



## RITMOS DIARIOS DE ATIVIDADES COMPORTAMENTAIS DE *DIABROTICA SPECIOSA* (GERMAR, 1824) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE) RELACIONADOS À TEMPERATURA

Raul A. Laumann<sup>1</sup>

Paulo H. Ribeiro<sup>2</sup>

Neiva Ramos<sup>3</sup>

Carmen Sílvia Soares Pires<sup>4</sup>

Francisco Guilherme V. Schmidt<sup>5</sup>

Miguel Borges<sup>6</sup>

Maria Carolina Blassioli Morais<sup>7</sup>

Edison Ryoiti. Sujii<sup>8</sup>

### RESUMO

*Diabrotica speciosa* é a principal espécie de um complexo que é praga de numerosas culturas, como milho, feijão, soja e batata. O objetivo desse trabalho foi estudar o comportamento deste inseto, já que conhecimentos básicos sobre suas características biológicas poderão subsidiar um manejo mais eficiente de suas populações. Foi realizado um estudo em condições de campo para determinar a distribuição do inseto em feijoeiro na fase vegetativa e seus hábitos comportamentais ao longo do dia. Em laboratório foi avaliado o consumo foliar, durante 24 horas, para isto os insetos foram separados por sexo e confinados com folhas de feijão em gaiolas. As atividades de movimentação, alimentação e vôo foram positivamente relacionados com o aumento da temperatura em campo. Os insetos se localizaram, em sua maioria, nas folhas superiores da planta. O mesmo padrão foi observado em laboratório. Nos períodos em que a temperatura elevou-se acima dos 25° C os insetos mostraram atividade alimentar e no período de maior temperatura média (27,4 ° C), de 12:00 h às 17:30 h os insetos consumiram maior quantidade de

área foliar. As fêmeas consumiram maior área foliar que os machos o que pode ter relação com seu maior tamanho corporal.

Palavras-chave: vaquinha, comportamento, bioecologia, herbivoria, Chrysomelidae.

### INTRODUÇÃO

*Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae) vulgarmente conhecida como "vaquinha" é uma praga polífaga, de grande disseminação nos Estados brasileiros e alguns países da América do Sul (Ávila, 1999). Os adultos desse inseto alimentam-se preferencialmente de folhas, brotos, frutos e pólen de plantas cultivadas e silvestres; enquanto as larvas preferem as raízes.

No Brasil, *D. speciosa* tem sido registrada causando dano em milho, cucurbitáceas, soja, feijão, amendoim e batata (Gassen 1984). Além do dano causado pelo seu consumo alimentar, *D. speciosa* é conhecida como vetor de viroses para diversas espécies de plantas, incluindo o mosaico

<sup>1</sup> Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Núcleo Temático de Controle Biológico

<sup>2</sup> Biólogo Graduando, Universidade Católica de Brasília – Bolsista de Iniciação Científica

<sup>3</sup> Biólogo Graduando, Universidade Católica de Brasília – Bolsista Embrapa

<sup>4</sup> Bióloga, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Núcleo Temático de Controle Biológico

<sup>5</sup> Eng. Agrônomo, MSc, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Núcleo Temático de Controle Biológico

<sup>6</sup> Biólogo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Núcleo Temático de Controle Biológico

<sup>7</sup> Química, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Núcleo Temático de Controle Biológico

<sup>8</sup> Eng. Agrônomo, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Núcleo Temático de Controle Biológico

virótico dos feijões (Viana com. pessoal – Embrapa Milho e Sorgo) e doenças bacterianas (Cabrera Walsh, 2003).

Milanez (1995) determinou que o inseto leva de 3 a 4 dias para a eclosão das larvas e posteriormente demora cerca de 29 dias para se desenvolver até o estágio adulto, passando por três instares larvais e pupa. A constante térmica para o desenvolvimento foi de 474,96 graus-dia com temperatura base de 11,4 °C. O período de oviposição das fêmeas foi de  $40,2 \pm 12,1$  dias e o número médio de ovos colocados por fêmeas foi de 1011. As fêmeas mostraram preferência por sítios de oviposição com solos mais escuros e com maiores teores de matéria orgânica e umidade entre 26-63%. O milho foi a planta hospedeira preferida em relação a feijão, soja e arroz). Ávila (1999) determinou que o milho é o melhor alimento para os estágios larvais de *D. speciosa* e relatou resultados similares aos de Milanez (1995) relacionados ao desenvolvimento do inseto, encontrando maior fecundidade das fêmeas quando o desenvolvimento destas foi em dieta natural (1724,1 e 2127,1 ovos/fêmea em dois tratamentos com milho). No entanto, o milho não se apresentou como o melhor hospedeiro do inseto durante a fase adulta já que a capacidade reprodutiva do inseto foi maior quando os adultos foram alimentados com batata ou feijoeiro em relação ao milho e soja. Em testes de múltipla escolha, os insetos preferiram folhas de feijoeiro às de milho, soja e batata (Ávila 1999). Assim a associação milho-feijoeiro parece ser a condição ótima para o desenvolvimento do inseto. Finalmente ao validar, em condições de semi-campo o modelo de exigências térmicas (graus-dia) desenvolvido por Milanez (1995) em laboratório, Ávila (1999) encontrou que a temperatura do solo resulta mais adequada do que a temperatura do ar para determinar a ocorrência do inseto no campo.

Apesar dos conhecimentos básicos sobre a biologia, vários aspectos da bioecologia e comportamento deste inseto ainda são desconhecidos, o que dificulta o manejo de suas populações.

O objetivo deste trabalho foi estudar alguns padrões de comportamento de *D. speciosa* em condições de campo e laboratório para subsidiar o desenvolvimento de novas estratégias de manejo da praga utilizando semioquímicos como atraentes e fagoestimulantes

## MATERIAL E MÉTODOS

### Estudo no campo

Foi realizado um estudo em condições de campo, nos dias 8, 9 e 10/04/2003 para determinar a distribuição do inseto em plantas de feijoeiro na fase vegetativa e seus hábitos comportamentais ao longo do dia. A área de estudo (50 x 30 metros) foi estabelecida em um plantio de feijão (*Phaseolus vulgaris*) situado na Embrapa, Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Foram realizadas observações em intervalos de duas horas, no período de 6:00 às 20:00 hs. Em cada momento foram observados 15 insetos registrando-se: posição na planta (solo, nível superior, médio ou inferior), local da planta (folhas (cara abaxial ou adaxial) ou caule) e seu comportamento (repouso, locomoção, alimentação, cópula ou vôo). Em cada período de amostragem foram registradas a temperatura e a umidade relativa do ar próximo às plantas.

### Estudo no laboratório

Foram realizados experimentos para avaliar o ritmo de alimentar, oviposição e cópula de adultos de *D. speciosa* em condições de laboratório. Os procedimentos experimentais para manutenção dos insetos durante os experimentos de consumo foliar e oviposição foram adaptados de Ávila (1999).

Os experimentos foram desenvolvidos em uma sala mantida à temperatura e umidade ambiente, e as observações foram divididas em quatro períodos ao longo de 24 h **Período 1:** 7:00 às 13:00 h, **Período 2:** 12:00 às 18:00 h, **Período 3:** 18:00 às 23:00 h, **Período 4:** 23:00 às 7:00 h. Em cada período foram realizadas observações a intervalos de 30 minutos durante o dia (7:00 a 23:00 h) e de uma hora no período noturno. A temperatura e a percentagem de umidade relativa do ar (UR) de cada período foram registradas para correlação com o comportamento dos insetos.

Os insetos utilizados em todos os experimentos tinham 10 a 15 dias de idade na fase adulta.

**Consumo Foliar:** Um grupo de 15 fêmeas e 15 machos foi utilizado para avaliar o consumo foliar. Os insetos foram mantidos individualmente em vasos plásticos junto com uma folha de feijão. Para evitar a desidratação da folha, o pecíolo foi envolto com algodão e submerso em um tubo de vidro (5 x 0,8 cm) contendo água destilada. Ao final de cada período de observação, as folhas foram substituídas e calculada a área foliar consumida. A área foliar consumida foi calculada por um software específico (SIARCS,

Embrapa Instrumentação Agropecuária), a partir das imagens digitais das folhas obtidas por um "scanner" (Genius Color Page SP2X). Os dados foram analisados através da Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores e teste de Student-Newman-Keuls (SNK) para a comparação das médias utilizando o software estatístico Sigmatat (Kuo et al. 1992).

**Oviposição:** Fêmeas individualizadas, mantidas previamente com machos por 24-48h para assegurar a fecundação, foram colocadas em gaiolas plásticas em um total de 15 repetições. Dentro de cada gaiola foi introduzido um substrato para oviposição formado por uma placa de Petri plástica (9 cm de diâmetro) contendo um pedaço de espuma coberto por um pano de algodão preto. Para alimentação das fêmeas foi oferecida uma folha de feijão nas mesmas condições do experimento anterior. Ao final de cada período, a placa de Petri era retirada e vistoriada em microscópio estereoscópico para a contagem de ovos.

**Cópula:** Quinze casais foram mantidos, individualmente, em gaiolas plásticas junto com uma folha de feijão como fonte de alimento. Para observar o comportamento de cópula foram realizadas observações a intervalos de 15 a 30 minutos no período de 7:00 às 23:00h (Períodos 1 a 3). No período noturno, 23:00 às 7:00h, o comportamento de 6 casais foi gravado em uma fita de vídeo. Para isto se utilizou uma câmera preto e branco (Sony Exwave HAD) acoplada a um gravador de fitas VHS (Panasonic). As gravações foram realizadas com fonte de luz infravermelha, adaptando um filtro na câmera. Foram realizadas 8 gravações de 15 minutos de duração em intervalos de uma hora. Posteriormente a fita foi analisada para observar o comportamento dos casais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No campo, a maior parte dos adultos de *D. speciosa* concentra-se na parte superior das plantas (Figura 2), independentemente do período do dia. A maioria dos insetos observados localizava-se nas folhas, porém existiu uma grande variação no local da folha onde o inseto foi encontrado nas diferentes amostragens. Os insetos foram observados mais freqüentemente na parte superior das folhas, porém nas horas mais quentes, iluminadas e secas do dia que representam os horários de maior déficit hídrico (14:00 e 16:00 h, Figura 1) migraram para a parte inferior das folhas para posteriormente voltar à parte superior das folhas ou caule/broto (Figura 3). Este comportamento pode estar relacionado

com a busca de microhabitats com condições mais favoráveis nos diferentes períodos do dia. A partir das 18:00h as amostragens foram interrompidas pela dificuldade de visualização dos insetos.

As atividades de alimentação, movimentação e vôo foram correlacionadas positivamente com a temperatura. Em particular as atividades de locomoção aumentaram após as 10:00 h quando a temperatura superou os 25° C e diminuíram novamente com a queda da temperatura (18:00 h). A alimentação não parece ser tão influenciada pela temperatura já que foram observados adultos alimentando-se até às 18:00 h. (Figura 4)

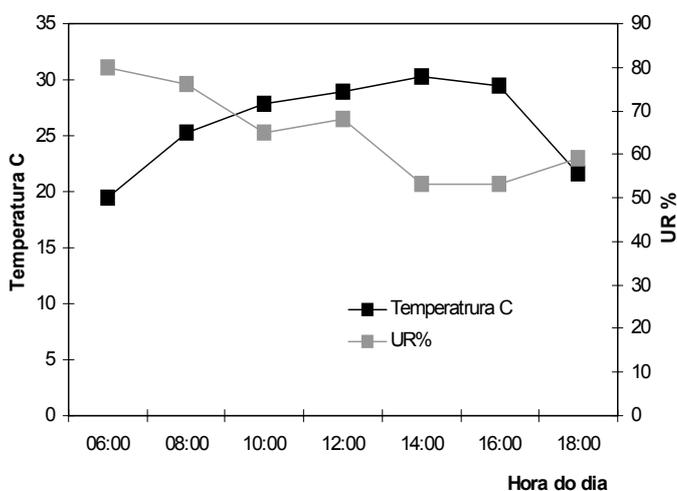


Figura 1. Temperatura (°C) e umidade relativa (UR%) medidos na área experimental durante a realização do experimento

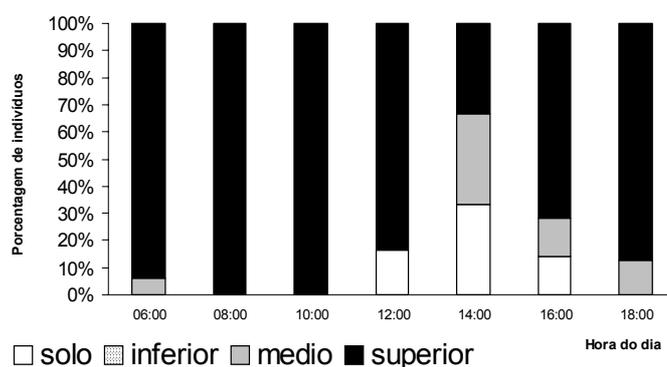
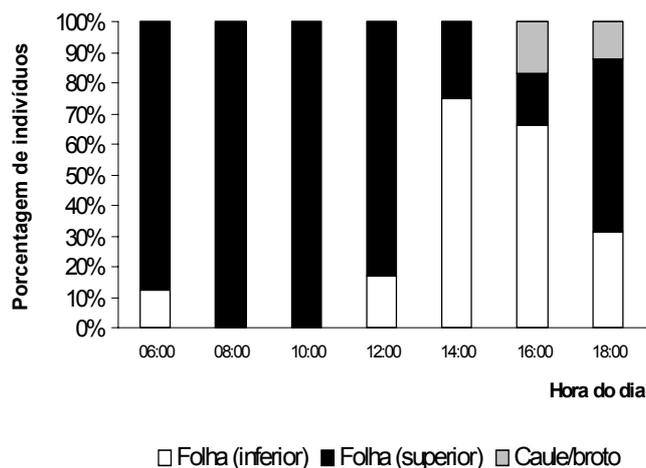
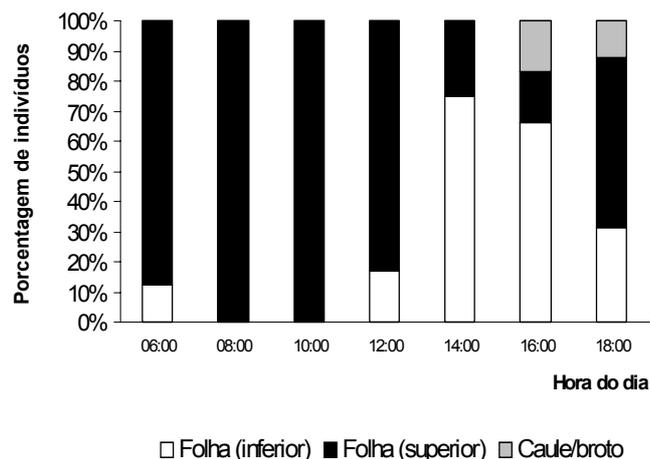


Figura 2. Distribuição de *Diabrotica speciosa* (% do total amostrado, n = 15) em diferentes partes de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) segundo a hora do dia.



**Figura 3.** Distribuição de *Diabrotica speciosa* (% do total amostrado, n = 15) em diferentes partes de plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) segundo a hora do dia.

O comportamento alimentar em laboratório mostrou correlação com o aumento de temperatura. No período 2, de 12:00 às 18:00h quando a temperatura foi maior, a proporção de indivíduos alimentando-se foi superior à dos períodos 1 e 3 (Tabela 1). Comparando o comportamento dos insetos de cada sexo viu-se que este foi similar já que só foram encontradas diferenças significativas no período 3, quando a proporção média de fêmeas alimentando-se foi maior que a de machos. (Tabela 1). Estes resultados coincidem com o observado no campo e sugerem que os fatores físicos do ambiente como temperatura e umidade



**Figura 4.** Distribuição de indivíduos de *Diabrotica speciosa* (% do total amostrado em cada tempo, n = 15) com diferentes comportamentos em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) segundo a hora do dia.

controlam o comportamento de insetos, independente da ocorrência de fatores bióticos como outras espécies de herbívoros ou predadores.

**Tabela 1.** Proporção de adultos de *Diabrotica speciosa* se alimentando (média  $\pm$  desvio padrão) e condições ambientais nos três primeiros períodos de observação (7:00 às 23:00 hs).

Tempo	Temp (°C) (X $\pm$ DP)	UR% (X $\pm$ DP)	Proporção de Indivíduos Machos	Alimentando-se Fêmeas
<b>Período 1</b> 07:00 – 12:00	21,77 $\pm$ 3,61	66,40 $\pm$ 9,14	0,11 $\pm$ 0,15 aA	0,17 $\pm$ 0,21 aA
<b>Período 2</b> 12:00 – 18:00	27,39 $\pm$ 1,22	47,44 $\pm$ 3,68	0,33 $\pm$ 0,17 aB	0,30 $\pm$ 0,15 aB
<b>Período 3</b> 18:00 - 23:00	23,43 $\pm$ 1,62	56,67 $\pm$ 1,75	0,052 $\pm$ 0,07 aA	0,31 $\pm$ 0,10 bAB

**Ref :** Os dados foram analisados usando ANOVA de dois fatores.  $F_{\text{sexo}} = 7,56$  gl=1,50  $p < 0,05$ ,  $F_{\text{tempo}} = 6,34$  gl 2,50  $p < 0,05$  e  $F_{\text{ext}} = 3,22$  gl=2,50  $p < 0,05$ . Os valores médios de proporção de indivíduos alimentando-se em cada linha seguidos da mesma letra minúscula não diferem significativamente e os valores médios de proporção de indivíduos alimentando-se em cada coluna seguidos da mesma letra maiúscula não diferem significativamente (teste SNK  $p < 0,05$ ). Dados transformados arcsen  $\hat{O}x$ .

Considerando o consumo de área foliar no período de 24 h foi observado que, a área foliar consumida pelas fêmeas ( $0,89 \pm 0,41 \text{ cm}^2/\text{dia}$ ) foi significativamente maior que a área foliar consumida pelos machos ( $0,52 \pm 0,41 \text{ cm}^2/\text{dia}$ ) (teste t,  $T=2,39$ ;  $gl=26$ ,  $p=0,025$ , nesta análise foi excluído um inseto de cada sexo que morreu durante o experimento). Este maior consumo pode ser explicado pelo maior tamanho corporal das fêmeas ou pela necessidade de maior quantidade de recursos destinados à produção de ovos. Entretanto, a diferença observada baseou-se no consumo foliar de fêmeas e machos durante o primeiro período considerado (Tabela 2). Estes resultados indicam que, mesmo não sendo este o período onde a maior parte dos insetos está se alimentando (ver Tabela 1), esta etapa do dia pode corresponder à de maior consumo alimentar dos insetos.

Devido ao baixo número de indivíduos que produziram os comportamentos de oviposição e cópula, somente duas fêmeas produziram 72 e 3 ovos respectivamente e só um casal foi observado em cópula, não foi possível analisar esses comportamentos.

A determinação da posição e estruturas da planta onde o inseto permanece e seus horários de atividade subsidiarão as estratégias de utilização de produtos para controle do inseto baseado em atraentes alimentares. Os resultados sugerem que a associação de atraentes alimentares com agentes tóxicos poderá ter sua eficiência maximizada quando aplicada no início da manhã, na parte superior das plantas e preferencialmente buscando atingir a face inferior das folhas.

A metodologia desenvolvida, neste trabalho, para avaliação do comportamento de *D. speciosa* será usada para estudar o papel de fagoestimulantes e outros semioquímicos (atraentes ou repelentes) no comportamento desta espécie, visando estabelecer o potencial destas substâncias para seu controle.

**Tabela 2.** Área foliar consumida (média  $\pm$  desvio padrão) por adultos de *Diabrotica speciosa* nos quatro períodos de observação.

Tempo	Área foliar consumida ( $\text{cm}^2$ )	
	Macho	Fêmea
<b>Período 1</b> 07:00 – 12:00	$0,11 \pm 0,18$ aA	$0,43 \pm 0,30$ bA
<b>Período 2</b> 12:00 – 18:00	$0,24 \pm 0,25$ aA	$0,19 \pm 0,24$ aB
<b>Período 3</b> 18:00 - 23:00	$0,05 \pm 0,07$ aA	$0,15 \pm 0,17$ aB
<b>Período 4</b> 23:00 – 07:00	$0,11 \pm 0,14$ aA	$0,10 \pm 0,19$ aB

Ref.: Os dados foram analisados usando ANOVA de dois fatores.  $F_{\text{sexo}} = 5,87$   $gl=1,106$   $p<0,05$ ,  $F_{\text{tempo}} = 4,73$   $gl=3,106$   $p<0,05$  e  $F_{\text{sexo}} = 4,92$   $gl=3,106$   $p<0,05$ . Os valores médios em cada linha seguidos da mesma letra minúscula não diferem significativamente e os valores médios em cada coluna seguidos da mesma letra maiúscula não diferem significativamente (teste SNK  $p<0,05$ ).

## Referências Bibliográficas

Ávila, C. J. Técnica de criação e influência do hospedeiro e da temperatura no desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae). 1999. 103 p. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba- SP.

Cabrera Walsh, G. Hosta range and reproductive traits of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of south american pest rootworms, with notes on other species of Diabroticina. Environmental Entomology, Maryland, v. 32, n. 2, p.276-285, 2003.

Gassen, D.N.. Insetos associados à cultura do trigo no Brasil. Circular técnica 3. EMBRAPA-CNPT. Passo Fundo, Rio Grande do Sul. 1984.

Kuo, J.; E. Fox, & S. MacDonald.. Sigmasat: statistical software for working scientists. Users manual., Jandel Scientific, São Francisco, 1992.

Milanez, J.M. Bioecologia de *Diabrotica speciosa*. In: Reunião sul Brasileira de Insetos de solo, V, 1995. Dourados, MS, Resumos da Reunião Brasileira de insetos de solo, V, 1995, Dourados, MS: Embrapa CPAD. Documento 8. , p 44-45, 1995

### Comunicado Técnico, 90

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 70.770-900 - Caixa Postal 02372  
 PABX: (61) 448-4600 Fax: (61) 340-3624  
<http://www.cenargen.embrapa.br>  
 e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Ministério da Agricultura,  
 Pecuária e Abastecimento



1ª edição

1ª impressão (2003): 150 unidades

### Comitê de publicações

**Presidente:** Luzemar Alves Duprat  
**Secretário-Executivo:** Maria José de Oliveira Duarte  
**Membros:** Maurício Machaim Franco

Regina Maria Dechechi G. Carneiro

Luciano Lourenço Nass

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

### Expediente

**Supervisor editorial:** Maria José de Oliveira Duarte

**Normalização Bibliográfica:** Maria Alice Bianchi

**Editoração eletrônica:** Giscard Matos de Queiroz