



UNIVERSIDADE
ESTADUAL de LONDRINA

MARCOS ARTURO FERREIRA AGÜERO

**INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO
SOBRE *EUSCHISTUS HEROS* E *NEZARA VIRIDULA*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

Londrina
2013

MARCOS ARTURO FERREIRA AGÜERO

INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO
SOBRE *EUSCHISTUS HEROS* e *NEZARA VIRIDULA*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina,
área de concentração em Fitossanidade.

Orientador: Prof. Dr. Pedro M. O. J. Neves.

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

A282i Agüero, Marcos Arturo Ferreira.
Inseticidas desreguladores de crescimento sobre *Euschistus heros* e *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) / Marcos Arturo Ferreira Agüero. – Londrina, 2013.
100 f.: il.

Orientador: Pedro Manuel Oliveira Janeiro Neves.
Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Hemiptera – Teses. 2. Percevejo (Inseto) – Teses. 3. Sistema endócrino – Teses. 4. Metamorfose – Teses. 5. Inseticidas – Teses. I. Neves, Pedro Manuel Oliveira Janeiro. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 595.754

MARCOS ARTURO FERREIRA AGÜERO

**INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO SOBRE
EUSCHISTUS HEROS E *NEZARA VIRIDULA* (HEMIPTERA:
PENTATOMIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Pedro M. O. J. Neves
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Samuel Roggia
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária -
Embrapa-Soja

Profa. Dra. Débora Cristina Santiago Universidade
Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano da Silva
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof. Dr. Samuel Pineda Guillermo
Instituto de Investigaciones Agropecuarias y
Forestales - IIAF/UMSNH

Londrina, 10 de dezembro de 2013

AGRADECIMENTOS

À Deus, o Grão Arquiteto do Universo, pela vida e por permitir compreender sua obra através da ciência.

Ao meu orientador Dr. Pedro M.O.J. Neves pelos ensinamentos, apoio e minha formação como Entomologista.

À Universidade Estadual de Londrina, à Universidad Nacional de Asunción Facultad de Ciencias Agrárias, ao Reitor Pedro Gonzalez, ao Decano Prof. Lorenzo Meza López e Vice-Decano Prof. Miguel A. Ruiz Díaz.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de doutorado.

Aos meus pais Zully M. A. Degiovanni, Mario Ferreira Montanía. Meu filho Hiram Alejandro Ferreira Rolón e sobrinhas Aisha Naomi, Giovanna Aracely e Isis Amina.

Aos Profs. Drs. Lucia Takahashi, Mauricio Ventura, Flávio Moscardi (*in memoriam*), Ayres Menezes, Amarildo Pasini e a todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UEL.

À Professora Dra. Célia Guadalupe Tardeli de Jesus Andrade e ao técnico Osvaldo Capello do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Microanálise da UEL.

Ao meu irmão Mario Aquiles, aos Irs. Hécctor Ruiz D., Fernando Oliveira, José Quinto Paredes e todos os obreiros da loja simbólica Cerro Corá N° 150.

Aos colegas de laboratório, amigos e colaboradores Adriana Mikami, Camila, Fabiane Cunha, Talita Alexandre, Débora Mello, Mylena Yumi, Maria Lívia, Orcial Bortolotto, Marcio Siteo, Maurício Moscardi, Adriano Oshino, Davi Tramontina, Paulo Cremonez, Jose Rocha e Rosalia Azambuja. A Edilene do IAPAR, Weda Westin e Jovenil Silva da Embrapa-Soja.

A obra divina é revelada através da ciência.

FERREIRA AGÜERO, Marcos Arturo. **Inseticidas desreguladores de crescimento sobre *Euschistus heros* e *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae)**: 2013. 100 f. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

RESUMO

O percevejo-marrom *Euschistus heros* e o percevejo-verde *Nezara viridula* provocam sérios prejuízos à cultura da soja, afetando a produção de grãos e sementes quantitativa e qualitativamente. Os inseticidas convencionais utilizados para reduzir suas populações não tem sido eficientes. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs) sobre ninfas de *E. heros* e *N. viridula*. No artigo A, bioensaio um, testaram-se dois inseticidas do grupo dos inibidores de biossíntese de quitina (IBQ): lufenurom e diflubenzurom; um análogo do hormônio juvenil (AHJ), piriproxifem e um agonista do ecdisônio (AE), metoxifenoazida, sobre ninfas de 4° e 5° instar de *E. heros*. No bioensaio dois, determinaram-se as concentrações letais (CL_{50 e 90}) e tempos letais (TL_{50 e 90}), utilizando seis concentrações de lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem sobre ninfas de 4° instar de *E. heros* e *N. viridula*. No artigo B, verificou-se a mortalidade de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* em plantas de soja tratadas com lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem. Também, avaliou-se a produtividade de grãos e qualidade de sementes. No artigo C, avaliou-se as deformações no aparelho bucal, inibição da alimentação e mortalidade de ninfas de *E. heros* quando em contato com lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem. No artigo D, avaliou-se o efeito do piriproxifem sobre a fecundidade e fertilidade de *N. viridula* e o efeito do diflubenzurom na formação do aparelho reprodutor. Para as pulverizações dos inseticidas em laboratório, utilizou-se torre de Potter e aspersor manual em semi-campo. Registrou-se diariamente a mortalidade e deformações morfológicas dos percevejos. Constatou-se a mortalidade de ninfas de 4° e 5° instar de *E. heros* com lufenurom (78,8%), diflubenzurom (62,9%), piriproxifem (52,8) e metoxifenoazida (40,9%). Os valores de CL_{50 e 90} mostraram que ninfas de *N. viridula* foram mais sensíveis que *E. heros* aos produtos testados. Maiores concentrações dos IDCs, aumentam a mortalidade de ninfas e diminuem o TL_{50 e 90}. Lufenurom e diflubenzurom foram mais eficientes que o piriproxifem no controle de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* resultando em menor dano avaliado pelo maior peso de cem sementes. A maior produtividade de grãos observou-se no tratamento com lufenurom. As plantas de soja infestadas com *E. heros* e *N. viridula* tratadas com lufenurom e diflubenzurom produziram sementes viáveis com poucas puncturas, alto poder germinativo e número de plântulas normais. Verificou-se deformações no aparelho bucal, inibição da alimentação, alteração da metamorfose e mortalidade de ninfas de *E. heros* tratadas com lufenurom e diflubenzurom. O piriproxifem, embora não tenha causado deformações no aparelho bucal, foi letal para ninfas. O número de posturas de *N. viridula* não foi reduzida significativamente pelo piriproxifem. Entretanto uma diminuição na fertilidade dos ovos foi observada impedindo a eclosão de ninfas. O diflubenzurom afetou o desenvolvimento normal dos órgãos reprodutivos feminino e masculino. Conclui-se que de entre os IDCs o lufenurom e diflubenzurom são mais deletérios e eficientes na mortalidade de ninfas de *E. heros* e *N. viridula*. Piriproxifem e diflubenzurom têm potencial de diminuir a progênie de *N. viridula*.

Palavras-chave: Hemíptera. Sistema Endócrino. Metamorfose. Anormalidades. Proteção de plantas.

FERREIRA AGÜERO, Marcos Arturo. **Insecticide growth disruptor on *Euschistus heros* e *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae)**. 2013. 100 p. Tese de Doutorado em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ABSTRACT

The brown stink bug *Euschistus heros* and green stink bug *Nezara viridula* cause serious damage to the soybean crop, affecting grains production and seeds quantitatively and qualitatively. The conventional insecticides that are used for stink bugs populations control are sometimes not efficient. The objective of this study was evaluated insects growth disruptors (IGDs) effects on nymphs of *E. heros* and *N. viridula*. In manuscript A, bioassay 1, it two insecticides of the chitin biosynthesis inhibitors (IBQ) group, lufenuron and diflubenzuron were tested; a juvenile hormone analogue (JHA), pyriproxyfen and a ecdysone agonist (AE) methoxyfenozide, on nymphs of 4th and 5th instar of *E. heros*. In bioassay 2, lethal concentration LC₅₀ and 90 and lethal time TL₅₀ and 90 were estimated for lufenuron, diflubenzuron and pyriproxyfen on 4th instar nymphs of *E. heros* and *N. viridula*. In manuscript B, *E. heros* and *N. viridula* nymph mortality in soybean plants treated with lufenuron, diflubenzuron and pyriproxyfen were evaluated. It was also evaluated the yield and seed quality. In manuscript C, mouthparts deformation was evaluated and also feed inhibition and nymph mortality of *E. heros* treated with lufenuron, diflubenzuron and pyriproxyfen. In manuscript D, it was evaluated the effect of pyriproxyfen on fecundity and fertility of *N. viridula* and the effect of diflubenzuron in the reproductive system. For insecticides spraying in laboratory, it we used a Potter Tower and a manual sprayer in the greenhouse. Mortality and morphological deformations was recorded daily. |The results show a mortality of *E. heros* nymphs for lufenuron (78.8%), diflubenzuron (62.9%), pyriproxyfen (52.8) and methoxyfenozide (40.9%). The estimated LC₅₀ and 90 values showed that *N. viridula* nymphs were more sensitive than *E. heros*. Higher concentrations of IGDs, increase nymph mortality and decrease TL₅₀ and 90. Lufenuron and diflubenzuron were more efficient than pyriproxyfen for *E. heros* and *N. viridula* nymphs resulting in greater weight of one hundred seeds. The highest yield was reach for lufenuron treatment. Soybean plants infested with *E. heros* and *N. viridula* sprayed with lufenuron and diflubenzuron produced viable seeds with few punctures, high germination and normal seedling number. Mouthparts deformations, feeding inhibition, alteration of metamorphosis and mortality of *E. heros* nymphs treated with lufenuron and diflubenzuron, were observed. Pyriproxyfen, although not cause deformations on mouthparts, was lethal to nymphs., Eggs number of *N. viridula* was not significantly reduced by pyriproxyfen. However, a decreased in eggs fertility was observed, preventing nymphs eclosion. Diflubenzuron prevented the normal development of the male and female reproductive system. We concluded that the IGDs lufenuron and diflubenzuron are more efficient, deleterious and lethal to *E. heros* and *N. viridula* nymphs. Pyriproxyfen and diflubenzuron have potential to decrease *N. viridula* progeny.

Keywords: Hemiptera. Endocrine system. Metamorphosis, Abnormality. Crop protection.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	PROBLEMAS NO MANEJO DE PERCEVEJOS-PRAGA-DA-SOJA.....	11
2.2	PERCEVEJOS-PRAGA-DA-SOJA	12
2.2.1	Percevejo-Marrom-Da-Soja <i>Euschistus heros</i> (F.).....	12
2.2.1.1	Biologia de <i>E. heros</i>	13
2.2.2	Percevejo-Verde-Da-Soja <i>Nezara viridula</i> (L.).....	13
2.2.2.1	Biologia de <i>N. viridula</i>	14
2.3	TEGUMENTO	14
2.3.1	Biossíntese De Quitina	16
2.4	CRESCIMENTO, ECDISE E METAMORFOSE DE INSETOS	17
2.5	CONTROLE DA METAMORFOSE EM INSETOS	18
2.6	APARELHO BUCAL (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)	20
2.7	APARELHO REPRODUTOR	20
2.7.1	Aparelho Reprodutor Feminino.....	21
2.7.2	Aparelho Reprodutor Masculino	21
2.8	INSETICIDAS DESREGULADORES DO CRESCIMENTO	21
2.8.1	Inibidores De Biossíntese De Quitina	22
2.8.1.1	Lufenurom	23
2.8.1.2	Diflubenzurom.....	24
2.8.2	Análogo Do Hormônio Juvenil	24
2.8.2.1	Piriproxifem.....	24
2.8.3	Agonista Do Ecdisônio	24
2.8.3.1	Metoxifenosida	25
3	ARTIGO A: MORTALIDADE DE <i>Euschistus heros</i> (F.) e <i>Nezara viridula</i> (L.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE] POR INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO	26
3.1	RESUMO	26
3.2	ABSTRACT	27
3.3	INTRODUÇÃO	28
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.4.1	Obtenção e Criação Dos Insetos.....	30
3.4.2	Bioensaio um. Seleção dos IDCs Eficientes na Mortalidade de Ninfas de 4º e 5º instar de <i>E. heros</i> em Laboratório	30
3.4.3	Bioensaio dois. Estimativa da CL ₅₀ e 90 e TL ₅₀ e 90	31
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.5.1	Bioensaio um. Seleção dos IDCs Eficientes na Mortalidade de Ninfas de 4º e 5º instar de <i>E. heros</i> em Laboratório	32
3.5.2	Bioensaio dois. Estimativa da CL ₅₀ e 90 e TL ₅₀ e 90	37

3.6	CONCLUSÕES.....	42
4	ARTIGO B: CONTROLE DE <i>Euschistus heros</i> (F.) e <i>Nezara viridula</i> (L.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE] POR INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA.....	43
4.1	RESUMO	43
4.2	ABSTRACT	44
4.3	INTRODUÇÃO.....	45
4.4	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.4.1	Obtenção e Criação dos Insetos.....	46
4.4.1	Determinação da Eficiência de Controle de Percevejos da Soja por Inseticidas Desreguladores de Crescimento	46
4.4.1.1	Determinação da Eficiência de Controle de Percevejos da Soja por Inseticidas Desreguladores de Crescimento	46
4.4.2	Estimativa da Produtividade e Qualidade de Sementes.....	47
4.4.2.1	Produtividade.....	48
4.4.2.2	Viabilidade de sementes e número de sementes com puncturas	48
4.4.2.3	Germinação e plântulas normais.....	48
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.5.1	Eficiência de Controle de <i>E. heros</i> e <i>N. viridula</i> por Inseticidas Desreguladores de Crescimento.	49
4.5.2	Eficiência de controle de <i>E. heros</i> e <i>N. viridula</i> por Inseticidas Desreguladores de Crescimento.	51
4.5.3	Peso de cem Sementes e Produtividade de Soja.....	54
4.5.4	Qualidade de Sementes.....	57
4.6	Conclusões.....	62
5	ARTIGO C: DEFORMAÇÕES DO APARELHO BUCAL, INIBIÇÃO DA ALIMENTAÇÃO E MORTALIDADE DE <i>Euschistus heros</i> (F.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE] Pelos INSETICIDAS lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem.	63
5.1	RESUMO	63
5.2	ABSTRACT	64
5.3	INTRODUÇÃO.....	65
5.4	MATERIAL E MÉTODOS	66
5.4.1	Obtenção dos Insetos e Criação.....	66
5.4.2	Aplicação dos Inseticidas e Avaliação	67
5.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	68
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
5.6	CONCLUSÕES.....	75

6	ARTIGO D: PIRIPROXIFEM E DIFLUBENZUROM NA REPRODUÇÃO DE <i>Nezara viridula</i> (L.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE]	76
6.1	RESUMO	76
6.2	ABSTRACT	77
6.3	INTRODUÇÃO	78
6.4	MATERIAL E MÉTODOS	80
6.4.1	Bioensaio um. Piriproxifem na fecundidade e fertilidade de ovos de <i>N. viridula</i>	80
6.4.2	Bioensaio dois. Diflubenzurom sobre o Aparelho Reprodutor de <i>N. viridula</i>	81
6.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	82
6.5.1	Bioensaio um. Piriproxifem na Fecundidade e Fertilidade de Ovos de <i>N. Viridula</i>	82
6.5.2	Bioensaio dois. Diflubenzurom sobre o Aparelho Reprodutor de <i>N. Viridula</i>	85
6.6	CONCLUSÕES	88
7	CONCLUSÕES GERAIS	89
	REFERÊNCIAS	90
	ANEXOS	98
ANEXO A -	Figura 14 - Ciclo biológico, ovo-adulto e duração dos diferentes ínstares de <i>Euschistus heros</i>	99
ANEXO B -	Figura 13 - Ciclo biológico, ovo-adulto e duração dos diferentes ínstars de <i>Nezara viridula</i>	100

1 INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) MERRILL] é um dos principais produtos agrícolas do Brasil. O país é o segundo maior produtor mundial do grão, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Na safra de 2012/2013 a área cultivada foi em torno de 27,5 milhões de hectares, com uma produção de 81 milhões de toneladas de grãos. O estado do Paraná é um dos maiores produtores com 4,6 milhões de hectares (CONAB, 2013).

A cultura da soja está sujeita ao ataque de pragas desde a germinação até a colheita. Inicialmente ocorre o bicudo-da-soja *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera: Curculionidae), a lagarta elasmó *Elasmopalpus lignosellus* Zeller, 1848 (Lepidoptera, Pyralidae), os corós Scarabaeidae e os percevejos-castanhos-da-raiz *Scaptocoris castanea* Perty, 1830 e *S. carvalhoi* Becker, 1967 (Hemiptera: Cydnidae) que danificam a cultura. Posteriormente as esfoliadoras como a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e a lagarta falsa-medideira *Chrysodeixis includens* Walk, 1857 (Lepidoptera, Noctuidae). Na fase reprodutiva, surgem os percevejos sugadores de vagens e sementes *Euschistus heros* Fabricius, 1794, *Nezara viridula* Linnaeus, 1758, e *Piezodorus guildinii* Westwood, 1837 (Hemiptera: Pentatomidae) (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

A densidade populacional do complexo de percevejos têm ocorrido em níveis elevados, tornando-se em um grupo de difícil controle, devido à rápida colonização, falhas nas aplicações, uso repetitivo de produtos com o mesmo modo de ação e seleção de biótipos resistentes, o qual induziu ao aumento na frequência de aplicações e a adoção de medidas equivocadas como a antecipação da pulverização sem considerar os níveis populacionais tolerados e os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Dessa forma, produtos com modo de ação distinto aos empregados tradicionalmente para o controle de percevejos, devem ser estudados, no intuito de inserir-lhos como uma alternativa no manejo integrado de percevejos pragas da soja. Ainda, estudos relacionados com a utilização de inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs) para o controle de percevejos são escassos ou até desconhecidos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos IDCs sobre os percevejos *E. heros* e *N. viridula*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PROBLEMAS NO MANEJO DE PERCEVEJOS-PRAGA-DA-SOJA

O MIP da soja no Brasil teve grande sucesso e foi amplamente adotado pelos produtores desde 1970 até o final da década de 1990. Atualmente caiu em desuso devido à mudança no sistema, fenologia, cultivos múltiplos, adoção do plantio direto, cultivares super precoces e introdução da soja *Bt*. Além disso, o baixo preço de inseticidas convencionais e a necessidade do serviço de extensão para promover o MIP, contribuíram para a situação de abandono. Assim, há necessidade de repensar e modernizar os programas de MIP de forma a se adequarem à nova realidade para que os produtores voltem a adotar o MIP na soja (PANIZZI, 2013).

A elevada ocorrência de percevejos na cultura da soja tem se tornado mais séria a cada safra. Os principais fatores que contribuíram para isso foram a falta de monitoramento adequado das lavouras, aplicações indiscriminadas de inseticidas que levam ao desequilíbrio e à ressurgência mais rápida das pragas e o desenvolvimento de populações resistentes (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009).

O controle dos percevejos era realizado comumente com inseticidas sintéticos como monocrotofós, metamidofós e endosulfan, contudo houve casos de insucesso de controle de algumas populações de *E. heros* resistentes a esses produtos (SOSA-GÓMEZ et al., 2001). A primeira mistura de neonicotinoides (imidacloprid) e piretroides (beta ciflutrina) para controlar percevejos foi recomendada em 2004 (Tecnologias de produção de Soja, 2005) e no ano seguinte uma nova mistura de thiamethoxam e lambda-cialotrina foi introduzida na recomendação oficial (Tecnologias de produção de Soja, 2005). Possivelmente a resistência aos organofosforados deveu-se ao seu uso abusivo por mais de 35 anos (SOSA GÓMEZ; SILVA, 2010).

Normalmente a ineficiência de controle leva os sojicultores usarem o mesmo inseticida repetidamente em doses crescentes na mesma safra. Também as altas densidades populacionais de percevejos incentivam os produtores a antecipação da aplicação de inseticidas de amplo espectro antes da fase reprodutiva da soja, utilizando os mesmos produtos para o controle de lagartas, percevejos e outras pragas ocasionais ao invés de utilizar produtos seletivos. Essa prática além de suprimir os inimigos naturais causa uma pressão de seleção sobre a população de percevejos. Além disso, a compra antecipada de pacotes de agrotóxicos com

descontos antes da safra incentiva o maior número de aplicações ou a mistura com fungicidas e herbicidas pela falsa impressão de reduzir custos operacionais (SOSA GÓMEZ; SILVA, 2009).

Há um consenso sobre a necessidade urgente de se propor o MIP como dentro das metas do governo e estimular agências de financiamento a apoiar projetos de MIP não só para a soja, mas também para outras commodities importantes (PANIZZI, 2013). Programas de MIP devem ser realizados combinando investimentos privados com incentivos do setor público em uma escala regional para gerar benefícios a longo prazo, não só para os agricultores, mas para a comunidade em geral (BREWER; GOODELL, 2012).

2.2 PERCEVEJOS-PRAGA-DASOJA

As principais espécies de percevejos que se destacam pelos prejuízos causados à soja são: *Euschistus heros* (Fabricius, 1794), *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837). Dentre esses percevejos, o percevejo-marrom, *E. heros*, é o mais resistente e abundante nas lavouras brasileiras, causando danos em todas as regiões produtoras de soja (SOSA-GÓMEZ et al., 2001).

O complexo de percevejos pentatomídeos fitófagos representa um dos grupos mais importantes de insetos-pragas na cultura da soja. Por se alimentarem diretamente das vagens, atingem os grãos, afetando seriamente o rendimento, a qualidade fisiológica e sanitária da semente. Por isso, merecem atenção e cuidado durante todo o ciclo da cultura (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009).

2.2.1 Percevejo-Marrom-da-Soja *Euschistus heros* (F.)

O percevejo marrom neotropical *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae) é a praga mais importante da soja no Brasil. Sua distribuição tem se expandido nos últimos anos chegando até o Rio Grande do Sul onde não era tão abundante em comparação a outras espécies de pentatomídeos (SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010; AGÜERO, 2010).

O manejo deste inseto-praga exige o emprego de medidas integradas envolvendo inclusive o manejo das lagartas da soja e de outras pragas na fase vegetativa da cultura. Inseticidas pouco seletivos empregados na fase vegetativa desfavorecem os inimigos naturais e favorecem os percevejos na fase reprodutiva da soja (ROGGIA et al., 2011).

2.2.1.1 Biologia de *E. heros*

O percevejo-marrom-neotropical possui em média 13 mm de comprimento (entre 11 a 15 mm), e coloração marrom com uma “meia-lua” branca no final do escutelo e dois espinhos laterais no protórax. Comumente, as masas de ovos possuem de seis a 15 ovos amarelados, em fileiras duplas ou triplas. Durante seu desenvolvimento as ninfas passam por cinco estádios. Essas apresentam coloração marrom suave (às vezes esverdeada, amarelada, castanha ou acinzentada) com bordos serrilhados (GALLO et al., 2002; DEGRANDE e VIVAN, 2010).

O tempo médio de desenvolvimento é de 38 dias até o estágio adulto e o número médio de ovos por fêmea varia de 108,5 a 130,5 quando alimentados com vagem de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), grãos de soja e amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Ninfas de estádios iniciais têm habito gregário, permanecendo reunidas e a partir do 3º instar passam a sugar os grãos de soja. Durante a safra tem três gerações, completa a quarta geração em plantas hospedeiras e entra em oligopausa na palhada da cultura anterior entorno de sete meses podendo se alimentar ou sobreviver das reservas de lipídeos (COSTA et al., 1998., SOSA-GÓMEZ, 2010).

2.2.2 percevejo-Verde-da-Soja *Nezara viridula* (L.)

O percevejo *Nezara viridula* (L., 1758) (Heteroptera: Pentatomidae) é uma praga cosmopolita, polífaga, que ocasiona danos econômicos a várias espécies de plantas cultivadas (KNIGHTHA; GURR, 2007). Embora seja adaptado e abundante nas regiões mais frias, é encontrado em diferentes regiões produtoras de soja e outras culturas (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009). No Brasil, até a década de 1980, era considerada a espécie mais abundante, depois foi mais comum apenas na região sul (SOSA-GÓMEZ, 2010).

Posteriormente estudos realizados em Jóia, RS entre 12/2007 e 11/2009 mostraram que houve mudança na ocorrência de *N. viridula* e sua população caiu para a terceira posição atrás de *E. heros* e *P. guildini*, devido a sucessões de culturas, vegetação de refúgio, palhada e operações de manejo (AGÜERO, 2010). Além disso, demonstrou-se que populações de *N. viridula* podem mudar de região migrando para locais mais altos e frios devido ao aquecimento global (MUSOLIN; NUMATA, 2003; TOUGOU et al., 2009).

Nos EUA, *N. viridula* é a principal praga da soja em toda a região sul, pode causar injúrias até o estágio R₇ sendo responsável pela redução da qualidade de sementes e do valor econômico do produto (MUSSER et al., 2011). As ninfas de 4º e 5º ínstars são responsáveis pela dispersão na soja. Os maiores danos na produção são ocasionados pelos adultos e ninfas de 5º instar, menores danos são ocasionados pelas ninfas de 3º e 4º ínstars (Mc PHERSON et al., 1979).

2.2.2.1 Biologia de *N. viridula*

O adulto de *N. viridula* mede de 12 a 17 mm de comprimento, de coloração verde, às vezes escura e fase ventral verde clara. As formas jovens têm coloração preta com manchas vermelhas e amarelas e tem hábito de aglomerar-se sobre a planta. A fêmea faz a postura na face interior das folhas ou nas partes mais abrigadas da planta e cada uma oviposita até 200 ovos, agrupados em placas hexagonais, de coloração amarelada. O ciclo médio é de 46 dias, e os adultos tem uma longevidade entre 60 e 70 dias (GALLO et al. 2002., SOSA-GÓMEZ, 2010).

A espécie é polífaga e no norte do Paraná completa três gerações em soja, de dezembro a abril. Posteriormente, utiliza várias plantas hospedeiras até completar seis gerações e novamente, colonizar a soja. No sul do Paraná, em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul, após a colheita da soja, hiberna sob casca de árvores e outros abrigos, trocando de cor, passando do verde para castanho arroxeadado (SOSA-GÓMEZ, 2010).

2.3 TEGUMENTO

O tegumento é a camada exterior do inseto, que compreende a epiderme e a cutícula. A cutícula é uma característica específica de artrópodes e é, em grande parte, responsável pelo sucesso dos insetos como animais terrestres (CHAPMAN, 1998). Suas principais funções são: proteção mecânica, química e biológica, evitar a perda excessiva de água, possibilitar a sustentação dos músculos e órgãos e ligar as pernas, asas e outros apêndices (GALLO et al., 2002).

A membrana basal é uma camada de polissacarídeos secretada por hemócitos (células do sangue); separa a epiderme do hemocele. Nervos e traquéias, necessários para o

funcionamento do tegumento, penetram a membrana basal e correm entre esta e a epiderme (GALLO et al., 2002). Os principais componentes são proteínas fibrosas, colágeno, glicoproteínas e glicosaminoglicanos. Os últimos são polímeros de dissacarídeos constituídos de amino-açúcar e porções de ácido úrico (CHAPMAN, 1998).

A epiderme é uma camada simples de células epiteliais poligonais secretoras, entremeadas com células especializadas de vários tipos. É responsável pela formação de toda a cutícula. Por ocasião da ecdise, tornam-se muito ativas, produzindo enzimas que digerem as partes da velha cutícula e o material que formará a nova. As glândulas dérmicas são inclusões epidérmicas responsáveis pela produção da camada de cimento da epicutícula (tetocutícula). Tipicamente consiste de uma estrutura vacuolada chamado duto da glândula dérmica (GALLO et al., 2002).

Os enócitos são inclusões epidérmicas, conhecidas apenas nos insetos, originados por diferenciação das células epidérmicas, eles são produtores de uma proteína conjugada (lipoproteína), que forma a camada de cuticulina, a mais interna das camadas da epicutícula. Os tricógenos ou sensílios tricóides são inclusões epidérmicas responsáveis pelo senso tátil e audição, e são numerosos no corpo do inseto. Fundamentalmente o tricógeno consta de uma seta, que é o processo cuticular externo da célula tricógena (GALLO et al., 2002).

A cutícula é a secreção da epiderme e cobre toda a parte exterior do corpo do inseto, assim como revestimento ectodérmico, invaginações como estomodeu, proctodeu e traqueias. Diferencia-se em duas regiões, uma interna, até 200 μm de espessura caracterizada pela presença de quitina e forma a cutícula grossa (procutícula), e a epicutícula exterior fina, 1-4 μm de espessura que não contém quitina (CHAPMAN, 1998).

A epicutícula consta, de dentro para fora da camada de cuticulina, secretada pelos enócitos, da camada de polifenóis e da camada de ceras, derivadas diretamente de secreções das células epidérmicas. Nela ao contrário da procutícula, não há presença de quitina. A principal função da epicutícula é funcionar como barreira à perda de água por evaporação através do tegumento, especialmente durante a ecdise. A procutícula ou cutícula quitinosa está colocada diretamente abaixo da camada epicuticular. Ela é composta da exocutícula e da endocutícula, tendo ambas em sua composição, o glucosamino quitina, que está sempre associado com proteínas e outros materiais complexos (GALLO et al., 2002). As nanofibras de quitina altamente cristalina estão embebidas numa matriz de proteína, polifenóis e água com pequenas quantidades

de lipídeos. A quitina é um polissacarídeo completamente acetilado como a celulose (VICENT e WEGST, 2004).

2.3.1 Biossíntese de Quitina

A quitina é o maior componente da cutícula, um dos polímeros naturais mais abundantes nos artrópodes que serve como polissacarídeo esquelético na cutícula e na matriz peritrófica do intestino médio (VAN LEEUWEN et al., 2012). É composto de unidades de *N*-acetil-D-glucosamina ligados por β -(1-4) (Figura 2). Polímeros individuais sintetizados intracelularmente pela quitina sintetase (QS), uma ligada à membrana glicosil transferase, são translocados através da membrana plasmática e coalescem para formar os cristais rígidos. Microfibrilas de quitina estão ligadas as outras, principalmente por pontes de hidrogênio, mas não sempre. A enzima quitina sintetase (QS1A) na cutícula transfere moléculas de *N*-acetil-D-glucosamina para construir a cadeia de polímeros (KRAMER e MUTHUKRISHNAN, 2005; COHEN 2010)

A síntese de quitina depende da ação da enzima quitina sintetase extra-celular ligada à membrana plasmática. No entanto, esta enzima é produzida como um zimógeno (inativo) no retículo endoplasmático da epiderme e tem que ser ativado por proteases de síntese de quitina (HEPBURN, 1985). Uma vez que as proteases são importantes na ativação de zimógenos de síntese de quitina, estas enzimas tornam-se em alvos potenciais na regulação por certos compostos, juntamente com outros processos reguladores chave da biossíntese de quitina (TUNAZ; UYGUN, 2004).

A formação da quitina pode ser dividida em três fases. Na primeira, o domínio catalítico das enzimas voltado para o citoplasma forma o polímero. A segunda fase envolve a translocação do polímero nascente através da membrana e sua liberação para o espaço extracelular. Na terceira fase completa-se o processo com polímeros individuais, espontaneamente se reúnem para formar microfibrilas cristalinas. Em reações subsequentes as microfibrilas combinam com outros açúcares, proteínas, glicoproteínas e proteoglicanos para formar septos e paredes celulares de fungos, assim como cutícula e matriz peritrófica de artrópodes (MERZENDORFER, 2006).

2.4 CRESCIMENTO, ECDISE E METAMORFOSE DE INSETOS

O crescimento do inseto é descontínuo, pelo menos as partes cuticulares esclerotizadas do corpo, porque a cutícula rígida limita a expansão. O aumento de tamanho ocorre pela muda periódica, formação da nova cutícula com maior área de superfície e a descamação da cutícula velha (GULLAN; CRANSTON, 2005).

A ecdise é o fenômeno de mudança de tegumento dos artrópodes, é regulada por hormônios. Nesse processo as células epidérmicas, se tornam grandemente aumentadas, separam-se inicialmente da cutícula velha por processos citoplasmáticos (apólise), pela tensão gerada, forma um espaço entre a epiderme e a cutícula chamado de espaço exuvial ou subcutânea. Inicialmente os enócitos secretam a camada de cuticulina da epicutícula. A camada de cuticulina é percorrida por extensões filamentosas dos canais de poro. As camadas de polifenóis e de ceras, produzidas pelas células epidérmicas, aparecem então da abertura dos canais de poro (CHAPMAN, 1998).

A camada de cimento é secretada por glândulas dérmicas, e colocada sobre a superfície da camada de cera logo após o início da muda. Enquanto a formação da epicutícula está sendo completada, a procutícula está sendo formada. Tanto a exocutícula como a endocutícula são produzidas diretamente pelas células epidérmicas, a partir das reservas do tecido gorduroso na forma de glicogênio e proteínas (GALLO et al., 2002).

Na ecdise, o velho tegumento é digerido por enzimas contidas no fluido da ecdise produzido pelas células epidérmicas. Este aparece ocupando o espaço subcuticular após a formação da nova epicutícula. A função do fluido da ecdise é digerir e dissolver as camadas mais internas da velha cutícula. O fluido da ecdise ataca somente a endocutícula, que, como regra geral, é completamente degradada; a exocutícula e a epicutícula não são, e formam a exúvia, que é descartada a cada muda. A endocutícula degradada é quase toda reabsorvida. Essa reabsorção, bem como o fluido da ecdise, ocorre antes que o inseto inicie a muda (GALLO et al., 2002; GULLAN, CRANSTON, 2005).

O mecanismo da muda inicia-se com o rompimento do velho tegumento ao longo da linha de ecdise, que se inicia na sutura epicranial e se estende ao longo do dorso do inseto, por onde a cutícula velha se solta mais rapidamente por ocasião da muda, resultante do aumento da pressão da hemolinfa. O inseto despoja-se da sua cutícula velha e expande suas asas e

o corpo devido a contrações de músculos abdominais, concentrando assim o seu hemolinfa na cabeça e no tórax. A pressão assim criada abre a cutícula ao longo da linha da ecdise, e o inseto vagorosamente dirige-se para fora do velho tegumento (GALLO et al., 2002; GULLAN, CRANSTON, 2005).

O processo é ajudado pela contração permanente de sua musculatura, mantendo alta a pressão do sangue. A cutícula nova é geralmente incolor e mole, necessitando ser endurecida e escurecida, o que ocorre depois de algumas horas. Esses processos são controlados por mecanismos hormonais. O escurecimento deve-se principalmente à pigmentação que aparece na camada de polifenóis da epicutícula, é o endurecimento e consequência da formação do complexo quitina-proteína que é altamente refratário (GULLAN, CRANSTON, 2005).

2.5 CONTROLE DA METAMORFOSE EM INSETOS

No desenvolvimento de um inseto, a forma do novo estágio é determinada pelo tempo de retração da epiderme (apólise), quando esta começa a depositar a nova cutícula. O ínstar é a duração de uma retração à seguinte. A apólise é seguida por uma fase farata, na qual o novo estágio é envolto pela cutícula do velho, essa fase termina com a ecdise. A cutícula velha descartada a cada ecdise e denominada exúvia (GALLO et al., 2002).

Nos hemípteros, ocorre uma metamorfose parcial ou incompleta (hemimetabolia), caracterizada pela ausência da fase de pupa. As fases em desenvolvimento são chamadas de formas jovens, imaturas ou ninfas. O inseto recém eclodido assemelha-se ao adulto com a diferença externa de tamanho, ausência de asas e órgãos genitais imaturos (GALLO et al., 2002).

O controle da metamorfose e da ecdise é de natureza hormonal, isto é, esses fenômenos são governados por hormônios endócrinos produzidos por glândulas desprovidas de duto próprio (glândulas endócrinas), que lançam suas secreções na hemolinfa. Os principais hormônios envolvidos são: protorácico-trópico, ecdisteróides, da eclosão, juvenil e bursiscônio (GALLO et al., 2002; GULLAN, CRANSTON, 2005).

O hormônio protorácico-trópico, anteriormente conhecido como hormônio do cérebro, é um polipeptídeo produzido por células nervosas com função secretora (células neurosecretoras) em uma região do protocérebro conhecida como pares intercerebrais. Antes de

ser liberado na hemolinfa, esse hormônio é armazenado em um par de glândulas retrocerebrais chamadas corpos cardíacos. A principal função do hormônio protorácico trópico é estimular as glândulas protorácicas a produzir os ecdisteróides (GALLO et al., 2002; GULLAN, CRANSTON, 2005).

Os ecdisteróides são esteróis com atividade promotora da ecdise, produzidas pelas glândulas protorácicas, localizada na parte posterior da cabeça ou no tórax da maioria dos insetos. Em geral, a conexão nervosa dessas glândulas se dá com o gânglio subesofágico. O ecdisteróide mais comum é o ecdicônio, que não é armazenado na glândula protorácica. Seu aparecimento na hemolinfa é reflexo imediato de sua síntese na glândula ativada pelo hormônio protorácico-trópico. As glândulas protorácicas degeneram-se no estágio adulto, exceto em Apterygota, cujos representantes sofrem ecdises continuamente no decorrer de sua vida (GALLO et al., 2002).

O Hormônio da eclosão é um polipeptídeo com agrupamento ácido produzido pelas células neurosecretoras do cérebro e armazenado no corpo cardíaco. No último ínstar, esse hormônio é também sintetizado e armazenado nos gânglios torácicos e abdominais. Regula o comportamento do inseto durante as ecdises (GALLO et al., 2002). Os ecdisteróides e o hormônio juvenil (HJ) são lipofílicos e passam facilmente através das membranas celulares, ligam-se com as proteínas receptoras específicas dentro da célula causando diretamente a ativação ou inativação de genes e a síntese de novas proteínas (CHAPMAN, 1998).

O HJ neotenim é um sesquiterpeno produzido pelo par de glândulas retrocerebrais chamadas corpos alados, presentes em cada lado do esôfago. Estão conectados com o corpo cardíaco a partir do mesmo nervo que parte das células neurosecretoras do cérebro. Há também uma conexão nervosa entre o corpo alado e o gânglio subesofágico. O HJ é liberado na hemolinfa a partir do corpo alado à medida que é produzido, não sendo armazenado. Interfere nos estádios imaturos, sendo responsável pela manutenção dos caracteres larvais ou ninfais dos insetos. No estágio adulto, esse hormônio apresenta importância na maturação sexual e comportamento (CHAPMAN, 1998; GALLO et al., 2002).

O hormônio bursicônio é um polipeptídeo produzido pelas células neurosecretoras do cérebro, geralmente liberado por órgãos neuroemais associados a gânglios torácicos e abdominais, responsável pelo escurecimento, endurecimento da cutícula e a deposição da endocutícula no novo tegumento e expansão das asas (GALLO et al., 2002; LUO et al., 2005).

As células de epiderme devem receber informações para que novos tecidos sejam formados a cada ecdise. Na fase preparatória da ecdise, as células da epiderme exibem um padrão complexo de síntese de DNA e RNA. O nível dos hormônios envolvidos na ecdise varia de acordo com o desenvolvimento do inseto. Com o aumento do ecdisônio, ocorre o processo de apólise e as células da epiderme produzem a epicutícula. O tipo de cutícula a ser produzido (se larval ou ninfal, pupal no caso de insetos holometabólicos ou de adulto) depende da presença ou não do hormônio juvenil durante o período crítico de cada estágio de desenvolvimento. Se o hormônio juvenil está presente, o inseto mantém suas características jovens, impedindo que sofra metamorfose precoce. Caso contrário, passa para fase adulta em insetos hemimetabólicos ou para fase de pupa em insetos holometabólicos (GALLO et al., 2002).

2.6 APARELHO BUCAL (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

O aparelho bucal dos hemípteros pentatomídeos compreende mandíbulas e maxilas modificadas em forma de agulha (estiletos) alojada na ranhura do lábio, sendo o conjunto denominado rostro ou tromba. O conjunto de estiletos forma dois canais, um salivar e um alimentar (Figura 5 e 7). As peças bucais dos insetos sugadores formam um tubo através do qual o líquido é dirigido para a boca (GULLAN; CRANSTON, 2005).

Os músculos do cibário ou faringe são fortemente desenvolvidos para formar uma bomba. Os estiletos podem deslizar livremente mantendo a integridade do canal alimentar e salivar. Os estiletos mandibulares são estruturas penetrantes com a ponta farpada. O lábio é segmentado permitindo dobrar e penetrar os estiletos no hospedeiro. Não há palpos, já que são hemimetábolos, as ninfas e adultos têm o mesmo hábito alimentar sugador (GULLAN; CRANSTON, 2005).

2.7 APARELHO REPRODUTOR

O sistema reprodutor consiste de glândulas sexuais pareadas de origem endodérmica, os ovários da fêmea e os testículos do macho, gonodutos pareados, também de mesma origem, nos quais os produtos sexuais são descarregados, e um duto mediano coberto com cutícula de origem ectodérmica, formando a vagina na fêmea e o canal ejaculador no macho, além de estruturas acessórias (GALLO et al., 2002).

2.7.1 Aparelho Reprodutor Feminino

Os componentes básicos do aparelho reprodutor feminino são pares de ovários, os quais liberam seus oocitos maduros (ovos) através dos cálices para os ovidutos laterais, que se unem para formar o oviduto comum ou mediano. O gonóforo, abertura do oviduto comum normalmente está escondido em uma inflexão da parede do corpo que forma a câmara genital que serve de bolsa copulatória durante o acasalamento conhecida como bursa copulatrix. A sua abertura externa é a vulva que com a câmara genital formam a vagina (GULLAN; CRANSTON, 2005).

Há ainda uma estrutura chamada espermateca, que recebe e armazena os espermatozóides durante o intervalo entre a cópula e a fecundação do óvulo, e glândulas acessórias, responsáveis pela secreção que serve para unir os ovos (GALLO et al., 2002).

2.7.2 Aparelho Reprodutor Masculino

Morfológicamente, o trato masculino consiste de um par de testículos, cada qual contendo uma série de túbulos ou folículos testiculares, nos quais os espermatozóides são produzidos e que se abrem separadamente em dutos espermáticos chamados de vasos deferentes, os quais alargam-se para formar um órgão de armazenamento de espermatozoides, ou vesícula seminal. Os pares de vasos deferentes unem-se no local onde eles levam ao ducto ejaculatório, que é derivado da ectoderme, o tubo que transporta o sêmem para o gonóforo (GULLAN E CRANSTON, 2005)

Cada testículo é um corpo oval parcial ou completamente dividido em folículos testiculares. Cada folículo é ligado por um vaso deferente. Em muitos insetos há um revestimento peritoneal que envolve cada testículo, chamado escroto (GALLO et al., 2002).

2.8 INSETICIDAS DESREGULADORES DO CRESCIMENTO

Os inseticidas disruptores ou desreguladores do crescimento (IDCs), anteriormente denominados, inseticidas reguladores de crescimento (IRC), são produtos químicos (sintéticos ou orgânicos) que interferem em processos fisiológicos, bioquímicos ou

moleculares, envolvidos no crescimento, desenvolvimento e reprodução normal dos insetos ou artrópodes específicos (PENER; DHADIALLA, 2012).

Os IDCs possuem mecanismos de ação específicos que perturbam a fisiologia e desenvolvimento de insetos-pragas e são pouco tóxicos para organismos não alvos, tornando-os ideais para combinar com agentes de controle biológico e também para contornar a resistência à inseticidas (DHADIALLA et al., 2005). Podem ser classificados de acordo ao seu mecanismo de ação em: inibidores de biossíntese de quitina (IBQ) que age na formação da cutícula e substâncias que interferem na atividade hormonal dos insetos: hormônios juvenis (JHs) e ecdisteróides (TUNAZ; UYGUN, 2004).

Do ponto de vista químico, existem dois grupos de IBQs, as benzoilfenil uréias, e componentes não relacionados com as benzoilfenil uréias. Estritamente falando, alguns desses últimos não inibem a síntese de quitina, mas interrompem a deposição normal da cutícula. Entretanto, são comumente categorizados e chamados como IBQs (PENER; DHADIALLA, 2012).

2.8.1 Inibidores de Biossíntese de Quitina

Os IBQ inibem a síntese de quitina e, portanto, com a deposição da nova cutícula, forma-se uma cutícula anormal que leva ao inseto suscetível à morte após a muda (PENER; DHADIALLA, 2012). Também podem afetar posturas e a fecundidade dos insetos (ACHEUK et al. 2012). A cutícula serve como uma interface entre o inseto e seu ambiente, constitui seu exoesqueleto, apoiando o revestimento do intestino, sistemas respiratórios, dutos reprodutivos e alguns dutos de glândulas. Além das cutículas de insetos e crustáceos, a quitina está presente em paredes celulares dos fungos e protozoários, mas está ausente em vertebrados e plantas superiores (TUNAZ; UYGUN, 2004).

O primeiro IBQ, benzoilfenil uréia foi descoberto por casualidade, no início de 1970 pela Philips-Duphar Company. O componente foi codificado como DU-19111, obtido pela combinação de dois herbicidas, dichlobenil e diuron (RETNAKARAN et al. 1985), mas não foi comercializado. A companhia sintetizou e testou vários derivados, um deles, chamado 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) uréia, foi desenvolvido como o primeiro IBQ, com o nome de diflubenzurom e com o nome comercial Dimilin (PENER; DHADIALLA, 2012). Nesse grupo

existem vários outros produtos tais como: novaluron etoxazole, bistrifluron, chlorfluazuron ou hexaflumuron, flufenoxuron, teflubenzuron, etc., mas aqui detalharemos apenas os produtos utilizados neste estudo.

Certos IDCs que afetam a síntese de quitina e ou a formação normal da cutícula durante o período da inter-muda não são quimicamente relacionados com as benzoilfenil uréias. Buprofezin, (Z)-2-ter-butylimino-3-isipropyl-5-phenyl-1,3,5-thiadiazinan-4-um, foi o primeiro de tais compostos, desenvolvido e comercializado pela Nihon Nohyaku Co. Com o código NNI-750 e nome comercial Applaud (KANNO et al., 1981; UCHIDA et al., 1985). Apesar de sua diferença química com as benzoilfenil uréias, parecem atuar semelhantemente aos IBQs. Dois componentes que podem ser considerados inibidores da muda pela interferência na formação da cutícula são cyromazine e dicyclanil. Por exemplo, cyromazine parece não inibir a síntese de quitina ou proteínas da cutícula, mas seu modo de ação ainda é desconhecido (PENER; DHADIALLA, 2012).

2.8.1.1 Lufenurom

O lufenurom é um IDC, benzofenilureia que atua na inibição da biossíntese de quitina, interfere na formação e deposição da quitina da cutícula interrompendo a metamorfose (Figura 8). Age como larvicida e ovicida, podendo também reduzir a fecundidade, fertilidade e longevidade dos insetos. O lufenurom afeta a reprodução, reduz a fecundidade e causa esterilidade diminuindo a eclosão dos insetos. Os estudos atribuem esses efeitos às modificações morfológicas no aparelho reprodutor, interferência na vitelogênese, redução testicular e incapacidade de transporte de esperma. Este produto pode ser mais seletivo a insetos benéficos e de baixa toxicidade para mamíferos, seu emprego é mais racional que outros inseticidas sintéticos (COHEN, 2001; MORIELLO et al., 2004; SÁENZ-DE- CABEZÓN et al., 2006).

2.8.1.2 Diflubenzurom

O diflubenzurom é um inseticida químico conhecido há vários anos por inibir a síntese de quitina de insetos e outros artrópodes (ABO-ELGHAR et al., 2004). Inibe o processo de incorporação de N-acetilglucosamina na cutícula dos insetos, sendo o receptor da sulfonilureia

o provável local alvo do diflubenzurom para causar a inibição da síntese de quitina (Figura 9). Foi demonstrado que causa despolarização das vesículas da membrana através da inibição dos canais de K^+ , o que leva a inibição da síntese de quitina (MATSUMURA, 2010). Além disso, genes envolvidos codificando enzimas no metabolismo da quitina são afetados, reduzindo a quantidade de quitina na cutícula quando tratados com diflubenzurom (MERZENDORFER et al., 2012).

2.8.2 Análogo Do Hormônio Juvenil

O hormônio juvenil (HJ) é secretado por glândulas endócrinas, a *corpora allata* (CA), e regula a metamorfose dos insetos (GOODMAN; GRANGER, 2005).

2.8.2.1 Piriproxifem

O piriproxifem é um mímico do HJ (Figura 10), foi primeiramente registrado no Japão em 1991 para o controle de mosquitos (MIYAMOTO, 1993). As aplicações do piriproxifem causam desbalanço dos níveis de HJ no inseto, resultando em forte supressão da embriogênese, metamorfose, formação do adulto e esterilidade em vários insetos pragas (ABO-ELGHAR et al., 2004; LIU, 2003). Também foi demonstrado que a aplicação de piriproxifem sobre *Brachynema germari* Kol (Hemiptera: Pentatomidae) diminui a alocação de energia celular, sendo os lipídeos e carboidratos totais afetados (BAGHERI et al., 2010).

2.8.3 Agonista Do Ecdisônio

2.8.3.1 Metoxifenosida

O metoxifenosida é um ecdisteróide desenvolvido pela companhia Rohm e Haas (MOSALLANEJAD; SMAGGHE, 2009), um composto acelerador da muda, atua como um agonista dos receptores de 20-hidroxiecdisona em lepidópteros-praga (Figura 11). Os sintomas de intoxicação aguda incluem o retardamento larval, mandíbulas fundidas, escurecimento cuticular e perda de hemolinfa (MOULTON et al., 2002). O composto 20-hidroxiecdisona é um dos

hormônios mais ativos nos insetos, atuando em todas as fases de crescimento para regular a muda e metamorfose. Desempenha um papel crucial no desenvolvimento dos insetos e teoriza-se que seus agonistas ou antagonistas podem perturbar processos fisiológicos das pragas (OBERLANDER; SMAGGHE, 2001; YANAGI et al., 2006).

3 ARTIGO A: MORTALIDADE DE *EUSCHISTUS HEROS* (F.) E *NEZARA VIRIDULA* (L.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE] POR INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO

3.1 RESUMO

O percevejo-marrom-neotropical *Euschistus heros* (F.) e o percevejo-verde *Nezara viridula* (L.) são as pragas sugadoras mais importantes da soja que prejudicam quantitativa e qualitativamente seus grãos e sementes, ocasionando perdas econômicas. O objetivo do trabalho foi avaliar a mortalidade de ninfas de 4º e 5º instar de *E. heros* ocasionada por inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs), assim como determinar as concentrações letais (CL_{50} e CL_{90}) e tempos letais (TL_{50} e TL_{90}) para ninfas de 4º instar de *E. heros* e *N. viridula*. No primeiro bioensaio, testaram-se dois inseticidas do grupo dos inibidores de biossíntese de quitina (IBQ): lufenurom ($2L.100L^{-1}$) e diflubenzurom ($90g.100L^{-1}$); um análogo do hormônio juvenil (AHJ): piriproxifem ($2L.100L^{-1}$) e um agonista do ecdisônio (AE): metoxifenosida ($1,25L.100L^{-1}$) sobre ninfas de 4º e 5º instar de *E. heros* utilizando torre de Potter. No segundo bioensaio, a partir da seleção anterior, determinaram-se as CL_{50} e CL_{90} e TL_{50} e TL_{90} utilizando concentrações de lufenurom: 0, 25, 50, 100, 150, 200, 250 $ml.100 L^{-1}$; diflubenzurom: 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 $g.100 L^{-1}$ e piriproxifem: 0, 750, 1200, 1650, 2100, 2250, 3000 $ml.100 L^{-1}$ sobre grupos de 40 ninfas de *E. heros* e 40 de *N. viridula* ambas de 4º instar. A mortalidade foi avaliada diariamente durante dez dias em ambos os bioensaios. As CL_{50} e CL_{90} e TL_{50} e TL_{90} foram estimadas através de Probit. Os resultados do primeiro bioensaio indicam que as maiores mortalidade de ninfas de 4º e 5º de *E. heros* ocorreram quando os insetos entraram em contato com lufenurom (78,8%) e diflubenzurom (62,9%), seguidos por piriproxifem (52,8%) e metoxifenoizida (40,9%). No segundo bioensaio, ninfas de 4º instar de *N. viridula* foram mais sensíveis que *E. heros* aos IDCs. Os efeitos deletérios dos IBQ tais como alterações da cutícula, perda de hemolinfa e inibição da alimentação foram mais evidentes em comparação ao AHJ e AE. Maiores concentrações dos IDCs, aumentam a mortalidade de ninfas e diminuem o TL_{50} e TL_{90} . Assim os IBQ provocaram maiores mortalidades de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* em comparação ao AHJ e o AE.

Palavras-chave: Hemiptera, Metamorfose, Anormalidades, Sistema endócrino.

3.2 ABSTRACT

The brown stink bug *Euschistus heros* (F.) and green stink bug *Nezara viridula* (L.) are the most important soybean sucking pests, affecting quantitatively and qualitatively grains and seeds, causing economic losses. The objective of this study was to evaluate the mortality of *E. heros* nymphs of 4th and 5th instars caused by insect growth disruptors (IGDs) and determine their lethal concentrations (LC_{50} and 90) and lethal time (LT_{50} and 90) to *E. heros* and *N. viridula* 4th instars nymphs. In the first bioassay, we tested two insecticides of chitin synthesis inhibitors (CSIs) group: lufenuron (2 L.100L^{-1}) and diflubenzuron (90 g.100 L^{-1}); a juvenile hormone analogue (JHA): pyriproxyfen (2 L.100L^{-1}) and an edycsone agonist (EA): methoxyfenozide ($1,25 \text{ L.100L}^{-1}$) on *E. heros* nymphs of 4th and 5th instars in Potter tower. In the second bioassay LC_{50} and 90 and TL_{50} and 90 were determined, using concentrations of: lufenuron - 0, 25, 50, 100, 150, 200, 250 ml.100L^{-1} ; diflubenzuron - 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120 g.100L^{-1} and pyriproxyfen - 0, 750, 1200, 1650, 2100, 2250, 3000 ml.100L^{-1} that were applied on 40 *E. heros* and 40 *N. viridula* nymphs of 4th instar. Mortality was evaluated daily for ten days. The CL_{50} and 90 and TL_{50} and 90 were estimated by Probit analysis. The results showed a highest mortality of *E. heros* of 4^o and 5^o instar treated with: lufenuron (78.8%) and diflubenzuron (62.9%), followed by pyriproxyfen (52.8%) and methoxyfenozide (40.9%). Nymphs of *N. viridula* were more sensitive than *E. heros* to IDCs. The deleterious effects of CSIs such abnormality of the new cuticle, hemolymph loss and inhibition of food were more accentuated when compared to JHA and EA. Higher concentrations of IGDs, increase mortality and decrease LT_{50} and 90 for nymphs. Thus the CSIs caused higher mortality of *E. heros* and *N. viridula* nymphs compared to JHA and EA.

Key-words: Hemiptera, Metamorphosis, Abnormalities, Endocrine system.

3.3 INTRODUÇÃO

O percevejo-marrom-neotropical *Euschistus heros* (F.) e o percevejo-verde *Nezara viridula* (L.) são pragas sugadoras importantes da soja que prejudicam quantitativa e qualitativamente seus grãos e sementes, ocasionando perdas econômicas aos produtores. Para reduzir suas populações utilizam-se continuamente inseticidas sintéticos de alta toxicidade, em doses elevadas, muitas vezes, com o mesmo mecanismo de ação (SOSA GÓMEZ; SILVA, 2010). Seu uso indiscriminado exerce uma pressão de seleção de populações resistentes, dificultando seu controle.

A diminuição das aplicações de inseticidas na fase vegetativa da soja, pela utilização de cultivares que produzem toxinas *Cry* pode favorecer a ocorrência de inimigos naturais de lepidópteros e hemípteros pragas. Todavia, o principal alvo de manejo são os percevejos no estágio reprodutivo. Embora os adultos sejam mais visíveis na cultura, estudos tem mostrado que, durante a floração e maturação, 72% da população é composta por ninfas que causam prejuízos semelhantes aos dos adultos (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009). Assim, deve-se priorizar o emprego de produtos de baixa toxicidade e estratégias que reduzam essa população, já que seus danos justificam, além da maior facilidade de controle das ninfas em comparação com os adultos.

Os inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs), como os inibidores de biossíntese de quitina (IBQ), análogos do hormônio juvenil (AHJ) e agonista do ecdisônio (AE), interrompem o desenvolvimento normal das formas jovens de artrópodes (PENNER; DHADIALLA, 2012). Não afetam os mamíferos, são ambientalmente mais seguros e relativamente seletivos a organismos benéficos. Estes, tradicionalmente, são empregados no controle de larvas e ninfas. Com tudo, estudos recentes têm mostrado resultados promissores para o controle de ninfas de percevejos pentatomídeos (BAGHERI et al., 2010; ROGGIA et al., 2011).

O lufenurom (RS)-1-[2,5-dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy) phenyl] -3-(2,6-difluorobenzoyl) uréia, nome comercial Match 5%, do grupo da benzofenilureia é um IBQ que interfere na formação e deposição da quitina da cutícula, interrompendo a metamorfose. Age como larvicida e ovicida, afeta a reprodução reduzindo a fecundidade, fertilidade e longevidade dos insetos. Os estudos atribuem esses efeitos às modificações morfológicas no aparelho reprodutor, interferência na vitelogenese, redução testicular e

incapacidade de transporte de esperma. Este produto é mais seletivo a organismos benéficos e de baixa toxicidade para mamíferos, cujo emprego é mais racional que outros inseticidas sintéticos (COHEN, 2001; MORIELLO et al., 2004; SÁENZ-DE-CABEZÓN et al., 2006).

O diflubenzurom [1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea], nome comercial Dimilin 80WG é um IBQ que inibe a síntese de quitina de insetos e outros artrópodes (ABO-ELGHAR et al., 2004). Inibe o processo de incorporação de N-acetilglucosamina na cutícula dos insetos, provavelmente no receptor da sulfonilureia causando a inibição da síntese de quitina. Causa despolarização das vesículas da membrana através da inibição dos canais de K^+ , o que inibe a síntese de quitina (MATSUMURA, 2010). Genes envolvidos codificando enzimas no metabolismo da quitina são afetados, reduzindo a quitina na cutícula quando tratados com diflubenzurom (MERZENDORFER et al., 2012).

O piriproxifem [4-fenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether], nome comercial: Tiger 100CE, é um agonista do HJ, utilizado para o controle de mosca branca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae). As aplicações do piriproxifem causam desbalanço dos níveis de HJ no inseto, resultando em forte supressão da embriogênese, metamorfose, formação do adulto e esterilidade em vários insetos pragas (ABO-ELGHAR et al., 2004; LIU, 2003). Também foi demonstrado que a aplicação de piriproxifem sobre *Brachynema germari* Kol (Hemiptera: Pentatomidae) diminuiu a alocação de energia celular, sendo os lipídeos e carboidratos totais afetados (BAGHERI et al., 2010).

O metoxifenoazida [N-terc-butyl-N'-(3-methoxy-o-toluoyl)-3,5-xilohidrazida], nome comercial Intrepid 240 SC, é um ecdisteróide (MOSALLANEJAD; SMAGGHE, 2009), acelerador da muda, atua como um agonista dos receptores de 20-hidroxiecdisona em lepidópteros pragas. Os sintomas de intoxicação aguda incluem o retardamento do estágio larval, mandíbulas fundidas, escurecimento cuticular e perda de hemolinfa (MOULTON et al., 2002). O composto 20-hidroxiecdisona é um dos hormônios mais ativos nos insetos, atuando em todas as fases de crescimento para regular a muda e metamorfose. Sua função é crucial no desenvolvimento dos insetos e teoriza-se que seus agonistas ou antagonistas podem perturbar processos fisiológicos das pragas (OBERLANDER; SMAGGHE, 2001; YANAGI et al., 2006).

Pelas características e vantagens descritas dos IDCs, este estudo propõe a utilização destes inseticidas com mecanismos de ação distintos aos utilizados convencionalmente para o controle de percevejos, como uma estratégia que pode ser introduzida no MIP,

contribuindo para o manejo da resistência. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência dos IDCs no controle de ninfas de *E. heros* e *N. viridula*, determinando suas concentrações letais cinquenta e noventa (CL_{50} e 90) e tempos letais cinquenta e noventa (TL_{50} e 90).

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Obtenção e Criação Dos Insetos

Adultos e ninfas de *E. heros* e *N. viridula* provenientes do laboratório de criação de percevejos da Embrapa Soja (23°11'37" latitude Sul, 51°11'03" longitude Oeste e altitude de 630 metros) e da lavoura de soja da fazenda escola da UEL Universidade Estadual de Londrina UEL, 23°20' de latitude Sul e 51°13' de longitude Oeste foram criados em condições de ambiente controlado em câmara climatizada (25±1°C, UR=65±5% e 14 h de fotofase). Foram alimentados com vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae), frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* L.) (Oleaceae) e água através de algodão umedecido, trocando-se a cada três dias. A partir da segunda geração (F₂) utilizou-se ninfas de 4° e 5° ínstars de *E. heros* para o bioensaio um e ninfas de 4° instar de *E. heros* e *N. viridula* para o bioensaio dois. Todo o *screening* inicial foi realizado com a espécie *E. heros*, e posteriormente, com as espécies *E. heros* e *N. viridula*.

3.4.2 Bioensaio um. Seleção dos IDCs Eficientes na Mortalidade de Ninfas de 4° e 5° instar de *e. heros* em Laboratório

Inicialmente foram testados os efeitos dos IDCs sobre ninfas do percevejo-marrom-neotropical *E. heros*. A unidade experimental foi constituída por uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 10 ninfas, cinco de 4° e cinco de 5° instar de *E. heros*, alimento e algodão umedecido, com quatro repetições.

Para os tratamentos utilizaram-se dois inseticidas do grupo dos inibidores de biossíntese de quitina (IBQ): lufenurom (2L.100L⁻¹ Mach 50 CE) e diflubenzurom (90g.100L⁻¹ de Dimilim 250 PM). Um análogo do hormônio juvenil (AHJ) piriproxifem (2L.100L⁻¹ de Tiger 100 CE) e um agonista do hormônio da ecdise (AE): metoxifenosida (1,25L.100L⁻¹ Intrepid 240 SC).

As concentrações foram escolhidas de acordo as recomendações para *Anticarsia gemmatalis*, *Heliothis virescens* e *Bemisia tabaci*, duplicando se as concentrações recomendadas de modo a garantir os efeitos deletérios dos IDCs sobre as ninfas dos percevejos.

Os inseticidas foram pulverizados em torre de Potter automática (*Burkard Scientific*), calibrada a 10 lb.pol² de pressão, utilizando-se 2 mL de calda por aplicação/repetição, com deposição suficiente para cobrir os insetos e alimento sem ocorrer escorrimento. Posteriormente, as placas contendo insetos com alimento foram colocadas em caixas plásticas de poliestireno cristal transparente tipo Gerbox de 11x11cm e acondicionados em câmara climatizada, nas mesmas condições descritas.

Antes da pulverização de cada produto, o bico de pulverização, o cilindro interno da torre, os funis e a mesa de aplicação foram lavados três vezes com álcool 90% e água destilada. As repetições da testemunha, pulverizadas primeiramente receberam somente água destilada. O primeiro jato de cada produto foi eliminado, para evitar a contaminação entre os tratamentos.

Foi adotado o delineamento experimental completamente ao acaso com quatro repetições. As avaliações foram realizadas diariamente durante dez dias após as aplicações, registrando-se a mortalidade dos indivíduos. Foi considerado morto o inseto que não apresentava movimento após o estímulo com pincel. Registraram-se as principais deformações morfológicas externas na cutícula, pernas, articulações, aparelho bucal e asas, caso atingissem a fase adulta. Também alterações na locomoção e alimentação.

A eficiência de controle foi calculada pela fórmula de Scheneider-Orelli considerando a mortalidade corrigida em relação à testemunha. Os dados foram transformados em raiz de $x+1$, submetidos à análise de variância e comparadas pelo teste de Skott-knott 5% de significância.

3.4.3 Bioensaio dois. Estimativa da CL_{50} e 90 e TL_{50} e 90

A partir dos resultados de mortalidade de ninfas de *E. heros*, aos 10 dias após a aplicação (DAA), obtidos no bioensaio um, selecionaram-se os produtos que apresentaram maior eficiência provocando mortalidade acima de 50% das ninfas em qualquer estágio ninfal (ninfas de 4º ínstar, passando de 4º para o 5º ínstar, de 5º ínstar e passando do 5º ínstar para a fase

adulta). Os inseticidas selecionados foram: lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem por ocasionar 79,30; 68,90 e 52,80% de mortalidade das ninfas, respectivamente.

Foram utilizadas sete concentrações, incluindo a testemunha. Para a escolha das concentrações utilizadas inicialmente determinou-se as que provocaram 10% e 90% de mortalidade, assim, as concentrações escolhidas para cada produto foram: para lufenurom: 0, 25, 50, 100, 150, 200, 250 mL.100L⁻¹; para diflubenzurom: 0, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 g.100L⁻¹, e para piriproxifem: 0, 750, 1200, 1650, 2100, 2250, 3000 mL.100 L⁻¹.

Ninfas de 4º instar de *E. heros* e *N. viridula* da geração F₂, provenientes da criação, foram pulverizadas junto ao alimento com cada uma das concentrações dos inseticidas, seguindo a mesma metodologia do bioensaio um. Cada unidade experimental foi constituída de uma placa de Petri contendo 10 ninfas em quatro repetições. A mortalidade foi registrada diariamente durante dez dias. A partir desses dados foi estimada a CL_{50 e 90} e TL_{50 e 90} para as ninfas de *E. heros* e *N. viridula*, através da análise de Probit usando o programa Polo Plus (LEORA SOFTWARE, 2002). As CLs foram estimadas a partir das mortalidades do sexto DAA, já que se ajustaram melhor ao modelo de Probit. A razão de tolerância foi calculada pelo quociente da CL₅₀ de cada inseticida para ambas as espécies de percevejos.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Bioensaio um. Seleção dos IDCs Eficientes na Mortalidade de Ninfas de 4º e 5º instar de *e. heros* em Laboratório

Entre os IDCs, os que foram mais eficientes na mortalidade de ninfas de *E. heros* de 4º e 5º instar, aos dez dias após a aplicação (DAA), foram os inibidores de biossíntese de quitina (IBQ): lufenurom (78,80%) e diflubenzurom (62,90%). Entretanto, análogo do hormônio juvenil (HJ), piriproxifem, e o agonista do ecdisônio (AE), metoxifenoizida, provocaram mortalidades de 52,80% e 40,90% respectivamente para ninfas de 4º e 5º instar (Tabela 1). Os que conseguiram atingir a fase adulta apresentaram deformações morfológicas levando-os a morte após o último dia de avaliação.

A morte dos percevejos tratados com os IBQ ocorreu em consequência das alterações na formação da nova cutícula, perda de hemolinfa e inanição decorrente provavelmente das deformações no aparelho bucal. Provavelmente, os efeitos deletérios dos IBQ tais como a interrupção da deposição ou a má formação da nova cutícula foram mais acentuados quando comparados com os análogos do HJ e AE. Mesmo considerando que estes dois últimos podem retardar ou acelerar o processo de muda, seus efeitos adversos causando alterações morfológicas das ninfas foram menores, possibilitando que as mesmas atinjam a fase adulta.

Entre as principais sequelas visíveis dos IBQ destacam-se restos de cutícula velha aderidos na região abdominal, pernas e tarsos, dificultando sua locomoção. As peças bucais apresentavam-se com restos de cutícula e possíveis deformações impedindo sua alimentação. A nova cutícula fina estava deformada com bolhas e com escorrimento de hemolinfa. Os percevejos moribundos ficavam na posição decúbito dorsal (aparelho bucal para cima) e os que conseguiam atingir a fase adulta, além dos sinais e sintomas já descritos, não tinham asas ou eram deformadas.

Os efeitos dos IBQs no crescimento, desenvolvimento, atividade alimentar e a mortalidade dos percevejos, observados neste estudo, confirmam os encontrados por Roggia et al., 2011. Ao testarem os IBQs diflubenzurom e lufenurom, estes autores verificaram os maiores efeitos negativos sobre ninfas de 5º ínstar de *E. heros*, porém, com mortalidades inferiores a 50% aos 10 DAA, provavelmente, pelas menores concentrações dos produtos utilizadas em relação a este estudo.

Os estudos realizados por Furiatti et al. (2009), em laboratório, também mostraram a eficácia do lufenurom superior a 80%, na mortalidade de ninfas de 5º ínstar de *N. viridula* em laboratório. Estes autores descreveram sinais e sintomas semelhantes aos encontrados neste experimento, tais como presença de restos de exocutícula aderida às ninfas, bolhas na cutícula, dificuldade de locomoção e incapacidade de ficar de pé. Nos EUA, López et al. (2008), verificaram que novalurom matou mais ninfas de 2º ínstar de *N. viridula* em comparação com as de 3º e 4º ínstars, sugerindo que as ninfas menores devem ser o alvo pela maior sensibilidade ao produto.

Tabela 1 - Eficiência de controle (%±EP) de ninfas de 4º e 5º instares de *Euschistus heros*, após a pulverização com inseticidas desreguladores de crescimento em laboratório (25 ± 1°C, 65±5% UR e 14 h de fotofase).

Tratamento	Eficiência (%±EP)* Dias Após a Aplicação									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lufenurom	2,5 ± 2,1 a	5,0 ± 2,8 a	7,7 ± 4,8 a	13,0 ± 4,6 a	13,0 ± 4,6 a	25,2 ± 6,2 a	27,7 ± 4,5 a	51,3 ± 12,3 a	78,8 ± 6,8 a	78,8 ± 6,8 a
Diflubenzurom	2,5 ± 2,1 a	7,5 ± 2,5 a	10,2 ± 4,0 a	13,0 ± 4,6 a	15,5 ± 6,2 a	25,2 ± 6,2 a	33,9 ± 10,0 a	45,1 ± 12,4 a	60,1 ± 7,8 a	62,9 ± 7,8 a
Metoxifenoazida	5,0 ± 2,8 a	7,5 ± 2,5 a	7,5 ± 2,5 a	10,0 ± 5,7 a	17,7 ± 7,4 a	24,5 ± 8,7 a	26,2 ± 9,4 a	26,2 ± 9,4 c	37,3 ± 4,2 b	40,9 ± 5,4 b
Piriproxifem	7,5 ± 2,5 a	7,5 ± 2,5 a	10,0 ± 7,0 a	22,1 ± 4,6 a	26,6 ± 7,8 a	31,9 ± 7,6 a	39,8 ± 5,3 a	47,3 ± 11,6 a	49,8 ± 14,0 b	52,8 ± 12,4 b
Testemunha	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Skott-knott a 5 % de significância, n=200. Eficiência corrigida calculada pela fórmula de Scheneider-Orelli. Para análise de dados transformados em raiz de x+1.

Nos estudos utilizando IDCs sobre percevejos descrevem-se efeitos colaterais tais como deformações morfológicas, na cutícula, abdome, asas e pernas, entretanto, as alterações no aparelho bucal, não se mencionam, as quais devem ser consideradas as mais importantes, uma vez que interrompem a alimentação e assim o dano e levam o inseto à morte. Nesse sentido, Shinga et al. (2007) verificaram deformações das peças bucais de *N. viridula* e subsequente mortalidade pela inibição da alimentação provocados por azadiractina, *Azadirachta indica* (A. Juss), um IDC botânico, que causa deformações morfológicas, interrupção da muda e da alimentação. Assim, o principal efeito dos IDCs é a inibição da alimentação, protegendo aos grãos e mesmo que não mate a praga imediatamente, cumpre o objetivo da proteção da produção.

Os IBQ exercem seus efeitos no momento da muda, a cutícula recém formada danificada não suporta a pressão da hemolinfa e tensão muscular (COHEN, 1987). Aumentam a atividade catalítica da quitinase na cutícula degradando a quitina, ou reduzem a produção de quitina, inibindo a atividade da quitina-sintetase. Também, há translocação anormal da quitina-sintetase e desarranjo na disposição das microfibrilas de quitina (ZHANG; ZHU 2006). Os IBQ pela similaridade estrutural com as sulfonilureias podem interagir com um homólogo, competindo pelo receptor de sulfonilureia no inseto, um evento chave na formação da quitina (EBO-ELGHAR et al., 2004). Entretanto, o mecanismo exato de ação destes compostos ainda não foi elucidado (COHEN, 2001; MERZENDORFER, 2006).

Considerando a avaliação aos 10 DAA, verificou-se que o piriproxifem, análogo do HJ, foi menos tóxico para ninfas de percevejos (52,80%) em comparação aos inseticidas do grupo dos IBQ lufenuro (78,80%) e diflubenzurom (62,90%) (Tabela 1). Observou-se que, as ninfas tratadas com piriproxifem, alteram seu desenvolvimento normal, retardando a ecdise e prolongando seu estágio no 4º ou 5º ínstar. Por ocasião da ecdise ocorre formação de cutícula aparentemente mais fraca e clara, pernas mais finas, alongadas e necrosadas com dificuldade de desprendimento da exúvia e de locomoção. Estes efeitos são mais pronunciados na transição do 5º ínstar para fase adulta. Os percevejos adultos têm características morfológicas de ninfa, não formam as asas ou as formam deformadas. Possivelmente, esses sinais são decorrentes do desbalanço hormonal, provocado pelo inseticida análogo do HJ.

Efeitos semelhantes tais como adultos deformados, adultos “ninfoides” ou ninfa de 6º ínstar (ínstar adicional) foram verificados por Bagheri et al. (2010) nos EUA, em *Brachynema germari* Kol (Hemiptera: Pentatomidae) praga das nozes de pistache, *Pistacia vera*

L., quando se aplicou piriproxifem. Os autores verificaram também que as ninfas de último estágio foram mais sensíveis ao juvenóide, apresentando deformações morfológicas ao atingir a fase adulta. Mahdian et al. (2007), em experimentos de laboratório demonstraram que o piriproxifem foi tóxico para ninfas de 4º instar do predador *Pricomerus bidens* L. (Hemiptera: Pentatomidae), mas não prejudicou a longevidade nem a reprodução das fêmeas adultas.

O AE, metoxifenosida, foi menos eficiente provocando menores mortalidades de ninfas (40,90%) em comparação aos IBQ lufenurom (78,80%) e diflubenzurom (62,90%) (Tabela 1). Embora este ecdisteróide estimule o processo de muda, não houve diminuição do estágio ninfal. Após o tratamento, os percevejos sofreram inicialmente uma paralisia e, dias após, ficaram trêmulos, com os tarsos contraídos e escurecidos. Algumas ninfas caminhavam lentamente e outras ficavam deitadas de ventre para cima com dificuldade para ficarem em pé.

Possivelmente, os efeitos do metoxifenosida sobre as ninfas não foram expressivos devido a seu modo de ação ser exclusivo para lagartas de lepidópteros, não tendo efeitos significativos sobre ninfas de percevejos. O metoxifenosida acelera a ecdise ao imitar o hormônio natural da muda dos insetos, o ecdisônio. Atua ligando-se fortemente à proteína receptora do ecdisônio, ativando-se e iniciando o processo de ecdise. Imediatamente após a ligação com o receptor de ecdisônio, os insetos param de se alimentar e produzem uma nova, porém mal formada, cutícula por baixo da antiga, matando os insetos por inanição e desidratação (DOW AGROSCIENCE Ltda).

Em estudos de laboratório, Mahdian et al. (2007), observaram que o metoxifenoazida não causou mortalidade significativa em ninfas de 4º instar e fêmeas adultas do predador *P. bidens* L. Da mesma forma, Grenee e Capps (2001) verificaram que a aplicação de metoxifenoazida provocou baixo controle de ninfas de 5º instar e adultos de *Acrostenum hilare* Say e *Euschistus servus* Say (Hemiptera: Pentatomidae) coletados do campo, sendo as mortalidades das ninfas de *E. servus* e *A. hilare* de 33,00 e 39,00% respectivamente aos 4 DAA.

3.5.2 Bioensaio dois. Estimativa da $CL_{50 \text{ e } 90}$ e $TL_{50 \text{ e } 90}$

Os valores $CL_{50 \text{ e } 90}$ de lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem para ninfas de 4º instar de *E. heros* e *N. viridula* indicam que os IBQ lufenurom e diflubenzurom foram mais tóxicos para ambas as espécies em comparação ao juvenóide piriproxifem. Verificou-se que a mortalidade do percevejo depende das concentrações dos inseticidas. Assim, como era de se esperar nas maiores concentrações foram atingidas mortalidades elevadas (Tabela 2). Também os IBQ provocaram os maiores efeitos deletérios nos percevejos.

Tabela 2 - Concentrações letais $CL_{50 \text{ e } 90}$ de inseticidas desreguladores de crescimento para ninfas de 4º instar de *Euschistus heros* e *Nezara viridula* estimadas por Probit ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ UR e 14 h de fotofase), 6 DAA.

Espécie	Inseticidas	n ¹	CL_{50} (IC 95%) ²	CL_{90} (IC 95%) ²	Coefficiente Angular ($\pm\text{EPM}^3$)	$\chi^2(\text{g.l.})^4$	h ⁵	RT ⁶
	Lufenurom	280	71,39 (54,27 a 89,08)	368,21 (258,14 a 663,46)	1,79 \pm 0,26	2,3 ^{ns} (4)	0,58	2,76
<i>Euschistus heros</i>	Diflubenzurom	280	31,18 (19,16 a 40,86)	189,23 (126,89 a 440,23)	1,63 \pm 0,32	1,3 ^{ns} (4)	0,33	1,03
	Piriproxifem	280	2107,71 (640,09 a 3124,43)	5577,31 (3546,26 a 26116,93)	3,03 \pm 0,47	7,0 ^{ns} (4)	1,75	1,09
	Lufenurom	280	25,82 (11,77 a 39,10)	183,94 (128,65 a 342,61)	1,50 \pm 0,28	1,7 ^{ns} (4)	0,43	-
<i>Nezara viridula</i>	Diflubenzurom	280	30,17 (16,08 a 41,12)	84,88 (61,457 a 172,069)	2,85 \pm 0,38	7,2 ^{ns} (4)	1,80	-
	Piriproxifem	280	1920,32 (1332,79 a 3335,57)	7322,08 (3863,94 a 212411,92)	2,20 \pm 0,43	6,6 ^{ns} (4)	1,60	-

¹ número de insetos testados; ² Concentração letal 50 e 90 (mL ou g.100L⁻¹) e intervalo de confiança a 95%; ³ Erro padrão da média; ⁴ valor do qui-quadrado calculado e grau de liberdade (g.l.); ⁵Heterogeneidade; ⁶ Razão de tolerância, ^{ns} não significativo (p<0,05).

Com base nas estimativas da CL_{50} e 90 , verificou-se que ninfas de *N. viridula* foram mais suscetíveis aos inseticidas testados em comparação a *E. heros*. Os valores de razão de tolerância mostram que *E. heros* foi 2,76 vezes mais tolerante ao lufenurom que *N. viridula*. Enquanto que a razão de tolerância entre *E. heros* e *N. viridula* para diflubenzurom e piriproxifem foi apenas de 1,03 e 1,09 respectivamente (Tabela 2). A tolerância diferenciada entre espécies de percevejos a inseticidas também foi relatada por Willrich et al. (2001) que testando inseticidas piretroides sobre percevejos verificaram que adultos de *N. viridula* foram mais sensíveis que *E. servus*.

Com intervalo de confiança da (IC) de 95%, A CL_{50} de lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem para ninfas de *E. heros* variou entre 54,27 a 89,08 mL.100L⁻¹; 19,16 a 40,86 g100.L⁻¹ e de 640,09 a 3124,43 mL.100L⁻¹ respectivamente. Enquanto que para a CL_{90} desses produtos foi de 4 a 5 vezes maior que a CL_{50} indicando a relação dose-dependente, sendo a variação das estimativas da CL_{90} de 258,14 a 663,46 mL.100L⁻¹ para lufenurom, 126,89 a 440,23 g100L⁻¹ para diflubenzurom e 3546,26 a 26116,93 mL.100L⁻¹ para piriproxifem (Tabela 2).

As inclinações das linhas dose-resposta para os IBQ foram baixas e as diferenças entre as concentrações mínimas e máximas foram altas, indicando que as populações de *E. heros* e *N. viridula* eram fenotipicamente heterogêneas. Assim, o aumento da mortalidade requer um acréscimo considerável da concentração do inseticida. Isto exige uma utilização cuidadosa destes IBQ a campo para evitar exercer uma alta pressão de seleção capaz de eliminar insetos suscetíveis e selecionar indivíduos resistentes (ROBERSON; PRESLEY, 1992).

A CL_{50} estimada aos 6 DAA para ninfas de *N. viridula* tratadas com lufenurom variou entre 11,77 a 39,10 mL.100L⁻¹, para diflubenzurom 16,08 a 41,12 g.100L⁻¹ e piriproxifem 1.332,79 a 3.335,57 mL.100L⁻¹ (Tabela 2). Em trabalhos semelhantes, Furiatti et al. (2009), testaram várias concentrações de lufenurom para *N. viridula*, e a CL_{50} estimada variou entre 1,29 a 3,99 g.100.L⁻¹ aos 3 DAA. A comparação de CLs para ninfas de percevejos são limitadas, já que as origens das populações, estádios dos insetos, formulações de produtos utilizados e metodologias empregadas diferem.

Com relação ao TL, verificou-se que o TL_{50} e 90 para ninfas de *E. heros* e *N. viridula* diminuiu conforme o aumento da concentração dos IDCs. O menor TL_{90} atingiu-se com a aplicação de lufenurom e diflubenzurom. Nas maiores concentrações desses produtos o TL_{90} foi de 7,23 e 7,50 dias para *E. heros* e 5,76 e 7,97 dias para *N. viridula* respectivamente (Tabela 3 e 4). Como era esperado, os resultados indicam que o TL, depende da concentração

do inseticida. Assim, nas maiores concentrações o tempo letal diminui. Verificou-se que lufenurom matou em menor tempo *N. viridula* pela sua maior suscetibilidade em comparação ao *E. heros*. Contudo, o TL pode depender da espécie e do tempo de duração do ínstar das ninfas. Considerando que as ninfas de *E. heros* e *N. viridula* permanecem em torno de 5,1 e 6,5 dias no 4º ínstar para passar ao 5º ínstar e outros 8 e 10,5 dias, respectivamente, para atingir a fase adulta (VÉLEZ, 1974; COSTA et al., 1998), a ação dos IDCs deve ocorrer nesse período.

Os IBQ lufenurom e diflubenzurom foram os mais letais para ninfas de *E. heros* e *N. viridula*, e nas maiores concentrações, a mortalidade das ninfas ocorreu na interfase do 4º para o 5º ínstar, e nas menores concentrações, como os efeitos foram menos acentuados, as ninfas atingiram o 5º ínstar e morreram apenas na passagem do 5º ínstar para a fase adulta. Em estudos semelhantes, Furiatti et al. (2009) obtiveram mortalidade acima de 80% de ninfas de 5º ínstar de *N. viridula* quando tratadas com lufenurom nas maiores concentrações e os efeitos foram percebidos em menor tempo, assim como a eficácia do inseticida aumentou com o passar do tempo.

Verificou-se que o piriproxifem foi menos tóxico para ninfas de *E. heros* e *N. viridula* e, mesmo nas maiores concentrações, demoram mais tempo para causar seus efeitos deletérios que levam à morte, em comparação aos IBQ (Tabela 3 e 4), permitindo aos percevejos atingir a fase adulta, mas com deformações. Considerando que o piriproxifem é um desregulador endócrino com semelhança estrutural ao HJ, que pode competir pelo sítio de ligação dos receptores do HJ afetando a fertilidade, produção de ovos, desenvolvimento embrionário e a progênie (WANG; DAVEY, 1993; SULLIVAN; GOH, 2008). Também, embora a letalidade do piriproxifem seja lenta, os efeitos colaterais sobre os adultos podem ser considerados em programas de manejo de populações de percevejos praga.

Tabela 3 - Valores de tempos letais TL₅₀ e 90 para ninfas de *Euschistus heros* após a pulverização com inseticidas desreguladores de crescimento estimado por Próbit (25 ± 1°C, 65±5% UR e 14 h de fotofase)

Espécie	Inseticidas	Concentração mg ou mL.100L ⁻¹	n ¹	TL ₅₀ (IC 95%) ²	TL ₉₀ (IC 95%) ²	Coefficiente Angular (±EPM ³)	χ ² (g.l.) ⁴	h ⁵
<i>Euschistus heros</i>	Lufenurom	25	280	9,30 (7,95 a 11,74)	30,64 (21,02 a 58,76)	2,47±0,35	6,40 ^{ns} (8)	0,80
		50		7,51 (6,55 a 8,99)	25,66 (18,38 a 44,51)	2,40±0,31	2,62 ^{ns} (8)	0,32
		100		4,28 (3,82 a 4,74)	10,63 (9,13 a 13,10)	3,25±0,31	7,02 ^{ns} (8)	0,87
		150		3,77 (3,33 a 4,20)	9,63 (8,30 a 11,78)	3,15±0,30	4,89 ^{ns} (8)	0,61
		200		3,52 (3,14 a 3,88)	7,68 (6,82 a 8,95)	3,78±0,34	3,33 ^{ns} (8)	0,41
		250		3,32 (2,96 a 3,67)	7,23 (6,38 a 8,54)	3,79±0,35	4,80 ^{ns} (8)	0,68
	Diflubenzurom	20	280	6,68 (6,08 a 7,41)	15,34 (12,69 a 20,40)	3,54±0,39	1,05 ^{ns} (8)	0,13
		40		6,42 (5,67 a 7,38)	15,79 (12,45 a 23,32)	3,28±0,35	88,50 ^s (8)	1,10
		60		4,43 (3,90 a 4,94)	8,81 (7,62 a 10,83)	4,29±0,38	10,19 ^{ns} (8)	1,27
		80		4,25 (3,71 a 4,78)	8,53 (7,34 a 10,62)	4,24±0,37	11,27 ^{ns} (8)	1,40
		100		4,13 (3,56 a 4,69)	8,01 (6,85 a 10,10)	4,46±0,38	13,84 ^{ns} (8)	1,73
		120		3,80 (3,33 a 4,24)	7,50 (6,55 a 9,06)	4,33±0,38	97,37 ^s (8)	1,21
	Piriproxifem	750	280	12,19 (8,91 a 36,21)	33,22 (17,32 a 488,07)	2,94±0,47	22,52 ^s (8)	2,81
		1200		10,61 (8,44 a 17,22)	29,55 (17,91 a 104,94)	2,88±0,42	13,74 ^{ns} (8)	1,71
		1650		10,13 (7,50 a 20,73)	36,75 (18,81 a 284,59)	2,29±0,32	19,94 ^s (8)	2,49
		2100		9,33 (7,44 a 13,81)	36,32 (21,22 a 114,85)	2,17±0,30	10,56 ^{ns} (8)	1,32
		2550		6,62 (5,40 a 8,66)	22,83 (14,90 a 54,89)	2,38±0,28	13,94 ^{ns} (8)	1,74
		3000		4,10 (3,44 a 4,78)	11,69 (9,28 a 16,81)	2,82±0,28	10,55 ^{ns} (8)	1,31

¹ número de insetos testados; ²Tempo letal 50 e 90 (dias) e intervalo de confiança a 95%; ³Erro padrão da média; ⁴valor do qui-quadrado calculado e grau de liberdade (g.l.); ⁵Heterogeneidade, ^{ns} não significativo (p<0,05), ^s significativo (p<0,05).

Tabela 4 - Valores de tempos letais TL₅₀ e 90 para ninfas de *Nezara viridula* após a pulverização de inseticidas desreguladores de crescimento estimado por Probit (27 ± 1°C, 65±5% UR e 14 h de fotófase)

Espécie	Inseticidas	Concentração mg ou mL.100L ⁻¹	n ¹	TL ₅₀ (IC 95%) ²	TL ₉₀ (IC 95%) ²	Coefficiente Angular (±EPM ³)	χ ² (g.l.) ⁴	h ⁵
<i>Nezara viridula</i>	Lufenurom	25	280	5,14 (4,68 a 5,61)	11,20 (9,72 a 13,63)	3,78±0,37	4,15 ^{ns} (8)	0,52
		50		4,28 (3,89 a 4,66)	8,64 (7,71 a 10,04)	4,20±0,38	4,66 ^{ns} (8)	0,58
		100		3,96 (3,60 a 4,31)	7,66 (6,90 a 8,76)	4,48±0,40	3,46 ^{ns} (8)	0,43
		150		3,47 (3,14 a 3,79)	6,64 (5,99 a 7,55)	4,56±0,40	4,33 ^{ns} (8)	0,54
		200		3,38 (3,07 a 3,67)	6,00 (5,45 a 6,76)	5,14±0,46	5,41 ^{ns} (8)	0,67
		250		3,14 (2,54 a 3,69)	5,76 (4,82 a 7,59)	4,87±0,43	20,86 ^s (8)	2,60
	Diflubenzurom	20	280	7,17 (6,63 a 7,82)	13,76 (11,83 a 17,24)	4,52±0,50	4,83 ^{ns} (8)	0,6
		40		6,79 (6,24 a 7,45)	14,16 (12,00 a 18,13)	4,02±0,44	1,42 ^{ns} (8)	0,17
		60		6,22 (5,77 a 6,71)	11,70 (10,31 a 14,02)	4,67±0,47	3,50 ^{ns} (8)	0,43
		80		5,20 (4,88 a 5,51)	7,97 (7,39 a 8,77)	6,92 ±0,61	7,02 ^{ns} (8)	0,87
		100		5,18 (4,78 a 5,58)	7,83 (7,11 a 9,00)	7,13±0,68	76,89 ^s (8)	1,09
		120		3,58 (2,44 a 5,46)	7,97 (5,29 a 43,20)	3,68±0,46	13,96 ^{ns} (8)	3,49
	Piriproxifem	750	280	9,85 (8,19 a 13,14)	39,03 (24,68 a 89,27)	2,14±0,32	4,89 ^{ns} (8)	0,61
		1200		8,94 (7,16 a 13,07)	36,96 (21,39 a 119,96)	2,08±0,30	10,00 ^{ns} (8)	1,25
		1650		8,13 (6,34 a 12,51)	44,02 (22,89 a 203,65)	1,74±0,27	10,65 ^{ns} (8)	1,33
		2100		5,14 (4,13 a 6,46)	24,07 (15,38 a 58,66)	1,91±0,25	10,28 ^{ns} (8)	1,28
		2550		4,69 (3,53 a 6,17)	25,38 (14,95 a 84,85)	1,74±0,24	12,91 ^{ns} (8)	1,61
		3000		2,59 (1,80 a 3,27)	8,04 (6,20 a 12,49)	2,60±0,26	16,79 ^s (8)	2,09

¹ número de insetos testados; ² Tempo letal 50 e 90 (dias) e intervalo de confiança a 95%; ³ Erro padrão da média; ⁴ valor do qui-quadrado calculado e grau de liberdade (g.l.); ⁵ Heterogeneidade, ^{ns} não significativo (p<0,05), ^s significativo (p<0,05).

3.6 CONCLUSÕES

- Maiores mortalidades de ninfas de *Euschistus heros* são provocadas pelos inibidores de biossíntese de quitina lufenurom e diflubenzurom e em menor proporção pelo análogo do hormônio juvenil, piriproxifem e o antagonista do ecdisônio, metoxifenosida.
- Maiores concentrações dos inseticidas desreguladores de crescimento aumentam a mortalidade de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* e diminuem o tempo letal.

4 ARTIGO B: CONTROLE DE *EUSCHISTUS HEROS* (F.) E *NEZARA VIRIDULA* (L.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE] POR INSETICIDAS DESREGULADORES DE CRESCIMENTO, PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE SEMENTES DE SOJA

4.1 RESUMO

O percevejo-marrom-neotropical *Euschistus heros* (F.) e o percevejo-verde *Nezara viridula* (L.) são pragas da soja que prejudicam quantitativa e qualitativamente seus grãos e sementes, reduzindo seu valor. Neste estudo avaliou-se a eficiência de controle de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* por inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs) pulverizados em plantas de soja deixadas em condição de pleno sol. Também avaliou-se a produtividade e qualidade de sementes oriundas das plantas infestadas com *E. heros* e *N. viridula* tratados com os IDCs. Para a realização deste estudo instalaram-se dois experimentos, um para cada espécie de percevejo, adotou-se o delineamento completamente ao acaso, utilizando quatro tratamentos (três inseticidas) e suas respectivas testemunhas infestadas com cada espécie de percevejo, com quatro repetições/tratamento. Plantas de soja (R₅) foram cultivadas em vasos, infestadas com ninfas de 4º instar de *E. heros* e *N. viridula* e pulverizadas com os inibidores de biossíntese de quitina (IBQ) lufenurom e diflubenzurom e um análogo do hormônio juvenil (AHJ) piriproxifem. As testemunhas receberam apenas água destilada, em seguida foram cobertas com tecido tule e expostas ao ambiente. Avaliou-se diariamente, durante 10 dias após a aplicação (DDA), a mortalidade das ninfas, registrando-se as deformações morfológicas ocasionadas pelos IDCs. Após esse período os percevejos sobreviventes nas plantas tratadas e na testemunha foram retirados, deixando-se que as plantas de soja atingissem a maturação fisiológica para a colheita. Em seguida, em laboratório, seguindo o protocolo para análise de sementes (RAS) estimou-se a produtividade e avaliou-se a qualidade de sementes oriundas das plantas infestadas com *E. heros* e *N. viridula* tratados com os IDCs e da testemunha para comparação. Os resultados indicam que aos 10 DAA, os IBQ lufenurom e diflubenzurom foram mais eficientes no controle de ninfas de *E. heros* (97,2 e 91,9%) e *N. viridula* (97,5 e 97,5%) de mortalidade respectivamente em comparação com piriproxifem (41,5 e 57,5%). Nos tratamentos onde se aplicou lufenurom e diflubenzurom sobre *E. heros* observou-se maior peso de cem sementes (9,67 e 10,00g) sendo a maior produtividade para o tratamento onde se aplicou lufenurom (5.162Kg ha⁻¹). Da mesma forma, verificou-se na aplicação de lufenurom sobre *N. viridula* o maior peso de cem sementes (15,46g) assim como a maior estimativa da produtividade (9.723Kg ha⁻¹), embora similar ao diflubenzurom (8.506 Kg ha⁻¹) e à testemunha (7.446Kg ha⁻¹). A pulverização de lufenurom e diflubenzurom sobre *E. heros* permitiu a produção de sementes viáveis (97,5 e 91,5 %), com poucas puncturas (8,0 e 9,0%), alto poder germinativo (91,0 e 94,5%) e plântulas normais (93,5%) para ambos os tratamentos. Por outro lado, plantas infestadas com *N. viridula* e tratadas com lufenurom e diflubenzurom também produziram sementes viáveis (98,5 e 90,0 %) com 7,5 e 20,0 % das sementes com puncturas, alto poder germinativo (97,0 e 94,5%) e 92,0 e 82,0% de plântulas normais.

Palavras-chave: Proteção de plantas, Percevejos, Mortalidade, *Glycine max*.

4.2 ABSTRACT

The Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) and green stink bug *Nezara viridula* (L.) are pests of soybeans that damage quantitatively and qualitatively grains and seeds, reducing its value. This study evaluated the control efficiency of *E. heros* and *N. viridula* nymphs by insecticides growth disruptors (IGDs) sprayed in soybean plants left in environmental conditions. It was also estimated seeds productivity and evaluated seeds quality from plants infested with *E. heros* and *N. viridula* treated with IGDs. For this study two assays were made, one for each stinkbug specie, and a completely randomized design were used, with four treatments (three insecticides) and controls infested with the two stinkbug species, with four replicates/treatment. Soybean plants (R₅) were grown in pots and infested with 4th instar nymphs of *E. heros* and *N. viridula* sprayed with inhibitors of chitin biosynthesis (IBQ) lufenuron and diflubenzuron and a juvenile hormone analogue (JHA) piriproxyfen. The control received only distilled water, then covered with tulle tissue and left in environmental conditions. Nymphs mortality and morphological deformations caused by IGDs were evaluated daily for 10 days after application (DAA). After this period the survival stinkbugs in treated plants and control were removed, leaving the soybean plants reach physiological maturity for harvest. Thus, in the laboratory following the protocol for seed analysis evaluation (RAS) productivity was estimated and seeds quality evaluated from plants infested with *E. heros* and *N. viridula* treated with IGDs and the control for comparison. The results show that at 10 DAA, the IBQ lufenuron and diflubenzuron were more effective promoting for *E. heros* (97.2 and 91.9%) and *N. viridula* (97.5 and 97.5%) nymphs mortality respectively, and higher when compared to AHJ pyriproxyfen (41.5 and 57.5%). In treatments where lufenuron and diflubenzuron were applied on *E. heros* higher hundred-seed weight was (9.67 and 10.00 g) and the highest estimated productivity for which treatment was observed for lufenuron (5.162Kg. ha⁻¹). The largest one hundred seed weight (15.46 g) was observed in the treatment lufenuron on *N. viridula* as well as higher productivity (9.723Kg ha⁻¹), although similar to diflubenzuron (8.506 kg ha⁻¹) and control (7.446Kg.ha⁻¹). Spraying lufenuron and diflubenzuron on *E. heros* allowed the production of viable seeds (97.5 and 91.5%), with few punctures (8.0 and 9.0%), high germination (91.0 and 94.5%) and normal seedlings (93.5%) for both treatments. On the other hand, *N. viridula* treated with lufenuron and diflubenzuron also produced viable seeds (98.5 and 90.0%) with 7.5 and 20.0% of punctures, high germination (97.0 and 94.5%) and 92.0 and 82.0% of normal seedlings.

Keywords: Crop protection, Stink bug, Mortality, *Glycine max*.

4.3 INTRODUÇÃO

O percevejo-marrom-neotropical *Euschistus heros* (F.) e o percevejo-verde *Nezara viridula* (L.) são pragas sugadoras que causam consideráveis perdas econômicas aos sojicultores. Ambos a produção de grãos e sementes são afetados em consequência da atividade alimentar desses percevejos. Ninfas a partir do 2º instar e adultos obtêm nutrientes e água por meio dos estiletos (mandíbulas+maxilas) que são inseridos na estrutura vegetal (McPHERSON, 2000).

As puncturas nos grãos podem transmitir patógenos, retardar a maturação e colheita, mantendo as hastes verdes com retenção foliar (SOSA-GÓMEZ; MOSCARDI, 1995; GAMUNDI; SOSA, 2007). Além disso, reduzem significativamente a qualidade fisiológica das sementes, diminuindo seu teor de óleo e aumentando a porcentagem de proteína e ácidos graxos livres (PANIZZI et al., 1979; VILLAS-BÔAS et al., 1990; BOETHEL et al., 2000).

A principal preocupação na cultura de soja no estágio reprodutivo são os danos ocasionados pelos percevejos, cuja população é composta por mais de 70% de ninfas que causam prejuízos semelhantes aos dos adultos (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009). Entre os problemas relacionados ao controle desses percevejos destacam-se o desenvolvimento de resistência aos principais inseticidas sintéticos, poucas alternativas químicas eficientes para seu controle (SOSA GÓMEZ; SILVA, 2010), além do abandono do Manejo Integrado de Pragas (MIP)(PANIZZI, 2013).

Muitas vezes, por desconhecimento ou falta de consciência, os produtores preferem utilizar inseticidas de amplo espectro para controlar lagartas, percevejos e outras pragas, antecipando a compra de pacotes de agroquímicos a baixo custo antes da safra, misturam inseticidas com herbicidas e fungicidas, na falsa impressão de reduzir os custos operacionais, intensificando os problemas relacionados à resistência e controle dos percevejos (SOSA GÓMEZ; SILVA, 2010).

Esse cenário gera a necessidade de rever as práticas adotadas e retomar o MIP incluindo novas estratégias ou alternativas de manejo mais eficientes. O emprego de produtos de baixa toxicidade, como os inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs) com elevada eficiência e efeitos subletais, é uma opção que deve ser considerada no manejo da população de ninfas de percevejos, uma vez que estes inseticidas são ambientalmente mais corretos (SIAL; BRUNNER, 2010).

No MIP-Soja, quando empregados os IDCs, especificamente os inibidores de biossíntese de quitina (IBQ) para o controle de lagartas na fase vegetativa, a população de percevejos durante a fase reprodutiva é baixa (MOSCARDI, 2011 comunicação pessoal). Possivelmente as primeiras gerações de ninfas colonizantes são afetadas, sugerindo que os IDCs podem interromper o desenvolvimento normal das formas jovens tanto de insetos holometábolos e hemimetábolos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de controle de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* por IDCs e estimar a produtividade e qualidade de sementes, resultante da proteção conferida pelos IDCs em semi-campo.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Obtenção e Criação dos Insetos

Adultos e ninfas de *E. heros* e *N. viridula* provenientes do laboratório de criação de percevejos da Embrapa Soja e de lavoura de soja da fazenda escola da UEL, 23°20' de latitude Sul e 51°13' de longitude Oeste, foram criados em condições de ambiente controlado em câmara climatizada ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $65\pm 5\%$ UR e 14 h de fotofase). Foram alimentados com vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae), frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* L.) (Oleaceae) e água através de algodão umedecido, trocando-se a cada três dias. A partir da segunda geração (F_2) utilizou-se ninfas de 4^o ínstar para os estudos de semi-campo.

4.4.1.1 Determinação da Eficiência de Controle de Percevejos da Soja por Inseticidas Desreguladores de Crescimento

Foi semeada soja da cultivar Syngenta 1059 RR em 01/11/2012. As sementes foram tratadas com fungicida carboxin+thiram 50+50 g.i.a/100kg. A semeadura foi realizada colocando três sementes por vaso contendo solo coletado de uma área próxima a vegetação de mata, classificado como Latossolo vermelho, de textura argilosa. A fertilização realizou-se de acordo aos requerimentos indicados pela análise: $3,06 \text{ Tn ha}^{-1} \text{ CaO}$ e $7,24 \text{ kg ha}^{-1} \text{ KCl}$.

Realizou-se o desbaste das plantas, deixando-se apenas uma planta de soja por vaso deixado em condições de ambiente. O controle de plantas espontâneas realizou-se

manualmente. Não foram aplicadas inseticidas nem fungicidas no estágio vegetativo. No início do estágio reprodutivo (florescimento), os vasos foram cobertos com telado.

Instalaram-se dois experimentos separadamente, infestando-se as plantas, no estágio (R₅), com ninfas de 4º instar de *E. heros* e *N. viridula*. Cada unidade experimental foi constituída por uma planta de soja infestada com 10 ninfas de 4º instar de *E. heros* e *N. viridula* separadamente, com quatro repetições para cada tratamento, e as testemunhas. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado.

As aplicações dos IDCs foram realizadas no fim da tarde em horário de temperatura amena utilizando borrifador manual, pulverizaram-se totalmente as plantas com ninfas (5ml/planta) quantidade suficiente para produzir uma cobertura das folhas sem ocorrer escorrimento. As concentrações utilizadas foram determinadas com base nas recomendações para *Chrysodeixis includens*, *Heliothis virescens* e *Bemisia tabaci*, pragas para as quais os produtos têm registro e estudos para estimar as concentrações eficientes no controle dos percevejos, realizados em experimentos anteriores. Foram utilizados os seguintes produtos e concentrações: Diflubenzurom 250 mL.100L⁻¹, Lufenurom 1000 mL.100L⁻¹, Piriproximem 3000 mL.100L⁻¹. As testemunhas receberam somente água destilada (5ml/planta).

A mortalidade dos insetos foi avaliada diariamente, durante dez dias após a aplicação (10 DAA). Os insetos foram considerados mortos quando não mostravam nenhum movimento após o estímulo com pincel. Os dados foram transformados em raiz de x+1 pela ausência de homocedasticidade, submetidos à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. A eficiência de controle dos inseticidas foi calculada pela fórmula de Scheneider-Orelli considerando o número de insetos mortos no tratamento e na testemunha. Também foram registradas as deformações morfológicas e alterações do comportamento das ninfas.

Para classificação da eficiência de controle utilizou-se a escala de Ruedell (1985), onde controle igual ou acima de 80% foi considerado eficiente, entre 60 a 79% controle médio e abaixo de 60%: controle ineficiente. Após 10 DAA, os percevejos sobreviventes foram retirados dos vasos, mantendo-se o telado até a soja atingir a maturação fisiológica (R₉) quando se coletaram todas as vagens e sementes.

4.4.2 Estimativa da Produtividade e Qualidade de Sementes

Para a estimativa da produtividade e avaliação da qualidade de sementes foram selecionados os tratamentos com lufenurom, diflubenzurom e a testemunha.

Piriproxifem não foi considerado para as análises já que, após as avaliações de mortalidade de ninfas de *E. heros* e *N. viridula*, algumas plantas de soja tratadas com piriproxifem tiveram o telado violado e sofreram ataque de percevejos do campo.

4.4.2.1 Produtividade

A produtividade de grãos foi estimada a partir da colheita e debulha manual das vagens, tendo em seguida as amostras (grãos) de cada tratamento a umidade corrigida para 13%. Os grãos foram pesados em balança de precisão e os dados transformados em kg ha⁻¹, estimando-se o resultado em número de plantas por hectare. Para medição da umidade foi utilizado o medidor G600 GEHAKA AGRI (Figura 6). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

4.4.2.2 Viabilidade de sementes e número de sementes com puncturas

A viabilidade das sementes foi determinada através do teste de tetrazólio segundo as Regras para a Análise de Sementes (Brasil, 2009). Foram pré-acondicionadas 200 sementes por tratamento escolhidas aleatoriamente, divididas em quatro sub-amostras com 50 sementes (repetições), embebidas com água destilada em copos plásticos de 50 mL, durante 24hs. Posteriormente foram totalmente submersas em solução de tetrazólio na concentração de 0,075%, e mantidas em estufa a 40°C, no escuro, durante duas horas. Ao alcançar o padrão de coloração, as sementes foram retiradas, lavadas em água corrente e mantidas submersas em água destilada até o momento da leitura. As sementes foram seccionadas longitudinalmente com lâmina de bisturi para permitir a visualização do eixo radícula-hipocótilo para avaliação da viabilidade e lesões provocadas por percevejos. O número de sementes com puncturas também foi registrado através da visualização das lesões circulares, características da perfuração do tecido, ocasionadas pelo percevejo (Figura 6).

4.4.2.3 Germinação e Plântulas Normais

A avaliação da germinação foi realizada pelo teste padrão de germinação (TPG) segundo as Regras para a Análise de Sementes (Brasil, 2009). Utilizaram-se 50 sementes com quatro repetições, distribuídas em fileriras com um contador de sementes, colocadas para germinar entre duas folhas de papel-toalha (Germitest), umedecidas com água

destilada. Em seguida, foram confeccionados rolos e mantidos em germinador à temperatura constante de 25°C. A contagem de germinação foi realizada cinco dias após o acondicionamento e, oito dias após para plântulas normais (Figura 6). Foram consideradas como plântulas normais, apenas as que se apresentavam sistema radicular e parte aérea bem desenvolvida como descrito pelas Regras de Análise de Sementes (RAS) (MAPA, 2009).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.5.1 Eficiência de Controle de *E. heros* e *N. viridula* por Inseticidas Desreguladores de Crescimento.

Verificou-se que o lufenurom e diflubenzurom foram mais eficientes no controle de ninfas de 4º instar de *E. heros* (97,2 e 91,9%) e *N. viridula* (97,5 e 97,5%) respectivamente em relação ao piriproxifem (41,5 e 57,5%) aos 10 DAA, considerando a escala de Ruedell (Tabela 1 e 2). Os IBQ a partir de 6 DAA provocaram mais de 80% de mortalidade de ninfas de 4º instar, impedindo a passagem para o 5º instar concentrando-se a mortalidade na passagem do 4º para o 5º instar. As que atingiram o 5º instar sofreram deformações no tegumento, articulações e aparelho bucal, ficando aderidos a exúvia.

Também, observou-se a partir de 2 DAA, o desprendimento dessas ninfas da planta e queda ao solo em posição de decúbito ventral, sem poder se locomover e alimentar. Mesmo que os percevejos não tenham morrido imediatamente, em sua maioria não foram capazes de danificar aos grãos da soja em consequência dos efeitos dos inseticidas.

Os resultados apresentados corroboram os obtidos por Roggia et al. (2011) sobre o efeitos negativos do lufenurom e diflubenzurom na sobrevivência, crescimento, desenvolvimento e atividade alimentar de ninfas de 5º instar de *E. heros*. Também, a eficácia do lufenurom na mortalidade de ninfas de 5º instar de *N. viridula* foi confirmada em laboratório por Furiatti et al. (2009). Em outros estudos, ninfas de 2º instar de *N. viridula* oriundas do campo, tratadas com novalurom morreram mais que as de 3º e 4º instar (LÓPEZ et al., 2008), também ninfas de *Halyomorfa halys* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) de vários instares foram eficientemente controladas pelo novalurom (90%) e em menor proporção pelo diflubenzurom (65%) aos 7 DAA (KAMMINGA et al., 2012).

O tratamento com piriproxifem por seu lado embora não tenha provocado um nível de controle eficiente, matou 41,5% de *E. heros* e 57,5 de *N. viridula* de 4º e 5º instar, diferindo em relação à testemunha aos 10 DAA (Tabela 1 e 2). A toxicidade moderada do

piriproxifem também foi relatada por Bagheri et al., (2010), em *Brachynema germari* Kol (Hemiptera: Pentatomidae) praga das nozes de pistache, *Pistacia vera* L. sendo as ninfas de último estágio mais sensíveis ao juvenóide, atingindo entretanto a fase adulta com deformações morfológicas. Também Mahdian et al. (2007), mostraram que o piriproxifem foi tóxico para ninfas de 4º instar do predador *Pricomerus bidens* L. (Hemiptera: Pentatomidae), mas não prejudicou a longevidade nem a reprodução das fêmeas adultas em laboratório.

A velocidade dos efeitos deletérios e a mortalidade provocada pelos IBQs foram superiores em comparação ao juvenóide. Isso, possivelmente ocorreu pelo modo de ação dos IBQs que atuam principalmente no momento da muda, aumentando as atividades da quitinase, inibindo a atividade da quitina-sintetase ou desordenando a deposição das microfibrilas de quitina. Podendo também pela similaridade estrutural competir pelo receptor de sulfonilureia, chave na formação da quitina. Assim, a cutícula danificada não suporta a pressão da hemolinfa e a tensão muscular levando ao inseto a morte (COHEN, 1987; COHEN, 2001; EBO-ELGHAR et al., 2004; MERZENDORFER, 2006; ZHANG e ZHU, 2006).

Já o piriproxifem desregula processos endócrinos e pela semelhança estrutural aos HJs pode competir pelo sítio de ligação dos receptores do HJ (SULLIVAN e GOH, 2008) mantendo as características juvenis das ninfas e atrasando a formação de adultos, com menores alterações morfológicas em comparação aos provocados pelos IBQ.

A toxicidade do inseticida depende da concentração e do tempo de exposição. No campo a influência da radiação, temperatura e chuva que ocorrem no verão podem diminuir na eficiência de controle do inseticida. No entanto, verificou-se que mesmo nas condições de alta intensidade de radiação solar iguais à do campo, temperaturas elevadas e precipitações de 40,8 e 36,2 mm durante as avaliações do 1º e 6º DAA, ocorridas em 23 e 28/01/2012 (IAPAR), o lufenurom e diflubenzurom foram eficientes no controle de ninfas de *E. heros* e *N. viridula*.

4.5.2 Eficiência de controle de *E. heros* e *N. viridula* por inseticidas desreguladores de crescimento.

Tabela 1 - Eficiência de controle (%±EPM) de ninfas de *Euschistus heros*, tratados pulverizados com inseticidas desreguladores de crescimento no 4^o ínstar, em soja R₅ em semi-campo.

Tratamento	Eficiência acumulada e corrigida (%±EPM)* DAA									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lufenurom	0,0 ± 0,0 a	34,9 ± 4,1 a	38,4 ± 3,9 a	52,1 ± 4,3 a	60,5 ± 4,0 a	91,9 ± 4,5 a	91,9 ± 4,5 a	91,9 ± 4,5 a	97,2 ± 2,4 a	97,2 ± 2,4 a
Diflubenzurom	0,0 ± 0,0 a	21,6 ± 3,9 a	27,2 ± 4,3 a	57,4 ± 6,7 a	63,4 ± 5,0 a	83,5 ± 2,3 a	83,5 ± 2,3 a	91,9 ± 2,3 a	91,9 ± 2,3 a	91,9 ± 2,3 a
Piriproxifem	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 b	5,2 ± 2,6 b	22,3 ± 4,0 b	25,4 ± 5,2 b	28,2 ± 6,6 b	28,2 ± 6,6 b	33,5 ± 4,1 b	36,3 ± 6,1 b	41,5 ± 4,1 b
Testemunha	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c

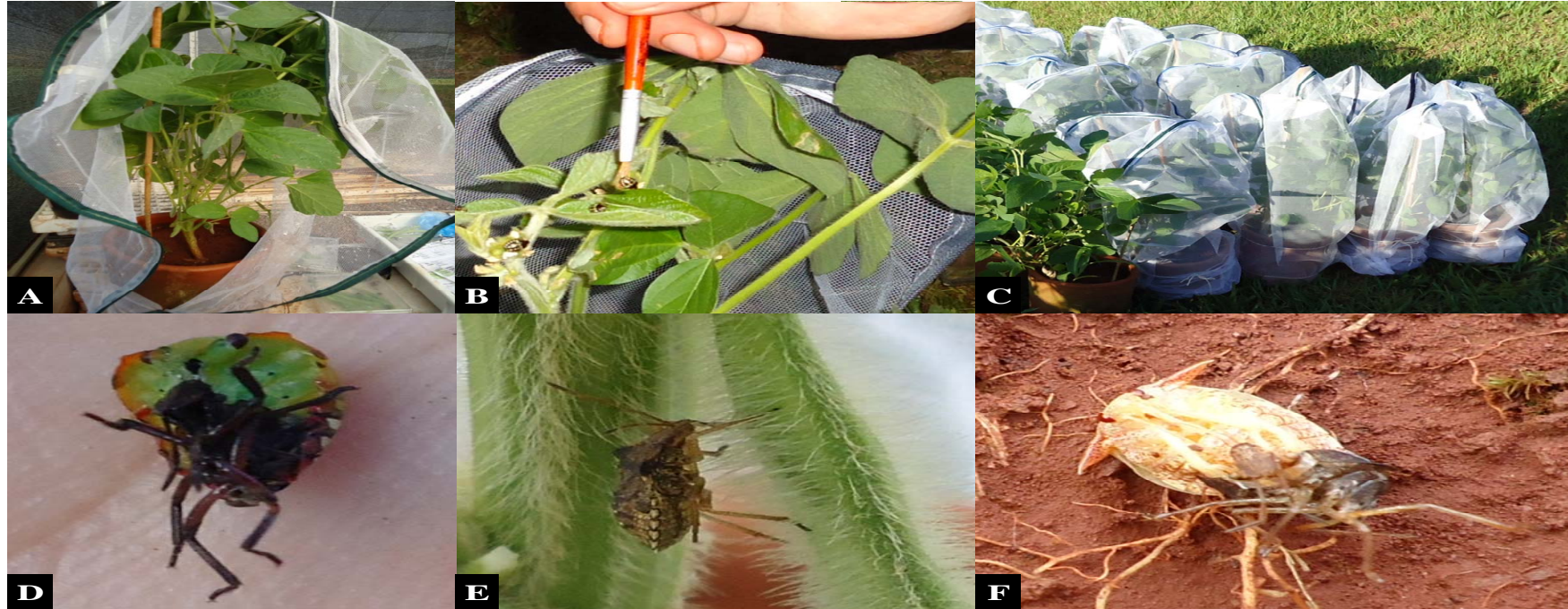
*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância, n=160. Eficiência de controle calculada pela fórmula de Scheneider-Orelli. Análise de dados transformados em raiz de x+1. Escala de Ruedell (1985): >80%=controle eficiente, 60 a 79%= controle médio e <60%= controle ineficiente. DDA= Dias Após a Aplicação.

Tabela 2 - Eficiência de controle (%±EPM) de ninfas de *Nezara viridula*, tratados pulverizados com inseticidas desreguladores de crescimento no 4^o ínstar, em soja R₅ em semi-campo.

Tratamento	Eficiência corrigida (%±EPM)* DAA									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lufenurom	5,0 ± 2,5 a	12,5 ± 4,1 a	32,5 ± 4,1 a	52,5 ± 4,1 a	77,5 ± 4,1 a	92,5 ± 2,1 a	95,0 ± 2,5 a	97,5 ± 2,1 a	97,5 ± 2,1 a	97,5 ± 2,1 a
Diflubenzurom	0,0 ± 0,0 a	2,5 ± 2,1 b	22,5 ± 2,1 ab	45,0 ± 4,3 a	72,5 ± 5,4 a	90,0 ± 6,1 a	90,0 ± 6,1 a	95,0 ± 4,3 a	97,5 ± 2,1 a	97,5 ± 2,1 a
Piriproxifem	0,0 ± 0,0 a	2,5 ± 2,1 b	12,5 ± 2,1 bc	22,5 ± 4,1 b	37,5 ± 4,1 b	47,5 ± 4,1 b	50,0 ± 3,5 b	52,5 ± 2,1 b	55,0 ± 2,5 b	57,5 ± 2,1 b
Testemunha	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 b	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c	0,0 ± 0,0 c

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância, n=160. Eficiência de controle calculada pela fórmula de Scheneider-Orelli. Análise de dados transformados em raiz de x+1. Escala de Ruedell (1985): >80%=controle eficiente, 60 a 79%= controle médio e <60%= controle ineficiente. DDA= Dias Após a Aplicação.

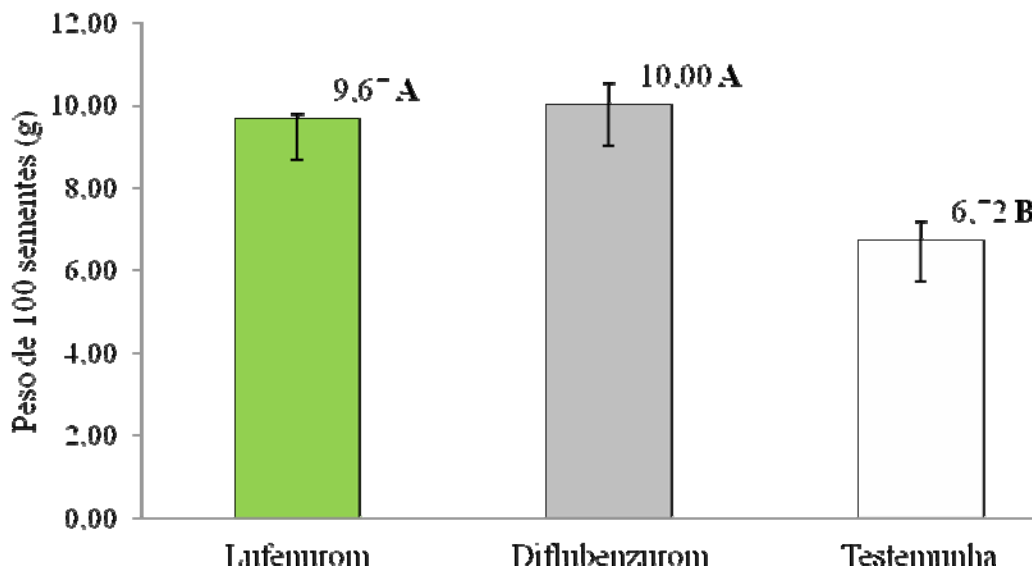
Figura 1 - (A) Planta de soja em vaso com telado; (B) infestação de ninfas; (C) exposição das plantas tratadas ao ambiente; (D); ninfa de *N. viridula* morta pelo lufenurom na passagem do 4º para o 5º ínstar, com deformações no aparelho bucal e aderida à exúvia (E) ninfa de *E. heros* de 4º ínstar sugando vagem (testemunha); (F) ninfa de *E. heros* de 5º ínstar caída ao solo, presa à exúvia e morta pelo lufenurom.



4.5.3 Peso de cem Sementes e Produtividade de Soja.

Os grãos de soja provenientes de plantas infestadas com *E. heros*, foram menos danificados pelos percevejos quando as plantas foram pulverizadas com o lufenurom (9,67 g) e diflubenzurom (10,00g) resultando em maior peso de 100 sementes (mais 45 e 49%) em relação à testemunha (6,72 g) (Figura 2). Os resultados indicam que os efeitos dos IBQ sobre as ninfas tais como letalidade, deformações morfológicas e possíveis danos às peças bucais, permitiram proteger aos grãos das lesões, resultando em maior peso de grãos em comparação a testemunha. Segundo Berlote et al. (2003) os danos ocasionados pelos percevejos são refletidos na produção de soja, a qual pode ser reduzida em consequência desses danos.

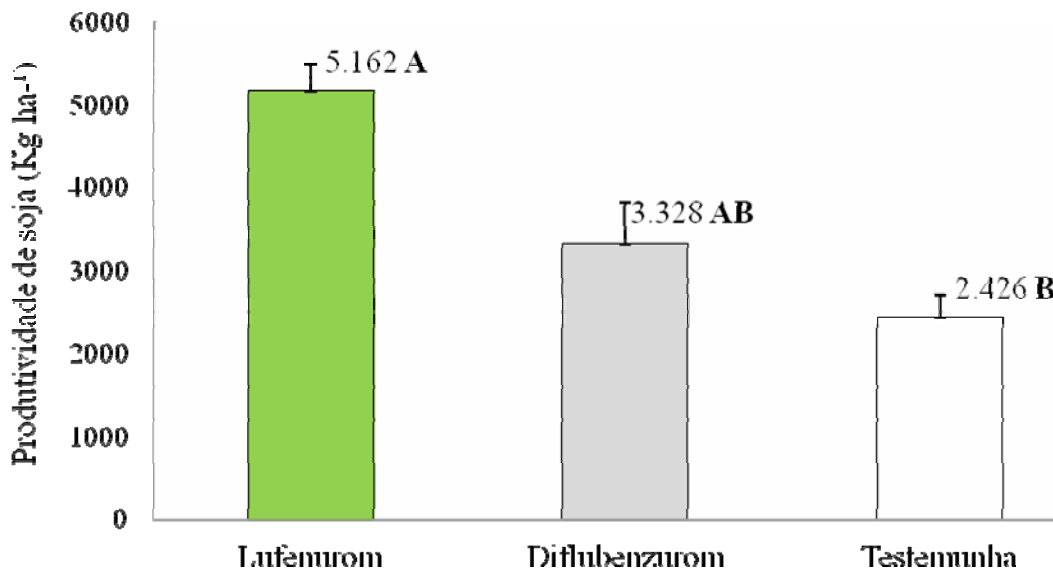
Figura 2 - Peso em gramas de 100 sementes de soja (média±EPM) colhidas de plantas infestadas em (R₅) com ninfas de 4^o instar de *Euschistus heros* e tratadas com inseticidas desreguladores de crescimento. Valores médios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de significância.



As plantas de soja infestadas com ninfas de 4^o instar de *E. heros*, tratadas com lufenurom foram mais produtivas (5.162 Kg.ha⁻¹) que a testemunha (2.426 Kg.ha⁻¹) mas não diferiram do tratamento com diflubenzurom (3.328 Kg.ha⁻¹) que foi estatisticamente igual à testemunha (Figura 3). Observou-se que o lufenurom matou ninfas de 4^o instar e deformou a cutícula nova por ocasião da ecdise para o 5^o instar. É possível que percevejos sobreviventes com peças bucais deformadas não conseguiram penetrar seus estiletes

mandibulares nas vagens e grãos. Os dois produtos testados apresentam propriedades semelhantes, entretanto, o diflubenzurom mostrou efeitos menos acentuados do que o lufenurom, provavelmente pela concentração utilizada, resultando em menor produtividade de grãos (Figura 3).

Figura 3 - Produtividade de soja (Kg ha^{-1}) (média \pm EPM) infestadas no estágio R_5 com ninfas de 4º instar de *Euschistus heros* e tratadas com inseticidas desreguladores de crescimento. Valores médios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de significância.



De modo geral, os valores de peso de 100 sementes e produtividade (Figura 2, 3, 4 e 5) indicam que os danos provocados nos grãos por ninfas de *N. viridula* foram menos intensos que os causados por *E. heros*. Outro fator que pode ter contribuído para isso foi a maior sensibilidade de *N. viridula* a ação do lufenurom e diflubenzurom em comparação a *E. heros*, mesmo que a mortalidade tenha sido similar, as ninfas de *N. viridula* sofreram mais os efeitos deletérios dos IBQ, apresentando maiores deformações e dificuldades na alimentação. Danos diferenciados entre essas espécies, também foram verificados por Corrêa Ferreira e Azevedo (2002); Corrêa Ferreira et al. (2009) onde os prejuízos causados por *E. heros* foram menores na produtividade e qualidade de semente em relação aos de *N. viridula*, contrariamente ao verificado neste experimento.

O peso de 100 sementes de soja das plantas infestadas com *N. viridula* e tratadas com lufenurom foi maior (15,46 g) em comparação às tratadas com diflubenzurom (12,87 g) e a testemunha (12,79 g) que não diferiram entre si (Figura 4). Com relação à produtividade de grãos, a análise estatística não indicou diferenças entre os tratamentos com

lufenuron, diflubenzuron e a testemunha (Figura 5). No entanto, em termos numéricos houve uma redução de $2.277 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ na testemunha em comparação com o tratamento com lufenuron e $1.060 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ em comparação ao tratamento com diflubenzuron. Valores que economicamente podem justificar a aplicação desses produtos no programa de manejo de pragas.

Figura 4 - Peso em gramas de 100 sementes de soja (média±EPM) colhidas de plantas infestadas em (R5) com ninfas de 4o ínstar de *Nezara viridula* e tratadas com inseticidas desreguladores de crescimento. Valores médios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de significância.

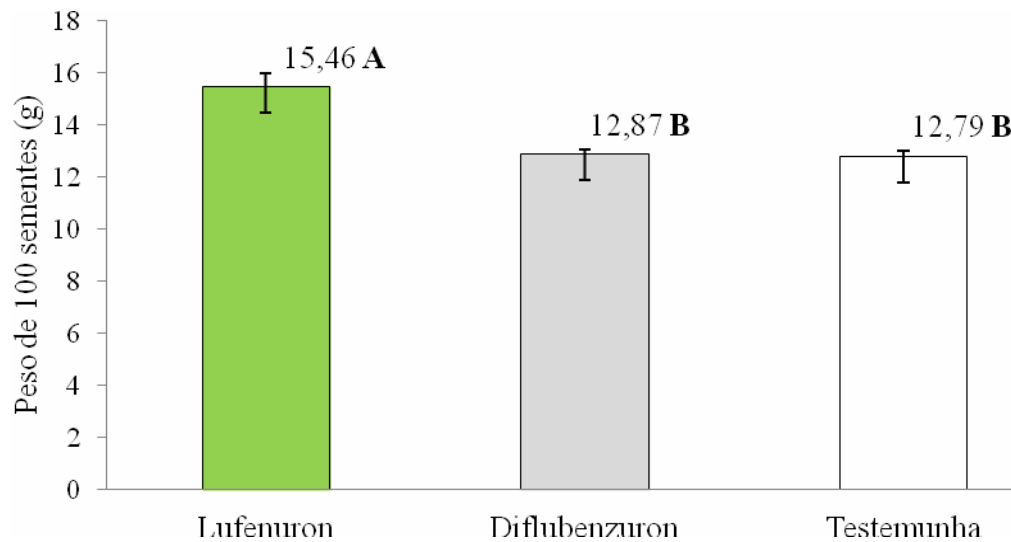
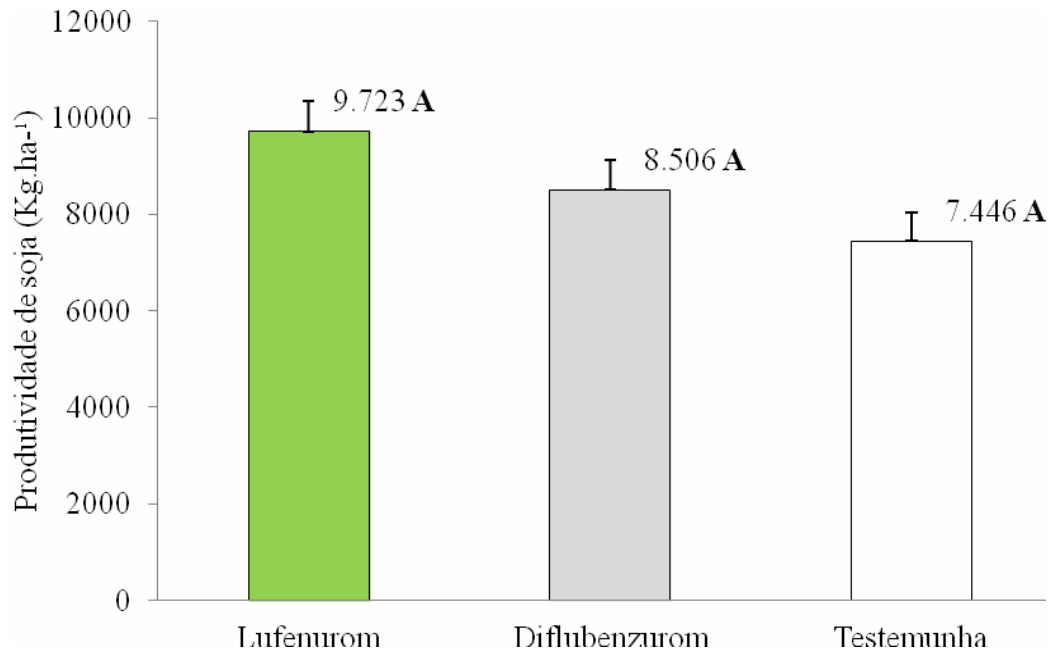


Figura 5 - Produtividade de soja (Kg. ha⁻¹) (média±EPM) infestadas no estágio R₅ com ninfas de 4^o instar de *Nezara viridula* e tratadas com inseticidas desreguladores de crescimento. Valores médios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 0,5% de significância.



Os resultados apresentados corroboram os encontrados por Boethel et al. (2000) que em seu estudo mostraram que a infestação de plantas de soja com adultos de *N. viridula* nos estádios R₃ a R_{5,5} resultaram em redução do vigor, germinação, número de vagens saudas e atraso na maturação. Também, Corrêa Ferreira (2005) verificou que as infestações com *E. heros* e *Piezodorus guildinii* no final do desenvolvimento de vagens (R₄) apresentaram produtividade significativamente menor, confirmando a suscetibilidade da soja aos danos dos percevejos, nessa fase do desenvolvimento.

4.5.4 Qualidade de Sementes

Os resultados obtidos pelo teste de tetrazólio mostram que as sementes oriundas das plantas de soja infestadas com ninfas de *E. heros*, tratadas com lufenurom (97,5%) e diflubenzurom (91,5%) apresentaram maior viabilidade em relação à testemunha (4,5%). A porcentagem de viabilidade de sementes do tratamento com lufenurom foi superior ao tratamento com diflubenzurom, possivelmente por ser mais deletério e letal para ninfas. Da mesma forma, a viabilidade de sementes das plantas infestadas com *N. viridula* foi maior

quando tratadas com o lufenurum (98,5%) e diflubenzurum (90,0%) em comparação à testemunha (58,5%) (Tabela 3).

Estudos realizados por Depieri; Panizzi (2011) mostram que a viabilidade de sementes de soja depende da intensidade de dano provocado pelos percevejos. Estes estão relacionados com o dano histológico, caracterizado pela destruição de células durante a perfuração do canal produzido pelos estiletos e pela diluição de proteínas através das enzimas salivares digestivas injetadas, que alteram a fisiologia e bioquímica que contornam a punctura. A intensidade de dano por sua vez depende da espécie de percevejo, da sua fase de desenvolvimento, do estágio fenológico da planta de soja, do tempo de permanência e do nível populacional presente na cultura (Correa-Ferreira et al., 2009).

Com relação à porcentagem de sementes com puncturas, verificou-se que o lufenurum e diflubenzurum conferiram proteção às sementes de soja contra os danos das ninfas de percevejos. A porcentagem de sementes com puncturas de *E. heros* e *N. viridula* foi menor quando se aplicou lufenurum (8,0 e 9,0%) e diflubenzurum (7,5 e 20,0%) em comparação à testemunha (97,5 e 53,0%). Também, a porcentagem de germinação das sementes das plantas infestadas com *E. heros* tratadas com lufenurum e diflubenzurum foi (91,0 e 94,5%) superiores à testemunha (19,5%) devido ao menor número de puncturas (Tabela 3).

As sementes oriundas de plantas infestadas com *N. viridula* apresentaram as maiores porcentagens de germinação quando tratadas com lufenurum (98,5%) e diflubenzurum (90,0%) diferindo da testemunha (58,5%) (Tabela 3). Embora não tenha havido diferença entre a porcentagem de germinação entre o diflubenzurum (94,5%) e a testemunha (93,5%), a proteção contra as puncturas foi importante e refletida na porcentagem de plântulas normais (Tabela 3). Estes resultados estão de acordo com os observados por de Berlote et al. (2003) e Marrero et al. (2006) onde o poder germinativo está relacionado com as porcentagens de danos como puncturas e deformações nas sementes de soja. Os autores ressaltaram ainda que as puncturas quando são realizadas perto do embrião inviabilizam a semente.

Verificou-se que as sementes com maiores porcentagem de viabilidade e germinação e menos puncturas, geraram maior porcentagem de plântulas normais. As plantas de soja infestadas com percevejos tratadas com lufenurum e diflubenzurum produziram sementes viáveis com alto poder germinativo que geraram maior porcentagem de plântulas normais (93,5%) para *E. heros* e 92,0 e 82,0% para *N. viridula* em comparação a suas respectivas testemunhas (12,5 e 77,0%), com exceção das plântulas normais provenientes de

sementes de plantas infestadas com *N. viridula* tratadas com diflubenzurom que não diferiu da testemunha, possivelmente por que os danos desta espécie foram menos intensos (Tabela 3).

Observou-se que os IBQ testados afetaram aspectos anatômicos e morfológicos importantes, que comprometem a sobrevivência, alimentação e locomoção normal das ninfas de *E. heros* e *N. viridula*, na passagem do 4º para o 5º instar, protegendo as sementes dos danos e mantendo sua qualidade e produtividade. Estudos realizados por Corrêa-Ferreira et al., 2009 corroboram a ocorrência de danos diferenciados entre as diferentes espécies de percevejos, entretanto indicaram que em casa de vegetação *E. heros* causou menores reduções na produtividade e na qualidade das sementes em comparação a *N. viridula*, contrariamente ao constatado neste experimento.

Villas Bôas et al. (1990) verificaram que populações de até quatro percevejos/m podem ser permitidas sem redução significativa à produtividade e qualidade das sementes em relação a plantas sem percevejos. A partir desse limite populacional, o rendimento é decrescente, sendo também afetada a viabilidade e vigor da semente.

Tabela 3 - Porcentagem de viabilidade, sementes com puncturas, germinação e plântulas normais de soja (%±EPM) oriundas de plantas submetidas à infestação com ninfas de 4º instar de *Euschistus heros* e *Nezara viridula*, tratadas com inseticidas desreguladores de crescimento

Espécies	Tratamento	Viabilidade (%) TZ ¹	Sementes com puncturas (%)	Germinação (%)	Plântulas normais %
<i>Euschistus heros</i>	Lufenurom	97,5 ± 0,4 a	8,0 ± 2,0 a	91,0 ± 1,5 a	93,5 ± 0,8 a
	Diflubenzurom	91,5 ± 0,8 b	9,0 ± 1,8 a	94,5 ± 0,8 a	93,5 ± 1,6 a
	Testemunha	4,5 ± 1,6 c	97,5 ± 2,1 b	19,5 ± 2,5 b	12,5 ± 2,5 b
<i>Nezara viridula</i>	Lufenurom	98,5 ± 0,8 a	7,5 ± 1,2 a	97,0 ± 0,8 ab	92,0 ± 1,0 a
	Diflubenzurom	90,0 ± 2,7 a	20,0 ± 5,0 a	94,5 ± 0,8 bc	82,0 ± 1,4 bc
	Testemunha	58,5 ± 5,7 b	53,0 ± 7,0 b	93,5 ± 0,4 c	77,0 ± 0,8 c

Porcentagem media seguida pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de significância. ¹TZ =teste de tetrazólio.

Em pesquisa realizada por Marrero et al., 2006 mostrou-se que a infestação de *Piezodorus guildinii* (West.), *Nezara viridula* (L.), *Euschistus bifibulus* (Pal de Beauv.) e

Acrosternun sp. (Heteroptera: Pentatomidae) em plantas de soja, através das puncturas dos estiletes, ocasionam deformações nas sementes, redução do tamanho, necrose, enrugamento do tegumento, vaneio, aborto de vagens, morte do embrião, inibição da germinação, ausência de radículas e transmissão de patógenos; transtornos que levam a total desvalorização da qualidade bromatológica e seu uso como semente.

Figura 6 - (A) Grãos de soja para estimativa da produtividade; (B) grãos danificados por *E. heros* (testemunha); (C) pesagem de grãos em balança de precisão; (D) medidor de umidade (E) amostras para análise qualitativa (F) sementes de soja em sal de tetrazólio ; (G) sementes danificadas por ninfas de *E. heros* ; (H) sementes saudáveis oriundas de plantas infestadas com ninfas de *E. heros* e tratadas com lufenuron; (I) contagem de sementes; (J) rolo papel umedecido com sementes; (K) germinação de sementes de soja; (L) plântula normal.



4.6 CONCLUSÕES

- Lufenurom e diflubenzurom foram eficientes no controle de ninfas de *E. heros* e *N. viridula*, e piriproxifem menos eficiente em condições de semi-campo.
- Plantas de soja infestadas com *E. heros* e *N. viridula* tratadas com lufenurom e diflubenzurom produziram sementes viáveis com poucas puncturas, alta porcentagem de germinação e número de plântulas normais, resultando em alta produção e qualidade das sementes.

5 ARTIGO C: DEFORMAÇÕES DO APARELHO BUCAL, INIBIÇÃO DA ALIMENTAÇÃO E MORTALIDADE DE *EUSCHISTUS HEROS* (F.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE] PELOS INSETICIDAS LUFENUROM, DIFLUBENZUROM E PIRIPROXIFEM.

5.1 RESUMO

O percevejo-marron-neotropical *Euschistus heros* (F.) é a praga sugadora mais importante da cultura da soja afetando quantitativa e qualitativamente a produção de grãos e sementes. O objetivo deste estudo foi verificar as deformações no aparelho bucal, inibição da alimentação e mortalidade de ninfas quando em contato com alguns inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs). Testou-se em laboratório o efeito de dois inseticidas do grupo dos inibidores de biossíntese de quitina (IBQs): lufenurum (10, 30 e 50 mL.100L⁻¹) e diflubenzurom (5,10 e 15 g.100L⁻¹), e de um análogo do hormônio juvenil (AHJ) piriproxifem (200, 300 e 500 mL.100L⁻¹). No tratamento testemunha aplicou-se somente água destilada. Avaliou-se diariamente a mortalidade, deformações no aparelho bucal, atividade alimentar pelo número de bainhas salivares/grão e o tempo letal dos produtos. Verificou-se que as aplicações dos IBQs provocaram alterações no aparelho bucal, inibição da alimentação, alteração da metamorfose e mortalidade de ninfas de *E. heros*. Já piriproxifem, embora não tenha causado deformações no aparelho bucal, afetou o crescimento e desenvolvimento, e foi letal para ninfas. Lufenurum provocou inibição da alimentação e mortalidade, em menor tempo, em comparação ao diflubenzurom e piriproxifem. Lufenuron foi também mais tóxico para ninfas de 4º instar. Os inseticidas, quando utilizados em maiores concentrações aceleram a mortalidade de ninfas. Ninfas com peças bucais deformadas foram incapazes de se alimentar e morreram. Todos os IDCs nas concentrações testadas causaram 100% de mortalidade e impediram que os insetos atingissem a fase adulta.

Palavras-chave: Hemiptera, Distúrbio fisiológico, Metamorfose, Anormalidades

5.2 ABSTRACT

The neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) is the most important sucking pest of soybean crops, affecting grains and seeds quantitatively and qualitatively. The objective of this study was to observed mouthparts deformities, feeding inhibition and nymphs mortality when in contact with insect some growth disruptors (IGDs). In the laboratory the effect of two insecticides of chitin biosynthesis inhibitors group (CBIs) lufenuron (10, 30 and 50 mL.100L⁻¹) and diflubenzuron (5, 10 and 15 g.100L⁻¹) and the juvenile hormone analogue (JHA) pyriproxyfen (200, 300 and 500 mL.100L⁻¹) were tested. The control received distilled water. Mortality was daily evaluated, mouthparts deformations, feeding activity by the number of salivary sheaths/grain and lethal time of insecticides was also evaluated. Applications of CBIs promote mouthpart deformities, feeding inhibition, alteration of metamorphosis and mortality of *E. heros* nymphs. For pyriproxyfen, although it had not cause mouthparts a deformation, physiological disorders was observed and the product was lethal for nymphs. Lufenuron caused feed inhibition and mortality in less time when compared with diflubenzuron and pyriproxyfen. It was also more toxic to 4th instar nymphs. The insecticides when used in higher concentrations increase nymphs mortality in short time. Nymphs with mouthpart deformed were unable to feed and died. All IGDs in the tested concentrations caused 100% mortality and prevented the insects reached the adult phase.

Keywords: Hemiptera, Physiological disorder, Metamorphosis, Abnormalities

5.3 INTRODUÇÃO

O percevejo *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) é a principal praga da cultura da soja no Brasil, podendo atacar o algodoeiro e o girassol, seu controle é difícil de realizar e, dentre o complexo de percevejos, se destaca pela sua resistência a inseticidas de alta toxicidade como os organofosforados e ciclodienos, assim como pela sua abundância e distribuição em várias regiões e culturas de importância econômica (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

Na soja, manter os níveis populacionais tolerados de até um percevejo por metro linear, para a produção de sementes, ou até dois percevejos por metro linear para grãos, é uma tarefa difícil, já que a capacidade de reprodução e colonização destes insetos é muito grande (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009). Os métodos convencionais de controle adotados são, por vezes, ineficientes, levando à necessidade de se rever as estratégias de manejo da população destes insetos. O sucesso de controle de percevejos passa pela adoção do manejo integrado, entretanto, as práticas de controle comumente utilizadas pelos sojicultores são realizadas sem critério ou muitas vezes sem necessidade (CORRÊA-FERREIRA et al., 2010).

Ninfas de percevejos da soja, a partir do 2º ínstar, e adultos utilizam seus estiletes mandibulares para perfurar o tecido vegetal inserindo-os, preferencialmente, nos grãos em desenvolvimento. Injetam secreções salivares dentro das sementes e ingerem o alimento através da secreção de enzimas digestivas, reduzindo a produtividade e qualidade de sementes (DEPIERI; PANIZZI, 2011). Além do dano físico provocado, os percevejos podem transmitir patógenos como a levedura *Nematospora coryli*, ou os orifícios resultantes do processo de alimentação podem servir de entrada para microorganismos que aceleram a decomposição dos grãos (SOSA-GÓMEZ et al., 2010).

O principal alvo do controle por parte dos produtores são, geralmente, os adultos, entretanto, as ninfas a partir do 2º ínstar têm a mesma capacidade de dano e compõem a maioria da população de percevejos (72%), durante a floração e maturação (CORRÊA-FERREIRA et al., 2009). Assim, uma estratégia para reduzir os danos causados pelos percevejos à soja aumentando a mortalidade é afetar seu aparelho bucal, dificultando ou inibindo a alimentação pelas ninfas.

O potencial de penetração dos estiletes aumenta significativamente conforme o progresso das fases ninfais, assim como o comprimento do rosto e a profundidade de penetração (ESQUIVEL, 2011). Após os estiletes serem inseridos no tecido vegetal eles podem ser orientados em diferentes direções provocando lise dos tecidos através do

rompimento de paredes e membranas celulares (SCHOONHOVEN et al., 2005). Os maiores danos às sementes de soja se devem à profundidade de inserção dos estiletes e aos componentes bioquímicos presentes na saliva que destroem as estruturas celulares (DEPIERI; PANIZZI, 2011).

Os percevejos possuem um rostro com forma de agulha composto pelo labro e lábio com três segmentos articulados. O conjunto de estiletes inclui o mecanismo perfurador e sugador do inseto, formado por dois estiletes maxilares justapostos no centro que interliga separadamente o canal alimentar e salivar, e dois estiletes mandibulares que envolvem os estiletes maxilares. Os estiletes saem da região dorso anterior da cabeça, em repouso são mantidos contra a superfície ventral da cabeça entre a buccula, o restante do conjunto de estiletes é alojado na ranhura ao longo do lábio (SNODGRASS, 1993; ESQUIVEL, 2011).

A utilização de inibidores de biossíntese de quitina (IBQs) pode interromper o desenvolvimento normal de ninfas de percevejos pentatomídeos (ROGGIA et al., 2011; BAGHERI et al., 2010). Nestes estudos deformações importantes na anatomia das ninfas de percevejos já foram descritas, porém não mencionam alterações no aparelho bucal, o qual deve ser considerado como uma das principais estruturas afetadas.

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência de deformações das peças bucais, inibição da atividade alimentar e mortalidade de ninfas de *E. heros*, decorrentes da aplicação de lufenurom, diflubenzurom e piriproxifem.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Obtenção dos Insetos e Criação

Ninfas de 4º instar foram obtidas a partir da criação do laboratório de entomologia do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), Londrina, Brasil. Os insetos foram mantidos com vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae), frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* L.) (Oleaceae) e água através de algodão umedecido em recipientes plásticos, por 24 hs, em câmara climatizada (25 ± 2 °C, 14h de fotofase e $65\pm 5\%$ de umidade relativa).

5.4.2 Aplicação dos Inseticidas e Avaliação

Ninfas de 4^o ínstar de aproximadamente dois dias de idade foram tratadas com diferentes concentrações de inseticidas desreguladores de crescimento. A escolha das concentrações foi realizada com base em estudos preliminares, utilizando concentrações que causem deformações morfológicas nas ninfas durante a muda e que possam impedir a ecdise. Para cada concentração dos três inseticidas: lufenurom (10, 30 e 50 mL.100L⁻¹), diflubenzurom (5,10 e 15 g.100L⁻¹) e piriproxifem (200, 300 e 500 mL.100L⁻¹) e para a testemunha, foram utilizadas dez ninfas e três repetições. Dois mililitros de calda de cada produto, e de água destilada para testemunha, foram pulverizados sobre cada grupo de dez ninfas, em placas de Petri (9cmØ) utilizando Torre de Potter a 10 lb.pol² de pressão (BURKARD SCIENTIFIC).

Após a pulverização as ninfas tratadas foram individualizadas, em recipientes plásticos (2cmØ) contendo algodão umedecido com água destilada e um único grão de feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae), previamente embebido em água durante 30 minutos. Os grãos foram trocados diariamente. Para a observação e quantificação das bainhas salivares (alimentares) inseridas no grão, os grãos foram tingidos com fucsina ácida 1% (BLOWLING, 1980) e observados ao microscópio estereoscópio. As ninfas vivas e mortas também foram observadas diariamente sob microscópio estereoscópio para detectar as deformações no aparelho bucal e registrar a mortalidade. As ninfas mortas após a verificação do aparelho bucal foram retiradas dos recipientes e mantidas em álcool 70%.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições de dez ninfas por tratamento (produtos nas diferentes concentrações e testemunha). Os dados de mortalidade, tempo necessário para causar mortalidade total e número de bainhas alimentares/grão foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-knott a 5% de significância. A atividade alimentar foi analisada comparando o número médio de bainhas alimentares/percevejo do 4^o ínstar tratados com os produtos e após a muda para o 5^o ínstar. Na avaliação das deformações do aparelho bucal foi registrado o número de ninfas com o aparelho bucal normal e com deformações seguindo a classificação utilizada por Singha et al. (2007). A eficiência dos inseticidas foi calculada e corrigida utilizando a fórmula de Scheneider-Orelli considerando o número de insetos mortos no tratamento e na testemunha.

5.4.3 Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV)

Para as observações ao MEV foram selecionadas ninfas de 5º instar com aparelho bucal deformado, mortas pela ação do lufenurom e as ninfas da testemunha do mesmo instar, mortas por congelamento. A cabeça das ninfas foi retirada com bisturi e fixadas em solução de glutaraldeído 2%, paraformaldeído 2% por 12 hs em refrigerador. Em seguida foram lavadas três vezes, por 15 minutos. Cada lavagem, com solução tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH=7,2). Posteriormente, foram desidratadas em uma série de concentração de 70, 80, 90 e 100% de etanol por 10 minutos cada uma. A secagem ao ponto crítico foi realizada através da compressão e injeção de CO₂ na amostra. Em seguida, as cabeças foram coladas no porta-amostra “stubs” por meio de fita adesiva de carbono dupla face e revestidas com ouro em metalizador (BAL-TEC® SCD050, Balzers, Liechtenstein). Foram geradas imagens ao microscópio eletrônico de varredura (FEI® Quanta 200, Eindhoven, Holanda). A caracterização das deformações no aparelho bucal foram realizadas comparando as amostras com peças bucais deformadas e a testemunha, seguindo a classificação utilizada por Singha et al. (2007).

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

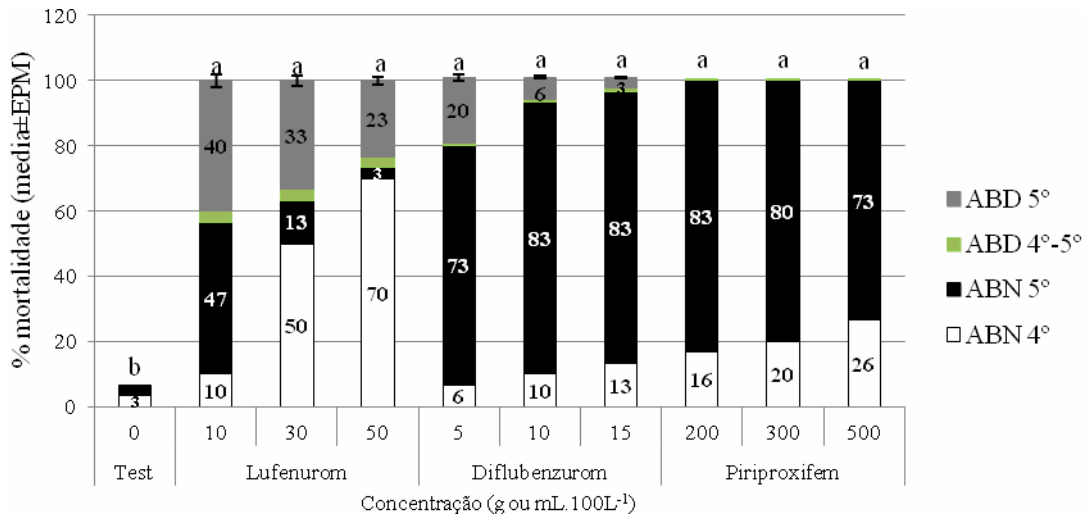
Os resultados mostram que a pulverização dos inseticidas lufenurom e diflubenzurom causou deformações no aparelho bucal das ninfas de *E. heros* durante a muda para o 5º instar, em contraposição ao piriproxifem, o qual não deformou o aparelho bucal (Figura 1 e Tabela 1). Todos os produtos provocaram 100% de mortalidade de ninfas de 4º e 5º instar, sem a obtenção de adultos. A mortalidade foi similar para todos tratamentos, diferindo apenas da testemunha e ocorreu principalmente nos estádios ninfaís de 4º, 5º e na muda do 4º para 5º instar, neste último, ficando o inseto aderido à exúvia. Observou-se que as ninfas de 5º instar com peças bucais danificadas não conseguiram se alimentar e morreram (Figura 1).

A proporção de ninfas de 4º instar mortas, representadas pelas barras brancas, foi maior conforme aumentou a concentração dos inseticidas impedindo a muda para o 5º instar. Maiores mortalidades foram provocados pelo lufenurom seguido do diflubenzurom e piriproxifem (Figura1). Varias deformações nas peças bucais, representadas pelas barras cinza, foram ocasionados pelo lufenurom e diflubenzurom em função da sua concentração, à exceção do piriproxifem, que não deformou o aparelho bucal. A maior proporção de ninfas mortas no 5º instar, representadas pelas barras pretas, ocorreu com a

aplicação de piriproxifem e diflubenzurom. Por outro lado, ocorreu menor mortalidade de ninfas do 4º para 5º instar aderidas a exúvia, pelo lufenurom e diflubenzurom (Figura 1), representada pelas barras verdes.

Maiores mortalidades de ninfas de 4º instar foram provocadas pelo lufenurom nas concentrações 50 e 30 mL.100L⁻¹ onde respectivamente 23 e 33% das ninfas que mudaram para o 5º instar tiveram deformidades nas peças bucais: estiletos, labro e ou lábio. Por outro lado, o diflubenzurom nas concentrações de 5, 10 e 15 mL.100L⁻¹ causou efeitos semelhantes no aparelho bucal, porém com apenas 6, 10 e 13% de mortalidade de ninfas de 4º instar. Já, piriproxifem, embora não tenha afetado o aparelho bucal, foi letal para ninfas de 4º e 5º instar. Nas concentrações de 200, 300 e 500 mL.100L⁻¹, a mortalidade de ninfas de 4º instar foi de 16, 20 e 26%, e para ninfas de 5º instar foi de 80, 83 e 73% respectivamente (Figura 1).

Figura 1 - Porcentagem de mortalidade (média±EPM) de ninfas de *E. heros* tratados com inseticidas desreguladores de crescimento. Barras com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$). ABN, aparelho bucal normal; ABD, aparelho bucal deformado.



Considerando que o exoesqueleto e o aparelho bucal dos percevejos têm na sua constituição quitina e que o lufenurom e diflubenzurom interferem na síntese da nova cutícula, interrompendo o seu desenvolvimento e ou alterando a deposição da quitina, as ninfas podem sofrer deformações, sendo as mais importantes as relacionadas às peças bucais, por impedirem a atividade alimentar. Constatou-se maior variedade de deformações no aparelho bucal nas menores concentrações de lufenurom e diflubenzurom, por ter maior

número de ninfas passado para o 5º instar, ocasião em que as peças bucais foram deformadas (Figura 1 e Tabela 1).

Os IBQ lufenurom e diflubenzurom agem durante a muda, podendo aumentar as atividades catalíticas da quitinase na cutícula que degrada a quitina, inibir a atividade da quitina-sintetase reduzindo a produção de quitina. Também, podem translocar anormalmente a quitina-sintetase ou desordenar a montagem das microfibrilas de quitina. Pela similaridade estrutural com as sulfonilureias interage com seu homólogo, competindo pelo receptor de sulfonilureia, inibindo a formação da quitina. Assim, a cutícula danificada não suporta a pressão da hemolinfa e a tensão muscular matando o inseto. Embora se tenha esses conhecimentos, o mecanismo de ação desses compostos não foi exatamente elucidado (COHEN, 1987; COHEN, 2001; ABO-ELGHAR et al., 2004; MERZENDORFER, 2006; ZHANG; ZHU 2006).

O piriproxifem é um desregulador endócrino com semelhança estrutural aos HJs que pode competir pelo sítio de ligação dos receptores do HJ (SULLIVAN; GOH, 2008). Possivelmente o juvenóide provocou um desbalanço hormonal nas ninfas que alterou seu desenvolvimento normal impedindo a formação de adultos. Pesquisas realizadas por Rill et al. (2007) mostram que com o incremento da concentração de piriproxifem aumentou a mortalidade de ninfas de 1º e 2º instar da praga dos citros *Aonidiella aurantii* Maskell (Hemiptera:Diaspididae). Também Mahdian et al. (2007) mostraram que piriproxifem foi tóxico para ninfas de 4º instar do predador *Pricomerus bidens* (Hemiptera: Pentatomidae) e as maiores mortalidades ocorreram durante a muda para o 5º instar e para fase adulta.

Observou-se que as deformações no aparelho bucal foram irreversíveis e que as ninfas moribundas não conseguiam se alimentar, como evidenciado pela ausência de bainhas salivares nos grãos e logo após as ninfas morriam principalmente pelas deformações nas peças bucais (Figura 2 e Tabela 1). Estes resultados coincidem com os encontrados por Singha et al. (2007), entretanto, o grau de deformações nas peças bucais aumentou em função a concentração dos produtos, opostamente ao verificado neste experimento.

O número médio de bainhas alimentares/grão de ninfas de 4º instar tratadas com o lufenurom e diflubenzurom, e após a muda para o 5º instar revelam que as deformações no aparelho bucal comprometeram sua atividade alimentar. Nas maiores concentrações dos inseticidas, não se desenvolveu a nova cutícula e o inseto morreu no instar que recebeu a aplicação (4º instar). As ninfas que atingiram o 5º instar, dependendo da concentração dos produtos, sofreram deformações nas peças bucais sem poder se alimentar dos grãos, como observado no teste de coloração, ausência das bainhas alimentares (Tabela 1). Entretanto, a

atividade alimentar das ninfas de 4º instar com aparelho bucal normal foi semelhante à das ninfas de 5º instar que não tiveram o aparelho bucal deformado (Tabela 1).

A maior frequência de deformações nas peças bucais ocorreu com a aplicação de lufenurum, na concentração de 10 mL.100L⁻¹, 30% das ninfas de 5º instar tiveram separação parcial de seus estiletes (EPS), 13,33% separação total dos estiletes em seu comprimento o do sulco labial (ETS); 6,66% de deformações no labro e 3,33 no lábio. Estes últimos ocorreram independentemente ou às vezes junto às demais deformidades. Com o aumento da concentração para 30 e 50 mL.100L⁻¹, a frequência de ninfas de 5º instar com o aparelho bucal normal diminuiu para 13,00 e 3,33%. A frequência de ninfas com EPS foi de 13,33 e 20% e com ETS, 13,33 e 6,66% respectivamente (Tabela 1)

A formação da bainha alimentar no grão ou alimento é um indicador da atividade alimentar do percevejo (BOWLING, 1980). No entanto, ninfas com deformidades nas peças bucais não mostram qualquer formação de bainha alimentar/salivar sobre os grãos oferecidos. Isso indica que os percevejos não são capazes de iniciar a alimentação por causa da deformação de suas peças bucais. Sua disposição é afetada e os estiletes mandibulares não podem realizar a punção e iniciar o processo de alimentação (SINGHA et al., 2007).

No tratamento com diflubenzurom, em comparação ao lufenurum, observou-se maior frequência de ninfas de 5º instar com aparelho bucal normal (ABN) que conseguiram se alimentar. Entretanto, na concentração de 5mL.100L⁻¹, 10% das ninfas tiveram EPS e 10% ETS. Nas concentrações de 10 e 15 mL.100L⁻¹ houve apenas 3,33% de ninfas com EPS para ambas as concentrações. Todas as ninfas de 5º instar com deformações nas peças bucais não depositaram bainhas alimentares nos grãos oferecidos para alimentação (Tabela 1).

Ninfas que entraram em contato com pyriproxifem, não tiveram suas peças bucais danificadas durante a muda para o 5º instar e conseguiram se alimentar normalmente. As maiores frequências de ninfas com ABN foram de 86,66; 80,00 e 73,33% com as aplicações 200, 300 e 500 mL.100L⁻¹ de pyriproxifem respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 – Atividade alimentar e deformações observadas no aparelho bucal de ninfas de 4º e 5º instares de *Euschistus heros* tratadas com inseticidas desreguladores de crescimento.

Tabela 1. Atividade alimentar de ninfas de <i>Euschistus heros</i> tratados no 4º instar com inseticidas desreguladores de crescimento e das ninfas de 5º instar sobreviventes													
Tratamento	Concentração (mL ou g.100L ¹)	Número médio de bainhas alimentares/grão ¹											
		4º instar		5º instar									
		ABN ²	F ³	ABN ²	F	EPS ²	F	ETS ²	F	LA ²	F	LB ²	F
Lufenurum	10	0,90	100	0,27	47,00	0,00	30,00	0,00	13,33	0,00	6,66	0,00	3,33
	30	1,53	100	0,42	13,00	0,00	13,33	0,00	13,33	0,00	3,33	--	--
	50	1,00	100	0,66	3,33	0,00	20,00	0,00	6,66	0,00	3,33	--	--
Diflubenzurum	5	0,56	100	0,54	73,33	0,00	10,00	0,00	10,00	--	--	--	--
	10	0,46	100	0,56	83,33	0,00	3,33	--	--	--	--	--	--
	15	0,30	100	0,60	83,33	0,00	3,33	--	--	--	--	--	--
Pyriproxifem	200	0,23	100	0,50	86,66	--	--	--	--	--	--	--	--
	300	0,36	100	0,34	80,00	--	--	--	--	--	--	--	--
	500	0,30	100	0,50	73,33	--	--	--	--	--	--	--	--
Testemunha	Água	1,30	100	2,76	100	--	--	--	--	--	--	--	--

¹Teste de coloração com fucsina ácida (Bowling, 1980). ²Categorias de deformações do aparelho bucal: ABN= Aparelho bucal normal, EPS= Estiletos parcialmente separados e ETS= Estiletos totalmente separados em seu comprimento ou do sulco labial, LA= Labro deformado e LB= Lábio deformado (Singha et al., 2007) ³Frequencia de ninfas de *E. heros* (%)

Em estudos semelhantes, Roggia et al. (2011) observaram que a aplicação de lufenurum e diflubenzurum sobre ninfas de 5º instar de *E. heros* reduziu o número de bainhas alimentares e a alimentação dos percevejos ao atingir a fase adulta, atribuindo a saúde precária às deformações nas pernas que dificultaram sua locomoção para procurar alimentos. Também hipotetizaram que os inseticidas eventualmente poderiam ter prejudicado a adequada formação do aparelho bucal, limitando a atividade alimentar, embora, não evidenciam esse fato como ocorreu neste experimento.

A redução do número de bainhas alimentares de percevejos foi relatada por Singha et al. (2007) e mostraram que a aplicação tópica de extratos de nim, *Azadirachta indica*, resultaram em deformações do aparelho bucal, inibição da alimentação e subsequente mortalidade de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). Da mesma forma, Pinheiro e Quintela, (2010) observaram a deterrência, redução de bainhas alimentares/grão e dano em panículas de arroz por *Oebalus poecilus* (Hemiptera: Pentatomidae) com a aplicação de óleo de nim *A. indica*.

A inibição da alimentação de lagartas de *Spodoptera littoralis* devido à ingestão de folhas tratadas com lufenurum foi relatada por Adel (2012) e observou efeitos histopatológicos, bloqueio da produção da endocutícula, formação de cutícula delicada apenas

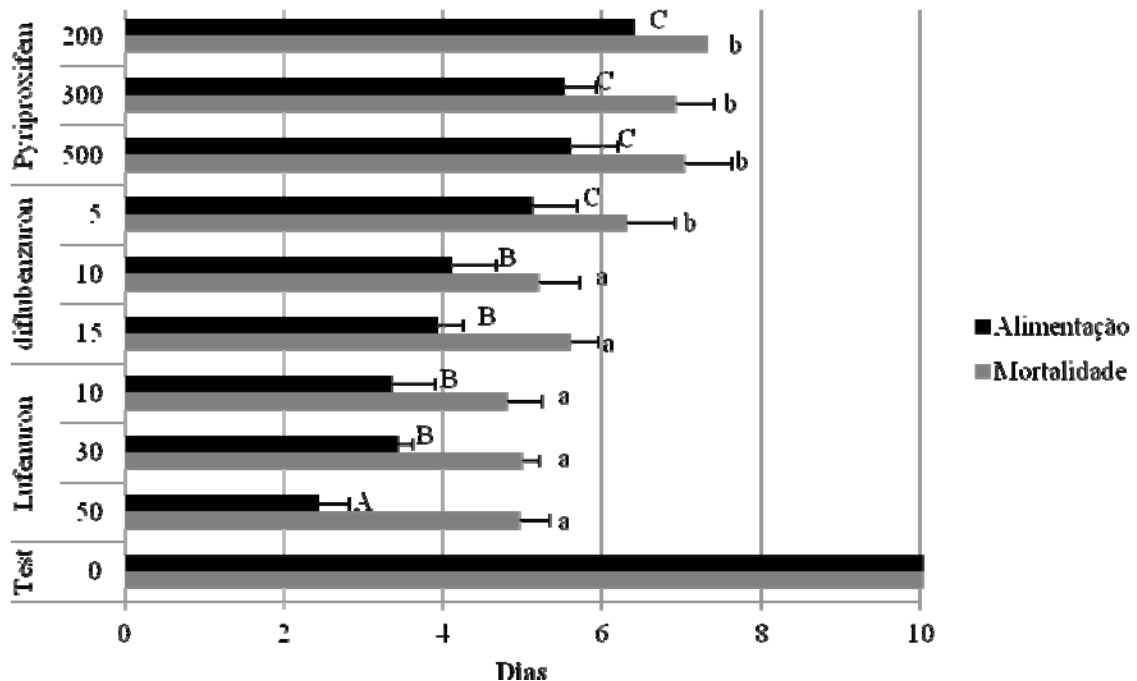
com epicutícula não devidamente ligada a epiderme que não resiste à conexão muscular durante a muda. Sob a epiderme verificou células distribuídas irregularmente por baixo da cutícula com divisões mitóticas e fissuras.

A inibição da alimentação também pode ocorrer devido a que o canal alimentar revestido com cutícula e formado de quitina, é a primeira parte afetada com a ingestão de alimentos tratados com os produtos. Assim, se os IBQ aumentam as quitinases podem perfurar e degradar o intestino médio e membranas perimicrovilares dos hemípteros (DIAS FILHO et al., 2002; DAMASCENO - SÁ; SILVA, 2007).

A rapidez com que os produtos agem para reduzir os danos ou matar aspragas é um fator importante a ser considerado. Embora IDCs não matem instantaneamente as ninfas, após 2 ou 3 dias manifestam-se seus efeitos, inibindo a atividade alimentar, deixando-os moribundos e sua morte é apenas uma questão de tempo. Verificou-se que o lufenurom e diflubenzurom além de serem os mais tóxicos para as ninfas de *E. heros*, em comparação ao piriproxifem, a velocidade com que seus efeitos deletérios manifestaram-se foi maior. Assim as ninfas morreram em consequência das deformações morfológicas e da inanição, como no caso dos IBQ (Figura 2).

A inibição da alimentação ocorreu principalmente pela deformação do aparelho bucal, também observou-se que ninfas moribundas com aparelho bucal normal e as que ficavam em posição decúbito dorsal tinham dificuldade de locomoção e para se alimentar. Considerando o mecanismo de ação dos IBQ, os resultados indicam que os efeitos na anatomia comprometeram a locomoção e alimentação das ninfas. O piriproxifem embora não tenha danificado as peças bucais, possivelmente provocou transtornos fisiológicos internos, atrasando a muda deixando as ninfas com a cutícula escura, locomoção lenta e reduzida.

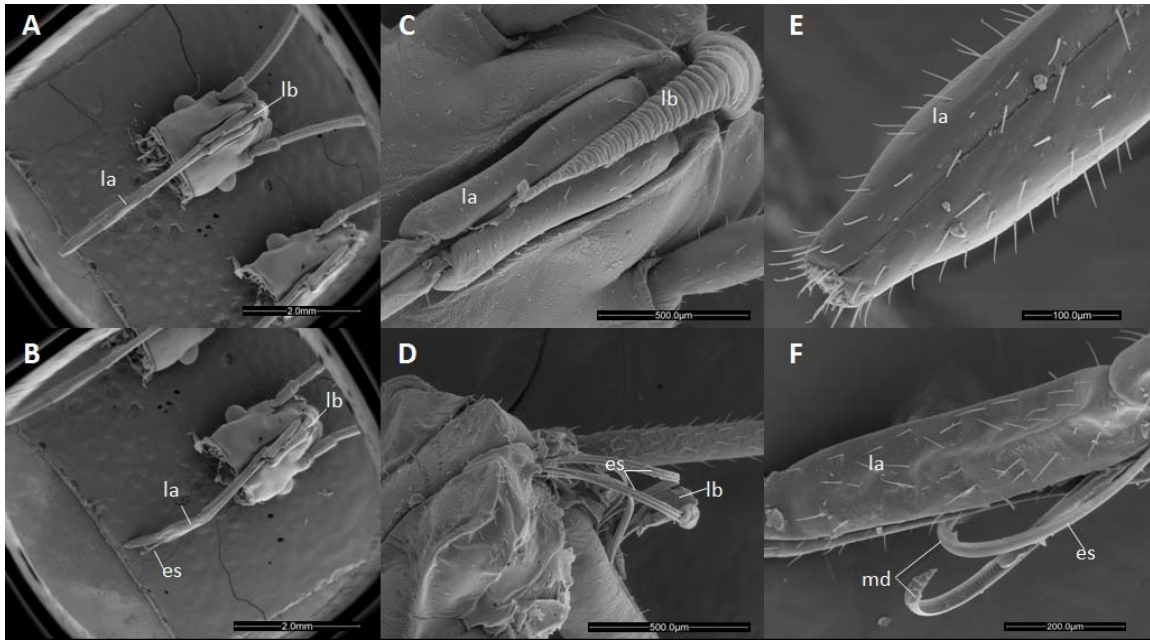
Figura 2 - Tempo letal total e de inibição da alimentação (média±EPM) de ninfas de *E. heros* tratados com inseticidas desreguladores de crescimento. Barras pretas seguidas das mesmas letras maiúsculas não diferem entre si. Barras cinzas seguidas das mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).



Verificou-se que o tempo letal total e a alimentação diminuíram em função do mecanismo de ação do inseticida e a concentração. Lufenuron e diflubenzuron conseguiram matar e inibir a alimentação das ninfas em menor tempo em comparação ao piriproxifem. As ninfas pararam de se alimentar entorno de 1 a 2 dias antes de morrer, fato de importância, pois param de danificar os grãos rapidamente e posteriormente morrem (Figura 2). A rapidez em conter os danos nos grãos e matar a praga é fundamental para o sucesso do produto no manejo de pragas, pois é necessário reduzir os danos e a população da praga no menor tempo possível.

A constatação dos efeitos deletérios dos IDCs no aparelho bucal e na anatomia das ninfas de *E. heros* é importante para sua aplicação no campo, pela baixa toxicidade desses inseticidas para o homem, organismos benéficos e ao ambiente, assim como a baixa probabilidade da praga adquirir resistência aos inseticidas testados. Novos estudos em nível de campo devem ser realizados para validar estes resultados, já que em laboratório há exposição máxima dos insetos aos produtos e o confinamento pode causar estresse e outros fatores que podem potencializar os efeitos dos inseticidas.

Figura 3 - Aparelho bucal do percevejo marrom *Euschistus heros*. (A) normal; (B) deformado por lufenurom; (C) labro normal; (D) labro deformado; (E) lábio normal sem separação dos estiletes ou do lábio; (F) lábio deformado com separação parcial dos estiletes mandibulares e do lábio. lb: labro; la: lábio; es: estiletes; md: mandíbula. Microscopia eletrônica de varredura.



5.6 CONCLUSÕES

- Lufenuron e diflubenzuron, nas concentrações utilizadas provocaram deformações no aparelho bucal, inibindo a alimentação, afetaram a metamorfose e conseqüentemente provocaram mortalidade de ninfas de *Euschistus heros*.
- Pyriproxifem, nas concentrações utilizadas, não provocou deformações no aparelho bucal e não inibiu a alimentação, porém causou distúrbios fisiológicos responsáveis pela mortalidade de ninfas de *E. heros*.
- Quanto maiores concentrações de lufenuron, diflubenzuron e piriproxifem, maior é a rapidez em inibir a alimentação e matar as ninfas de *E. heros*.

6 ARTIGO D: PIRIPROXIFEM E DIFLUBENZUROM NA REPRODUÇÃO DE *NEZARA VIRIDULA* (L.) [HEMIPTERA: PENTATOMIDAE]

6.1 RESUMO

O percevejo *Nezara viridula* é uma praga importante em varias culturas e regiões do mundo. Neste estudo, avaliou-se o efeito do piriproxifem sobre a fecundidade e fertilidade de *N. viridula* e o efeito do diflubenzurom na formação do aparelho reprodutor. Em laboratório realizaram-se dois bioensaios. No primeiro, testou-se baixa concentração de piriproxifem sobre casais adultos de *N. viridula*. Após a cópula, avaliou-se o número de ovos/fêmea (fecundidade) e número de ninfas eclodidas (fertilidade). No segundo bioensaio, avaliou-se o efeito do diflubenzurom na morfologia do aparelho reprodutor feminino e masculino de *N. viridula*. Os resultados indicam que a redução de 23,61% do número de ovos por fêmea provocada pelo piriproxifem, na concentração testada, não foi significativa em relação à testemunha. No entanto, a fertilidade dos ovos diminuiu 52,39%, impedindo a eclosão de ninfas, provavelmente por afetar a formação do embrião. Entretanto, o diflubenzurom afetou o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos feminino e masculino. Assim, tanto o piriproxifem e diflubenzurom têm potencial de diminuir a progênie de *N. viridula*, podendo ser incluídos em programas de manejo integrado de percevejos da soja.

Palavras-chave: Hemíptera, Desregulação Endócrina, Fecundidade, Fertilidade, Aparelho reprodutor.

6.2 ABSTRACT

The green stink bug *Nezara viridula* is an important pest in many crops and regions of the world. In this study the effect of pyriproxyfen on fecundity and fertility of *N. viridula* and effect of diflubenzuron in the reproductive system was evaluated. Two bioassays were conducted in laboratory. In the first, low concentration of pyriproxyfen was tested on adult pairs of *N. viridula*. After copulation, we assessed the number of eggs/female (fecundity) and the number of hatched nymphs (fertility). In the second bioassay, we evaluated the effect of diflubenzuron in the morphology of female and male reproductive system of *N. viridula*. The results show that pyriproxyfen, at the tested concentration did not reduce significantly the number of eggs/female (23.61%). However, a decreased of 52.39% in eggs fertility, was observed preventing nymphs hatching probably due to the embryo malformation. However, diflubenzuron affected female and male development and reproductive organs. Thus, both pyriproxyfen and diflubenzuron have potential to decrease *N. viridula* progeny and can be included in integrated management of soybean stink bugs.

Key words: Hemiptera, Endocrine disruptor, Fecundity, fertility, Reproductive organs.

6.3 INTRODUÇÃO

O percevejo-verde *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) é uma praga cosmopolita, polífaga que ocasiona danos a várias espécies de plantas cultivadas (KNIGHTA et al., 2007). No Brasil, é a espécie mais comum na região Sul (SOSA-GÓMEZ et al., 2010). Junto com o percevejo-marrom-neotropical *Euschistus heros* (F., 1791) (Hemiptera: Pentatomidae) são as principais pragas sugadoras da soja, sendo esta última, a espécie mais difícil de controlar devido à alta pressão de seleção exercida sobre suas populações pelo uso indiscriminado, repetitivo de inseticidas sintéticos do mesmo grupo químico e falhas na aplicação (SILVA et al., 2006., SOSA-GÓMEZ; SILVA, 2010).

Na cultura da soja, o principal problema é o prejuízo ocasionado pelos percevejos praga, para isso, há a necessidade de desenvolver estratégias eficientes para reduzir sua população. A introdução de cultivares que expressam toxinas Cry (soja *Bt*) resistentes a alguns lepidópteros pode contribuir para o manejo dessas pragas (PANIZZI, 2013). Contudo o complexo de percevejos ainda será o principal alvo de controle e uma das estratégias pode ser afetando sua reprodução.

Os estudos da formação e desenvolvimento do aparelho reprodutor de *N. viridula* são fundamentais para o conhecimento do seu estado reprodutivo e a estimativa da densidade populacional futura (ESQUIVEL, 2011). Assim, a diminuição da sua capacidade reprodutiva deve ser explorada como alternativa de manejo de sua população visando a redução dos danos ocasionados a soja.

N. viridula é um inseto sinovigênico, as fêmeas adultas dependem da nutrição para a produção de ovos. Seu ovário é do tipo meroístico telotrófico, contendo 7 ovariolos por ovário. A vitelogênese e o desenvolvimento dos oócitos são independentes de estímulos da cópula, no entanto a ausência de cópula leva a reabsorção dos oócitos (FORTES et al, 2011). O sistema masculino maduro é formado por um par de testículos e vasos deferentes alaranjados, vesícula seminal e glândulas acessórias mesodérmicas e ectodérmicas (PENDERGRAST, 1956; ESQUIVEL, 2011).

Em Hemiptera-Heteroptera, a vitelogênese é regulada pelo hormônio juvenil (HJ) com discreta ação do ecdisteróides (DITTMANN; BICZKOWKI, 1995., DAVEY, 1997). O HJ regula a síntese de vitelogenina pelo tecido adiposo, assim como a absorção das vitelogeninas disponíveis na hemolinfa pelo oócito em desenvolvimento (MARTINEZ; GARCERA, 1987., HIRAI et al.,1998).

Os inseticidas desreguladores de crescimento (IDCs) controlam os insetos na fase jovem (CLOYD et al., 2004) e podem afetar diretamente a sobrevivência, longevidade e atividade alimentar, e indiretamente, a fecundidade e fertilidade das diferentes espécies de percevejos que ocorrem na cultura (ROGGIA et al., 2011).

Os IDCs possuem mecanismos de ação específicos agindo no sistema hormonal do inseto (DHADIALLA et al., 2005). São classificados em inibidores de biossíntese de quitina (IBQ) que agem na formação da cutícula e substâncias que interferem na atividade hormonal dos insetos: hormônios juvenis (JHs) e ecdisteróides (TUNAZ; UYGUN 2004). Assim o principal sítio de ação dos IDCs é o sistema endócrino, causando mudanças fisiológicas e bioquímicas nas vias metabólicas (KIM; KIM, 2002; LEONARDI et al., 2001).

O piriproxifem é um análogo ao HJ, atua por contato em insetos sugadores e pode ter ação translaminar principalmente sobre ovos e ninfas provocando distúrbios hormonais, provocando a morte ou malformação de adultos. As fêmeas contaminadas sofrem redução da fecundidade e fertilidade diminuindo a postura e colocando ovos inférteis. Recomenda-se para o controle de formas jovens de mosca branca, tripses, cochonilhas e alguns lepidópteros (SUMITOMO CHEMICAL Ltda).

Os IDCs são geralmente de baixa toxicidade para mamíferos e o piriproxifem primeiramente foi utilizado para o controle de pragas urbanas (MIYAMOTO et al., 1993). O HJ secretado pela corpora allata é determinante na produção de ovos (WANG; DAVEY, 1993) e o piriproxifem é um desregulador endócrino que pode competir pelo sítio de ligação dos receptores do HJ (SULLIVAN; GOH, 2008), afetando a formação dos ovos e o desenvolvimento embrionário dos insetos.

O diflubenzurom é um IDC que interfere na formação da quitina, o principal componente da cutícula dos insetos (CASTRO et al., 2012). Os IBQs como diflubenzurom e lufenurom causam deformações morfológicas, mortalidade de ninfas, redução da fecundidade e fertilidade das fêmeas (CORRÊA-FERREIRA et al., 2010; ROGGIA et al., 2011).

Este estudo propõe uma alternativa para reduzir a população de *N. viridula* afetando sua reprodução utilizando IDCs. Assim o objetivo do trabalho foi verificar o efeito do piriproxifem na fecundidade e fertilidade de *N. viridula* e o efeito do diflubenzurom na malformação do aparelho reprodutor.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

6.4.1 Bioensaio um. Piriproxifem na Fecundidade e Fertilidade de *N. viridula*

Adultos de *N. viridula* provenientes de lavoura de soja cultivada na Fazenda Escola da UEL (UEL, 23°20' de latitude Sul e 51°13' de longitude Oeste) foram criados em câmara climatizada (25±1°C 70±5% UR e 14 h de fotofase), utilizando-se a segunda geração (F₂) para a realização do bioensaio. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (tratado e não tratado) e dez repetições.

O produto utilizado foi o piriproxifem: 4-fenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether (piriproxyfen) xileno, com o nome comercial Tiger 100 CE na concentração equivalente a 200 mL do produto comercial em 100L de água. A concentração foi escolhida com base em experimentos anteriores, determinando-se uma concentração subletal de forma a não ocasionar alta mortalidade das ninfas e que permita aos insetos atingir a fase adulta e assim, verificar os efeitos sobre sua progênie.

Sessenta ninfas de 4° instar foram selecionadas aleatoriamente da criação, trinta delas foram tratadas com 2 mL da solução contendo piriproxifem e trinta insetos receberam 2 mL de água destilada (testemunha) utilizando torre de Potter (10 lb.pol²). A aplicação foi realizada sobre seis grupos de dez ninfas em placas de Petri contendo alimento. Como alimento foram oferecidos vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae), frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* L.) (Oleaceae) e água através de algodão umedecido, trocando-se a cada 3 dias. Posteriormente foram acondicionados em caixas plásticas de poliestireno cristal transparente “tipo Gerbox” e mantidas em câmara climatizada (25±1°C 70±5% UR e 14 h de fotofase), até atingir a fase adulta.

Dos adultos sobreviventes, que entraram em contato com o produto na fase ninfal, foram separados vinte insetos, (dez fêmeas e dez machos), separados por sexo formando-se dez casais, cada casal foi individualizado em caixas “tipo Gerbox” contendo alimento e água idêntico ao oferecido as ninfas, para permitir a cópula e a avaliação da fecundidade (ovos/fêmea) e fertilidade dos ovos (ninfas eclodidas). Também, formaram-se dez casais que receberam apenas água destilada (testemunha). Os insetos foram mantidos em câmara climatizada (25±1°C 65±5% UR e 14 h de fotófase) para permitir a oviposição.

Uma vez iniciada a primeira postura, a massa de ovos foi recolhida e colocadas em placa de Petri forrada com papel filtro umedecido e mantida em câmara

climatizada, nas mesmas condições descritas anteriormente. Os dados de fecundidade e fertilidade dos ovos foram submetidos à análise de variância, transformados em raiz de $x+1$ por falta de homocedasticidade e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

6.4.2 Bioensaio dois. Diflubenzurom no aparelho reprodutor de *N. viridula*

O produto utilizado foi o diflubenzurom: (1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea), (Dimilim 80WG) em solução em água de 10 mL/100L, uma concentração sub-letal, determinada em estudos preliminares, que permita a maioria dos insetos atingirem a fase adulta, e dessa forma verificar os efeitos sobre o aparelho reprodutor.

Selecionaram-se aleatoriamente sessenta ninfas de 5º instar da criação, das quais trinta ninfas receberam a aplicação de 2 mL da calda inseticida e as trinta ninfas receberam apenas água destilada (2 mL) correspondente a testemunha. As aplicações foram realizadas sobre grupos de dez ninfas em placa de Petri. Logo foram transferidas para caixas tipo Gerbox e mantidas em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ $65 \pm 5\%$ UR e 14 h de fotofase) até atingir a fase adulta.

Dos indivíduos tratados com diflubenzurom que sobreviveram e atingiram a fase adulta, selecionaram-se dez casais (dez fêmeas e dez machos) os quais foram individualizados em caixas tipo Gerbox contendo alimento idêntico ao descrito no bioensaio um, mantidas em câmara climatizada para permitir a cópula, caso que órgãos reprodutivos tivessem sido formados. Da mesma forma, dez casais de percevejos tratados com água destilada foram individualizados para comparação com os casais que entraram em contato com o produto.

Os casais tratados com diflubenzurom que não copulavam e posteriormente morriam foram dissecados em solução salina 5% e comparados com os insetos da testemunha da mesma idade examinando-se a morfologia geral do aparelho reprodutor feminino e masculino sob microscópio estereoscópio, realizando fotografias com câmera SONY CYBER-SHOT 14.1 pixels.

O experimento constou de dois tratamentos, casais tratados com diflubenzurom e água destilada (testemunha), sendo que cada tratamento foi constituído de dez repetições (casais). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, os dados de formação do aparelho reprodutor feminino e masculino de *N. viridula* foram submetidos à

análise de variância, transformados em raiz de $x+1$, pela ausência de normalidade e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.5.1 Bioensaio um. Piriproxifem na fecundidade e fertilidade de ovos de *N. viridula*

A aplicação de piriproxifem na concentração testada não reduziu significativamente a fecundidade de *N. viridula*, porém houve 23,61% de diminuição no número médio de ovos/fêmea. No tratamento testemunha o número médio de ovos por fêmea foi de 48,7 e no tratamento piriproxifen foi de 37,2 ovos/fêmea. Assumindo um efeito dose-dependente, não se pode descartar a hipótese de que o aumento da concentração do inseticida diminuirá a fecundidade das fêmeas de *N. viridula*. Por exemplo, Liu et al. (2012) observaram que o piriproxifem, em altas concentrações, reduziu significativamente a oviposição da mosca do estábulo *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae).

Também, observou-se que a aplicação de piriproxifem sobre ninfas e adultos da cochonilha pinta-vermelha dos citros *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) reduziu sua fecundidade com o aumento da concentração do produto e pela diminuição da sobrevivência das fêmeas ao invés da própria esterilidade ocasionada pelo piriproxifem (RILL et al., 2007). Verificou-se que 20% das fêmeas adultas que entraram em contato com piriproxifem não ovipositaram e morreram. As demais fêmeas ovipositaram em pequenas quantidades distribuídas de forma isolada. Ao comparar com a testemunha observou-se que o padrão de postura diferiu do normal que comumente ocorre em placas hexagonais (Figura 1B). Alguns ovos ficaram vazios, aparentemente sem embrião, sugerindo que o piriproxifem também possa ter inibido a sua formação.

Outros estudos também mostram que dependendo da concentração, momento de aplicação e da espécie do inseto, o piriproxifem pode ter uma ação diferenciada. Por exemplo, incrementar a biomassa e produção de casulos de *Bombyx mori* não influenciando na oviposição e viabilidade de ovos (MIRANDA et al., 2002). Já quando aplicado sobre a praga dos cereais *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) induziu o fim da diapausa e início da oviposição, no entanto, o número de ovos, porcentagem de eclosão e a vitelogênese foram afetados (AMIRI et al., 2012).

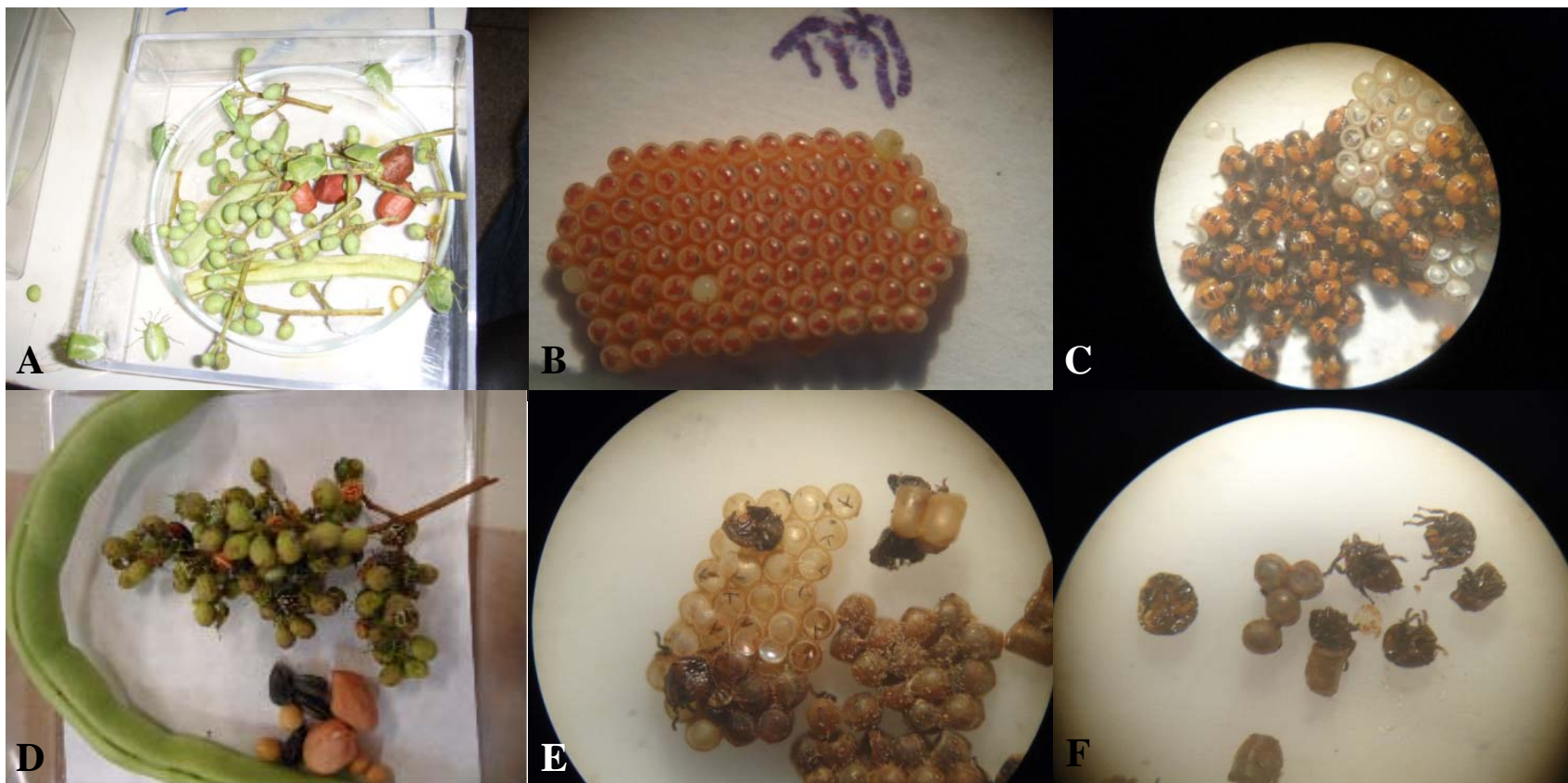
Ao se avaliar a fertilidade das fêmeas de *N. viridula* reduziu ocorreu uma redução de 52,39% pelo piriproxifem. As fêmeas não tratadas apresentaram uma média de

46,0 ninfas eclodidas por fêmea e as tratadas 21,9 ninfas/fêmea. Esse resultado indica que o piriproxifem pode ter agido durante a vitelogênese, afetando a formação do ovo e do embrião, talvez por sua capacidade de reduzir lipídeos e proteínas dos ovários em crescimento e a oogênese como verificado por Ghasemi et. al. (2010) estudando o efeito fisiológico e bioquímico do piriproxifem sobre *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae).

Os resultados obtidos estão de acordo com os verificados por Liu et al., 2012, indicando que o piriproxifem pode inibir a embriogênese na fase inicial do desenvolvimento do embrião levando a uma diminuição na produção de ovos e mortalidade do embrião após a oviposição. Também, houve embriões mortos no interior dos ovos e ovos vazios, sugerindo que pode ocorrer malformação do embrião impedindo a emergência das ninfas ou ausência de embriões (Figura 3E).

Observou-se que as ninfas eclodidas dos ovos provenientes de fêmeas tratadas com o piriproxifem, não conseguiram passar para o 2º ínstar. Provavelmente, o produto foi transferido via ovário, das fêmeas ao embrião, afetando seu desenvolvimento no interior do ovo. Em estudo similar, fêmeas adultas de mosca branca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) tratadas com piriproxifem não foram afetadas, no entanto, seus ovos foram inviáveis e a emergência das ninfas foi totalmente suprimida, indicando a transferência transovariana do produto das fêmeas ao ovo (ISAAYA; HOROWITZ, 1995).

Figura 1 - *Nezara viridula* (A) adultos; (B) postura normal (testemunha); (C) ninfas vivas recém eclodidas e agregadas (testemunha); (D); ninfas normais de 4º e 5º ínstar (E) posturas fora do padrão e ninfas deformadas pelo piriproxifem (F) ninfas deformadas mortas pelo piriproxifem. Microscópio estereoscópio



6.5.2 Bioensaio dois. Diflubenzurom no Aparelho Reprodutor de *N. viridula*

Os resultados indicam que o diflubenzurom afetou a formação, crescimento e desenvolvimento do aparelho reprodutor feminino e masculino e causou malformação de suas principais estruturas (Figura 3). Aproximadamente 50% dos órgãos reprodutivos das fêmeas tratadas com o diflubenzurom foram afetados, 30% foram anormais, com ovários, espermateca, glândulas acessórias e oviduto deformados, pouco desenvolvidos e aspecto diluído e 20% tiveram ausência de alguns componentes do aparelho reprodutor (Figura 3).

Nos órgãos reprodutivos masculinos, o diflubenzurom também provocou alterações estruturais e apenas 20% apresentaram aparelho reprodutor normal. Verificou-se que 40% dos machos que entraram em contato com o diflubenzurom tiveram testículos, vasos deferentes, vesícula seminal e ducto ejaculatório pouco desenvolvido ou atrofiado. Também houve ruptura das paredes dos testículos, vasos deferentes e glândulas acessórias e 40% tiveram ausência de alguns componentes do sistema reprodutor masculino (Figura 3).

Os dutos dos órgãos reprodutivos são de origem ectodérmica revestidos de cutícula, que formam a vagina na fêmea e o canal ejaculador no macho (GALLO et al., 2002). O principal componente da cutícula é a quitina, formado por polímeros de N-acetilglucosamina, que serve como polissacarídeo esquelético da cutícula (VAN LEEUWEN et al., 2012). Também a cutícula é essencial na oogênese, fecundidade e eclosão de ovos (MANSUR et al., 2010). O diflubenzurom, por seu lado, interfere na formação da quitina na cutícula dos insetos (CASTRO et al., 2012). Inibe a síntese de quitina, resultando em deposição anormal da cutícula, morte e aborto. Também tem atividade ovicida reduzindo a reprodução (MOMMAERTS et al., 2006).

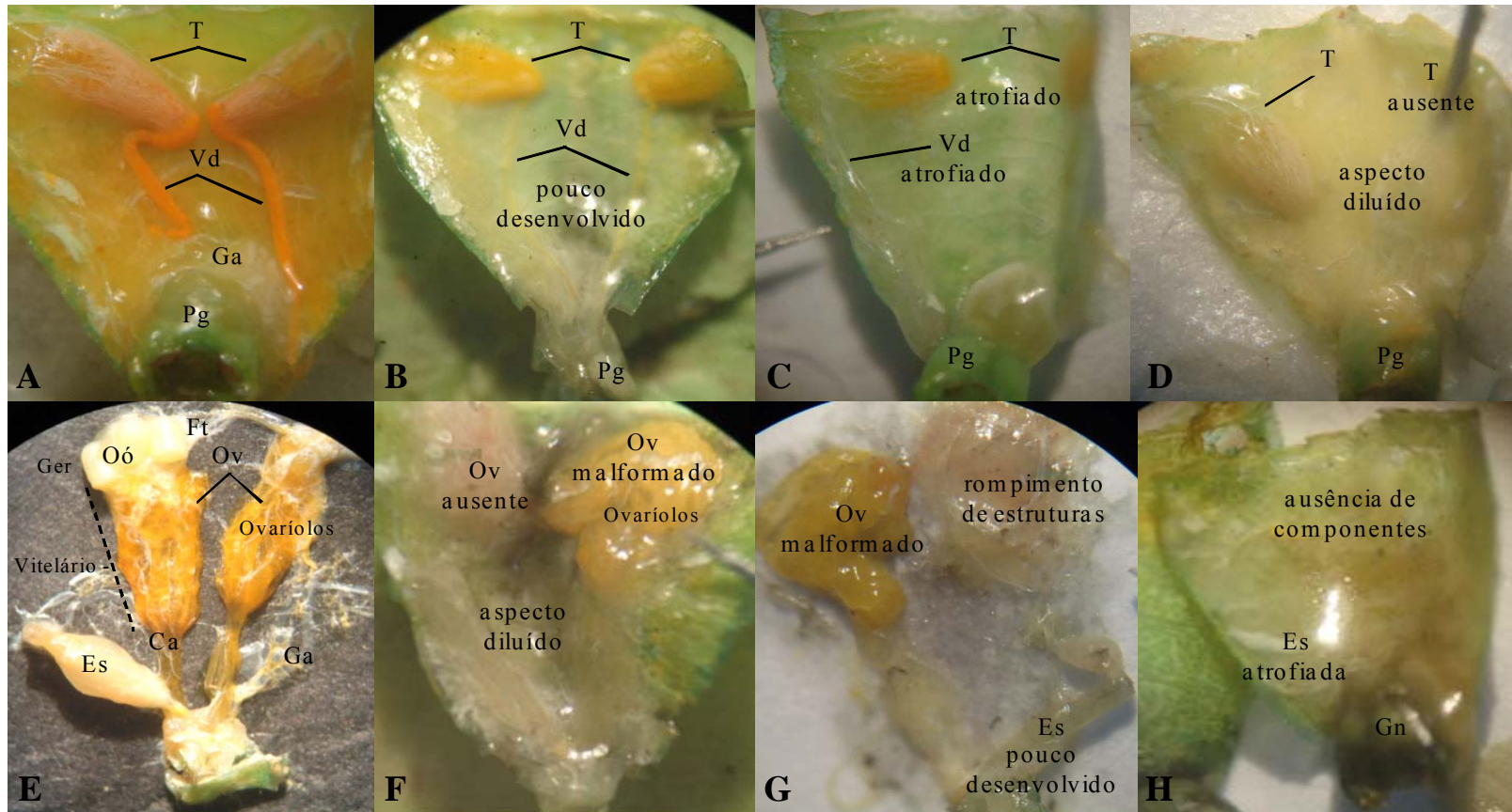
Possivelmente o diflubenzurom aplicado sobre as formas jovens de *N. viridula*, impediu o desenvolvimento normal da maioria dos órgãos reprodutivos femininos (50%) e masculinos (80%). Assim, a deposição de cutícula responsável pelo revestimento e sustentação dos dutos do sistema reprodutivo durante sua formação, foi afetada pelo diflubenzurom, resultando em degenerações morfológicas, estruturas desintegradas e ausência de alguns componentes (Figura 3).

Em trabalho semelhante, Ghazawy (2012) aplicou lufenurom, produto de ação similar ao diflubenzurom, sobre ninfas de 5º instar de *Schistocerca gregaria* Foscak 1775 (Orthoptera: Acrididae) e verificou fraca deposição de gemas nos oócitos com muitos vacúolos estendidos dentro deles; camadas de células epiteliais foliculares pequenas ou desintegradas com septos frouxamente organizados perdendo sua forma compacta; citoplasma

da célula folicular não homogêneo, lise celular; mitocôndrias desintegradas com perda da conformação ou ausência de cristas. Nos machos, observou perda e desorganização de espermatócitos, perda de tecido testicular, aparelho de golgi e citoplasma desintegrados com organelas anormais e dispersos, os tecidos sem consistência e células degeneradas ou totalmente destruídas.

Mansur et al. (2010) detectaram a presença de quitina nos ovários e demonstraram que a injeção de doses de lufenurum na cavidade metatorácica das fêmeas de *Rhodnius prolixus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae) reduziu entre 30 e 50% a oviposição, indicando que a quitina esta envolvida no processo de ovogênese. Também, Tail et al. (2010) verificaram que a aplicação de diflubenzurum sobre *S. gregaria* perturbou o crescimento e desenvolvimento dos oócitos, reduziu o número de oócitos nos ovários, a espessura do epitélio folicular e comprimento dos folículos basais durante a maturação, sugerindo que a diminuição da fecundidade deveu-se a influência do diflubenzurum em processos bioquímicos da vitelogênese.

Figura 5 - Aparelho reprodutor *Nezara viridula* (A) masculino normal T= testículos, Vd= vaso deferente, Pg= pigóforo; (B); (C); (D); deformado pelo diflubenzurom (E) feminino normal Ft= filamento terminal, Ov= ovários, Oó= Oócitos corionados, Es= espermateca, Gn= gonóforo, Ca= cálice, Ga= glândula acessória (F) ausência de espermateca pelo diflubenzurom (G) ovariolos desintegrados (H) ausência de componentes, Espermateca atrofiada. Microscópio estereoscópio



6.6 CONCLUSÕES

- O piriproxifem, na concentração utilizada reduziu a fertilidade de *Nezara viridula* e diminuiu a porcentagem de ninfas eclodidas.
- Diflubenzurom, na concentração utilizada afetou a formação e desenvolvimento do aparelho reprodutor feminino e masculino de *Nezara viridula*

7 CONCLUSÕES GERAIS

- Lufenurom e diflubenzurom foram eficientes no controle de ninfas de *Euschistus heros* e *N. viridula* já piriproxifem e metoxifenosida foram menos eficientes, em laboratório.
- O aumento das concentrações dos inseticidas desreguladores de crescimento aumenta a mortalidade de ninfas de *E. heros* e *N. viridula* e diminuem o tempo letal.
- Plantas de soja infestadas com *E. heros* e *N. viridula* pulverizadas com lufenurom e diflubenzurom produziram sementes viáveis com poucas puncturas, alta porcentagem de germinação e número de plântulas normais, resultando em alta produção de grãos e sementes de qualidade.
- Lufenurom e diflubenzurom, nas concentrações utilizadas provocaram deformações no aparelho bucal, inibindo a alimentação, afetaram a metamorfose e conseqüentemente provocaram mortalidade de ninfas de *Euschistus heros*.
- Pyriproxifem, nas concentrações utilizadas, não provocou deformações no aparelho bucal e não inibiu a alimentação, porém causou distúrbios fisiológicos responsáveis pela mortalidade de ninfas de *E. heros*.
- Pyriproxifem, na concentração utilizada reduziu a fertilidade de ovos de *Nezara viridula* diminuindo a porcentagem de ninfas eclodidas.
- Diflubenzurom, na concentração utilizada afetou a formação e desenvolvimento do aparelho reprodutor feminino e masculino de *Nezara viridula*

REFERÊNCIAS

- ABO-ELGHAR, G. E.; FUJIYOSHI, P.; MATSUMURA, F. Significance of the sulfonyleurea receptor (SUR) as the target of diflubenzuron in chitin synthesis inhibition in *Drosophila melanogaster* and *Blattella germanica*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 34, p. 743-752, 2004.
- ADEL, M. M. Lufenuron Impair the Chitin Synthesis and Development of *Spodoptera littoralis* Bosid (Lepidoptera: Noctuidae) **Journal of Applied Sciences Research**, v. 8, n. 5, p. 2766-2775, 2012.
- ACHEUK, F.; CUSSON, M.; DOUMANDJI-MITICHE, B. Effects of a methanolic extract of the plant *Haplophyllum tuberculatum* and of teflubenzuron on female reproduction in the migratory locust, *Locusta migratoria* (Orthoptera: Oedipodinae). **Journal of Insect Physiology**, London, v. 58, n. 3, p. 335-341, 2012.
- AGÜERO, M. A. F. **Ocorrência, distribuição espaço-temporal e flutuação da população de percevejos pentatomídeos em sucessões culturais sob pivô central e áreas adjacentes**, Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 81 f. 2010.
- BAGHERI, F.; TALEBI, K.; HOSSEININAVEH, V. Cellular energy allocation of pistachio green stink bug *Brachynema germari* Kol. (Hemiptera: Pentatomidae) in relation to juvenoid pyriproxyfen. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 9, n. 35, p. 5746-5753, 2010.
- BERLOTE, L.C. et al. Danos causados por percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) em cinco cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill, 1917) no município de Araçatuba, SP. **Arquivos Instituto Biológico**, v. 70, n. 2, p. 169-175, 2003.
- BOWLING, C. C. The stylet sheath as an indicator of feeding activity by the southern green stink bug on soybeans. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 73, n. 1, p. 1-3, Feb. 1980.
- BOETHEL, D. J., J. S. RUSSIN, A. T. WIER, M. B. LAYTON, J. S. MINK, AND M. L. BOYD. Delayed maturity associated with southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) injury at various soybean phenological stages. **Journal of Economic Entomology**, v.93, p. 707-712. 2000.
- BREWER, M. J.; GOODELL, P. B. Approaches and incentives to implement integrated pest management that addresses regional and environmental issues. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 57, p. 41-59, 2012.
- CASTRO, A. A.; LACERDA, M. C.; ZANUNCIO, T. V.; de S RAMALHO, F.; POLANCZYK, R. A.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Effect of the insect growth regulator diflubenzuron on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Ecotoxicology**, London, v. 21, n. 1, p. 96-103, 2012.
- CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 4. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.

- CLOYD, R. A.; KEITH, S. R.; GALLE, C. L. Effect of insect growth regulator novaluron (Pedestal) on silverlife whitefly reproduction. **HorITechnology**, Alexandria, v. 14, n. 4, p. 551-553, 2004.
- COHEN, E. biochemistry: synthesis, hydrolysis and inhibition. **Annual Review of Entomology**, v.32, p.71-93, 1987.
- COHEN, E. Chitin synthesis and inhibition: a revisit. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 57, n. 10, p. 946-950, 2001.
- COHEN, E. Chitin biochemistry: synthesis, hydrolysis and inhibition. **Advances in Insect Physiology**, London, v. 38, p. 5-74, 2010.
- CORRÊA-FERREIRA, B.S.; AZEVEDO, J. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agriculture and Forest Entomology**, v.4, p.145-150, 2002.
- CORRÊA-FERREIRA, B.S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p. 1067-1072. nov. 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S; KRZYZANNOWSKI, F. C; MINAMI, C. A. **Percevejos e a qualidade da semente de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2009. (Série Sementes - Embrapa Soja, Circular Técnica, 67).
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ALEXANDRE, T. M.; PELIZZARO, E. C.; MOSCARDI, F.; BUENO, A. F. **Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. (Embrapa Soja. Circular técnica, 78).
- COSTA, M. L. M.; BORGES, M.; VILELA, E. F. Biologia reprodutiva de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 559-568, 1998.
- DAMASCENO-SA, J. C.; SILVA, C. P. Evolução e aspectos do sistema digestorio em hemíptera. **Revista Tropica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha - MA, v. 1, n. 1, p. 32-40, 2007.
- DAVEY, K. G. Hormonal controls on reproduction in female Heteroptera. **Archives of insect biochemistry and physiology**, New York, v. 35, n. 4, p. 443-453, 1997.
- DEGRANDE, P. E.; VIVAN, L. M. Pragas da soja. **Boletim de Pesquisa de Soja**, Rondonópolis, v.1, n.14, p.152-215, 2010.
- DEPIERI, RA; PANIZZI, AR. Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**. Londrina , v. 40, n. 2, Apr. 2011.
- DHADIALLA, T. S.; A. RETNAKARAN, SMAGGHE, 2005. Insect growth- and developmental-disturbing insecticides. **Comprehensive Molecular Insect Science**, Oxford, v. 6, p. 55-115, 2005.

- DIAS FILHO, B. P.; LEMOS, F. J.; SECUNDINO, N. F.; PÁSCOA, V.; PEREIRA, S. T.; PIMENTA, P. F. Presence of chitinase and beta-Nacetylglucosaminidase in the *Aedes aegypti*: a chitinolytic system involving peritrophic matrix formation and degradation. **Insect biochemistry and molecular biology**, Oxford, v. 32, n. 12, p. 1723-1729, 2002.
- DITTMANN, F.; BICZKOWSKI, M. Induction of yolk formation in hemipteran previtellogenic oocytes (*Dysdercus intermedius*). **Invertebrate Reproduction & Development**, Philadelphia, v. 28, n. 1, p. 63-70, 1995.
- ESQUIVEL, J. F. Estimating potential stylet penetration of southern green stink bug - a mathematical modeling approach. **Entomologia Experimentalis et Applicata** v. 140, n. 2, p. 163-170, 2011.
- FORTES, P., G. SALVADOR, AND F. L. CONSOLI. Ovary development and maturation in *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**. V.40, p.89-96. 2011.
- FURIATTI, R.S.; PINTO Jr., A.R.; WAGNER, F.O. Efeito do regulador de crescimento lufenuron em *Nezara viridula* (L.,1758). **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v.7, p. 73-78, 2009.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.
- GHAZAWY, N. Ultrastructural Observations on the Gonads and Neurosecretory Cells of *Schistocerca gregaria* After Treatment with Lufenuron (CGA-184699) **Journal of Orthoptera Research**, v.21, n.2, p.141-148, 2012.
- GHASEMI, A.; SENDI, J. J.; GHADAMYARI, M. Physiological and biochemical effect of pyriproxyfen on indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Plant Protection Research**, Iran, v. 50, n. 4, p. 416-422, 2010.
- GOODMAN, W. G.; GRANGER, N. A. The juvenile hormones. **Comprehensive Molecular Insect Science**, Oxford, v. 3, p. 319-408, 2005.
- GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **The insects**: an outline of entomology. 3th ed. Blackwell: Wiley, 2005.
- HEPBURN, H. R. Structure of the integument. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. NewYork: Pergamon Press, 1985. v. 3, p. 1-58.
- HIRAI, M.; WATANABE, D.; KIYOTA, A.; CHINZEI, Y. Nucleotide sequence of vitellogenin mRNA in the bean bug, *Riptortus clavatus*: analysis of processing in the fat body and ovary. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 28, n. 8, p. 537-547, 1998.
- KANNO, H. et al. Proceedings of Brighton. Crop Protection Conference, **Pests and Diseases**, p. 59-66, 1981.

KAMMINGA, K.L., T.P. KUHAR, A. WIMER, AND D.A. HERBERT. Effects of the insect growth regulators novaluron and diflubenzuron on the brown marmorated stink bug. **Plant Health Progress** (In press), 2012.

KNIGHTA, K. M. M.; GURR, G. M. Review of *Nezara viridula* (L.) management strategies and potential for IPM in field crops with emphasis on Australia. **Crop Protection**, Guildford, v. 26, n.1, p. 1-10, 2007.

KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S. Chitin metabolism in insects. **Comprehensive Molecular Insect Science**, Oxford, v. 4, p. 111–144, 2005.

LEONARDI, M. G.; MARCIANI, P.; MONTORFONO, P. G.; CAPPELLOZZA, S.; GIORDANA, B.; MONTICALLI, G. Effects of fenoxycarb on leucine uptake and lipid composition of midgut brush border membrane in the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 70, n. 1, p. 42-51, 2001.

LIU, T. X. Effects of a juvenile hormone analog, pyriproxyfen, on *Thrips tabaci* (Thysanoptera:Thripidae). **Pest Management Science**, v. 59, n.8, p.904-12, 2003.

LIU, S. S.; LI, A. Y.; LOHMEYER, K. H.; PEREZ DE LEON, A. A. Effects of pyriproxyfen and buprofezin on immature development and reproduction in the stable fly. **Medical and veterinary entomology**, Oxford; v. 26, n. 4, p. 379-85, 2012.

LÓPEZ JR. J. D., LAN, M. A. Y., LATHEEF, W. C. HOFFMANN, B.K. FRITZ, AND MARTIN, D. E. Laboratory Evaluation of Novaluron for Toxicity to Nymphal Instars of Field-Collected Southern Green Stink Bug on Cotton. **Southwestern Entomologist**, v. 33, n.2, p. 119-127, 2008.

LUO, C. W. ; DEWEY, E. M. ; SUDO, S.; EWER, J. ; YU HSU, S.; HONEGGER, H. W.; HSUEH A. J. W. Bursicon, the insect cuticle-hardening hormone, is a heterodimeric cystine knot protein that activates G protein-coupled receptor LGR2. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.102, n. 8, p.2820-2825, 2005.

MAHDIAN, K.; VAN LEEUWEN, T.; TIRRY, L.; DE CLERCQ, P. Susceptibility of the predatory stinkbug *Picromerus bidens* to selected insecticides. **BioControl**, Dordrecht, v. 52, n. 6, p. 765-774, 2007.

MANSUR, J. F.; FIGUEIRA-MANSUR, J.; SANTOS, A. S.; SANTOS-JUNIOR, H.; RAMOS, I. B.; MEDEIROS, M. N.; MACHADO, E. A.; KAISER, C. R. The effect of lufenuron, a chitin synthesis inhibitor, on oogenesis of *Rhodnius prolixus*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 98, n. 1, p. 59-67, Sep. 2010.

MARRERO, L.; DE LOS ÁNGELES MARTÍNEZ, M. DEL VALLE Z., LAMOTE, A. ROBLEDO, L. ENRÍQUEZ, A. Y ALEMÁN, S. Caracterización histológica del daño de chinches hediondas (Heteroptera: Pentatomidae) en legumbres y granos de soya (*Glycine max* (L.) Merrill) **Revista de Protección Vegetal**. v.21, n.3, p. 170-172 2006.

MARTINEZ, T.; GARCERA, M. D. Effect of precocene- II on female specific hemolymph polypeptides in *oncopeltus faciatus*. **Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 6, n. 1, p. 49-58, 1987.

McPHERSON, J. E.; McPHERSON, R. M. **Stink bugs of economic importance in America North of Mexico**. Boca Raton: CRC Press, 2000. 253 p.

MAPA/ACS-MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

MATSUMURA, F. Studies on the action mechanism of benzoylurea insecticides to inhibit the process of chitin synthesis in insects: a review on the status of research activities in the past, the present and the future prospects. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 97, p. 133-139, 2010.

MERZENDORFER, H. Insect chitin synthases: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, Berlin, v. 176, n. 1, p. 1-15, 2006.

MERZENDORFER, H.; KIM, H. S.; CHAUDHARI, S. S.; KUMARI, M.; SPECHT, C. A.; BUTCHER, S.; BROWN, S. J.; MANAK, J. R.; BEEMAN, R. W.; KRAMER, K. J.; MUTHUKRISHNAN, S. Genomic and proteomic studies on the effects of the insect growth regulator diflubenzuron in the model beetle species *Tribolium castaneum*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 42, n. 4, p. 264-276, 2012.

MIYAMOTO, J.; HIRANO, M.; TAKIMOTO, Y.; HATAKOSHI, M. Insect growth regulators for pest control, with emphasis on juvenile hormone analogs: present and future prospects. In: DUKE, S. O.; MENN, J. J.; PLIMMER, J. R. (Ed.). **Pest control with enhanced environmental safety**. Washington: ACS Symp. Ser, 1993. v. 524, p. 144-168.

MIYAMOTO, J.; HIRANO, M.; TAKIMOTO, Y.; HATAKOSHI, M. Insect growth regulators for pest control, with emphasis on juvenile hormone analogs: Present status and future prospects. **ACS Symposium Series**, Washington, v. 524, p. 144-168, 1993.

KIM, K.; KIM, Y.; A biochemical evidence of the inhibitory effect of diflubenzuron on the metamorphosis of the silkworm, *Bombyxmori*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Suwon, v. 5, n. 2, p. 175-180, 2002.

MOMMAERTS, V.; STERK, D.; SMAGGHE, G. Hazards and uptake of chitin synthesis inhibitors in bumblebees *Bombus terrestris*. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 62, n. 8, p. 752-758, 2006.

MORIELLO, K. A.; DEBOER, D. J.; SCHENKER, R.; BLUM, J. L.; VOLK, L. M. Efficacy of pre-treatment with lufenuron for the prevention of *Microsporum canis* infection in a feline direct topical challenge model. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v.15, n. 6, p.357-362, 2004.

MOSALLANEJAD, H.; SMAGGHE, G., Biochemical mechanisms of methoxyfenozide resistance in the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. **Pest Management Science**, West Sussex, v. 65, n. 7, p. 732-736, 2009.

MOULTON, J. K.; PEPPER, D. A.; JANSSON, R. K., DENNEHY, T. J. Pro-active management of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to tebufenozide and methoxyfenozide: baseline monitoring, risk assessment and isolation of resistance. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 95, n. 2, p. 414-424, 2002.

- MUSOLIN, D. L.; NUMATA, H. Timing of diapause induction and its life-history consequences in *Nezara viridula*: Is it costly to expand the distribution range? **Ecological Entomology**, London, v. 28, n. 6, p. 694-703, 2003.
- MUSSER, F.R.; CATCHOT, A.L.; GIBSON, B. K.; KNIGHTEN, K. S. Economic injury levels for southern green stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in R7 growth stage soybeans. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, p. 63-69, 2011.
- OBERLANDER, H.; SMAGGHE, G. Imaginal discs and tissue cultures as targets for insecticidal action. In: ISHAAYA, I. (Ed.). **Biochemical sites of insecticide action and resistance**. Berlin: Springer, 2001. p. 133-150.
- PANIZZI, A. R.; SMITH, J. G.; PEREIRA, L. A. G.; YAMASHITA, J. Efeito dos danos de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) no rendimento e qualidade da soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DE SOJA, 1., 1979, Londrina. **Anais**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1979. v.2, p.59-78.
- PANIZZI, A. R. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, p. 119-127, 2013.
- PENDERGRAST, J. G. The male reproductive organs of *Nezara viridula* (L.) with preliminary account of their development (Heteroptera; Pentatomidae). **Transactions of the Royal Society of New Zealand**, Wellington, v. 84, p. 139-146, 1956.
- PENER, M. P.; DHADIALLA, T. S. An overview of insect growth disruptors: applied aspects. **Advances in Insect Physiology**, San Diego, v. 43, p. 1-162, 2012.
- RETNAKARAN, A.; GRANETT, J.; ENNIS, T.J. Insect growth regulators. In: KERKUT, G. A.; GILBERT, G. I. (Ed.). **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Oxford: Pergamon Press, 1985. P. 529-601.
- RILL, S.; GRAFTON-CARDWELL, E. E.; MORSE, J. G. Effects of pyriproxyfen on California red scale (Hemiptera:Diaspididae) development and reproduction. **Journal of Economic Entomology**, United States, v. 100, n. 4, p. 1435-1443, 2007.
- ROGGIA, S.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BUENO, A. F.; ALVES, J. B. Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre a sobrevivência, desempenho reprodutivo e atividade alimentar do percevejo marrom da soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 32., 2011, São Pedro. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2011. p. 100-103.
- SÁENZ-DE-CABEZÓN, F. J.; PÉREZ-MORENO, I.; ZALOM, F. G.; MARCO, V.. Effects of lufenuron on *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermueller) (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval and adult stages. **Journal of Economic Entomology**, United States, v. 99, p. 427-431, 2006.
- SIAL, A. A.; BRUNNER, J. F. Lethal and sublethal effects of an insect growth regulator, pyriproxyfen, on obliquebanded leafroller (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology** 2010;103(2):340-7.

SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A.; DICKE, M. **Insect-Plant Biology**, Second Edition. Oxford University Press. 2005

SILVA, M. T. B.; CORREA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GOMEZ, D. R. Erro e resistência. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 8, n. 82, p. 22-25, fev. 2006.

SINGHA, A.; THAREJA, V.; SINGH, A. K. Application of neem seed kernel extracts result in mouthpart deformities and subsequent mortality in *Nezara viridula* (L.) (Hem: Pentatomidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 131, n. 3, p. 197-201, 2007.

SNODGRASS, R.E. Principles of Insect Morphology. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. 1993.

SOSA-GOMEZ, D. R.; CORSO, I. C.; MORALES, L. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and methamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 317-320, 2001.

SOSA-GOMEZ, D. R.; SILVA, J. J.; LOPES, I. O.; CORSO, I. C.; ALMEIDA, A. M.; MORAES, G. C.; BAUR, M. E. Insecticide susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, p. 1209-1216, 2009.

SOSA-GOMEZ, D. R.; MOSCARDI, F.; CORREA-FERREIRA, B. S.; OLIVEIRA, L. J.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; PANIZZI, A. R.; CORSO, I. C.; BUENO, A. F.; HIROSE, E.; GAZZONI, D. L.; DE OLIVEIRA, E. B. Soja, manejo integrado de pragas. Curitiba: EMBRAPA, 2010.

SOSA-GOMEZ, D. R.; SILVA DA J. J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 7, p. 767-769, 2010.

SULLIVAN, J. J.; GOH, K. S. Environmental fate and properties of pyriproxyfen. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v. 33, p. 339-350, 2008.

TAIL, G.; PORCHERON, P.; DOUMANDJI-MITICHE, B. Diflubenzuron et évolution des taux des ecdystéroïdes dans les ovaires et dans les oeufs du Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera: Acrididae). **Journal of Orthoptera Research**, Philadelphia, v. 19, n. 2, p. 363-370, 2010.

TECNOLOGIAS de produção de soja: Paraná 2006. Londrina: Embrapa Soja, 2005. (Embrapa Soja. Sistemas de produção, 8).

TOUGOU, D.; MUSOLIN, D. L.; FUJISAKI, K. Some like it hot! Rapid climate change promotes changes in distribution ranges of *Nezara viridula* and *Nezara antennata* in Japan. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 130, n. 3, p. 249-258, 2009.


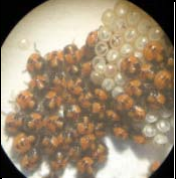





TOOD, J. W. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 34, p. 237-292, 1989.

- TUNAZ, H.; UYGUN, N. Insect growth regulators for insect pest control. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, v. 28, p. 337-387, 2004.
- UCHIDA, M.; TOSHIRO, A.; SUGIMOTO, T. Inhibition of cuticle deposition and chitin biosynthesis by a new insect growth regulator, buprofezin, in *Nilaparvata lugens* Stal. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 49, p. 1233-1234, 1985.
- YANAGI, M.; TSUKAMOTO, Y.; WATANABE, T.; KAWAGISHI, A. Development of a novel lepidopteran insect control agent, chromafenozide. **Journal of Pesticide Science**, Tokyo, v. 31, p. 163-164, 2006.
- VAN LEEUWEN, T.; DEMAEGHT, P.; OSBORNE, E. J.; DERMAUW, W.; GOHLKE, S.; NAUEN, R.; GRBIC, M.; TIRRY, L.; MERZENDORFER, H.; CLARK, R. M. Population bulk segregant mapping uncovers resistance mutations and the mode of action of a chitin synthesis inhibitor in arthropods. **PNAS**, Washington, v. 109, n. 12, 2012.
- VÉLEZ, J.R. Observaciones sobre la biología de la chinche verde, *Nezara viridula* (L.), en el valle del fuerte sin. **Folia Entomologica Mexicana**, Mexico, v.28, p.5-12, 1974.
- VICENT, J. F. V.; WEGST, U. G. K. Design and mechanical properties of insect cuticle. **Arthropod Structure & Development**, Oxford, v. 33, n. 3, p. 187-199, 2004.
- VILLAS BÔAS, G.L., GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, M.C.N. de; COSTA, N.P.; ROESSING, A.C.; HENNING, A.A. **Efeito de diferentes populações de percevejos sobre o rendimento e seus componentes, características agronômicas e qualidade de semente de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo. Boletim de Pesquisa, 1990. 43p.
- WANG, Z.; DAVEY, K. G. The role of juvenile hormone in vitellogenin production in *Rhodnius prolixus*. **Journal Insect Physiology**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 471-476, 1993.
- WILLRICH, M. M.; LEONARD, B. R. AND D. R. COOK.. Laboratory and field evaluations of insecticide toxicity to stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Cotton Science**, v.7, p.156-163, 2003
- ZHANG J, ZHU K.Y. Characterization of a chitin synthase cDNA and its increased mRNA level associated with decreased chitin synthesis in *Anopheles quadrimaculatus* exposed to diflubenzuron. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.36, n.9, p.712-25, 2006.

ANEXOS








ANEXO A

Figura 14 - Ciclo biológico, ovo-adulto e duração dos diferentes ínstar de *Euschistus heros*.

<i>Nezara viridula</i>		1° instar		2° instar		3° instar		4° instar		5° instar		adulto			
oviposição													cópula	oviposição	morte
ovo		muda		muda		muda		muda		muda					
7,1		4,6		5,5		4,8		5,2		8,6		70			
Costa et al., 1998; Fortes et al., 2006; Sosa Gómez et al., 2010.															

ANEXO B

Figura 13 - Ciclo biológico, ovo-adulto e duração dos diferentes instars de *Nezara viridula*.

<i>Euschistus heros</i>		1° instar		2° instar		3° instar		4° instar		5° instar		adulto		
oviposição														
	eclosão	apolise	ecdise	apolise	ecdise	apolise	ecdise	apolise	ecdise	apolise	ecdise	cópula	oviposição	morte
ovo		muda		muda		muda		muda		muda				
6,1		3,4		4,8		4,1		5,1		8,0		116		

Costa et al., 1998; Sosa Gómez et al., 2010.