insetos, porém de forma distinta dos piretroides, apresentando baixa toxicidade a mamíferos (Scott et al., 2008), tornando essas substâncias bastante promissoras para utilização no MIP.

Apesar dos problemas encontrados com relação à ação inseticida do extrato de *P. cubeba* para *H. armigera* e *S. frugiperda*, bem como da possibilidade de fitotoxicidade, os resultados observados em relação à repelência do extrato podem indicar outras aplicações do produto, tais como a associação com outros inseticidas,

visando, por exemplo, repelir as lagartas. Nesse sentido, Scott et al. (2004) constataram que o uso de 0,5% de *Piper guineense* Schum & Thonn afetou a oviposição de *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lepidoptera: Noctuidae) em berinjela.

A repelência de extratos de *Piper* spp. tem sido registrada para insetos de importância médica (Mamood et al., 2017) e agrícola, em especial os de grãos armazenados (Su, 1990; Chaubey, 2013), além de alguns lepidópteros, incluindo *H. armigera* (Scott et al., 2007; Li et al., 2014). De acordo com Glendinning (2008), o efeito deterrente na alimentação provocado por esses produtos pode ocorrer pelos seguintes mecanismos: 1) efeito repelente olfativo, onde as lagartas rejeitam o substrato de alimentação tratado sem entrar em contato; 2) verdadeira deterrência de sabor, onde as lagartas realizam apenas mordidas de prova no substrato; 3) obstáculo físico via mecanorreceptores orais; e 4) toxicidade via resposta pós-ingestão, sendo que as lagartas consomem uma quantidade maior do alimento antes de rejeitá-lo. Neste sentido, pode-se observar principalmente o mecanismo 1 (efeito repelente olfativo) e 2 (verdadeira deterrência de sabor), pois inicialmente poucas lagartas se moveram para os cubos de dieta artificial tratados com extrato, entretanto foram constatadas lagartas no cubo de dieta tratado com extrato em todas as avaliações, porém em número reduzido.

Estudos sobre o sinergismo entre o extrato de *P. cubeba* e outros inseticidas, os efeitos de repelência a adultos e o período residual, assim como avaliações da eficiência de controle sobre plantas em casa de vegetação e/ou campo, deverão complementar as informações obtidas neste trabalho e auxiliar na possível utilização do extrato hexânico de *P. cubeba* no manejo desses lepidópteros-praga.

5. Conclusão

O extrato hexânico de *P. cubeba* em concentrações acima de 2,0% e 0,5%, causam fitotoxicidade em milho e soja, respectivamente, e apresenta toxicidade em lagartas de *S. frugiperda* na concentração de 2,0%; não possui atividade inseticida para *H. armigera*; e tem ação repelente aos insetos quando comparado aos

inseticidas flubendiamida, VPN-HzSNPV, VPN-SfMNPV e *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*.

Os inseticidas comerciais avaliados apresentaram elevada eficiência de controle de *H. armigera* e *S. frugiperda*, com flubendiamida apresentando repelência quando comparado aos demais produtos.

6. Referências

Ahluwalia V, Sisodia R, Walia S, Sati OP, Kumar J, Kundu A (2014) Chemical analysis of essential oils of *Eupatorium adenophorum* and their antimicrobial, antioxidante and phytotoxic properties. **Journal of Pest Science** 87:341-349. DOI: 10.1007/s10340-013-0542-6

Andriana Y, Xuan TD, Quy TN, Tran HD, Le QT (2019) Biological activities and chemical constituents of essential oils from *Piper cubeba* Bojer and *Piper nigrum* L. **Molecules** 24:1876. DOI: 10.3390/molecules24101876

Barros EM, Torres JB, Bueno AF (2010) Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology** 39:996-1001. DOI: 10.1590/S1519-566X2010000600023

Brito EFD, Baldin ELL, Silva RDCM, Ribeiro LDP, Vendramim JD (2015) Bioactivity of *Piper* extracts on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 50:196-202. DOI: 10.1590/S0100-204X2015000300002

Bueno AF, Sosa-Gómez DR, Corrêa-Ferreira BS, Moscardi F, Bueno RCOF (2012) Inimigos naturais das pragas da soja. In.: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira, BS, Moscardi F (Eds.) **Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, p. 493-630.

Carvalho RA, Omoto C, Field LM, Williamson MS, Bass C (2013) Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS One** 8:e62268. DOI: 10.1371/journal.pone.0062268

Chaubey MK (2013) Biological activities of *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) and *Piper cubeba* (Piperaceae) essential oils against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences** 16:517-523. DOI: 10.3923/pjbs.2013.517.523

Cunningham JP, Zalucki MP, West SA (1999) Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behavior and control of a polyphagous pest. **Bulletin of Entomological Research** 89:201-207. DOI: 10.1017/S0007485399000310

Dos Santos TLB, Turchen LM, Dall'Oglio EL, Butnariu AR, Pereira MJB (2017) Phytochemical of *Piper* essential oil and acute toxicity against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 12:484-489. DOI: 10.5039/agraria.v12i4a5482

Elfahmi, Ruslan K, Batterman S, Bos R, Kayser O, Woerdenbag HJ, Quax WJ (2007) Lignan profile of *Piper cubeba*, an Indonesian medicinal plant. **Biochemical Systematics and Ecology** 35:397-402. DOI: 10.1016/j.bse.2007.01.003

El-Wakeil NE (2013) Botanical pesticides and their mode of action. **Gesunde Pflanzen** 65:125-149. DOI: 10.1007/s10343-013-0308-3

EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization (2019) *Helicoverpa armigera*. Disponível em: <<https://gd.eppo.int/taxon/HELIAR/distribution>>. Acesso em: 06 fev. 2020.

Estrela JLV (2001) **Avaliação da atividade inseticida de amidas análogas à piperina em larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**. 38 f. Tese (Magister Scientiae em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

EWRC – European Weed Research Concil (1964) Report of the 3rd and 4th meetings of EWRC – Committee of methods in weed research. **Weed Research** 4:88.

Fathipour Y, Sedaratian A (2013) Integrated management of *Helicoverpa armigera* in soybean cropping systems. In.: El-Shemy H (Eds.) **Soybean – Pest resistance**. Cairo: InTech, p. 231-280.

Fehr WR, Caviness CE (1977) **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University, 12 p. (Special Report, 80).

Ganiger PC, Yeshwanth HM, Muralimohan K, Vinay N, Kumar ARV, Chandrashekara K (2018) Occurrence of the new invasive pest, fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in the maize fields of Karnataka, India. **Current Science** 115:621-623. DOI: 10.18520/cs/v115/i4/621-623

George ZO (2011) **Expression and genetic manipulation of *Bacillus thuringiensis* toxins for improved toxicity and development of a protocol for in vivo selection of toxin variants with improved activity**. 259 f. Thesis (Doctor of Philosophy) – University of Sussex, Brighton.

Glendinning JI (2008) Insect gustatory systems. In.: Basbaum AI, Kaneko A, Shepherd GM, Westheimer G, Firestein S, Beauchamp GK (Eds.) **The Senses: A comprehensive reference**. San Diego: Academic Press, p. 75-96.

Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamo M (2016) First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS ONE** 11:e0165632. DOI: 10.1371/journal.pone.0165632

Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. DOI: 10.1093/jee/69.4.487

Haase S, Sciocco-Cap A, Romanowski V (2015) Baculovirus insecticides in Latin America: Historical overview, current status and future perspectives. **Viruses** 7:2230-2267. DOI: 10.3390/v7052230

Huang H, Morgan CM, Asolkar RN, Koivunen ME, Marrone PG (2010) Phytotoxicity of sarmentine isolated from long pepper (*Piper longum*) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 58:9994-10000. DOI: 10.1155/2012/305906

Ismail M, Hussain J, Khan A, Khan AL, Ali L, Khan F, Khan AZ, Niaz U, Lee I (2012) Antibacterial, antifungal, cytotoxic, phytotoxic, insecticidal, and enzyme inhibitory activities of *Geranium wallichianum*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine** 2012:305906. DOI: 10.1021/jf102087c

Kasten Jr. P, Precetti AACM, Parra JRP (1978) Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura** 53:68-78.

Knowles BH (1994) Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ -endotoxins. **Advances in Insect Physiology** 24:275-308. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60085-5

Kogan M (1972) Feeding and nutrition of insects associated with soybeans. 2. Soybean resistance and host preferences of the Mexican Bean Beetle, *Epilachna varivestis*. **Annals of the Entomological Society of America** 65:675-683. DOI: 10.1093/aesa/65.3.675

Krinski D, Foerster LA, Deschamps C (2018) Ovicidal effect of the essential oils from 18 Brazilian *Piper* species: controlling *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera, Erebidæ) at the initial stage of development. **Acta Scientiarum Agronomy** 40:e35273. DOI: 10.4025/actasciagron.v40i1.35273

Li W, Hu J, Yang J, Yuan G, Guo X, Luo M (2014) Feeding deterrence of common spices against *Helicoverpa armigera* larvae. **Advances in Biosciences and Biotechnology** 5:1025-1031. DOI: 10.4236/abb.2014.513117

Lima RK, Cardoso MG, Moraes JC, Melo BA, Rodrigues VG, Guimarães PL (2009) Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC. sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidæ). **Acta Amazônica** 39:377-382. DOI: 10.1590/S0044-59672009000200016

Lucena DC, Bertholdo-Vargas LR, Silva WC, Machado AF, Lopes TS, Moura S, Barros NM (2017) Biological activity of *Piper aduncum* extracts on *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidæ) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidæ). **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 89:1869-1879. DOI: 10.1590/0001-3765201720170194

Mamood SNH, Hidayatulfathi O, Budin SB, Rohi GA, Zulfakar MH (2017) The formulation of the essential oil of *Piper aduncum* Linnaeus (Piperales: Piperaceae) increases its efficacy as an insect repellent. **Bulletin of Entomological Research** 107:49-57. DOI: 10.1017/S0007485316000614

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2015) **Memória da 2ª reunião técnica nacional sobre pesquisa com agrotóxicos**. Curitiba: SFA-PR, 6 p.

Nagoshi RN, Meagher RL (2008) Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist** 91:546-554. DOI: 10.1653/0015-4040-91.4.546

Navickiene HMD, Miranda JE, De Bortoli SA, Kato MJ, Bolzani VS, Furlan M (2007) Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum*: potent compound with potential for the control of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. **Pest Management Science** 63:399-403. DOI: 10.1002/ps.1340

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head GP (2016) Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science** 72:1727-1736. DOI: 10.1002/ps.4201

Pimentel D, Peshin R (Eds.) (2014) **Integrated pest management: Pesticide problems**. Dordrecht: Springer, 498p.

Ritchie SW, Hanway JJ (1993) **How a corn plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 26 p. (Special Report, 48).

SAS Institute (2015) SAS/IML® 14.1 User`s guide. Cary: SAS Institute Inc.

Scott IM, Jensen H, Philogène BJR, Arnason JT (2008) A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Reviews** 7:65. DOI: 10.1007/s11101-006-9058-5

Scott IM, Helson BV, Strunz GM, Finlay H, Sánchez-Vindas PE, Poveda L, Lyons DB, Philogène BJR, Arnason JT (2007) Efficacy of *Piper nigrum* (Piperaceae) extract for control of insect defoliators of forest and ornamental trees. **The Canadian Entomologist** 139:513-522. DOI: 10.4039/n06-040

Scott IM, Puniani E, Jensen H, Livesey JF, Poveda L, Sánchez-Vindas P, Durst T, Arnason JT (2005) Analysis of Piperaceae germplasm by HPLC and LCMS: A method for isolating and identifying unsaturated amides from *Piper* spp. extracts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** 53:1907-1913. DOI: 10.1021/jf048305a

Scott IM, Jensen H, Nicol R, Lesage L, Bradbury R, Sánchez-Vindas P, Poveda L, Arnason JT, Philogène BJR (2004) Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. **Journal of Economic Entomology** 97:1390-1403. DOI: 10.1093/jee/97.4.1390

Siddiqui ZS (2007) Allelopathic effects of black pepper leachings on *Vigna mungo* (L.) Hepper. **Acta Physiologiae Plantarum** 29:303-308. DOI: 10.1007/s11738-007-0039-0

Stöhr JC, Xiao PG, Bauer R (2001) Constituents of Chinese *Piper* species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis in vitro. **Journal of Ethnopharmacology** 75:133-139. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00397-4

Su HCF (1990) Biological activities of hexane extract of *Piper cubeba* against rice weevils and cowpea weevils (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomological Science** 25:16-20.

Suwitchayanon P, Ohno O, Suenaga K, Kato-Noguchi H (2019) Phytotoxic property of *Piper retrofractum* fruit extracts and compounds against the germination and seedling growth of weeds. **Acta Physiologiae Plantarum** 41:33. DOI: 10.1007/s11738-019-2824-y

Vendramini MC, Mathias MI, De Faria AU, Furquim KC, De Souza LP, Bechara GH, Roma GC (2012) Action of andiroba oil (*Carapa guianensis*) on *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females: morphophysiological evaluation of reproductive system. **Microscopy Research & Technique** 75:1745-1754. DOI: 10.1002/jemt.22126

CAPÍTULO 5 – Efeitos de concentrações subletais de inseticidas químico, biológico e extrato de *Piper cubeba* no desenvolvimento e na utilização de alimento por *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

RESUMO – *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) são pragas que podem se alimentar de diversas culturas importantes economicamente. As principais táticas para o controle dessas espécies são o uso de produtos químicos e de plantas *Bt*, havendo entretanto relatos de resistência a ambas as táticas, tornando-se necessário a avaliação de outros produtos, como os bioinseticidas e extratos botânicos. Após a aplicação de produtos em campo, alguns insetos-alvo sobrevivem e podem sofrer efeitos pela exposição a concentrações decrescentes dos inseticidas. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi estimar as concentrações letais e determinar os efeitos subletais de inseticida químico, bioinseticidas e extrato botânico em parâmetros biológicos e nos índices de consumo e utilização de alimento por *H. armigera* e *S. frugiperda*. Foram utilizados o inseticida químico flubendiamida (Belt®), os bioinseticidas VPN-HzSNPV (Diplomata®), VPN-SfMNPV (CartuchoVIT®) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®), além do extrato hexânico de *Piper cubeba*. Os parâmetros biológicos e os índices de consumo e utilização de alimento no quarto ínstar larval foram avaliados em exposições às CL₂₅ e a CL₁₀ dos produtos. Foram observados diferentes efeitos dos inseticidas, como o aumento do período larval e do período pupal, com exceção de flubendiamida e *P. cubeba* para *S. frugiperda*, que reduziu esse período de desenvolvimento, causando, no entanto, maior deformação de adultos. *Bacillus thuringiensis* aumentou o peso de pupas, enquanto flubendiamida reduziu a fecundidade de *S. frugiperda*. Os inseticidas afetam o crescimento populacional das espécies e alteram o comportamento de alimentação, aumentando o consumo e possivelmente os gastos com desintoxicação.

Palavras-chave: flubendiamida, baculovirus, inseticida botânico, concentrações letais, controle de pragas.

CHAPTER 5 – Effects of sublethal concentrations of chemical, biological pesticides and *Piper cubeba* extract on the development and food utilization by *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

ABSTRACT – *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) are pests that can feed on several economically important crops. The main tactics for controlling these species are the use of chemicals and *Bt* plants, however, there are reports of resistance to both tactics, making it necessary to evaluate other products, such as biopesticides and botanical extracts. After application of products in the field, some target insects survive and may suffer effects from exposure to decreasing concentrations of the pesticide. In this sense, the aim of this study was to estimate the lethal concentrations and determine the sublethal effects of chemical pesticide, biopesticides and botanical extract on biological parameters and on the food consumption utilization by *H. armigera* and *S. frugiperda*. The chemical pesticide flubendiamide (Belt®), the biopesticides NPV-HzSNPV (Diplomata®), NPV-SfMNPV (CartuchoVIT®) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®), in addition to the hexane extract of *Piper cubeba* were used. The biological parameters and the indexes of food consumption utilization in the larval fourth instar were evaluated in exposures to the LC₂₅ and LC₁₀ of the products. Different effects of pesticides were observed, such as the increase in the larval and pupal periods, with the exception of flubendiamide and *P. cubeba* for *S. frugiperda*, which reduced this period of development, causing, however, greater deformation of adults. *Bacillus thuringiensis* increased the weight of pupae, while flubendiamide reduced the fertility of *S. frugiperda*. Pesticides affect the population growth of species and alter feeding behavior, increasing consumption and possibly spending on detoxification.

Keywords: flubendiamide, baculovirus, botanical pesticide, lethal concentrations, pest control.

1. Introdução

Helicoverpa armigera (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie que ocorre em todos os continentes (EPPO, 2019), enquanto a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) está presente nos continentes americano, africano e asiático (Nagoshi e Meagher, 2008; Goergen et al., 2016; Ganiger et al., 2018). As lagartas dessas espécies se alimentam tanto na fase vegetativa quanto na reprodutiva de diversas culturas importantes economicamente, como soja, milho e algodão, podendo causar enormes perdas econômicas (Cunningham et al., 1999; Barros et al., 2010; Goergen et al., 2016; EPPO, 2019).

O controle químico e a utilização de plantas com toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) (Bacillales: Bacillaceae) (*Bt*) são as principais táticas para o controle de *H. armigera* e *S. frugiperda*. No entanto, essas espécies são resistentes a alguns inseticidas sintéticos, devido à alta frequência de aplicação (Tomquelski e Martins, 2007; Fathipour e Sedaratian, 2013), o que também ocorre com as plantas transgênicas, devido a exposição contínua e a não implementação correta de áreas de refúgio (Omoto et al., 2016).

A utilização de diferentes inseticidas e o desenvolvimento de novos produtos se torna interessante para o manejo integrado desses lepidópteros-praga. Como alternativa, existem produtos à base de baculovírus (Baculoviridae) e de *Bt*, produtos que apresentam baixo risco de resistência cruzada com as toxinas de plantas *Bt* (Fathipour e Sedaratian, 2013; Souza et al., 2017; Horikoshi et al., 2019). Extratos oriundos de plantas, como as do gênero *Piper*, também apresentam atividade inseticida e podem ser utilizados contra insetos de diferentes ordens, incluindo Lepidoptera (Lima et al., 2009; Dos Santos et al., 2017).

Após a aplicação de produtos em campo, alguns insetos-alvo sobrevivem e ficam expostos a concentrações decrescentes dos inseticidas, devido a degradação causada por fatores bióticos e abióticos, o que pode resultar em efeitos subletais, como alterações fisiológicas e comportamentais (Fenner et al., 2013; Rehan e Freed, 2015). Os inseticidas podem causar diferentes efeitos nas pragas, como alterar a taxa de consumo de alimento, o período larval e pupal, estimular ou afetar a capacidade reprodutiva e a sobrevivência de adultos (Rehan e Freed, 2015; Vojoudi

et al., 2017; Lutz et al., 2018). Portanto, os inseticidas podem causar não somente mortalidade, mas outros efeitos nos insetos. Assim, estudos que avaliem as consequências da exposição à concentrações subletais são de extrema importância para orientar a utilização de inseticidas, especialmente com a finalidade de reduzir a seleção de insetos resistentes e o ressurgimento de pragas (Xu et al., 2017).

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi estimar as concentrações letais e determinar os efeitos subletais de inseticidas químico, biológico e de extrato de *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae) em *H. armigera* e *S. frugiperda*.

2. Material e métodos

A criação de *H. armigera* iniciou-se com indivíduos obtidos da biofábrica Promip, situada em Engenheiro Coelho, SP, que foram coletados em plantios de soja e algodão no município de Barreiras, BA, e de soja em Guiratinga, MT, estando com 23 gerações em laboratório durante a realização dos experimentos. A população de *S. frugiperda* foi obtida da empresa Herbae, de Jaboticabal, SP, com 28 gerações em laboratório.

A criação dos insetos, bem como os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, em condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C), umidade relativa ($70 \pm 10\%$) e fotoperíodo (12 horas de luz/12 horas de escuro).

2.1. Criação dos insetos

Lagartas de *H. armigera* e *S. frugiperda* foram acondicionadas em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura) contendo dieta artificial modificada de Greene et al. (1976) e de Kasten Jr. et al. (1978), respectivamente. Ao atingirem o estágio pupal, cerca de 20 casais foram transferidos para gaiolas de cópula e oviposição constituídas por tubos de PVC (20,0 cm diâmetro × 20,0 cm altura) apoiadas sobre um prato plástico (23,5 cm diâmetro × 3,0 cm altura), forradas internamente e no prato suporte com papel toalha (*H. armigera*) ou papel sulfite (*S. frugiperda*), tendo a

a parte superior fechada com tecido de malha fina (tipo voile) preso por elástico. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% embebida em um pedaço de algodão acondicionado no interior de uma tampa plástica (3,0 cm diâmetro × 1,5 cm altura). Os ovos depositados no papel foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos (25,0 cm × 15,0 cm × 12,0 cm), contendo dieta artificial, até a eclosão e o desenvolvimento das lagartas.

2.2. Inseticidas

Os produtos testados foram o químico flubendiamida (Belt®; 48% SC; Bayer S.A., Brasil), os bioinseticidas VPN-HzSNPV (Diplomata K®; 0,60% SC; Koppert do Brasil Holding Ltda., Brasil), VPN-SfMNPV (CartuchoVIT®; 0,63% WP; Grupo Vitae Ltda., Brasil) e *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®; 54% WG; Sumitomo Chemical do Brasil Representações Ltda., Brasil).

O extrato hexânico de *P. cubeba* foi preparado na Universidade de Franca (UNIFRAN), Franca, SP, utilizando 1005 g de sementes de *P. cubeba* secas em estufa com circulação de ar a 100 °C por 4 horas, durante dois dias. As sementes, após secagem, foram trituradas em moinho de facas com 2 litros de etanol, o que resultou no extrato etanólico bruto. Este extrato passou por agitação e filtragem, processo de extração exaustiva, por 3 vezes, até a obtenção de um extrato mais claro. Posteriormente foi realizada a partição, com adição de 500 mL de solução hidrometanólica, na proporção 9:1 (MeOH:Água), no funil de separação, e em seguida, 150 mL de hexano por 6 vezes. A solução foi agitada e colocada em repouso para a separação das frações hexânica e hidrometanólica.

2.3. Estimativa de concentrações letais

Para os bioensaios, foi utilizada a metodologia descrita por George (2011), onde cubos de dieta artificial foram mergulhados em diferentes concentrações dos inseticidas flubendiamida, VPN-HzSNPV e extrato de *P. cubeba* para *H. armigera*, e flubendiamida, VPN-SfMNPV, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* e extrato de *P. cubeba* para *S. frugiperda*. Cada cubo foi mergulhado por 5 segundos, secos em

temperatura ambiente e, então, colocados individualmente em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura). Lagartas de segundo ínstar de *H. armigera* e *S. frugiperda* foram colocadas sobre os cubos com o auxílio de um pincel de cerdas macias. Para cada produto foram testadas ao menos 5 concentrações (*H. armigera*: flubendiamida – 24,00; 12,00; 6,00; 5,00; 2,30; 1,50; 0,80; 0,60; 0,12 µg i.a./mL; VPN-HzSNPV – 13,90; 10,42; 6,95; 4,17; 1,39; 0,69 µg i.a./mL; *S. frugiperda*: flubendiamida – 6,50; 5,00; 2,30; 1,50; 0,80; 0,60 µg i.a./mL; VPN-SfMNPV – 3,15; 2,36; 1,58; 0,79; 0,32; 0,03 µg i.a./mL; *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* – 189,0; 143,0; 95,0; 49,0; 19,0 µg i.a./mL; *P. cubeba* – 2,00; 1,40; 1,25; 1,10; 1,0%), com amplitude estabelecida em ensaios preliminares, com 10 repetições (placas) de 5 insetos, totalizando 50 insetos por tratamento. No tratamento controle, os cubos de dieta artificial foram mergulhados em água destilada. A avaliação de mortalidade dos insetos foi realizada após 10 dias para os inseticidas a base de vírus e 7 dias para os demais produtos. As lagartas foram registradas como mortas quando não se moviam ao serem tocadas por um pincel de cerdas macias.

2.4. Efeitos subletais em parâmetros biológicos

Com base no bioensaio de estimativa de concentrações letais, cubos de dieta artificial foram imersos por 5 segundos nas concentrações CL₁₀ e CL₂₅ de cada um dos produtos e colocados em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura). Como estudos prévios demonstraram que o extrato de *P. cubeba* não apresenta atividade inseticida para *H. armigera*, foi utilizada a concentração de 2,0%, que é a maior concentração que não causa fitotoxicidade (Truzzi et al., 2019). No tratamento controle, os cubos foram tratados com água destilada. Em seguida, lagartas de segundo ínstar, deixadas sem alimento por 1 hora, foram individualizadas nas placas de Petri. Foram realizadas 22 repetições, totalizando 110 lagartas para cada um dos tratamentos. As lagartas sobreviventes foram alimentadas com novos cubos tratados, quando necessário, e foram observadas diariamente durante todo o período larval, registrando-se a duração e a viabilidade do período larval. Quando os insetos atingiram a fase pupal, foram observadas malformações e foi registrado o peso e o sexo com 24 horas de idade.

Após a emergência dos adultos foram preparadas 4 gaiolas cilíndricas de PVC (10,0 cm diâmetro × 20,0 cm altura) por tratamento, confeccionadas de maneira semelhante a utilizada na criação, onde foram liberados dois casais de mesma idade. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%, com troca diária do alimento, contagem dos ovos depositados, bem como o registro da longevidade de machos e fêmeas. Amostras com cerca de 100 ovos, por repetição, foram acondicionadas em placas de Petri (15,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura) para observação do número de lagartas eclodidas e o tempo necessário para a eclosão.

2.5. Efeitos subletais no consumo e utilização de alimento

Cubos de dieta artificial foram imersos por 5 segundos nas concentrações CL₁₀ e CL₂₅ de cada produto e distribuídos em placas de Petri (6,0 cm diâmetro × 2,0 cm altura), enquanto no controle os cubos foram imersos em água destilada. Em seguida, foram individualizadas 40 lagartas de segundo ínstar para cada tratamento. Quando as lagartas atingiram o quarto ínstar, determinado pelas exúvias, 10 insetos de cada tratamento foram pesados, mortos por congelamento, levados à estufa a 60 °C para secagem durante 72 horas e depois pesados novamente. Outros 10 insetos, também de cada tratamento, foram pesados e mantidos nas placas de Petri onde, ao atingirem o quinto ínstar, confirmado pela presença das exúvias, foi realizado o mesmo procedimento citado anteriormente. Além disso, as sobras da dieta e os excrementos dos insetos durante o quarto ínstar e 10 cubos das dietas artificiais de cada tratamento, semelhantes aos oferecidos às lagartas, foram pesados, secos em estufa e pesados novamente após 3 dias. Com isso, foram obtidos os parâmetros necessários para a determinação dos índices de consumo e utilização de alimento segundo Waldbauer (1968) e Scriber e Slansky Jr. (1981). As fórmulas utilizadas para o cálculo dos índices foram as seguintes (em peso de matéria seca):

$$\text{Taxa de consumo relativo (g/g/dia) - RCR} = \frac{I}{B \times T}$$

$$\text{Taxa de crescimento relativo (g/g/dia) - RGR} = \frac{B}{B \times T}$$

$$\text{Taxa metabólica relativa (g/g/dia) - RMR} = \frac{M}{B \times T}$$

$$\text{Digestibilidade aproximada (\%) - AD} = \frac{I-F}{I} \times 100$$

Eficiência de conversão do alimento ingerido (%) - ECI = $\frac{B}{I} \times 100$

Eficiência de conversão do alimento digerido (%) - ECD = $\frac{B}{I-F} \times 100$

Custo metabólico (%) - CM = 100 - ECD

Onde, T = duração do período de alimentação (dias); Af = peso do alimento fornecido ao inseto (g); Ar = peso da sobra do alimento fornecido ao inseto (g) após T; F = peso do excremento produzido (g) durante T; B = (I – F) – M = ganho de peso pela lagarta (g) durante T; $\bar{B}$ = peso médio das lagartas (g) durante T; I = peso do alimento ingerido (g) durante T; I – F = alimento assimilado (g) durante T; M = (I – F) – B = alimento metabolizado durante T (g).

2.6. Análises estatísticas

Os resultados obtidos para concentração-mortalidade foram submetidos à análise de regressão de Probit (Finney, 1971), utilizando o software SAS (SAS Institute, 2015), sendo estimados os valores de CL₅₀, CL₂₅ e CL₁₀.

Os parâmetros biológicos, bem como os índices de consumo e utilização de alimento foram submetidos aos testes de Bartlett e Kolmogorov para constatação de normalidade e homogeneidade da variância visando verificar se os dados atendiam aos requisitos da análise de variância (ANOVA). O peso de pupas de *S. frugiperda*, longevidade de adultos, fecundidade de fêmeas, viabilidade de ovos de *H. armigera*, RCR, RGR, RMR, AD, ECI e ECD para *H. armigera*, RCR, RGR, AD, ECI e CM para *S. frugiperda*, atenderam aos requisitos da ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey (P < 0,05). Como os demais dados não atenderam aos requisitos foram conduzidas análises não paramétricas, utilizado o teste de Kruskal Wallis (P < 0,05). Para comparação entre os efeitos dos produtos nos parâmetros biológicos nas duas concentrações, utilizou-se o teste de Wilcoxon. Todas as análises foram conduzidas com o software SAS (SAS Institute, 2015).

Os parâmetros populacionais de tabela de vida de fertilidade foram estimados de acordo com o procedimento de Maia et al. (2000) utilizando-se o software SAS (SAS Institute, 2015), que se baseia no método Jackknife para estimar os

parâmetros, os intervalos de confiança e permitir a comparação entre os tratamentos.

3. Resultados

3.1. Estimativa de concentrações letais

Os valores de CL_{50} de flubendiamida e VPN-HzSNPV foram 0,718 e 2,48 $\mu\text{g i.a./mL}$ para *H. armigera*, respectivamente (Tabela 1). Apesar dessa diferença, os intervalos de confiança desses valores se sobrepuseram, o que também ocorreu entre a CL_{25} e CL_{10} , indicando que não há diferença significativa em relação à toxicidade para essa espécie.

Para *S. frugiperda*, o inseticida mais tóxico foi VPN-SfMNPV (CL_{50} de 0,404 $\mu\text{g i.a./mL}$). Flubendiamida apresentou valores intermediários de CL_{50} (0,898 $\mu\text{g i.a./mL}$), CL_{25} (0,567 $\mu\text{g i.a./mL}$) e CL_{10} (0,375 $\mu\text{g i.a./mL}$), enquanto *Bt aizawai* foi o menos tóxico, com maior valor de CL_{50} (51,57 $\mu\text{g i.a./mL}$). O extrato de *P. cubeba*, com concentração expressa em porcentagem, apresentou valor de CL_{50} igual a 1,293% (Tabela 1).

Tabela 1. Respostas de concentração-mortalidade de inseticidas às lagartas de segundo ínstar de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda*.

Inseticidas	n ¹	CL ₅₀ (95% I.C.)	CL ₂₅ (95% I.C.)	CL ₁₀ (95% I.C.)	Coef. Angular ± EP ³	χ ²	G.L.	P
<i>Helicoverpa armigera</i>								
Flubendiamida ²	50	0,718 (0,518 – 0,941)	0,236 (0,140 – 0,346)	0,087 (0,042 – 0,145)	4,3874 ± 0,3968	9,94	7	0,1916
VPN-HzSNPV ²	50	2,480 (0,909 – 4,570)	0,671 (0,058 – 1,490)	0,207 (0,004 – 0,658)	1,1867 ± 0,2434	8,30	4	0,0811
<i>Spodoptera frugiperda</i>								
Flubendiamida ²	50	0,898 (0,770 – 1,020)	0,567 (0,443 – 0,674)	0,375 (0,262 – 0,474)	3,3809 ± 0,4042	4,79	4	0,3098
VPN-SfMNPV ²	50	0,404 (0,234 – 0,631)	0,055 (0,017 – 0,111)	0,009 (0,001 – 0,027)	0,7789 ± 0,1179	5,86	4	0,2102
<i>Bt aizawai</i> ²	50	51,57 (42,94 – 60,42)	29,57 (22,34 – 36,25)	17,92 (12,08 – 23,51)	2,7916 ± 0,3000	2,25	3	0,5212
<i>P. cubeba</i> ³	50	1,293 (1,229 – 1,368)	1,035 (0,958 – 1,096)	0,847 (0,745 – 0,921)	6,9732 ± 0,8372	4,22	3	0,2387

¹n=número de lagartas observadas por concentração.

²Concentração letal expressa em µg i.a./mL.

³Concentração letal expressa em %.

⁴Coeficiente angular ± erro padrão.

3.2. Efeitos subletais em parâmetros biológicos

Lagartas de *H. armigera* alimentadas com cubos de dieta artificial tratados com as concentrações subletais de flubendiamida e VPN-HzSNPV apresentaram maior período larval, com aumento de, no mínimo, 1,3 dias. O extrato de *P. cubeba* não afetou o período larval e a sobrevivência dos insetos (Tabela 2).

Para *S. frugiperda*, as maiores concentrações (CL₂₅) apresentaram maior influência na duração do período larval. No tratamento com flubendiamida foram encontrados os maiores períodos da fase larval (22,0 e 28,8 dias), seguido de *P. cubeba* (21,7 e 23, dias), para CL₁₀ e CL₂₅, respectivamente. O bioinseticida VPN-SfMNPV aumentou a duração desta fase em pelo menos 0,9 dias, enquanto *Bt aizawai* influenciou apenas na CL₂₅ (21,7 dias) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros biológicos da fase larval de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* submetidas a concentrações subletais dos produtos.

Produtos		<i>Helicoverpa armigera</i>	
		Período (dias)	Viabilidade (%)
Flubendiamida	CL ₁₀	19,2 ± 0,25 a ¹	71,8 ± 2,15 c*
	CL ₂₅	19,6 ± 0,38 a*	60,0 ± 3,22 d
VPN-HzSNPV	CL ₁₀	19,1 ± 0,19 a	80,2 ± 2,63 b*
	CL ₂₅	19,2 ± 0,28 a	70,0 ± 3,16 c
<i>P. cubeba</i>	2,0%	17,9 ± 0,14 b	91,3 ± 2,54 a
Testemunha	Água	17,8 ± 0,31 b	93,0 ± 2,09 a
		<i>Spodoptera frugiperda</i>	
Flubendiamida	CL ₁₀	22,0 ± 0,33 c	77,3 ± 1,99 cd*
	CL ₂₅	28,8 ± 0,26 a*	64,5 ± 2,61 e
VPN-SfMNPV	CL ₁₀	19,8 ± 0,17 d	88,2 ± 2,15 b*
	CL ₂₅	20,4 ± 0,15 d*	79,1 ± 3,35 bcd
<i>Bt aizawai</i>	CL ₁₀	18,6 ± 0,35 e	84,5 ± 2,53 bc*
	CL ₂₅	21,7 ± 0,32 c*	79,1 ± 3,35 bcd
<i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	21,7 ± 0,39 c	80,0 ± 1,32 bcd*
	CL ₂₅	23,0 ± 0,31 b*	70,0 ± 3,89 de
Testemunha	Água	18,9 ± 0,29 e	97,3 ± 1,49 a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna, para cada espécie, não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05); *Indica diferença entre as concentrações de cada produto pelo teste de Wilcoxon (P < 0,05).

Os inseticidas prolongaram o período pupal de *H. armigera*, sendo o maior valor observado na CL₂₅ de VPN-HzSNPV (14,6 dias), seguido da CL₂₅ de flubendiamida (13,6 dias). O extrato de *P. cubeba* também prolongou este período (13,1 dias), assim como a CL₁₀ de VPN-HzSNPV e flubendiamida, que foram de 12,9 e 12,7 dias, respectivamente. A viabilidade do período pupal não foi afetada, variando entre 74,1 a 85,9%. Os insetos que se alimentaram de *P. cubeba* geraram pupas mais pesadas (410,8 mg) quando comparado com a testemunha (376,9 mg), enquanto os outros inseticidas apresentaram redução, sendo intermediária para a CL₂₅ de flubendiamida (319,0 mg) e a CL₁₀ de VPN-HzSNPV (306,5 mg), e ainda menor para as outras concentrações. Não houve interferência na razão sexual e na deformação em pupas, porém ocorreu tendência de aumento do número de pupas deformadas com o aumento da concentração dos inseticidas (Tabela 3).

Para *S. frugiperda*, flubendiamida reduziu a duração da fase de pupa em 0,9 e 0,6 dias para a CL₁₀ e CL₂₅, respectivamente, em relação à testemunha, porém os menores valores foram obtidos para *P. cubeba*, sendo de 10,4 dias para a maior e 10,6 dias para a menor concentração. O peso de pupas com 24 horas foi maior na CL₁₀ de VPN-SfMNPV, assim como nas duas concentrações de *Bt aizawai*, variando de 285,0 a 292,5 mg. Entretanto, a menor concentração de flubendiamida e a maior de *P. cubeba* causaram redução no peso, sendo de 252,1 e 247,4 mg, respectivamente. A viabilidade de pupas, a razão sexual e o número de pupas deformadas não foram influenciados pela ingestão dos produtos pelas lagartas (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros biológicos da fase pupal de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* submetidas a concentrações subletais dos produtos.

Produtos		<i>Helicoverpa armigera</i>				
		Período (dias)	Viabilidade (%)	Peso (mg)	Razão sexual	Deformação (%)
Flubendiamida	CL ₁₀	12,7 ± 0,20 cd ¹	85,9 ± 4,29 a	267,7 ± 5,37 d	0,50 ± 0,03 a	5,1 ± 2,37 a
	CL ₂₅	13,6 ± 0,24 b*	80,5 ± 4,53 a	319,0 ± 9,84 c*	0,54 ± 0,04 a	6,1 ± 2,96 a*
VPN-HzSNPV	CL ₁₀	12,9 ± 0,12 bc	84,9 ± 3,26 a	306,5 ± 3,87 c*	0,50 ± 0,03 a	0,0 ± 0,00 a
	CL ₂₅	14,6 ± 0,22 a*	80,5 ± 3,97 a	263,1 ± 4,74 d	0,44 ± 0,07 a	6,5 ± 3,17 a*
<i>P. cubeba</i>	2,0%	13,1 ± 0,31 bc	74,1 ± 4,03 a	410,8 ± 6,48 a	0,48 ± 0,04 a	4,9 ± 2,04 a
Testemunha	Água	12,2 ± 0,15 d	85,5 ± 2,42 a	376,9 ± 5,47 b	0,45 ± 0,07 a	3,6 ± 1,97 a
		<i>Spodoptera frugiperda</i>				
Flubendiamida	CL ₁₀	11,7 ± 0,12 c*	95,2 ± 2,48 a ¹	252,1 ± 2,74 c ²	0,46 ± 0,05 a ¹	2,4 ± 1,64 a ¹
	CL ₂₅	11,2 ± 0,16 d	93,2 ± 2,77 a	270,2 ± 3,98 b*	0,50 ± 0,07 a	4,2 ± 2,31 a
VPN-SfMNPV	CL ₁₀	12,3 ± 0,17 b	97,0 ± 1,63 a	285,0 ± 2,73 a*	0,48 ± 0,03 a	1,0 ± 1,03 a
	CL ₂₅	12,7 ± 0,07 ab	93,9 ± 2,56 a	273,8 ± 3,36 b	0,47 ± 0,06 a	1,2 ± 1,15 a
<i>Bt aizawai</i>	CL ₁₀	12,6 ± 0,22 ab	97,8 ± 2,27 a	292,5 ± 3,56 a	0,48 ± 0,03 a	1,1 ± 1,11 a
	CL ₂₅	12,9 ± 0,12 a	95,5 ± 1,91 a	290,3 ± 4,35 a	0,53 ± 0,04 a	2,3 ± 1,58 a
<i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	10,6 ± 0,07 e	93,2 ± 3,07 a	264,7 ± 4,53 b*	0,45 ± 0,04 a	2,3 ± 1,60 a
	CL ₂₅	10,4 ± 0,18 e	94,8 ± 2,41 a	247,4 ± 3,78 c	0,49 ± 0,05 a	3,9 ± 2,16 a
Testemunha	Água	12,6 ± 0,11 ab	98,1 ± 1,42 a	268,3 ± 4,02 b	0,50 ± 0,05 a	0,0 ± 0,00 a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna, para cada espécie, não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05); *Indica diferença entre as concentrações de cada produto pelo teste de Wilcoxon (P < 0,05).

Os tratamentos não interferiram na longevidade de machos e fêmeas, na fecundidade e na quantidade de indivíduos deformados de *H. armigera*. Os tratamentos também não afetaram a longevidade de machos e fêmeas de *S. frugiperda*, entretanto houve influência de flubendiamida na fecundidade nas duas concentrações, com redução de 1160,6 para 412,3 ovos/fêmea. O extrato de *P.*

cubeba resultou na má formação de adultos, com maiores valores na CL₂₅, aumentando o número de indivíduos deformados em mais de 13% em relação à testemunha (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros biológicos de adultos de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* cujas lagartas foram submetidas a concentrações subletais dos produtos.

<i>Helicoverpa armigera</i>					
Produtos		Longevidade de machos (dias)	Longevidade de fêmeas (dias)	Fecundidade (ovos/fêmea)	Deformação (%)
Flubendiamida	CL ₁₀	8,13 ± 0,66 a ¹	9,88 ± 0,72 a ¹	380,5 ± 79,78 a ¹	8,6 ± 3,78 a ²
	CL ₂₅	8,00 ± 1,24 a	8,50 ± 1,24 a	360,4 ± 124,63 a	9,8 ± 3,86 a
VPN-HzSNPV	CL ₁₀	8,00 ± 0,20 a	10,38 ± 1,05 a	391,5 ± 52,08 a	9,7 ± 3,07 a
	CL ₂₅	7,13 ± 0,75 a	7,38 ± 1,84 a	295,5 ± 111,38 a	10,3 ± 3,44 a
<i>P. cubeba</i>	2,0%	9,38 ± 1,21 a	13,75 ± 2,28 a	509,0 ± 88,29 a	14,9 ± 3,93 a
Testemunha	Água	9,75 ± 1,11 a	10,75 ± 1,89 a	394,9 ± 135,82 a	10,5 ± 3,88 a
<i>Spodoptera frugiperda</i>					
Flubendiamida	CL ₁₀	9,8 ± 0,96 a	10,3 ± 0,59 a	1160,6 ± 84,16 ab*	0,0 ± 0,0 b ²
	CL ₂₅	5,6 ± 0,85 a	9,6 ± 1,38 a	412,3 ± 122,07 b	7,4 ± 3,16 ab*
VPN-SfMNPV	CL ₁₀	9,4 ± 1,89 a	9,9 ± 1,39 a	943,1 ± 132,52 ab	3,2 ± 1,75 b
	CL ₂₅	7,1 ± 1,01 a	8,6 ± 0,97 a	905,1 ± 219,17 ab	8,4 ± 2,73 ab
<i>Bt aizawai</i>	CL ₁₀	8,1 ± 1,05 a	10,9 ± 0,92 a	1166,0 ± 261,06 ab	3,3 ± 1,85 b
	CL ₂₅	8,5 ± 0,54 a	11,1 ± 1,30 a	1105,4 ± 114,70 ab	8,5 ± 1,85 ab
<i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	8,8 ± 0,78 a	13,7 ± 0,43 a	1224,1 ± 136,63 a	3,8 ± 2,06 b
	CL ₂₅	7,1 ± 0,47 a	14,1 ± 1,28 a	676,4 ± 204,45 ab	16,4 ± 4,28 a*
Testemunha	Água	9,4 ± 1,52 a	10,5 ± 2,05 a	1051,8 ± 234,23 ab	2,8 ± 1,57 b

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna, para cada espécie, não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna, para cada espécie, não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05); *Indica diferença entre as concentrações de cada produto pelo teste de Wilcoxon (P < 0,05).

Os produtos ingeridos pelas lagartas não afetaram o período de incubação e a viabilidade de ovos de *H. armigera*, que ficou entre 3,3 a 3,5 dias e 48,9 a 60,4%, respectivamente. O mesmo ocorreu com *S. frugiperda*, com incubação variando entre 2,6 a 3,0 dias e viabilidade entre 76,2 a 93,6%.

Os parâmetros da tabela de vida de fertilidade foram influenciados após o tratamento das lagartas com concentrações subletais de inseticidas (Tabela 5). Para *H. armigera*, a taxa líquida de aumento populacional (R₀) foi reduzida na CL₂₅ de VPN-HzSNPV (72,8 fêmeas/fêmea por geração), sendo que os maiores valores foram observados para a CL₁₀ de flubendiamida (117,9 fêmeas/fêmea por

geração), de VPN-HzSNPV (135,7 fêmeas/fêmea por geração) e para a concentração de 2,0% do extrato de *P. cubeba* (147,3 fêmeas/fêmea por geração), sendo semelhantes à testemunha (140,4 fêmeas/fêmea por geração). A taxa intrínseca de aumento (r_m) e a razão finita de aumento (λ) foram menores na CL₂₅ de flubendiamida (0,142 fêmeas/fêmea/dia e 1,153 fêmeas/fêmea*dia, respectivamente) e de VPN-HzSNPV (0,141 fêmeas/fêmea/dia e 1,152 fêmeas/fêmea*dia, respectivamente). O tempo médio de uma geração (T) foi menor na CL₁₀ de flubendiamida (28,3 dias) e maior na CL₂₅ do mesmo inseticida (32,1 dias), com a testemunha apresentando valor intermediário (30,3 dias) e semelhante a esses tratamentos. Em relação ao tempo necessário para a população duplicar em número (Dt), o maior valor foi de 4,9 dias observado na CL₂₅ de flubendiamida e de VPN-HzSNPV, enquanto nos demais tratamentos variaram de 4,1 a 4,3 dias.

Para *S. frugiperda*, o menor valor de R_0 foi obtido na CL₂₅ de flubendiamida (136,0 fêmeas/fêmea por geração), com valor intermediário na maior concentração de *P. cubeba* (241,9 fêmeas/fêmea por geração). Os valores de r_m e λ apresentaram a mesma tendência, com menores valores na CL₂₅ de flubendiamida (0,128 fêmeas/fêmea/dia e 1,137 fêmeas/fêmea*dia, respectivamente), seguidos pela mesma concentração de *P. cubeba* (0,176 fêmeas/fêmea/dia e 1,193 fêmeas/fêmea*dia, respectivamente). O tempo médio de uma geração (T) aumentou em todos os tratamentos, com o maior valor na CL₂₅ de flubendiamida (38,5 dias). O mesmo foi observado para o parâmetro Dt, que foi de 2,5 dias na testemunha e de 5,4 dias na maior concentração de flubendiamida (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* submetidas a concentrações subletais dos produtos.

Produtos		<i>Helicoverpa armigera</i>				
		R_0	r_m	λ	T	Dt
Flubendiamida	CL ₁₀	117,9 a ¹ (79,67 – 156,24)	0,169 a (0,1567 – 0,1815)	1,184 a (1,1695 – 1,1988)	28,3 c (27,71 – 28,83)	4,1 b (3,79 – 4,39)
	CL ₂₅	93,4 ab (42,24 – 144,58)	0,142 b (0,1284 – 0,1557)	1,153 b (1,1368 – 1,1683)	32,1 a (29,58 – 34,69)	4,9 a (4,41 – 5,34)
VPN-HzSNPV	CL ₁₀	135,7 a (108,17 – 163,32)	0,166 a (0,1609 – 0,1710)	1,181 a (1,1745 – 1,1865)	29,6 bc (28,19 – 31,03)	4,2 b (4,05 – 4,30)
	CL ₂₅	72,8 b (22,82 – 122,79)	0,141 b (0,1163 – 0,1661)	1,152 b (1,1229 – 1,1802)	30,7 ab (28,38 – 32,92)	4,9 a (3,97 – 5,79)
<i>P. cubeba</i>	2,0%	147,3 a (87,41 – 207,17)	0,162 a (0,1497 – 0,1740)	1,176 a (1,1614 – 1,1899)	30,9 ab (29,83 – 32,04)	4,3 b (3,96 – 4,60)
Testemunha	Água	140,4 a (37,06 – 243,69)	0,165 a (0,1569 – 0,1733)	1,179 a (1,1699 – 1,1892)	30,3 abc (26,32 – 34,33)	4,2 b (3,98 – 4,19)
		<i>Spodoptera frugiperda</i>				
Flubendiamida	CL ₁₀	395,1 a (319,82 – 470,08)	0,188 bc (0,1779 – 0,1978)	1,207 bc (1,1946 – 1,2186)	31,8 bc (30,46 – 33,22)	3,7 cd (3,49 – 3,88)
	CL ₂₅	136,0 c (68,83 – 203,25)	0,128 e (0,1147 – 0,1417)	1,137 e (1,1214 – 1,1521)	38,5 a (36,67 – 40,30)	5,4 a (4,83 – 5,97)
VPN-SfMNPV	CL ₁₀	382,8 a (242,14 – 523,38)	0,189 bc (0,1567 – 0,1815)	1,209 bc (1,1939 – 1,2236)	31,4 bc (30,23 – 32,62)	3,7 cd (3,41 – 3,89)
	CL ₂₅	344,6 ab (215,40 – 473,77)	0,189 bc (0,1764 – 0,2022)	1,208 bc (1,1928 – 1,2239)	30,9 c (30,61 – 31,25)	3,7 cd (3,41 – 3,91)
<i>Bt aizawai</i>	CL ₁₀	464,5 a (264,55 – 664,52)	0,198 b (0,1876 – 0,2092)	1,219 b (1,2063 – 1,2326)	31,0 c (30,10 – 31,97)	3,5 d (3,30 – 3,68)
	CL ₂₅	439,4 a (257,84 – 620,94)	0,183 cd (0,1725 – 0,1944)	1,201 cd (1,1882 – 1,2145)	33,2 b (30,69 – 35,79)	3,8 bc (3,55 – 3,99)
<i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	413,1 a (337,49 – 488,79)	0,197 b (0,1871 – 0,2070)	1,218 b (1,2057 – 1,2299)	30,6 c (29,54 – 31,61)	3,5 d (3,34 – 3,69)
	CL ₂₅	241,9 b (128,11 – 355,77)	0,176 d (0,1654 – 0,1872)	1,193 d (1,1798 – 1,2058)	31,3 bc (29,98 – 32,53)	3,9 b (3,68 – 4,17)
Testemunha	Água	493,6 a (287,97 – 699,32)	0,272 a (0,2444 – 0,2992)	1,312 a (1,2763 – 1,3481)	22,9 d (21,87 – 23,85)	2,5 e (2,29 – 2,80)

¹Médias (intervalo de confiança) seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste t de Student ($P > 0,05$). $R_0 = \sum (l_x.m_x)$, descendentes fêmeas por fêmea por geração, quando, x = idade específica, l_x = proporção de fêmeas acasaladas vivas na idade x , m_x = número de ovos produzidos por fêmea na idade x multiplicado pela razão sexual; $T = \sum (x.l_x.m_x) / \sum (l_x.m_x)$; $r_m = \ln R_0 / T$; $\lambda = e^{r_m}$; $Dt = \ln(2) / r_m$.

3.3. Efeitos subletais no consumo e utilização de alimento

Os índices de consumo e utilização de alimento das lagartas de quarto ínstar foram afetados quando alimentadas com dieta artificial tratada com inseticidas. A taxa de consumo relativo (RCR) de *H. armigera* foi menor com a CL₂₅ de flubendiamida (2,5 g/g/dia) e maior na concentração de 2,0% do extrato de *P.*

cubeba (6,4 g/g/dia). A taxa de crescimento relativo (RGR) também foi menor na CL₂₅ de flubendiamida (0,7 g/g/dia), enquanto *P. cubeba* aumentou a taxa metabólica relativa (RMR) (3,4 g/g/dia). Os tratamentos não afetaram a digestibilidade aparente (AD), porém o extrato de *P. cubeba* e a maior concentração de flubendiamida reduziram a eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) e do alimento digerido (ECD), provocando maior custo metabólico (CM) (Tabela 6).

Efeitos ainda mais severos foram observados para *S. frugiperda*, com os inseticidas aumentando a RCR, com tendência a valores maiores nas menores concentrações. A RGR foi menor para a CL₂₅ de *P. cubeba* (0,6 g/g/dia) e maior para a CL₁₀ de VPN-SfMNPV (1,1 g/g/dia). Também ocorreu aumento da RMR, com maior influência da CL₂₅ de flubendiamida e de *P. cubeba*, com valores de 5,5 e 5,2 g/g/dia, respectivamente, seguidos pela menor concentração do extrato (3,7 g/g/dia). Esses mesmos tratamentos também aumentaram a AD, com a menor concentração do inseticida químico e as duas concentrações de *Bt aizawai* não afetando esse índice. A CL₂₅ de flubendiamida e de *P. cubeba* também reduziram a ECI e ECD, resultando no aumento do CM em mais de 50%, quando comparado com a testemunha.

Tabela 6. Índices nutricionais de lagartas de quarto ínstar de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* submetidas a concentrações subletais de inseticidas.

		<i>Helicoverpa armigera</i>						
Produtos		RCR (g/g/dia)	RGR (g/g/dia)	RMR (g/g/dia)	AD (%)	ECI (%)	ECD (%)	CM (%)
Flubendiamida	CL ₁₀	5,7 ± 0,58 ab ¹	1,2 ± 0,20 ab	0,8 ± 0,27 b	69,1 ± 3,37 a	30,7 ± 3,15 ab	49,8 ± 7,14 ab	50,1 ± 7,15 ab ²
	CL ₂₅	2,5 ± 0,70 b	0,7 ± 0,09 b	2,3 ± 0,23 ab	62,9 ± 5,75 a	21,8 ± 2,20 b	33,3 ± 4,45 b	60,5 ± 1,75 a
VPN-HzSNPV	CL ₁₀	5,9 ± 1,44 ab	1,2 ± 0,19 ab	1,4 ± 0,52 b	68,1 ± 4,03 a	33,1 ± 1,88 a	66,9 ± 2,06 a	36,1 ± 3,49 b
	CL ₂₅	4,5 ± 1,63 ab	1,1 ± 0,13 ab	2,3 ± 0,60 ab	54,8 ± 2,68 a	30,1 ± 3,98 ab	47,7 ± 8,65 ab	52,3 ± 8,66 ab
<i>P. cubeba</i>	2,0%	6,4 ± 1,08 a	1,4 ± 0,19 ab	3,4 ± 0,53 a	67,4 ± 2,23 a	23,4 ± 0,97 b	29,7 ± 2,12 b	67,8 ± 1,29 a
Testemunha	Água	5,0 ± 0,60 ab	1,7 ± 0,19 a	1,1 ± 0,21 b	60,8 ± 3,46 a	34,7 ± 1,23 a	61,9 ± 2,78 a	38,1 ± 2,78 b
		<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Flubendiamida	CL ₁₀	6,8 ± 0,60 a ¹	1,0 ± 0,12 ab	1,1 ± 0,23 de	62,3 ± 3,90 bc	32,9 ± 2,94 a	49,8 ± 3,63 b	46,6 ± 4,63 e
	CL ₂₅	3,7 ± 0,32 bcd	0,7 ± 0,08 ab	5,5 ± 0,59 a	83,0 ± 3,21 a	11,6 ± 1,39 d	11,5 ± 2,62 d	86,3 ± 2,15 a
VPN-SfMNPV	CL ₁₀	5,7 ± 0,87 ab	1,1 ± 0,12 a	2,2 ± 0,35 cd	73,3 ± 2,83 ab	30,4 ± 3,19 ab	43,5 ± 7,51 bc	65,3 ± 3,36 bcd
	CL ₂₅	4,8 ± 0,56 abc	1,0 ± 0,11 ab	2,8 ± 0,29 bc	69,9 ± 3,82 ab	21,6 ± 2,43 bc	26,5 ± 3,65 cd	72,7 ± 2,62 bc
<i>Bt aizawai</i>	CL ₁₀	3,3 ± 0,76 cd	0,9 ± 0,07 ab	1,0 ± 0,26 de	56,1 ± 5,28 c	29,1 ± 1,29 ab	50,6 ± 5,16 b	56,6 ± 4,55 de
	CL ₂₅	2,6 ± 0,35 d	0,8 ± 0,07 ab	1,1 ± 0,23 de	59,9 ± 3,28 bc	26,8 ± 2,29 abc	43,5 ± 5,81 bc	62,8 ± 4,82 cd
<i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	6,4 ± 0,66 ab	1,0 ± 0,15 ab	3,7 ± 0,62 b	77,2 ± 2,58 a	18,6 ± 2,06 c	25,0 ± 3,62 cd	77,4 ± 4,34 ab
	CL ₂₅	5,6 ± 0,70 abc	0,6 ± 0,18 b	5,2 ± 0,37 a	82,5 ± 1,97 a	9,1 ± 1,08 d	13,4 ± 0,84 d	88,3 ± 1,47 a
Testemunha	Água	2,3 ± 0,19 d	0,8 ± 0,06 ab	0,4 ± 0,08 e	48,9 ± 3,31 c	33,5 ± 1,36 a	69,9 ± 4,86 a	33,9 ± 1,92 f

¹Médias ± EP seguidas de mesma letra na coluna, para cada espécie, não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna, para cada espécie, não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05).

O peso seco de lagartas de quinto ínstar de *H. armigera* variou de 6,56 g (VPN-HzSNPV CL₂₅) a 12,29 g (VPN-HzSNPV CL₁₀), enquanto o peso fresco teve maior influência dos produtos, com redução mais elevada na CL₂₅ de VPN-HzSNPV (44,40 g), seguido da mesma concentração letal de flubendiamida (49,34 g) (Figura 1).

Em relação a *S. frugiperda*, a testemunha apresentou o maior peso seco e fresco, com valores de 21,41 g e 125,13 g, respectivamente, enquanto na CL₂₅ do extrato de *P. cubeba* ocorreu os menores pesos, com redução de 73,3%, para o peso seco, e de 68,0%, para o peso fresco, quando comparado à testemunha (Figura 1).

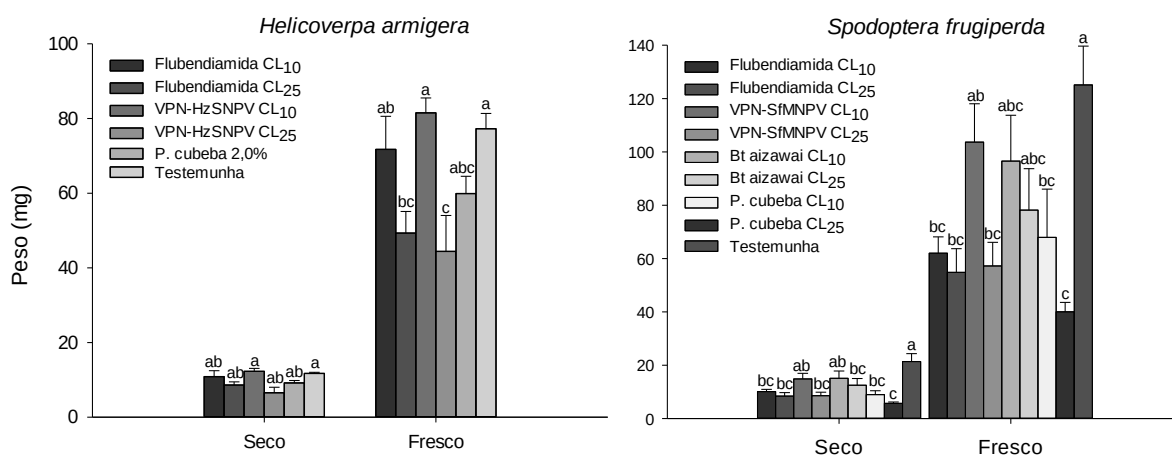


Figura 1. Peso seco e fresco de lagartas de quinto ínstar de *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* submetidas a concentrações subletais de inseticidas. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

4. Discussão

No Manejo Integrado de Pragas (MIP) recomenda-se a utilização de inseticidas com diferentes modos de ação para controle efetivo do inseto-alvo e a não seleção de populações resistentes. Diante disso, foi avaliado no presente estudo os efeitos do inseticida químico flubendiamida (Belt®), uma diamida do ácido ftálico, que atua nos receptores de rianodina (Sattelle et al., 2008); dos bioinseticidas à base de nucleopoliedrovírus (NPV) (Diplomata® e CartuchoVIT®), que agem nas células epiteliais do intestino médio, onde irão se replicar (Haase et al., 2015); da bactéria *B. thuringiensis* (XenTari®), com atuação no epitélio do intestino médio, através da ligação a receptores específicos (Bravo et al., 2007); além do extrato hexânico de *P. cubeba*, uma planta de um gênero conhecido pela produção de amidas, como a piperina, que apresenta ação neurotóxica nos insetos, tendo atuação distinta dos inseticidas piretroides que alteram a permeabilidade dos canais

de sódio das células nervosas (Soderlund et al., 2002; Scott et al., 2008). Portanto, os produtos utilizados neste estudo podem ser empregados em rotação para o controle de *H. armigera* e *S. frugiperda*.

A duração do período larval de *H. armigera* e *S. frugiperda* foram prolongados após a exposição às concentrações subletais dos inseticidas. Outros estudos constataram que clorantraniliprole, uma diamida antranílica, também causa esse efeito em *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858) (Lepidoptera: Noctuidae) (Lutz, et al., 2018), além dos bioinseticidas, como *B. thuringiensis*, em *H. armigera* (Abedi et al., 2014) e de óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC. e *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, em *S. frugiperda* (Cruz et al., 2014).

Os inseticidas neurotóxicos, tais como flubendiamida e as diamidas presentes em plantas do gênero *Piper*, podem causar essas alterações no tempo de desenvolvimento larval devido a distúrbios no tecido neuronal (Desneux et al., 2007; Ismail, 2020). Além disso, as lagartas tratadas com inseticidas devem gastar mais recursos energéticos na desintoxicação do que no desenvolvimento, de modo que, o período larval será afetado, ocorrendo seu prolongamento (Huang et al., 2019).

Na fase pupal, ao contrário do que ocorreu com *H. armigera*, *S. frugiperda* apresentou redução no período de desenvolvimento no tratamento com flubendiamida e *P. cubeba*. Quando o inseto é exposto a alguma substância tóxica, normalmente ocorre a sinalização para a ativação do sistema imunológico que utiliza defesas humorais e celulares (Strand, 2008). Shamakhi et al. (2019), avaliando a resposta imunológica de *Chilo suppressalis* (Walker, 1863) (Lepidoptera: Crambidae) a dois fatores de estresse, verificaram o aumento do número total de hemócitos que estão relacionados com as defesas celulares e desempenham importante papel metabólico, estando associados com a produção da enzima proteolítica catepsina (Klowden, 2007). Essa enzima atua no processo de muda, ou seja, na metamorfose e no remodelamento de tecidos, sendo que a redução da expressão do seu gene resulta em atraso no desenvolvimento do estágio de pupa (Gui et al., 2006). Dessa maneira, poderia ser explicado o efeito desses produtos que encurtaram o desenvolvimento larval por uma possível ativação do sistema imunológico para desintoxicação e por alterações metabólicas que, posteriormente, resultariam em uma metamorfose mais acelerada.

As lagartas de *S. frugiperda* que se alimentaram de dieta artificial contendo o bioinseticida à base de *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* apresentaram pupas mais pesadas. Sedaratian et al. (2013) relataram aumento no peso de pupas de *H. armigera* após exposição à concentrações subletais desse entomopatógeno, citando também que, na fase larval os insetos aumentam a alimentação contribuindo para o “reparo” e a resistência do intestino.

Na fase adulta de *S. frugiperda* foi observada maior deformação quando as lagartas se alimentaram de *P. cubeba*, o que também foi verificado em estudos com alguns extratos hexânicos para *H. armigera* (Sivaraman et al., 2014). Esta maior deformação pode ser resultante da aceleração do período pupal, não havendo tempo suficiente para a conclusão da metamorfose. Em relação à fecundidade de *S. frugiperda*, houve influência de flubendiamida e *P. cubeba*, além de apresentar uma tendência maior desse efeito em função do aumento da dose, o que pode ser um efeito associado das diamidas, visto que outros estudos mostraram que diamidas antranílicas causam um efeito disruptivo no comportamento de acasalamento de lepidópteros (Knight e Flexner, 2007). Entretanto, a menor concentração de *P. cubeba* apresentou um pequeno aumento na fecundidade de *S. frugiperda*, o que pode ser caracterizar o fenômeno de hormese, definido como o estímulo positivo no desempenho dos insetos em exposições a concentrações mais baixas (não letais) de inseticidas (Guedes e Cutler, 2014). Nesse sentido, *S. frugiperda* aumentou a fecundidade como forma de compensação aos efeitos negativos causados pelo extrato, conforme teoria de Calabrese (1999). Esses aspectos relacionados à fecundidade dos insetos são de extrema importância para determinação do tamanho da população em futuras gerações, após exposição a inseticidas (Santos et al., 2016).

Os resultados obtidos para a taxa líquida de aumento populacional (R_0), a taxa intrínseca de aumento (r_m) e a razão finita de aumento (λ) indicam efeito negativo no crescimento populacional de *H. armigera* exposta a CL_{25} de VPN-HzSNPV e de *S. frugiperda* nas CL_{25} de flubendiamida e de *P. cubeba*. Os parâmetros T (tempo médio de uma geração) e Dt (tempo necessário para a população duplicar em número) também foram afetados por esses inseticidas, mostrando um desenvolvimento mais lento, o que, consequentemente, irá resultar

em um número menor de gerações das pragas. Resultados semelhantes foram observados em *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae) exposta a cyantraniliprole (Xu et al., 2016) e *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) alimentada com resíduos de clorantraniliprole (Han et al., 2012). Esses resultados repercutem na dinâmica populacional, pois com um tempo de desenvolvimento larval prolongado as pragas teriam maior exposição a inimigos naturais (Thaler et al., 2012).

Os resultados obtidos para a taxa de consumo relativo (RCR) demonstram que *S. frugiperda* altera mais o seu comportamento quando comparado com *H. armigera*, aumentando o consumo quando exposta aos inseticidas. Isso pode ter ocorrido como forma de compensação, uma vez que o inseto gastaria mais energia no processo de desintoxicação, o que é confirmado pelo aumento do custo metabólico (CM), precisando de maior quantidade de alimento para atender suas necessidades nutricionais. Com isso, a digestibilidade aproximada (AD) aumentou, em consequência dos maiores períodos de desenvolvimento larval e da persistência do alimento no trato digestivo do inseto, conforme sugerido por Nathan et al. (2006). Quando *H. armigera* foi exposta a *P. cubeba* ocorreu maior CM, o que pode ser um indicativo de uma desintoxicação eficiente desta espécie e que resulta na inatividade do produto. As eficiências de conversão do alimento ingerido (ECI) e do alimento digerido (ECD) foram reduzidas em exposição aos inseticidas, demonstrando que o aproveitamento foi menor. Portanto, a utilização dos recursos alimentares para desintoxicação não permitiria o crescimento normal dos insetos, aumentando o período de desenvolvimento e reduzindo o peso dos insetos, como foi observado por Xu et al. (2016).

Este estudo demonstrou que *H. armigera* e *S. frugiperda* podem apresentar efeitos subletais diferentes e que, além da avaliação dos parâmetros biológicos dos indivíduos expostos à concentrações subletais de inseticidas, a tabela de vida de fertilidade e os índices de consumo e utilização de alimento auxiliam no melhor entendimento do comportamento e o desenvolvimento dos insetos. Novos estudos que avaliem os efeitos subletais, de acordo com o período residual dos inseticidas, podem complementar os resultados obtidos e auxiliar no manejo de *H. armigera* e *S. frugiperda*.

5. Conclusão

Os inseticidas testados causam aumento dos períodos larval e pupal, com exceção de flubendiamida e *P. cubeba* para *S. frugiperda*, que causou deformações em adultos. *Bacillus thuringiensis* aumenta o peso de pupas, enquanto flubendiamida reduz a fecundidade de *S. frugiperda*. Os inseticidas reduzem o crescimento populacional das espécies e alteram o comportamento de alimentação, aumentando o consumo e, possivelmente, os gastos com desintoxicação.

6. Referências

Abedi Z, Saber M, Vojoudi S, Mahdavi V, Parsaeyan E (2014) Acute, sublethal, and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Journal of Insect Science** 14:30. DOI: 10.1093/jis/14.1.30

Barros EM, Torres JB, Bueno AF (2010) Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology** 39:996-1001. DOI: 10.1590/S1519-566X2010000600023

Bravo A, Gill SS, Soberón M (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon** 49:423-435. DOI: 10.1016/j.toxicon.2006.11.022

Calabrese EJ (1999) Evidence that hormesis represents an “overcompensation” response to a disruption in homeostasis. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 42:135-137. DOI: 10.1006/eesa.1998.1729

Cruz GS, Wanderley-Teixeira V, Oliveira JV, Correia AA, Breda MO, Alves TJS, Cunha FM, Teixeira AAC, Dutra KA, Navarro DMAF (2014) Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae) oils, with or without formulated Bta on the biology and immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 107:144-153. DOI: 10.1603/ec13351

Cunningham JP, Zalucki MP, West SA (1999) Learning in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): a new look at the behavior and control of a polyphagous pest. **Bulletin of Entomological Research** 89:201-207. DOI: 10.1017/S0007485399000310

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440

Dos Santos TLB, Turchen LM, Dall'Oglio EL, Butnariu AR, Pereira MJB (2017) Phytochemical of *Piper* essential oil and acute toxicity against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 12:484-489. DOI: 10.5039/agraria.v12i4a5482

EPPO – European and Mediterranean Plant Protection Organization (2019) *Helicoverpa armigera*. Disponível em: <<https://gd.eppo.int/taxon/HELIAR/distribution>>. Acesso em: 06 fev. 2020.

Fathipour Y, Sedaratian A (2013) Integrated management of *Helicoverpa armigera* in soybean cropping systems. In.: El-Shemy H (Eds.) **Soybean – Pest resistance**. Cairo: InTech, p. 231-280.

Fenner K, Canonica S, Wackett LP, Elsner M (2013) Evaluating pesticide degradation in the environment: Blind spots and emerging opportunities. **Science** 341:752. DOI: 10.1126/science.1236281

Finney DJ (Eds.) (1971) **Probit analysis**. Cambridge: Cambridge University Press, 333p.

Ganiger PC, Yeshwanth HM, Muralimohan K, Vinay N, Kumar ARV, Chandrashekara K (2018) Occurrence of the new invasive pest, fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in the maize fields of Karnataka, India. **Current Science** 115:621-623. DOI: 10.18520/cs/v115/i4/621-623

George ZO (2011) **Expression and genetic manipulation of *Bacillus thuringiensis* toxins for improved toxicity and development of a protocol for in vivo selection of toxin variants with improved activity**. 259 f. Thesis (Doctor of Philosophy) – University of Sussex, Brighton.

Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamo M (2016) First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS ONE** 11:e0165632. DOI: 10.1371/journal.pone.0165632

Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology** 69:487-488. DOI: 10.1093/jee/69.4.487

Guedes RN, Cutler GC (2014) Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. **Pest Management Science** 70:690-697. DOI: 10.1002/ps.3669

Gui ZZ, Lee KS et al. (2006) Functional role of aspartic proteinase cathepsin D in insect metamorphosis. **BMC Development Biology** 6:1-11. DOI: 10.1186/1471-213X-6-49

Haase S, Sciocco-Cap A, Romanowski V (2015) Baculovirus insecticides in Latin America: Historical overview, current status and future perspectives. **Viruses** 7:2230-2267. DOI: 10.3390/v7052230

Han W, Zhang S, Shen F, Liu M, Ren C, Gao X (2012) Residual toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management Science** 68:1184-1190. DOI: 10.1002/ps.3282

Horikoshi RJ, Bernardi O, Amaral FS de A, Miraldo LL, Durigan MR, Bernardi D, Silva SS, Omoto C (2019) Lack of relevant cross-resistance to Bt insecticide XenTari in strains of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) resistant to Bt maize. **Journal of Invertebrate Pathology** 161:1-6. DOI: 10.1016/j.jip.2018.12.008

Huang A, Meng L, Zhang W, Liu J, Li G, Tan H, Lu W, Zheng X (2019) Effects of five pesticides on toxicity, detoxifying and protective enzymes in *Phaуда flammans* Walker (Lepidoptera: Zygaenidae). **Pakistan Journal of Zoology** 51:1457-1463. DOI: 10.17582/journal.pjz/2019.51.4.1457.1463

Ismail SM (2020) Effect of sublethal doses of some insecticides and their role on detoxication enzymes and protein-content of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin of the National Research Centre** 44:35. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00294-z>

Kasten Jr. P, Precetti AACM, Parra JRP (1978) Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura** 53:68-78.

Klowden MJ (2007) Integumentary systems. In.: Klowden MJ (Eds.) **Physiological systems in insects**. London: Academic Press, p. 75-135.

Knight AL, Flexner L (2007) Disruption of mating in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) by chlorantraniliprole, an anthranilic diamide insecticide. **Pest Management Science** 63:180-189. DOI: 10.1002/ps.1318

Lima RK, Cardoso MG, Moraes JC, Melo BA, Rodrigues VG, Guimarães PL (2009) Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC. sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica** 39:377-382. DOI: 10.1590/S0044-59672009000200016

Lutz AL, Bertolaccini I, Scotta RR, Curis MC, Favaro MA, Fernandez LN, Sánchez DE (2018) Lethal and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science** 74:2817-2821. DOI: 10.1002/ps.5070

Maia AHN, Luiz AJB, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life parameters using Jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology** 93:511-518. DOI: 10.1603/0022-0493-93.2.511

Nagoshi RN, Meagher RL (2008) Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist** 91:546-554. DOI: 10.1653/0015-4040-91.4.546

Nathan SS (2006) Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84:98-108. DOI: 10.1016/j.pestbp.2005.05.006

Omoto C, Bernardi O, Salmeron E, Sorgatto RJ, Dourado PM, Crivellari A, Carvalho RA, Willse A, Martinelli S, Head GP (2016) Field-evolved resistance to Cry1Ab maize by *Spodoptera frugiperda* in Brazil. **Pest Management Science** 72:1727-1736. DOI: 10.1002/ps.4201

Rehan A, Freed S (2015) Fitness cost of methoxyfenozide and the effects of its sublethal doses on development, reproduction, and survival of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 44:513-520. DOI: 10.1007/s13744-015-0306-5

Santos MF, Santos RL, Tomé HVV, Barbosa WF, Martins GF, Guedes RNC, Oliveira EE (2016) Imidacloprid-mediated effects on survival and fertility of the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*. **Journal of Pest Science** 89:231-240. DOI: 10.1007/s10340-015-0666-y

SAS Institute (2015) SAS/IML® 14.1 User`s guide. Cary: SAS Institute Inc.

Sattelle DB, Cordova D, Cheek TR (2008) Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemical. **Invertebrate Neuroscience** 8:107-119. DOI: 10.1007/s10158-008-0076-4

Scott IM, Jensen H, Philogène BJR, Arnason JT (2008) A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Reviews** 7:65. DOI: 10.1007/s11101-006-9058-5

Scriber JM, Slansky Jr. F (1981) The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26:183-211. DOI: 10.1146/annurev.en.26.010181.001151

Sedaratian A, Fathipour Y, Talaei-Hassanloui R, Jurat-Fuentes JL (2013) Fitness costs of sublethal exposure to *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera*: a carryover study on offspring. **Journal of Applied Entomology** 137:540-549. DOI: 10.1111/jen.12030

Shamakhi L, Zibae A, Karimi-Malati A, Hoda H (2019) Effect of thermal stress on the immune responses of *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae) to *Beauveria bassiana*. **Journal of Thermal Biology** 84:136-145. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2019.07.006

Sivaraman G, Paulraj MG, Ignacimuthu S, Al-Dhabi NA (2014) Bioefficacy of seed extracts of *Strychnos nux-vomica* and *Semecarpus anacardium* against *Helicoverpa armigera* (Hubnar) (Lepidoptera: Noctuidae). **International Journal of Agricultural and Food Science** 4:73-77. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2019.07.006

Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, Mullin LS, Piccirillo VJ, Sargent D, Stevens JT, Weiner ML (2002) Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology** 171:3-59. DOI: 10.1016/S0300-483X(01)00569-8

Souza CSF, Valicente FH, Fadini MAM, Polanczyk RA (2017) Action spectrum of *Baculovirus spodoptera* on Lepidoptera pests. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 16:52-60. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v16n1p52-60

Strand MR (2008) The insect cellular immune response. **Insect Science** 15:1-14. DOI: 10.1111/j.1744-7917.2008.00183.x

Thaler JS, McArt SH, Kaplan I (2012) Compensatory mechanisms for ameliorating the fundamental trade-off between predator avoidance and foraging. **PNAS** 109:12075-12080. DOI: 10.1073/pnas.1208070109

Tomquelski GV, Martins GLM (2007) Eficiência de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho na região dos Chapadões. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** 6:26-39. DOI: 10.18512/1980-6477/rbms.v6n1p26-39

Truzzi CC, Vieira NF, Ferracini B, Souza JM, De Bortoli SA (2019) Extrato hexânico de *Piper cubeba* apresenta atividade inseticida sobre *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera*?. In: 16° SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, **Anais...** Londrina, p. 473.

Vojoudi S, Saber M, Gharekhani G, Esfandiari E (2017) Toxicity and sublethal effects of hexaflumuron and indoxacarb on the biological and biochemical parameters of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Iran. **Crop Protection** 91:100-107. DOI: 10.1016/j.cropro.2016.09.020

Waldbauer GP (1968) The consumption and utilization of food by insects. **Advances in Insect Physiology** 5:229-288. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60230-1

Xu C, Ding J, Zhao Y, Luo J, Mu W, Zhang Z (2017) Cyantraniliprole at sublethal dosages negatively affects the development, reproduction, and nutrient utilization of *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology** 110:230-238. DOI: 10.1093/jee/tow248

Xu C, Zhang Z, Cui K, Zhao Y, Han J, Liu F, Mu W (2016) Effects of sublethal concentrations of cyantraniliprole on the development, fecundity and nutritional physiology of the black cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **PloS ONE** 11:e0156555. DOI: 10.1371/journal.pone.0156555

CAPÍTULO 6 – Efeitos por contato e ingestão de inseticida químico, bioinseticidas e extrato de *Piper cubeba* em abelhas, em condições de laboratório

RESUMO – A produção agrícola é dependente da polinização, onde *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) é um dos agentes polinizadores mais importantes. A população de abelhas está decaindo nos últimos anos, sendo que um dos fatores potenciais para isso é o uso de inseticidas, aplicados nas culturas agrícolas para controlar espécies-praga e que podem atingir as abelhas por contato ou ingestão. Devido a esses problemas causados, principalmente, pelos inseticidas sintéticos ao ambiente e a diferentes organismos, surgiu a necessidade de estudos com produtos biológicos e botânicos para o controle de insetos-praga, visando uma maior segurança e um manejo mais sustentável da produção agrícola. Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda, além de possíveis alterações comportamentais provocadas por inseticidas químico, biológico e vegetal em adultos de *A. mellifera*. Foram utilizados produtos comerciais à base de flubendiamida (inseticida químico), *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, VPN-SfMNPV e VPN-HzSNPV (inseticidas biológicos), além do extrato hexânico de *Piper cubeba*, não disponível comercialmente. Os produtos utilizados não causaram mortalidade significativa em *A. mellifera* por contato, entretanto por ingestão após 48 horas, verificou-se maior mortalidade das abelhas no tratamento com o produto biológico à base de *Bt*, enquanto os menores percentuais de mortalidade total foram observados no produto químico, flubendiamida, e no baculovírus, VPN-SfMNPV. Foi registrado maior número de visitas de adultos de *A. mellifera* no alimento com VPN-SfMNPV, bem como o maior número de abelhas ingerindo alimento foi observado nos produtos biológicos à base de baculovírus, sendo os menores valores obtidos com o extrato de *P. cubeba*. O bioinseticida à base de *Bt* causa efeitos na mortalidade, enquanto aqueles à base de baculovírus favorecem a atração e a ingestão de alimento por *A. mellifera*, enquanto o extrato hexânico de *P. cubeba* afeta negativamente a ingestão.

Palavras-chave: toxicidade, atração, polinizador, abelha melífera, organismo não alvo.

CHAPTER 6 – Contact and ingestion effects of chemical pesticide, biopesticides and *Piper cubeba* extract in honey bees under laboratory conditions

ABSTRACT – Agricultural production is dependent on pollination, where *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) is one of the most important pollinators agents. The bee population has been declining in recent years, and one of the potential factors for this is the use of pesticides, applied in agricultural crops to control pest species and which can reach bees by contact or ingestion. Due to these problems caused, mainly by synthetic pesticides to the environment and to different organisms, there was a need for studies with biological and botanical products for the control of insect pests, aiming at greater safety and a more sustainable management of agricultural production. In this sense, the present study aimed to evaluate acute toxicity, in addition to possible behavioral changes by chemical, biological and plant pesticides in adults of *A. mellifera*. Commercial products based on flubendiamide (chemical pesticide), *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, NPV-SfMNPV e NPV-HzSNPV (biopesticides), in addition to the hexane extract of *Piper cubeba*, not commercially available. The products used did not cause significant mortality in *A. mellifera* by contact, however by ingestion after 48 hours, there was a higher mortality of honey bees in the treatment with the biological product based on *Bt*, while the lowest percentages of total mortality were observed in the chemical, flubendiamide, and in baculovirus, NPV-SfMNPV. A greater number of visits of adults of *A. mellifera* was recorded in the food with NPV-SfMNPV, as well as the highest number of honey bees ingesting food was observed in biological products based on baculovirus, with the lowest values obtained with the extract of *P. cubeba*. The biopesticide based on *Bt* causes effects on mortality, while those based on baculovirus favor the attraction and food intake by *A. mellifera*, while the hexane extract of *P. cubeba* negatively affects the intake.

Keywords: toxicity, attraction, pollinator, *Apis mellifera*, non-target organism.

1. Introdução

A produção agrícola é dependente de agentes polinizadores, visto que a polinização ocorre em 35% das culturas de importância no mundo (Klein et al., 2007). Insetos polinizadores causam benefícios econômicos aumentando o rendimento de cultivos agrícolas, sendo a abelha *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae) uma das espécies de maior importância (Potts et al., 2016). Além da polinização, as abelhas geram benefícios pela produção de mel, pólen, geleia real, própolis e cera (Garibaldi et al., 2013; Leonhardt et al., 2013). Entretanto, a população de abelhas tem decaído nos últimos anos, sendo que diversos fatores são causas potenciais dessa redução, incluindo o uso de inseticidas sintéticos (Lebuhn et al., 2013; van der Sluijs et al., 2013).

Os inseticidas são aplicados nas culturas agrícolas para controlar espécies-praga, porém sua utilização também pode atingir organismos não alvo, como as abelhas, seja por contato ou por ingestão de néctar e pólen contaminados, podendo causar a morte dos insetos e/ou induzir alterações no comportamento (Decourtye et al., 2004; Desneux et al., 2007; Costa et al., 2014). Deste modo, torna-se essencial estudar o efeito de inseticidas em abelhas, o qual pode ser avaliado analisando-se o efeito letal, bem como as alterações comportamentais após o contato (Decourtye et al., 2004; Desneux et al., 2007).

Devido aos problemas ocasionados pelos inseticidas sintéticos, a utilização de produtos naturais obtidos de plantas se tornou uma importante alternativa para o manejo de insetos-praga como, por exemplo, o extrato hexânico de *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae), para controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (Copping e Menn, 2000; Duke et al., 2000; Truzzi et al., 2019). Esses produtos, de modo geral, são mais seguros para o ambiente e para os seres vivos, incluindo as abelhas, quando comparados aos inseticidas sintéticos rotineiramente utilizados (Copping e Menn, 2000; Duke et al., 2000). Como exemplo de moléculas descobertas após estudos com extratos botânicos têm-se as diamidas do ácido ftálico, como flubendiamida, que são consideradas seguras para inimigos naturais e abelhas, sendo elas desenvolvidas a partir da identificação de rianoides presentes na casca de *Ryania speciosa* Vahl,

1796 (Malpighiales: Salicaceae) (Jefferies et al., 1997; Brugger et al., 2010; Nadaf et al., 2013).

O controle biológico com utilização da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) (Bacillales: Bacillaceae) e de baculovírus (Baculoviridae), tem se destacado no controle de pragas de grande importância econômica na agricultura mundial, principalmente devido a alta especificidade e seletividade a diferentes grupos de insetos (Cory e Bishop, 1997; Jurat-Fuentes e Jackson, 2012). Entretanto, trabalhos avaliando efeitos de baculovírus em abelhas, assim como de formulações comerciais de inseticidas biológicos, como aqueles à base de *B. thuringiensis*, bem como de alguns compostos químicos sintéticos ainda são escassos.

No caso de produtos botânicos, apesar de diversos estudos serem realizados visando o controle de insetos-praga, ainda faltam informações sobre seus efeitos em organismos não alvo, como as abelhas (Xavier et al., 2015). Assim, esse estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda e possíveis alterações comportamentais de inseticidas químico e biológico, bem como do extrato de *P. cubeba* em adultos de *A. mellifera*.

2. Material e métodos

Para realização dos ensaios foram coletadas abelhas nutrízes, com 6 a 12 dias de idade, em uma colônia no Setor de Apicultura (21°14'38" S 48°16'52" W), da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, não tendo sido observados sinais de doenças durante a coleta. As abelhas foram coletadas, acondicionadas e transportadas em gaiolas plásticas para o Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), da mesma universidade, onde foram desenvolvidos os bioensaios.

Os testes foram realizados com metodologia semelhante à utilizada por Costa et al. (2014), sendo preparados recipientes plásticos (13,0 cm de largura × 17,5 cm comprimento × 6,0 cm de altura), forrados internamente com papel toalha e cobertos com tecido de malha fina (tipo voile) preso com elástico, onde foram liberadas 10 abelhas nutrízes por recipiente. Os bioensaios foram desenvolvidos em laboratório,

com temperatura de 27 ± 1 °C, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e ausência de luz, simulando as condições naturais da colônia.

2.1. Produtos utilizados

Para realização dos testes foram utilizados os produtos comerciais Belt® (inseticida químico), XenTari®, CartuchoVIT® e Diplomata® (inseticidas biológicos), além do extrato hexânico de *P. cubeba*, não disponível comercialmente. O extrato foi utilizado tendo como referência o trabalho de Truzzi et al. (2019), enquanto os inseticidas foram baseados nas recomendações dos fabricantes para *S. frugiperda* e *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) (Tabela 1). Para o ensaio de toxicidade por contato, os produtos foram diluídos em água destilada, enquanto para ingestão foi utilizado mel como diluente.

Tabela 1. Produtos utilizados para avaliação da toxicidade por contato e por ingestão em *Apis mellifera*.

Produto	Ingrediente ativo (i.a.)	Modo de ação	Dose
Belt®	Flubendiamida	Contato e ingestão	0,12 g i.a./L
XenTari®	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	Ingestão	1,89 g i.a./L
CartuchoVIT®	VPN-SfMNPV	Ingestão	0,0021 g i.a./L
Diplomata®	VPN-HzSNPV	Ingestão	0,00695 g i.a./L
Extrato de <i>P. cubeba</i>	-	Ingestão ¹	20 mL/L

¹Produto com ação por contato ainda não testada para insetos-praga.

2.2. Ação por contato em *A. mellifera*

Os recipientes plásticos contendo 10 abelhas foram pulverizados diretamente com as soluções preparadas de acordo com a recomendação de cada produto, utilizando um pulverizador manual e um volume de 0,001 mL/cm², simulando uma pulverização em campo, enquanto no controle foi utilizado apenas água destilada. As abelhas foram alimentadas com mel e pólen embebido em um pedaço de

algodão acondicionado no interior de uma tampa plástica (2,0 cm diâmetro × 1,0 cm altura), sendo também colocado no interior do recipiente um pedaço de algodão umedecido com água destilada, como fonte de umidade (Figura 1). A avaliação de mortalidade foi realizada nos intervalos de 1, 2, 3, 4, 7 e 12 horas e, posteriormente, a cada 24 horas, até que a mortalidade na testemunha atingisse 20%, conforme recomendado pela EPA (2012). Durante as primeiras 4 horas foram avaliadas alterações comportamentais, como movimentos desordenados e hiperexcitação. Foram observadas 4 repetições por tratamento, sendo cada recipiente plástico considerado uma repetição.

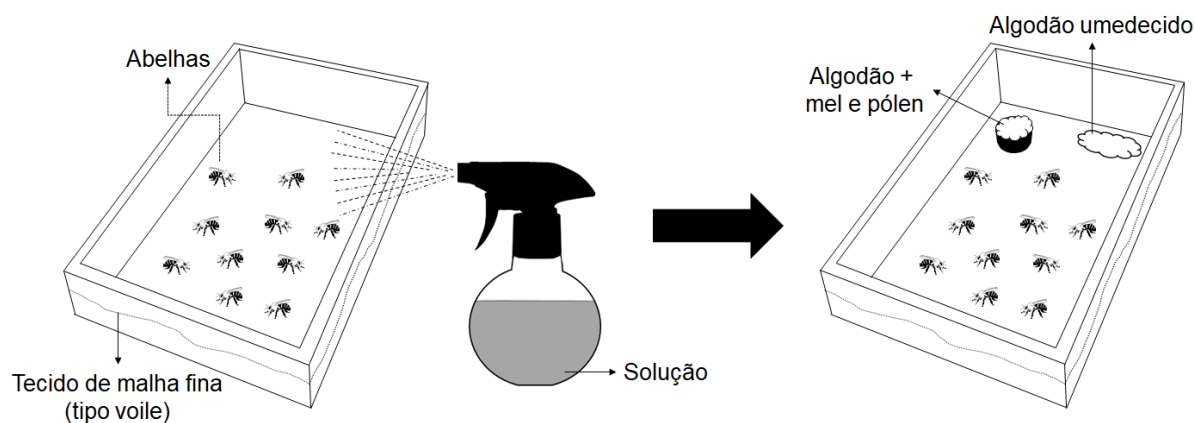


Figura 1. Esquema do ensaio realizado para investigar a ação de produtos por contato em *Apis mellifera*.

2.3. Ação por ingestão em *A. mellifera*

As soluções dos inseticidas diluídos em mel foram embebidas em pedaços de algodão acondicionados no interior de uma tampa plástica (2,0 cm diâmetro × 1,0 cm altura), contendo pólen, e dispostos dentro do recipiente plástico para alimentação das abelhas. No tratamento controle, foi utilizado mel puro e pólen. Um pedaço de algodão umedecido com água também foi colocado internamente ao recipiente, servindo como fonte de umidade (Figura 2). A avaliação de mortalidade foi realizada nos intervalos de 1, 2, 3, 4, 7 e 12 horas sendo, em seguida, determinada a cada 24 horas após o fornecimento do alimento, até que a mortalidade na testemunha atingisse 20%, conforme metodologia de Oruc et al. (2012). Durante as primeiras 4

horas foi avaliado o número de vezes que os insetos visitaram ou ingeriram o alimento, além de alterações comportamentais, como movimentos desordenados e hiperexcitação. Foram observadas 4 repetições por tratamento, sendo que cada recipiente plástico contendo 10 insetos foi considerado uma repetição.

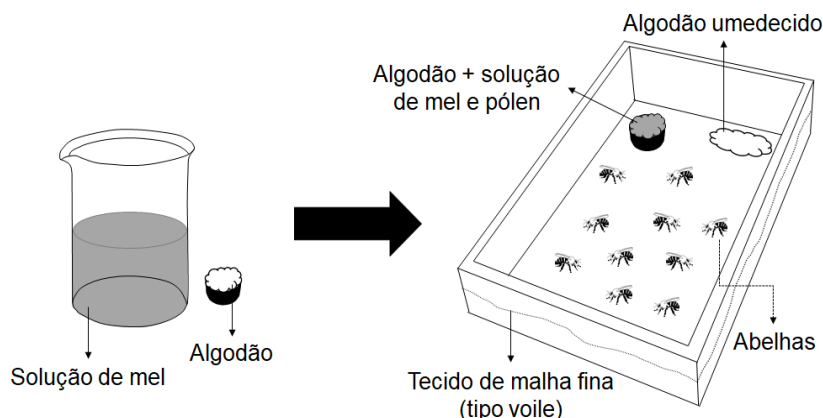


Figura 2. Esquema do ensaio realizado para investigar a ação de produtos por ingestão em *Apis mellifera*.

2.4. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade, alteração comportamental e o número de visitas e de ingestão de alimento por *A. mellifera* nos testes por contato e ingestão de produtos não atenderam aos requisitos da análise de variância (ANOVA), sendo, então, as médias comparadas pelo teste de Student Newman Keuls ($P < 0,05$). As análises foram realizadas com o software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

3.1. Ação por contato em *A. mellifera*

O inseticida químico, os biológicos e o extrato vegetal não causaram mortalidade significativa em *A. mellifera* em todos os intervalos de tempo avaliados (Tabela 2). Isso também foi observado para o percentual total de mortalidade de

abelhas após 48 horas da aplicação dos produtos, variando de 7,5 a 29,3% (Figura 3).

Tabela 2. Mortalidade (%) de abelhas *Apis mellifera* por contato dos produtos em cada período após aplicação (PAA).

PAA	Flubendiamida	VPN-SfMNPV	VPN-HzSNPV	<i>Bt aizawai</i>	<i>Piper cubeba</i>	Testemunha
1 h	0,0 ± 0,00 ¹	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	3,1 ± 3,12	0,0 ± 0,00
2 h	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	2,5 ± 2,50	0,0 ± 0,00
3 h	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
4 h	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
7 h	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	7,5 ± 7,50
12 h	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	2,5 ± 2,50
24 h	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	5,0 ± 2,89	0,0 ± 0,00	5,0 ± 2,89	2,5 ± 2,50
48 h	10,6 ± 4,55	12,5 ± 6,29	24,3 ± 2,55	7,5 ± 4,79	7,5 ± 7,50	8,3 ± 5,47

¹Nenhuma diferença significativa observada entre os tratamentos pelo teste de Student Newman Keuls ($P > 0,05$).

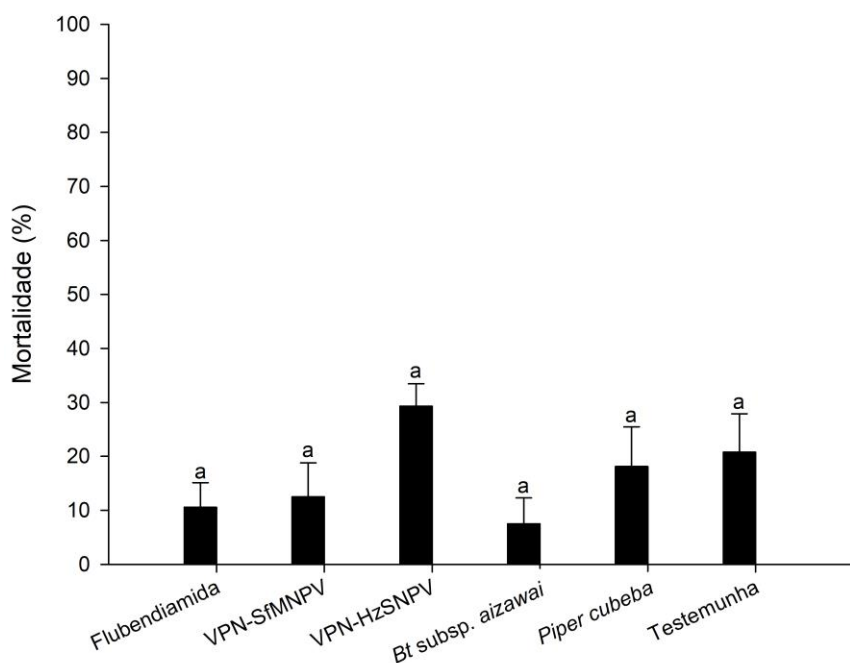


Figura 3. Porcentagem total de mortalidade de *Apis mellifera*, por contato, após 48 horas da exposição aos produtos. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa pelo teste de Student Newman Keuls ($P > 0,05$).

Também não foram observadas alterações comportamentais significativas em função da ação dos produtos por contato, ocorrendo apenas movimentos desordenados em 2,5% das abelhas devido ao extrato de *P. cubeba* após 1 hora (dados não apresentados).

3.2. Ação por ingestão em *A. mellifera*

Durante o primeiro dia de avaliação (1 a 24 horas), não houve diferenças significativas entre os produtos testados, com mortalidade máxima de 12,5%. Após 48 horas verificou-se maior mortalidade em *A. mellifera* com a ingestão do produto biológico à base de *Bt* subsp. *aizawai* (55,0%) (Tabela 3). Os menores percentuais de mortalidade total foram evidenciados para o produto químico, flubendiamida (10,0%), e para o baculovírus, VPN-SfMNPV (12,5%) (Figura 4).

Tabela 3. Mortalidade (%) de abelhas *Apis mellifera* por ingestão dos produtos em cada período após aplicação (PAA).

PAA	Flubendiamida	VPN-SfMNPV	VPN-HzSNPV	<i>Bt aizawai</i>	<i>Piper cubeba</i>	Testemunha
1 h	0,0 ± 0,00 a ¹	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	2,5 ± 2,50 a	2,5 ± 2,50 a	2,5 ± 2,50 a
2 h	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	2,5 ± 2,50 a
3 h	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a
4 h	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	10,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a
7 h	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a
12 h	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	12,5 ± 12,50 a	0,0 ± 0,00 a
24 h	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a
48 h	10,0 ± 7,07 b	12,5 ± 6,29 b	30,6 ± 3,64 b	55,0 ± 10,41 a	16,8 ± 5,86 b	17,5 ± 4,79 b

¹Média ± erro padrão seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

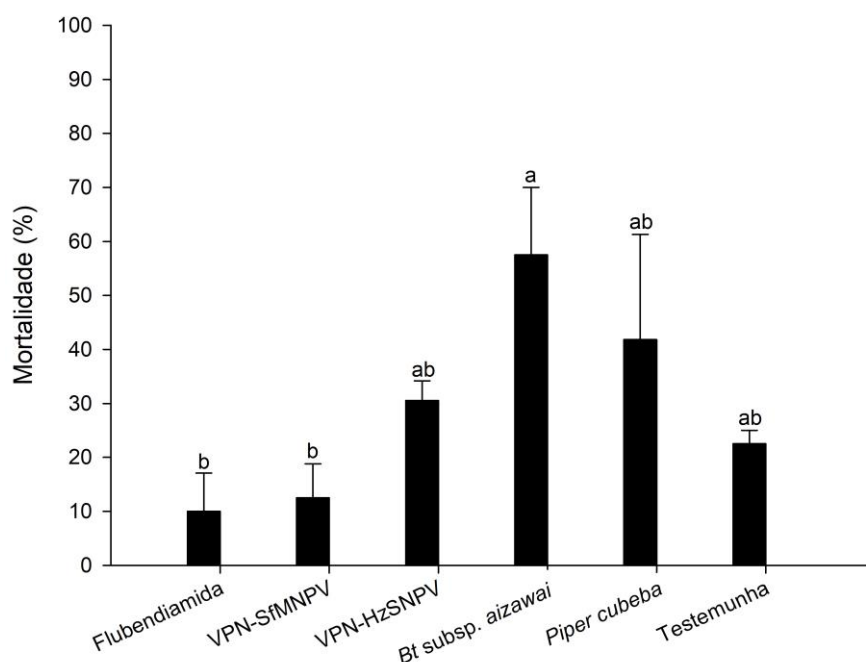


Figura 4. Porcentagem total de mortalidade de *Apis mellifera*, por ingestão, após 48 horas da exposição aos produtos. Letras diferentes nas barras indicam diferença significativa pelo teste de Student Newman Keuls ($P > 0,05$).

Nas três primeiras horas foi verificado maior número de visitas de adultos de *A. mellifera* no alimento com VPN-SfMNPV (91,5, 58,5 e 52,5 visitas, respectivamente), sendo que o mesmo também apresentou o maior número total de visitas com, no mínimo, 74,2 visitas a mais. No geral, o maior número de abelhas ingerindo o alimento foi verificado nos produtos biológicos à base de baculovírus (92,3 e 75,0 para VPN-SfMNPV e VPN-HzSNPV, respectivamente), enquanto o menor valor foi observado no alimento contendo extrato hexânico de *P. cubeba* (17,8) (Tabela 4).

Tabela 4. Média do número de visitas e ingestão de alimento com os diferentes produtos por *Apis mellifera*, nos períodos após aplicação (PAA).

Produtos	Visitas				Total
	1 h	2 h	3 h	4 h	
Flubendiamida	49,5 ± 1,44 b ¹	33,5 ± 0,87 b	23,0 ± 1,22 b	10,5 ± 1,85 a	116,5 ± 2,18 b
VPN-SfMNPV	91,5 ± 4,50 a	58,5 ± 4,11 a	52,5 ± 5,76 a	31,5 ± 2,72 a	234,0 ± 16,15 a
VPN-HzSNPV	57,5 ± 0,96 b	37,5 ± 1,19 b	34,3 ± 3,79 ab	30,5 ± 2,72 a	159,8 ± 5,86 b
<i>Bt aizawai</i>	46,3 ± 5,95 b	29,3 ± 5,04 b	33,3 ± 2,32 ab	25,3 ± 4,11 a	134,0 ± 14,10 b
<i>Piper cubeba</i>	42,0 ± 17,09 b	22,3 ± 4,59 b	25,8 ± 9,19 b	17,0 ± 7,56 a	107,0 ± 16,72 b
Testemunha	2,5 ± 2,50 b	25,8 ± 8,64 b	30,8 ± 8,63 ab	17,5 ± 7,35 a	114,8 ± 26,76 b
Produtos	Ingestão				Total
	1 h	2 h	3 h	4 h	
Flubendiamida	24,0 ± 0,41 b	11,3 ± 0,63 a	5,3 ± 1,44 c	2,5 ± 0,29 bc	43,0 ± 0,91 b
VPN-SfMNPV	42,3 ± 1,55 a	11,5 ± 2,50 a	31,0 ± 0,71 a	7,5 ± 1,44 ab	92,3 ± 2,49 a
VPN-HzSNPV	41,0 ± 0,41 a	9,5 ± 2,25 a	15,0 ± 1,22 b	9,5 ± 2,25 a	75,0 ± 5,73 a
<i>Bt aizawai</i>	24,0 ± 1,78 b	7,8 ± 1,44 a	8,0 ± 2,04 bc	5,5 ± 0,29 abc	45,3 ± 2,25 b
<i>Piper cubeba</i>	12,5 ± 6,06 b	2,5 ± 1,55 a	2,3 ± 1,03 c	0,5 ± 0,29 c	17,8 ± 7,04 c
Testemunha	22,3 ± 7,52 b	5,0 ± 3,14 a	9,5 ± 3,93 bc	3,3 ± 1,79 bc	40,0 ± 12,99 b

¹Média ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

Foram observados movimentos desordenados em 10,0% das abelhas em função da ação por ingestão do extrato de *P. cubeba* após 4 horas. Hiperexcitação foi observada em 2,5% das abelhas após 1 hora no tratamento com *Bt* subsp. *aizawai* (2,5%) e, após 3 horas, no VPN-HzSNPV (2,5%) e no *Bt* (2,5%). No entanto, esses resultados não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (dados não apresentados).

4. Discussão

Existem variações no efeito dos inseticidas em abelhas nutrízes, sendo os mais importantes observados nos testes por contato com os inseticidas biológicos (*Bt* e baculovírus) e o extrato de *P. cubeba*, existindo poucos relatos sobre os efeitos de vírus e de extratos de plantas em *A. mellifera*.

Os produtos comerciais utilizados neste trabalho foram escolhidos devido às suas recomendações para controle de *S. frugiperda* e *H. armigera* em culturas de grande importância econômica, como milho e soja, que são cultivadas, respectivamente, em mais de 192 e 122 milhões de hectares em todo o mundo

(Agrofit, 2020; USDA, 2020). Apesar de serem plantas autógamas, ou seja, se autopolinizam, os polinizadores estão presentes nessas culturas, sendo que *A. mellifera* coleta pólen nas flores do milho para alimentação, enquanto na soja os benefícios pela presença de *A. mellifera* são ainda maiores, pois os insetos auxiliam na polinização, podendo aumentar a produtividade em mais de 30% (Malerbo-Souza, 2011; Danner et al., 2014; Gazzoni, 2017).

Dentro da colônia, o pólen e o néctar são fundamentais para a síntese de alimentos, incluindo a produção de geleia real, sintetizada pelas abelhas nutrizas, e que é utilizada para alimentação das larvas e da rainha (Michener, 1974; Crailsheim, 1992; Peters et al., 2010). Devido a este comportamento torna-se interessante a utilização de abelhas nutrizas para estudos de toxicidade de inseticidas, pois elas podem ingerir pólen e néctar contaminado com inseticidas e, com isso, passar até os demais indivíduos da colônia (Rortais et al., 2005; Halm et al., 2006).

O inseticida químico flubendiamida é, segundo Jefferies et al. (1997), Brugger et al. (2010) e Nadaf et al. (2013), seguro para inimigos naturais e abelhas, tendo este trabalho confirmado essa característica, mostrando resultados interessantes quando comparados aos outros produtos, pois não causou mortalidade de *A. mellifera*, assim como não alterou seu comportamento. Stanley et al. (2015) classificaram esse ingrediente ativo de levemente a moderadamente tóxico para *A. mellifera* e *Apis cerana* (Fabricius, 1798) (Hymenoptera: Apidae) quando comparado a outros inseticidas como clorpirifós, malation, deltametrina, espinosade e tiametoxan.

A maior mortalidade de abelhas observada neste estudo ocorreu quando os insetos ingeriram alimento contaminado com *Bt* subsp. *aizawai* (XenTari®). Alguns trabalhos apontam efeitos de *Bt* em abelhas, seja no comportamento alimentar ou na sobrevivência (Hendriksma et al., 2013; D'Urso et al., 2017; Libardoni et al., 2018). D'Urso et al. (2017) observaram que certas concentrações de bioinseticida à base de *Bt* comumente utilizado na Itália, principalmente aquelas recomendadas para espécies-praga, podem afetar o comportamento de abelhas, assim como provocarem alterações morfoestruturais no intestino médio. Libardoni et al. (2018) também observaram que, após a ingestão de *Bt*, ocorreu um desarranjo leve a

moderado das células epiteliais do intestino médio, o que resultou em menor longevidade dos adultos de *A. mellifera*.

Além disso, os bioinseticidas formulados à base de *Bt* apresentam outros componentes, como dispersantes, umectantes ou estimulantes alimentares, que também podem ser prejudiciais às abelhas, visto que diferentes formulações afetam inclusive a praga-alvo (Gonçalves et al., 2018). Portanto, apesar da especificidade desta bactéria para determinados grupos de insetos, ela pode causar alguns efeitos nas abelhas que irão prejudicar sua sobrevivência (van Rie et al. 1990; Koch et al., 2015). Em contrapartida, esses bioinseticidas apresentam baixa persistência em campo, devido a exposição à radiação ultravioleta, altas temperaturas e baixa umidade relativa, por exemplo (Leong et al., 1980; Sanahuja et al., 2011; Glare et al., 2012). Essas informações são importantes para apontar potenciais riscos de formulações de *Bt* em abelhas, que podem ser minimizados devido à baixa persistência no ambiente.

A patogenicidade de baculovírus e de seus produtos formulados é específica a insetos (Hu et al., 1999; Harrison e Hoover, 2012). Efeitos não deletérios à sobrevivência de *A. mellifera* já eram esperados; entretanto, o maior número de abelhas visitando e ingerindo alimento contaminado com os bioinseticidas à base de baculovírus foi um resultado não esperado e interessante. Este fato, possivelmente, pode ter ocorrido devido à composição dos produtos formulados que deve ter algum importante fator de atração para as abelhas. Um exemplo de alteração comportamental ocorre com os adjuvantes de *Baculovirus heliothis*, que estimulam a alimentação de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) (Ignoffo et al., 1976), o que também pode ter afetado de maneira positiva as abelhas que passaram a ingerir mais alimento, sem causar algum efeito tóxico.

A atividade inseticida de plantas do gênero *Piper* é relatada para o controle de pragas, sendo que a espécie *P. cubeba* pode ser utilizada na forma de extrato hexânico ou óleo essencial para pragas de produtos armazenados, além de outros lepidópteros (Su, 1990; Risco et al., 2012; Chaubey, 2013; Truzzi et al., 2019). Alguns riscos do uso de inseticidas botânicos em abelhas já foram reportados, como redução na sobrevivência e no peso dos insetos, repelência e alterações morfológicas no intestino médio (Xavier et al., 2015; Potrich et al., 2020). Os efeitos

do extrato hexânico de *P. cubeba* observados neste estudo podem estar relacionados à deterrência, pois afetou, principalmente, a ingestão de alimento pelas abelhas. Vale ressaltar que inseticidas botânicos, como os obtidos de plantas do gênero *Piper*, apresentam atividade acaricida e podem ser utilizados para controle de *Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000) (Mesostigmata: Varroidae), um ácaro parasita em colmeias (Araújo et al., 2012; Ribeiro et al., 2016).

Os resultados dessa pesquisa apontam para riscos da aplicação desses produtos, visto que eles podem causar efeitos tóxicos, principalmente no caso de *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* (XenTari®), ou efeitos indiretos no comportamento alimentar das abelhas, com atração para baculovírus e menor ingestão para *P. cubeba*. Em um contexto aplicado, a aplicação de baculovírus em épocas de floração das culturas pode favorecer a atração das abelhas e a polinização, assim como seria mais interessante a utilização de outro inseticida, como o químico flubendiamida, ao invés do bioinseticida à base de *Bt* em épocas de visitação de abelhas. Portanto, a bactéria *Bt* deveria ser aplicada no final da tarde, período este que a presença de abelhas no campo   menor (Xavier et al., 2010).

Futuros estudos podem complementar os resultados encontrados neste trabalho como, por exemplo, a verifica o de altera es morfológicas de abelhas, através de análises histológicas de glândulas e do intestino. A avalia o de possíveis efeitos dos inseticidas nos diferentes estágios de vida das abelhas também seria importante, assim como a realiza o de testes com condi es de escolha, tentando ajudar a explicar o motivo do maior número de visitas no alimento contaminado com baculovírus e menor ingestão do substrato alimentar contendo o extrato de *P. cubeba*.

5. Conclusão

O bioinseticida   base de *Bt* causa efeito na mortalidade, sendo que os   base de baculovírus favorecem a atra o e a ingestão de alimento, enquanto o extrato hexânico de *P. cubeba* afeta negativamente a ingestão de alimento por *A. mellifera*. Os produtos aqui avaliados não causam hiperexcita o ou movimentos desordenados nas abelhas.

6. Referências

Agrofit (2020) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 04 fev. 2020.

Araújo MJ, Câmara CA, Born FS, Moraes MM, Badji CA (2012). Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology** 57:139-155. DOI: 10.1007/s10493-012-9545-x

Brugger KE, Cole PG, Newman IC, Parker N, Scholz B, Suvagia P, Walkerf G, Hammond TG (2010) Selectivity of chlorantraniliprole to parasitoid wasps. **Pest Management Science** 66:1075-1081. DOI: 10.1002/ps.1977

Chaubey MK (2013) Biological activities of *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) and *Piper cubeba* (Piperaceae) essential oils against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences** 16: 517-523. DOI: 10.3923/pjbs.2013.517.523

Copping LG, Menn JJ (2000) Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science** 56:651-676. DOI: 10.1002/1526-4998(200008)56:8<651::AID-PS201>3.0.CO;2-U

Cory JS, Bishop DHL (1997) Use of baculoviruses as biological insecticides. **Molecular Biotechnology** 7:303-313. DOI: 10.1007/BF02740821

Costa EM, Araujo EL, Maia AVP, Silva FEL, Bezerra CES, Silva JG (2014) Toxicity of insecticides used in the Brazilian melon crop to the honey bee *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Apidologie** 45:34-44. DOI: 10.1007/s13592-013-0226-5

Crailsheim K (1992) The flow of jelly within a honeybee colony. **Journal of Comparative Physiology B** 162:681-689. DOI: 10.1007/BF00301617

D'Urso V, Mazzeo G, Vaccalluzzo V, Sabella G, Bucchieri F, Viscuso R, Vitale DGM (2017) Observations on midgut of *Apis mellifera* workers (Hymenoptera: Apoidea) under controlled acute exposures to a *Bacillus thuringiensis*-based biopesticide. **Apidologie** 48:51-62. DOI: 10.1007/s13592-016-0448-4

Danner N, Härtel S, Steffan-Dewenter I (2014) Maize pollen foraging by honey bees in relation to crop area and landscape context. **Basic and Applied Ecology** 15:677-684. DOI: 10.1016/j.baae.2014.08.010

Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, Charreton M, Pham-Delègue MH (2004) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 57:410-419. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.001

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106. DOI: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091440

Duke SO, Dayan FE, Rimando AM (2000) Natural products and herbicide discovery. In.: Cobb AH, Kirkwood RC (Eds.) **Herbicides and their mechanisms of action**. Sheffield: Sheffield Academic Press, p. 105-133.

EPA – Environmental Protection Agency (Eds.) (2012) **Ecological effects test guidelines OCSPP 850.3020**: Honey bee acute contact toxicity test. Washington: OCSPP, 12p.

Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I et al. (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of Honey bee abundance. **Science** 339:1608-1611. DOI: 10.1126/science.1230200

Gazzoni DL (Eds.) (2017) **Soja e abelhas**. Brasília: Embrapa, 151p.

Gonçalves KC, Boiça Júnior AL, Duarte RT, Moreira LF, Nascimento J, Polanczyk RA (2018) *Spodoptera albula* susceptibility to *Bacillus thuringiensis*-based biopesticides. **Journal of Invertebrate Pathology** 157:147-149. DOI: 10.1016/j.jip.2018.05.008

Glare T, Caradus J, Gelernter W, Jackson T, Keyhani N, Köhl J, Marrone P, Morin L, Stewart A (2012) Have biopesticides come of age?. **Trends in Biotechnology** 30:250-258. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.01.003

Halm MP, Rortais A, Arnold G, Taséi JN, Rault S (2006) New risk assessment approach for systemic insecticides: the case of honey bees and imidacloprid (Gaucho). **Environmental Science & Technology** 40:2448-2454. DOI: 10.1021/es051392i

Harrison RL, Hoover K (2012) Baculoviruses and other occluded insect viruses. In: Veja FE, Kaya HK (Eds.) **Insect Pathology**. London: Academic Press, p. 73-131.

Hendriksma HP, Küting M, Härtel S, Näther A, Dohrmann AB, Steffan-Dewenter I, Tebbe CC (2013) Effect of stacked insecticidal Cry proteins from maize pollen on nurse bees (*Apis mellifera carnica*) and their gut bacteria. **PLoS ONE** 8:e59589. DOI: 10.1371/journal.pone.0059589

Hu Z, Luijckx T, van Dinten LC, van Oers MM, Hajós JP, Bianchi FJJA, van Jen JWM, Zuidema D, Vlak JM (1999) Specificity of polyhedrin in the generation of baculovirus occlusion bodies. **Journal of General Virology** 80:1045-1053. DOI: 10.1099/0022-1317-80-4-1045

Ignoffo CM, Hostetter DL, Smith DB (1976) Gustatory stimulant, sunlight protectant, evaporation retardant: Three characteristics of a microbial insecticidal adjuvante. **Journal of Economic Entomology** 69:207–210. DOI: 10.1093/jee/69.2.207

Jefferies PR, Yu P, Casida JE (1997) Structural modifications increase the insecticidal activity of ryanodine. **Pest Management Science** 51:33-38. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9063(199709)51:1<33::AID-PS605>3.0.CO;2-Z

Jurat-Fuentes JL, Jackson TA (2012) Bacterial entomopathogens. In: Kaya H, Vera FE, Kaya HK (Eds.) **Insect Pathology**. London: Academic Press, p. 268-349.

Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham AS, Kremen C, Tscharntke T (2007) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B** 274:303-313. DOI: 10.1098/rspb.2006.3721

Koch MS, Ward JM, Levine SL, Baum JA, Vicini JL, Hammon BG (2015) The food and environmental safety of Bt crops. **Frontiers in Plant Science** 6:283. DOI: 10.3389/fpls.2015.00283

Lebuhn G, Droege S et al. (2013) Detecting insect pollinator declines on regional and global scales. **Conservation Biology** 27:113-120. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2012.01962.x

Leong KLH, Cano RJ, Kubinski AM (1980) Factors affecting *Bacillus thuringiensis* total field persistence. **Environmental Entomology** 9:593-599. DOI: 10.1093/ee/9.5.593

Leonhardt SD, Gallai N, Garibaldi LA, Kuhlmann M, Klein AM (2013) Economic gain, stability of pollination and bee diversity decrease from southern to northern Europe. **Basic and Applied Ecology** 14:461-471. DOI: 10.1016/j.baae.2013.06.003

Libardoni G, Gouvea A, Costa-Maia FM, Lozano ER, Freitas PF, Colombo FC, Raulino F, Maciel RMA, Potrich M (2018) Effect of different *Bacillus thuringiensis* strains on the longevity of Africanized honey bee. **Semina** 39:329-338. DOI: 10.5433/1679-0359.2018v39n1p329

Malerbo-Souza DT (2011) The corn pollen as a food source for honeybees. **Acta Scientiarum Agronomy** 33:701-704. DOI: 10.4025/actasciagron.v33i4.10533

Michener CD (Eds.) (1974) **The social behavior of the bees**. Cambridge: Harvard University Press, 404p.

Nadaf HA, Yadav GS, Kaushik HD, Sharma SK (2013) Toxicity of new molecules of insecticides against honeybee, *Apis mellifera* L. **Trends in Biosciences** 6:445-447.

Oruc HH, Hranitz JM, Sorucu A, Duell M, Cakmak I, Aydin L, Orman A (2012) Determination of acute oral toxicity of flumethrin in honey bees. **Journal of Economic Entomology** 105:1890-1894. DOI: 10.1603/EC12055

Peters L, Zhu-Salzman K, Pankiw T (2010) Effect of primer pheromones and pollen diet on the food producing glands of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). **Journal of Insect Physiology** 56:132-137. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2009.09.014

Potrich M, Silva RTL, Maciel RMA, Costa-Maia FM, Lozano ER, Rossi RM, Martins JR, Dallacort S (2020) Are plant extracts safe for honey bees (*Apis mellifera*)?. **Journal of Apicultural Research** 1-8. DOI: 10.1080/00218839.2020.17357331

Potts SG, Imperatriz-Fonseca V et al. (2016) Safeguarding pollinators and their values to human well-being. **Nature** 540:220-229. DOI: 10.1038/nature20588

Ribeiro N, Camara C, Ramos C (2016) Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). **Chilean Journal of Agricultural Research** 76:71-76. DOI: 10.4067/S0718-58392016000100010

Risco GVS, Idrogo CR, Kato MJ, Díaz JS, Armando-Jr J, Paredes GED (2012) Larvicidal activity of *Piper tuberculatum* on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Revista Colombiana de Entomología** 38:35-41.

Rortais A, Arnold G, Halm MP, Touffet-Briens F (2005) Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. **Apidologie** 36:71-83. DOI: 10.1051/apido:2004071

Sanahuja G, Banakar R, Twyman RM, Capell T, Christou P (2011) *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant Biotechnology Journal** 9:283-300. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2011.00595.x

SAS Institute (2015) SAS/IML® 14.1 User`s guide. Cary: SAS Institute Inc.

Stanley J, Sah K, Jain SK, Bhatt JC, Sushil SN (2015) Evaluation of pesticide toxicity at their field recommended doses to honeybees, *Apis cerana* and *A. mellifera* through laboratory, semi-field and field studies. **Chemosphere** 119:668-674. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.07.039

Su HCF (1990) Biological activities of hexane extract of *Piper cubeba* against rice weevils and cowpea weevils (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomological Science** 25:16-20.

Truzzi CC, Vieira NF, Ferracini B, Souza JM, De Bortoli SA (2019) Extrato hexânico de *Piper cubeba* apresenta atividade inseticida sobre *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera*?. In: 16° SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, **Anais...** Londrina, p. 473.

USDA – United States Department of Agriculture (2020) **World Agricultural Production**. Washington: USDA, 34 p. (Circular Series, 1).

van der Sluijs JP, Simon-Delso N, Goulson D, Maxim L, Bonmatin JM, Belzunces LP (2013) Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability** 5:293-305. DOI: 10.1016/j.cosust.2013.05.007

van Rie J, Jansens S, Höfte H, Degheele D, van Mellaert H (1990) Receptors on the brush border membrane of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. **Applied Environmental Microbiology** 56:1378-1385. DOI: 10.1128/AEM.56.5.1378-1385.1990

Xavier VM, Message D, Picanço MC, Bacci L, Silva GA, Benevenuto J da S (2010) Impact of botanical insecticides on indigenous stingless bees (Hymenoptera: Apidae). **Sociobiology** 56:713-726.

Xavier VM, Message D, Picanço MC, Chediak M, Santana Júnior PA, Ramos RS, Martins JC (2015) Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. **Journal of Insect Science** 15:137. DOI: 10.1093/jisesa/iev110

CAPÍTULO 7 – Considerações finais

Pesquisas visando ao desenvolvimento e aprimoramento de programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) necessitam de um grande número de insetos a serem utilizados nas avaliações, o que torna essencial uma metodologia de criação adequada para a produção de insetos de qualidade, sendo que dietas artificiais podem facilitar a obtenção desses indivíduos em grande escala (Parra, 2009; De Bortoli et al., 2018). Diante disso, os resultados deste trabalho demonstram que teores de proteína nas dietas podem influenciar o desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), sendo que a dieta já recomendada para *H. armigera* apresenta os melhores resultados, porém a redução na quantidade da fonte de proteínas não afeta *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e pode reduzir o custo de produção desse inseto, o que se torna uma grande vantagem para a criação massal visando o desenvolvimento de pesquisas e, ainda, para produção de agentes de controle que utilizem *S. frugiperda* como hospedeiro, como o parasitoide *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Platygasteridae) e o baculovírus.

A lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*, vem ampliando sua ocorrência em diferentes regiões do mundo (Liu et al., 2020), o que também ocorreu no Brasil, em 2013, com o primeiro registro oficial de *H. armigera* (Czepak et al., 2013). Com a chegada de novas pragas, os produtores sofrem diversas perdas em seus cultivos, sendo que uma das alternativas adotadas no Brasil para o combate a *H. armigera* foi liberar, em caráter emergencial, alguns inseticidas químicos sintéticos. Na sequência, foram liberados bioinseticidas para o controle dessa praga, sendo alguns à base de baculovírus e o restante com a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) (*Bt*). Com isso, ocorreu o aumento da adoção de bioinseticidas *Bt* em sistemas de MIP no Brasil (Polanczyk et al., 2017).

Essas espécies-praga possuem relatos de resistência a inseticidas, em diversos países, totalizando 48 ingredientes ativos para *H. armigera* e 41 para *S. frugiperda* (Mota-Sanchez e Wise, 2020). Esse é um dos motivos para uma efetiva implementação do MIP, um conceito que surgiu após o uso errôneo dos inseticidas que selecionou populações resistentes, causou a ressurgência de pragas, o surto de

pragas secundárias e o aumento de resíduos nos alimentos e no ambiente (Qaim et al., 2008).

Os resultados obtidos nesta tese podem auxiliar o manejo integrado de *H. armigera* e *S. frugiperda* em culturas hospedeiras de grande importância econômica, como soja e milho, onde podem causar elevados prejuízos. Os produtos foram selecionados para o trabalho devido ao seu uso frequente para o controle de insetos-praga, além de serem conhecidos como seguros a mamíferos e seletivos a inimigos naturais. Dentre esses produtos, o baculovírus VPN-SfMNPV (CartuchoVIT®), utilizado para *S. frugiperda*, foi lançado recentemente no mercado e esse estudo auxiliou na compreensão de seus efeitos. Já o extrato hexânico de *P. cubeba*, o único produto não disponível comercialmente, foi selecionado devido a relatos de ação inseticida de plantas desse gênero e da família Piperaceae para coleópteros, hemípteros e lepidópteros da Ordem Noctuidae, incluindo *H. armigera* e *S. frugiperda* (Lima et al., 2009; Dos Santos et al., 2017).

Os produtos utilizados apresentam seus modo de ação diferentes, portanto podem ser utilizados em rotação para o controle dessas pragas, o que contribui para a não seleção de populações resistentes dos insetos, com adição do extrato de *P. cubeba*, que se torna mais uma alternativa no MIP de *S. frugiperda* por apresentar mortalidade semelhante àquelas dos produtos disponíveis comercialmente. Além dessa toxicidade, o extrato apresenta ação de repelência, que pode ser um efeito investigado de maneira mais ampla para auxiliar no manejo das pragas, incluindo *H. armigera*, mesmo sem a atividade inseticida, podendo ser utilizado em conjunto com outros inseticidas, visando reduzir as injúrias causadas pela alimentação do inseto.

Outro importante aspecto avaliado nesse trabalho se trata da toxicidade dos produtos em abelha, *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Apidae). Frequentemente são feitos relatos da redução na população de abelhas, que apresentam grande importância na polinização de culturas e, conseqüentemente, na produção de alimentos. Esses insetos também podem estar presentes em grandes culturas, onde vão se alimentar ou contribuir com a polinização, podendo, assim, incrementar a produtividade das culturas, como a da soja.

Apesar da segurança a inimigos não alvo, o bioinseticida à base de *Bt* causa efeito na mortalidade de *A. mellifera*, enquanto os dois produtos à base de

baculovírus favorecem a atração e a ingestão de alimento e, em contrapartida, o extrato hexânico de *P. cubeba* afeta a ingestão. Esses resultados são importantes para indicar o momento adequado da aplicação de cada produto com atenção para as abelhas, sendo que o extrato botânico e, principalmente, o inseticida *Bt*, não devem ser utilizados em época de maior visitação desses polinizadores, enquanto o baculovírus poderia ser utilizado inclusive na atração desses insetos.

Assim, espera-se que os resultados obtidos nesta tese forneçam subsídios para auxiliar a obtenção de insetos de qualidade e de menor custo para pesquisas, além de melhores resultados no controle de *H. armigera* e *S. frugiperda* em culturas de grande importância econômica, sem prejudicar abelhas polinizadoras.

REFERÊNCIAS

Czepak C, Albernaz KC, Vivan LM, Guimarães HO, Carvalhais T (2013) Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical** 43:110-113. DOI: 10.1590/S1983-40632013000100015

De Bortoli SA, Truzzi CC, Nunes GS, Magalhães GO, Vieira NF, Santos NA, Cardoso CP (2018) Criação de insetos para pesquisa e alimentação. In.: Castilho RC, Truzzi CC, Pinto CPG (Eds.) **Tópicos em entomologia agrícola - XI**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., p. 13-40.

Dos Santos TLB, Turchen LM, Dall'Oglio EL, Butnariu AR, Pereira MJB (2017) Phytochemical of *Piper* essential oil and acute toxicity against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 12:484-489. DOI: 10.5039/agraria.v12i4a5482

Lima RK, Cardoso MG, Moraes JC, Melo BA, Rodrigues VG, Guimarães PL (2018) Atividade inseticida do óleo essencial de pimento longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica** 39:377-382. DOI: 10.1590/S0044-59672009000200016

Liu T, Wang J, Hu X, Feng J (2020) Land-use change drives present and future distributions of Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Science of The Total Environment** 706:135872. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135872

Mota-Sanchez D, Wise JC (2020) Arthropod Pesticide Resistance Database. Disponível em: <<https://www.pesticideresistance.org>>. Acesso em: 15 fev. 2020.

Parra JRP (2009) A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In.: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) **Bioecologia e nutrição de insetos**: base para o manejo integrado de pragas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 91-174.

Polanczyk RA, van Frankenhuyzen K, Pauli G (2017) The American *Bacillus thuringiensis* based biopesticides market. In.: Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N (Eds.) ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus***: Characterization and use in the field of control. Gewerbestrasse: Springer, p. 173-184.

Qaim M, Pray CE, Zilberman D (2008) Economic and social considerations in the adoption of Bt crops. In.: Romeis J, Shelton AM, Kennedy GG (Eds.) **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**. Dordrecht: Springer, p. 329-356.