

**METODOLOGIAS DE CRIAÇÃO E MANEJO DE COLÔNIAS
DE PERCEVEJOS DA SOJA (HEMÍPTERA -
PENTATOMIDAE) PARA ESTUDOS DE COMPORTAMENTO
E ECOLOGIA QUÍMICA**

DOCUMENTOS 182

METODOLOGIAS DE CRIAÇÃO E MANEJO DE COLÔNIAS DE PERCEVEJOS DA SOJA (HEMÍPTERA - PENTATOMIDAE) PARA ESTUDOS DE COMPORTAMENTO E ECOLOGIA QUÍMICA

Miguel Borges
Raul Alberto Laumann
Cleonor Cavalcante Alves da Silva
Maria Carolina Blassioli Moraes
Hélio Moreira dos Santos
Diva Tiburcio Ribeiro

**BRASÍLIA – DF
2006**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) –

Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4763 Fax: (61) 3340-3624 <http://www.cenargen.embrapa.br>

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Sergio Mauro Folle*

Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: *Arthur da Silva Mariante*

Maria de Fátima Batista

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*

Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*

Editoração eletrônica: *Maria da Graça S. P. Negrão*

CAPA

1ª edição

1ª impressão (2006):

M 593 Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemíptera – Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química. / Miguel Borges ... [et. al.]. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.
18 p. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 0102 – 0110; 182)

1. Percevejos – metodologia de criação. 2. Percevejos – manejo de colônias. 3. Hemíptera - Pentatomidae. 4. Soja. 5. Comportamento - estudo. 6. Ecologia química – estudo. I. Borges, M. II. Laumann, Raul Alberto. III. Silva, Cleonor Cavalcante Alves da. IV. Moraes, Maria Carolina Blassioli. V. Santos, Hélio Moreira dos. VI. Ribeiro, Diva Tiburcio. VII. Série.

632.96 – CDD 21.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	5
2. METODOLOGIA PARA CRIAÇÃO DE ADULTOS E OBTENÇÃO DE OVOS.	6
2.1.1 - Materiais Necessários para manutenção das colônias de <i>Euschistus heros</i> e <i>Nezara viridula</i>	7
2.1.2 - Materiais Necessários para manutenção das colônias de <i>Chinavia ubica</i> , <i>Chinavia impicticornis</i> , <i>Thyanta perditor</i> , <i>Edessa meditabunda</i> e <i>Piezodorus guildinii</i>	7
2.2 CRIAÇÃO DE FASES IMATURAS	8
2.3 PREPARO DOS INSETOS ADULTOS PARA COLETA DE SEMIOQUÍMICOS E ESTUDOS DE COMUNICAÇÃO VIBRACIONAL	9
2.3.1 Monitoramento das colônias e controle de qualidade dos insetos produzidos	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

INTRODUÇÃO

As pesquisas em entomologia, sejam básicas ou aplicadas, requerem em muitas situações insetos criados em condições controladas para padronização dos mesmos (PARRA, 1992). Desta maneira muitos dos progressos realizados em pesquisas entomológicas e o sucesso de programas de manejo de pragas estão diretamente correlacionados com o estabelecimento satisfatório de colônias de insetos (SINGH e MOORE, 1985).

A criação de insetos não é uma mera atividade de rotina, pelo contrário, o estabelecimento e manutenção de uma colônia de inseto com produção significativa de indivíduos requerem profundo conhecimento da sua biologia, ecologia nutricional e comportamento. Isto é, por trás de uma criação eficiente de insetos existe pesquisa científica e para realizar pesquisa científica com qualidade é necessário insetos padronizados e saudáveis,

Vários são os objetivos do estabelecimento de uma colônia de insetos, entre eles podem-se destacar: 1 - estudo de ecologia nutricional, 2 - desenvolvimento de bioensaios (bioquímica, fisiologia, patologia, biologia, toxicologia, ecologia, etc.), 3 - produção massal (para programas de controle biológico, liberação de machos estéreis, produção de inimigos naturais, etc.) e 4 - estudos de ecologia química (feromônios e semioquímicos) (PARRA, 1992).

No nosso laboratório, a criação dos insetos é necessária para o conhecimento de sua biologia e para estudos de ecologia química e comportamento. A criação visa obter um grande número de insetos fisiologicamente homogêneos (padronizados) para a realização de diversos experimentos como dissecação, aeração para captura de voláteis, identificação da mistura feromonal, comunicação vibracional e bioensaios.

A fim de reduzir o número de variáveis que possam afetar o comportamento do inseto é de grande importância que a influência de fatores externos (condições climáticas, iluminação, etc) e internos (condição fisiológica geral dos insetos, grau de stress, etc) seja diminuída ao máximo. Da mesma maneira é importante conhecer o estado reprodutivo seja de insetos imaturos ou maturos sexualmente e/ou virgens ou acasalados para obtenção de resultados repetitivos ou consistentes.

2. METODOLOGIA PARA CRIAÇÃO DE ADULTOS E OBTENÇÃO DE OVOS.

Os percevejos são criados em gaiolas, formadas com potes de plástico (8 l) com tampa de fechamento hermético. A superfície inferior das gaiolas são forradas, com papel, filtro ou reciclável, de diâmetro igual ao do fundo da gaiola. Para permitir a ventilação, as tampas das gaiolas são recortadas no centro e a abertura é coberta com tecido tipo organza.

Ao longo da margem interna superior da gaiola é feita uma borda de vaselina de 2 cm de largura, com um pincel de “artista” número 18. Essa borda de vaselina é utilizada para dificultar a saída dos insetos durante a manutenção da colônia bem como evitar a movimentação dos insetos na tampa da gaiola. No interior da gaiola são colocadas duas telas plásticas brancas de 15-cm² (~ 40 mesh), que servem como abrigo para os percevejos e local de oviposição.

As gaiolas ficam alojadas em uma sala climatizada, a uma temperatura de 26 ± 2° C, 60 ± 10% de UR e 14h de fotofase (de 06h00min as 20h00min).

Os insetos são mantidos em dieta natural consistindo de sementes de amendoim cru (*Arachis hypogaea*), grãos seco de soja [*Glycine max* (L.) Merrill.], sementes de girassol [*Helianthus annuus* (L.)] e vagem de feijão [*Phaseolus vulgaris* (L.)]. Os grãos são colados em cartelas de papel (10,0 X 8,0 cm), com cola branca, não tóxica (Figura 1). Para uma gaiola com 100 casais duas cartelas de papel com os grãos são fixadas ao longo da borda superior através de ganchos feitos com clips número 2 ou material similar, as cartelas são distribuídas de forma equidistante, intercaladas com dois ganchos com cinco vagens frescas cada. Água destilada é oferecida em potes plásticos descartáveis de 350 ml (6,0 cm altura x 10,0 cm diâmetro superior e 8,0 cm diâmetro inferior), com tampa, onde um furo de 1,0 cm de diâmetro é feito e um pavio de algodão hidrófilo, não estéril, é introduzido. Além de servir como fonte de água para os percevejos os potes contribuem para manter a umidade no interior das gaiolas.

Para duas espécies de percevejos, *Euschistus heros* e *Nezara viridula*, o sistema descrito acima é empregado com sucesso. No entanto para as demais espécies, *Chinavia ubica*, *Chinavia impicticornis*, *Thyanta perditor*, *Edessa mediatubunda* e *Piezodorus guildinii*, a dieta líquida é substituída por um buquê de plantas “invasoras”, consistindo de Picão (*Bidens pilosa*), falso Boldo (*Boldea*

fragans) e Soja perene (*Glycine wightii*). Esse buquê é mantido em copos descartáveis transparentes de 110 ml de capacidade, utilizando como substrato 14 g de vermiculita superfina seca, autoclavada. Um volume de 60 ml de água destilada é utilizado para umidificar as plantas e como fonte de umidade para os insetos no interior das gaiolas. Os detalhes da metodologia descrita acima podem ser vistos nas ilustrações ao longo do texto.

Com o sistema acima descrito 100 casais de cada espécie de percevejos são mantidos, em cada gaiola, em um sistema de criação continua sem necessidade de coletas periódicas de insetos no campo, como acontece com a metodologia de criação de percevejos em gaiolas de maiores dimensões e com plantas hospedeiras (CORRÊA-FERREIRA, 1993).

2.1.1 - Materiais Necessários para manutenção das colônias de *Euschistus heros* e *Nezara viridula*

- Potes de mantimento com tampa hermética de 8 l.
- Forro de papel para o fundo da gaiola.
- Tela de organza para as tampas.
- Vagem de feijão (2 ganchos com 5 vagens em cada um).
- Cartela confeccionada com grãos (2 cartelas com amendoim, soja e sementes de girassol).
- Vaselina (a vaselina é utilizada nas bordas internas da margem superior da gaiola para dificultar a saída dos insetos).
- Tela de plástico 15-cm² (~ 40 mesh).
- Potes plásticos de 350 ml.
- Algodão hidrófilo.
- Água destilada.

2.1.2 - Materiais Necessários para manutenção das colônias de *Chinavia ubica*, *Chinavia impicticornis*, *Thyanta perditor*, *Edessa meditabunda* e *Piezodorus guildinii*

- Potes de mantimento com tampa hermética de 8 l.

- Forro de papel para o fundo da gaiola.
- Tela de organza para as tampas.
- Vagem de feijão (2 ganchos com 5 vagens em cada um).
- Buquê (1 copo plástico descartável contendo vermiculita, para manter a umidade e sustentar as plantas, picão-preto, boldo e soja-perene).
- Cartela confeccionada com grãos (2 cartelas com amendoim, soja e sementes de girassol).
- Vaselina (a vaselina é utilizada nas bordas internas da superfície da gaiola para dificultar a saída dos insetos).

2.2 CRIAÇÃO DE FASES IMATURAS

Os ovos de *Euschistus heros* e *Nezara viridula* são retirados das gaiolas dos adultos e colocados em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro com metade de uma vagem. Parte dos ovos coletados na colônia de *E. heros* é destinada para manutenção de colônias de *Telenomus podisi* e *Trissolcus* spp (Hymenoptera: Scelionidae). As ninfas se desenvolvem nas placas de Petri e ao mudarem para o segundo instar, 3 (três) sementes de cada grão, soja, amendoim e girassol além da meia vagem é adicionada como dieta. Ao atingirem o 4º instar são colocados em gaiolas de criação preparadas como descrito acima (item 2.1).

As posturas de *Chinavia ubica*, *Chinavia impicticornis*, *Tyanta perditor*, *Edessa meditabunda* e *Piezodorus guildinii*, normalmente são depositadas nas plantas do buquê, as posturas encontradas fora destes são retiradas e coladas com goma arábica na parte superior das folhas de boldo. Esse buquê é então colocado no interior de uma gaiola e o desenvolvimento dos insetos acompanhado normalmente. Ao atingirem o 3º instar, as cartelas de grãos bem como os ganchos com as vagens são adicionadas em seu interior e a manutenção conduzida normalmente.

Durante seu período de desenvolvimento os percevejos passam por três estágios: ovo, ninfa (com cinco instares) e adulto. Nas condições do nosso laboratório o período de desenvolvimento de ovo até adulto varia entre 30 a 40 dias, dependendo da espécie considerada (Tabela 1).

Todas as atividades acima descritas são realizadas seguindo um cronograma preestabelecido (Figura 2)

2.3 PREPARO DOS INSETOS ADULTOS PARA COLETA DE SEMIOQUÍMICOS E ESTUDOS DE COMUNICAÇÃO VIBRACIONAL

Para a extração de semioquímicos e realização de bioensaios, deve se dispor de insetos com a mesma idade, no mesmo estado nutricional e separados por sexo.

Para evitar qualquer interferência, originada pela liberação de semioquímicos, machos e fêmeas dos insetos necessitam ser separados e mantidos em salas climatizadas diferentes. Esta separação deve acontecer após o endurecimento da cutícula que ocorre, no início da vida adulta, normalmente entre 24 a 48 h após a última muda. A separação dos sexos é realizada com base nas características dimórficas no último seguimento abdominal (vista abdominal ventral), Figuras 3, 4 e 5).

Desta maneira os insetos são mantidos até atingirem a maturidade sexual que ocorre, dependendo da espécie, entre 6 a 12 dias após o início da fase adulta.

2.3.1 Monitoramento das colônias e controle de qualidade dos insetos produzidos

Periodicamente (em prazos de aproximadamente seis meses) é aconselhado realizar um monitoramento da colônia. Para isto parâmetros biológicos, previamente estabelecidos em um experimento detalhado da biologia de cada espécie, devem ser monitorados.

Para estabelecer o período de desenvolvimento e sobrevivência de estágios imaturos as massas de ovos são recolhidas, individualizadas em placas de Petri e observadas diariamente para registro da data de emergência de cada indivíduo. A duração de cada estágio de desenvolvimento é registrada quando pelo menos 50% dos indivíduos mudam para o próximo estágio. Após a última muda os adultos devem ser sexados e seu peso registrado em uma balança de precisão.

Para estudos de características biológicas dos adultos (longevidade, maturidade sexual e capacidade reprodutiva) segue-se a metodologia modificada de Costa et al. (1998). Os insetos são mantidos em potes plásticos (transparentes) descartáveis de 600 ml utilizando as mesmas condições de fotofase, temperatura e umidade relativa citadas anteriormente, distribuídos nos seguintes tratamentos: T1 = 1 macho recém-emergido, em presença de 2 fêmeas virgens, sexualmente maduras (aproximadamente 6 a 13 dias após a emergência em adulto, dependendo da espécie); T2 = 1 fêmea recém-emergida, em presença de 2 machos virgens, sexualmente maduros (aproximadamente 6 a 13 dias após a emergência em adulto). Em todos os tratamentos são permitidos sucessivos acasalamentos durante o período de sobrevivência dos insetos. No entanto, o primeiro acasalamento de cada tratamento deve ser registrado para determinação da maturidade sexual, ou seja, o número de dias necessários para que o inseto se torne sexualmente maturo. Com a metodologia descrita determina-se a maturidade sexual para os machos e fêmeas das espécies. Para cada tratamento deve-se realizar pelo menos 10 repetições a fim de obter uma boa precisão na estimativa dos parâmetros.

Os grupos de insetos são mantidos individualizados em potes plásticos de 600 ml com tampa, onde um furo de 1,0 cm de diâmetro é feito e um pavio de algodão hidrófilo umedecido com água destilada é introduzido, os insetos são alimentados com a mesma dieta oferecida normalmente nas colônias.

Os potes plásticos devem ser observados diariamente a fim de registrar início da atividade sexual (primeiro acasalamento), período de pré-oviposição (período desde a emergência dos adultos até a realização da primeira postura), longevidade dos adultos e fecundidade das fêmeas (número de posturas, número de ovos por postura e número total de ovos).

O controle de qualidade pode incluir também observações periódicas de morfologia e comportamento dos insetos o que pode variar segundo cada uma das espécies criadas.

Tabela 1. Duração (média \pm DP), em dias, dos estádios imaturos de diferentes espécies de pentatomídeos pragas da soja. A duração de cada estágio de crescimento foi registrada quando pelo menos 50% dos indivíduos haviam mudado para o próximo estágio.

Espécie	Ovo	1º estádio	2º estádio	3º estádio	4º estádio	5º estádio
<i>Euschistus heros</i>	7,1 \pm 0,6	4,6 \pm 0,9	7,1 \pm 0,6	5,7 \pm 1,5	7,0 \pm 2,2	7,1 \pm 1,3
<i>Nezara viridula</i>	5,9 \pm 0,6	4,0 \pm 0,3	5,3 \pm 0,5	4,3 \pm 0,5	6,3 \pm 0,5	9,9 \pm 0,8
<i>Edessa meditabunda</i>	4,6 \pm 0,4	5,3 \pm 0,3	6,4 \pm 0,4	7,8 \pm 0,3	8,9 \pm 0,4	10,2 \pm 0,3
<i>Chinavia ubica</i>	5,6 \pm 1,2	4,6 \pm 1,4	4,6 \pm 1,5	4,5 \pm 1,0	4,6 \pm 1,4	7,5 \pm 1,74
<i>C. impicticornis</i>	5,3 \pm 1,6	3,9 \pm 1,2	4,9 \pm 2,0	5,0 \pm 2,6	4,9 \pm 2,0	7,5 \pm 2,0

3. Ilustrações:



Falso Boldo, *Boldea fragans*.



Detalhe da Soja Perene, *Glycine wightii*, com postura do percevejo *Piezodorus guildinii*.



Detalhe percevejo, *Thyanta perditor*, alimentando-se do Picão, *Bidens pilosa*.



Detalhe do Buquê de plantas invasoras utilizado na criação das espécies *Chinavia ubica*, *C. impicticornis*, *Thyanta perditor*, *Edessa meditabunda* e *Piezodorus guildinii*.



Gaiola de criação de adultos, vista de cima.



Placa de Petri utilizada para criação dos estágios imaturos dos percevejos.

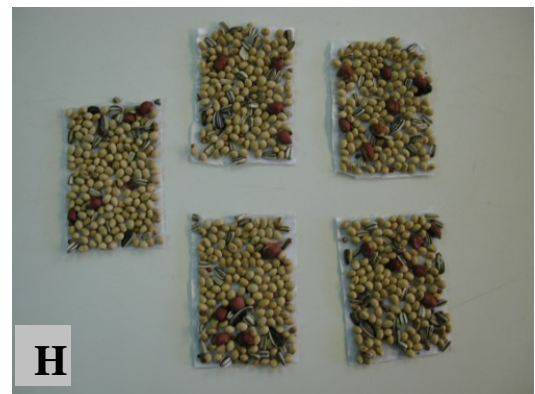
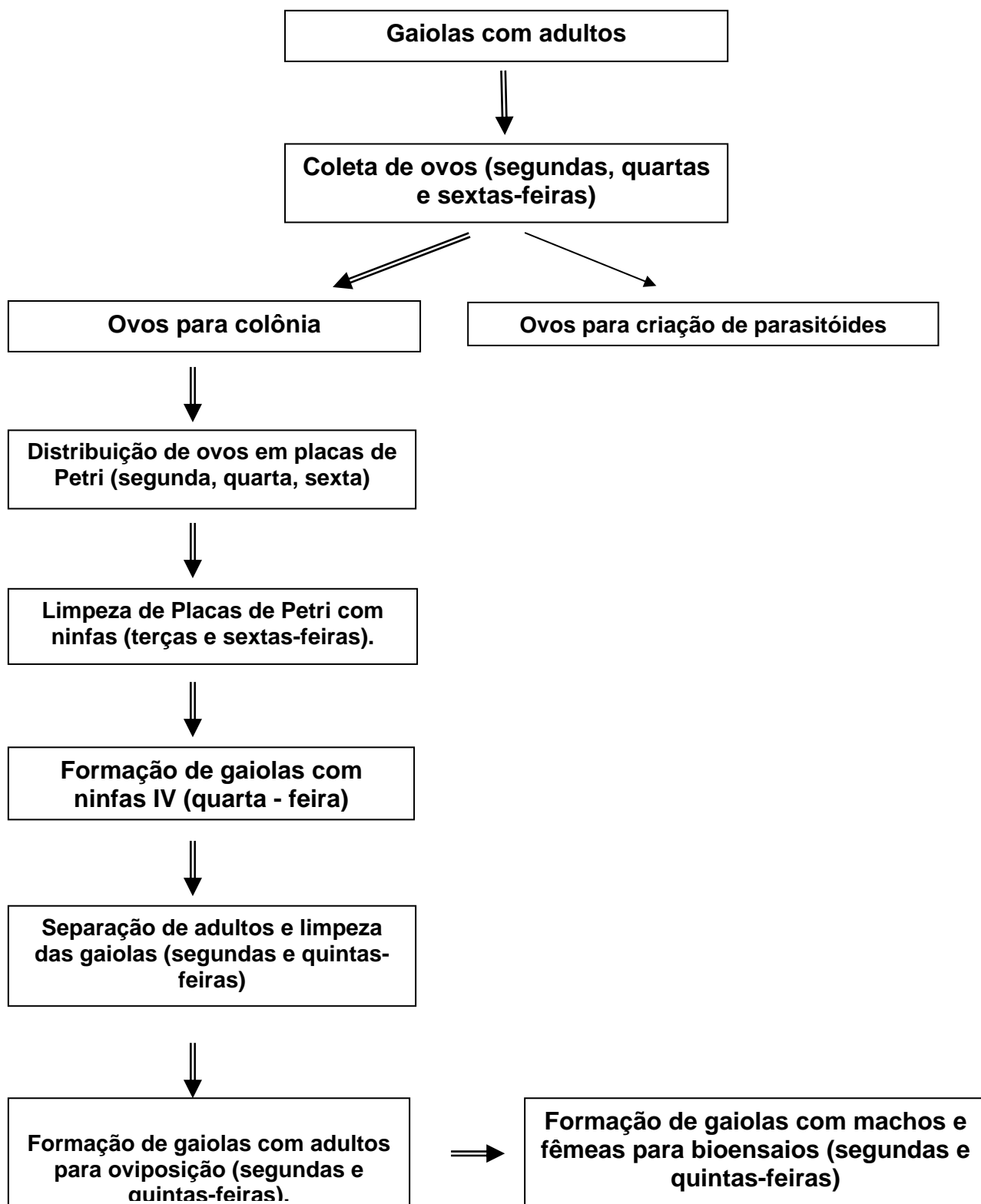


Figura 1. Seqüência de montagem das cartelas da dieta com grãos de amendoim, girassol e soja. A = Grade de madeira (30 X 22 cm), B= Assadeira (24 X 32 cm), C = Distribuição da cola no papel (tamanho A4), D = Cuba plástica grande com mistura de grãos, E = Assadeira +Papel+Cola+Grade, F = Fixação dos grãos nas cartelas, G = Retirada da grade, H = Cartelas individualizadas. Ao final, as cartelas são esterilizadas sob luz UV.



Nota: Todas as etapas sejam em placas de Petri ou em gaiolas devem ser rotuladas com a fase de desenvolvimento e datadas.

Figura 2. Fluxograma de atividades semanais nas colônias de percevejos.



Figura 3. Principal característica para sexagem de machos e fêmeas de *Euschistus heros*; o último segmento do abdômen dos machos é diferenciado.

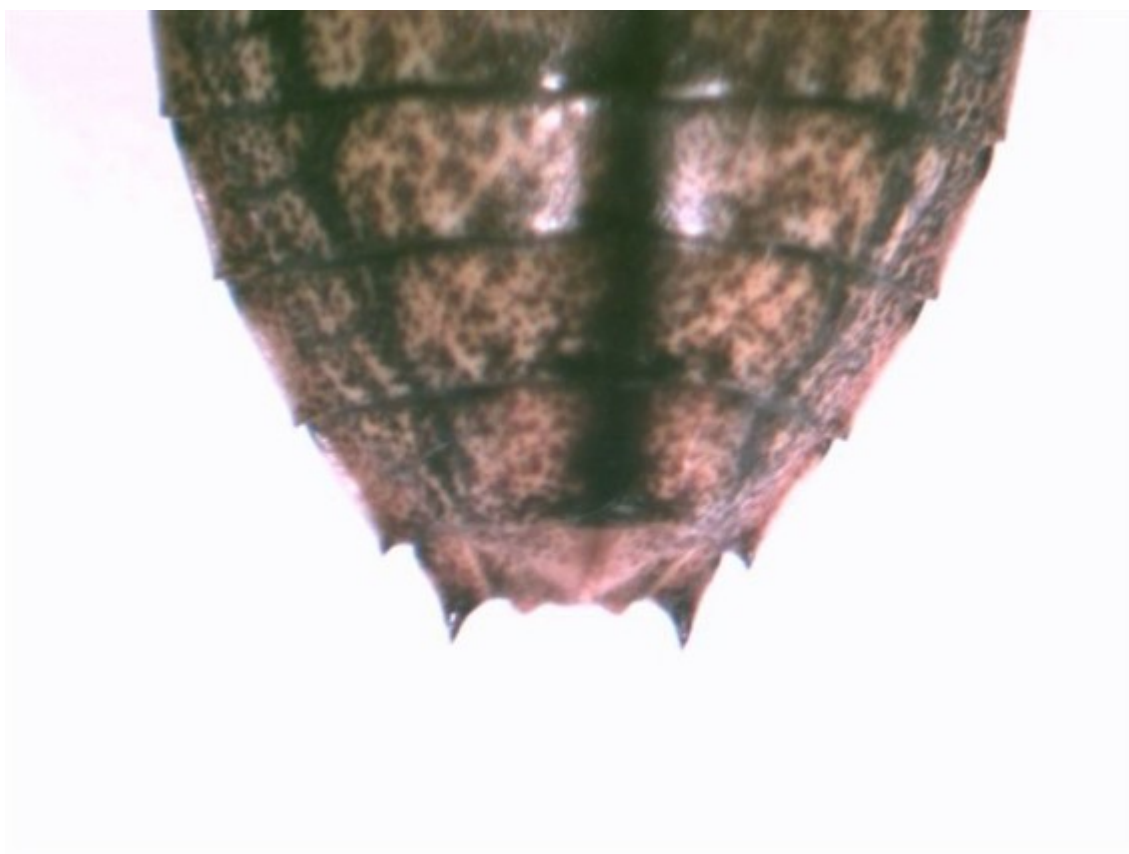


Figura 4. Detalhe do último segmento abdominal ventral da Fêmea de *Euschistus heros*.



Figura 5. Detalhe do último segmento abdominal ventral do Macho de *Euschistus heros*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, M. L. M.; BORGES, M.; VILELA, E. F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 4, p. 559-568, 1998.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitóides de ovos *Trissolcus basalis* (Wollaston) no controle de percevejos da soja.** Londrina: Embrapa, CNPSo, 1993. 40 p. (Embrapa CNPSo. Circular Técnica, 11).
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico.** Piracicaba: FEALQ, 1992. 161 p.
- SINGH, P.; MOORE, R. F. (Ed.). **Handbook of insect rearing.** Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 1985. v.2. 514 p.