

O PAPEL DA ZOOFITOFAGIA E DA INGESTÃO INDIRETA DE LUFENUROM SOBRE OS
ASPECTOS NUTRICIONAIS E MORFOLÓGICOS DE *Podisus nigrispinus* (DALLAS)

(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

Por

ALINE CRISTINA SILVA LIRA

(Sob Orientação da Professora Valéria Wanderley Teixeira - UFRPE)

RESUMO

Considerando a interação tritrófica planta/presa/predador, o presente estudo teve como objetivo analisar o impacto da zoofitofagia na composição nutricional de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com lagartas de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) e suplementado com folhas de algodoeiro. Ainda, como o efeito de inseticidas associados às interações tritróficas sobre os processos fisiológicos do predador quando exposto indiretamente ao inseticida lufenurom ao alimentar-se da praga alimentada com plantas pulverizadas. Para avaliar impacto da fitofagia, foram analisados os conteúdos químicos do predador, das presas e de folhas de algodoeiro e peso dos insetos. Para efeito do lufenurom, foram analisadas as alterações nutricionais e morfológicas no intestino médio desse predador, bem como os possíveis parâmetros relacionados ao comportamento alimentar e a nutrição de ninfas de quarto e quinto ínstar de *P. nigrispinus* expostas indiretamente ao inseticida lufenurom na concentração de 50 g.i.a./ha. Parâmetros como taxa de consumo, preferência de presa, sobrevivência do predador e peso e aspectos nutricionais da presa foram avaliados. Ninfas fitófagas, alimentadas com *A. argillacea* e suplementadas em folhas de algodão, apresentaram maior teor de proteína, açúcar e glicogênio e maior peso quando comparadas àquelas alimentadas apenas com presas. A

exposição ao inseticida, por sua vez, alterou o quantitativo nutricional do predador e da presa, promoveu desorganização e descamação celular, lise da camada epitelial no intestino médio de *P. nigrispinus*, além de mortalidade das ninfas, que não atingiram a fase adulta. Pelos resultados obtidos, pode-se inferir que folhas de algodoeiro representam de fato uma suplementação nutricional, alterando a composição nutricional de ninfas de *P. nigrispinus* e que os parâmetros nutricionais, comportamentais e biológicos de ninfas do predador são afetados pela ingestão indireta do inseticida lufenurom. Contudo, sugerimos que as alterações morfológicas no intestino médio de *P. nigrispinus* despontam como um fator preponderante para as alterações observadas no quantitativo nutricional do predador.

PALAVRAS-CHAVE: Predadores zoofitófagos, comportamento alimentar, bioquímica, morfologia, inseticida, intestino médio.

THE ROLE OF ZOOPHYTOPHAGY AND INDIRECT INGESTION OF LUFENUROM ON
NUTRICIONAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS OF *Podisus nigrispinus* (DALLAS)
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

por

ALINE CRISTINA SILVA LIRA

(Under the Direction of Professor Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE)

ABSTRACT

Considering the tritrophic interaction plant/prey/predator, the present study aimed to analyze the impact of occasional plant feeding on chemical composition of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) fed on *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) larvae and supplemented with cotton leaves, as well as the side-effects of insecticide associated to tritrophic interactions on physiological processes of the predator when feeding upon prey fed on plants sprayed with lufenuron. To evaluate the impact of the plant feeding, the chemical contents and weight of predator, prey and cotton leaves and and weight of insects were analyzed. For the lufenuron effect, we analyzed the nutritional and morphological changes in the midgut of the predator, as well as the possible parameters related to feeding behavior and nutrition of fourth and fifth instar nymphs of *P. nigrispinus* exposed indirectly to the insecticide lufenuron in concentration of 50 g.i.a./ha. Parameters such as the predator consumption rate, prey preference, survival of the predator and weight and nutritional aspects of the prey were evaluated. Nymphs fed on *A. argillacea* plus cotton leaves, had greater protein, sugar and glycogen contents and body weight when compared to nymphs fed only on prey. Indirect exposure to lufenuron affected

nutritional composition of the predator and prey, promoted cellular disorganization and desquamation, lysis of the midgut epithelium of *P. nigrispinus*, apart from mortality of nymphs, not reaching adulthood. On the results obtained, we can infer that cotton leaves represent in fact a nutritional supplementation, affecting the nutritional composition in nymphs of *P. nigrispinus* and the nutritional, behavioral and biological parameters of the nymphs of the predator are affected by indirect ingestion of insecticide lufenuron. However, we suggest that the morphological changes in midgut of *P. nigrispinus* emerge as a dominant factor to the changes observed in the nutritional composition of the predator.

KEY WORDS: Zoophytophagous predators, feeding behavior, biochemistry, morphology, pesticide, midgut.

O PAPEL DA ZOOFITOFAGIA E DA INGESTÃO INDIRETA DE LUFENUROM SOBRE OS
ASPECTOS NUTRICIONAIS E MORFOLÓGICOS DE *Podisus nigrispinus* (DALLAS)
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

por

ALINE CRISTINA SILVA LIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2019

O PAPEL DA ZOOFITOFAGIA E DA INGESTÃO INDIRETA DE LUFENUROM SOBRE OS
ASPECTOS NUTRICIONAIS E MORFOLÓGICOS DE *Podisus nigrispinus* (DALLAS)
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

por

ALINE CRISTINA SILVA LIRA

Comitê de Orientação:

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE

Franklin Magliano da Cunha - FAFIRE

O PAPEL DA ZOOFITOFAGIA E DA INGESTÃO INDIRETA DE LUFENUROM SOBRE OS
ASPECTOS NUTRICIONAIS E MORFOLÓGICOS DE *Podisus nigrispinus* (DALLAS)
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

por

ALINE CRISTINA SILVA LIRA

Orientador: _____
Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Examinadores: _____
Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE

Franklin Magliano da Cunha - FAFIRE

Jorge Braz Torres – UFRPE

Carolina Arruda Guedes – PNP/DFACEPE

DEDICATÓRIA

A Deus, à minha família, aos meus amigos e à todos os profissionais que colaboraram para a sua realização.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, ao corpo docente, que com seus ensinamentos proporcionaram minha formação acadêmica contribuindo para o meu crescimento profissional e humano.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) por ter fornecido subsídios financeiros para a realização deste trabalho.

À minha orientadora Dra. Valéria Wanderley Teixeira pela orientação. Obrigada por me proporcionar um doutorado no qual eu fui ativa em cada uma das etapas, questionando, pesquisando soluções, mudando algumas coisas e, principalmente, por me permitir responder perguntas que, ao meu ver, tornariam nosso trabalho mais coeso. Obrigada por me dá autonomia e apoiar as mudanças solicitadas, ainda que isso implicasse sair da zona de conforto.

Aos meus coorientadores: Dr. Álvaro Aguiar Coelho Teixeira e Dr. Franklin Magliano da Cunha pela orientação e colaboração no desenvolvimento desse trabalho.

À todos do Laboratório de Fisiologia de Insetos (LAFI) da Universidade Federal Rural de Pernambuco por proporcionar a tese no formato que se apresenta. Cada resultado aqui exposto tem muito do esforço de vocês. O empenho de vocês tornou este, um trabalho que não seguiu um caminho pré-determinado, mas que se refez a cada nova tentativa e novo resultado.

À todos do Laboratório de Estudos Morfológicos em Vertebrados e Invertebrados (LABEMOVI) do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Ao Cenapesq, pelo fornecimento de equipamentos para as análises histológicas.

Ao Dr. Jorge Braz Torres, pelo suporte na aquisição do inseticida lufenurom (Match®) e na manutenção da criação da praga *Alabama argillacea* e do predador *Podisus nigrispinus*. Bem como, pela disponibilidade em compor a banca examinadora deste trabalho.

À Dra Cláudia Ulisses de Carvalho Silva e Lindomar Maria de Souza, do programa de Pós-Graduação em Botânica, pelo suporte oferecido para a realização das análises bioquímicas de plantas.

À Maria Edna Gomes de Barros, técnica do Laboratório de Histologia do DMFA, pela disponibilidade e pelo suporte profissional e emocional durante a realização das análises histológicas.

À todos os discentes do Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, pelos conhecimentos e momentos compartilhados.

À equipe da Unidade de Controle Biológico da Embrapa Algodão (Campina Grande/PB), que sob a coordenação do Dr. Francisco de Souza Ramalho foram essenciais para a realização e a concretização desse trabalho, fornecendo insetos para criação e realização dos bioensaios e dando todo o suporte que estava ao alcance da equipe.

À equipe de Patologia de insetos da Embrapa Algodão (Campina Grande/PB), representada por Eduardo, Airton Belo e Tardelly, pelo apoio e parceria.

À Dr. Francisco de Souza Ramalho, Francisco Sales Fernandes, José Bruno Malaquias e Thiago José Alves, pelo apoio profissional que antecedeu e permaneceu ao longo do doutorado.

À Dr. Luciano e Dra. Marcia pelo olhar humano.

À minha família e aos amigos por todo o apoio e compreensão.

E a todos, que indiretamente colaboraram para a realização deste, obrigada.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
<i>Alabama argillacea</i> : praga desfolhadora do algodoeiro	1
Controle químico de <i>Alabama argillacea</i> com inseticidas reguladores de crescimento	3
<i>Podisus nigrispinus</i> : controle biológico de <i>Alabama argillacea</i>	5
Efeitos de inseticidas na fisiologia de <i>Podisus nigrispinus</i>	8
Efeito dos inseticidas sobre a nutrição de <i>Podisus nigrispinus</i>	11
LITERATURA CITADA.....	14
2 IMPACTO DA ZOOFITOFAGIA NO CONTEÚDO BIOQUÍMICO DE <i>Podisus nigrispinus</i> (DALLAS) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) ALIMENTADO COM LAGARTAS DE <i>Alabama argillacea</i> (HÜBNER), E SUPLEMENTADO COM FOLHAS DE ALGODOEIRO.....	25
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	29
RESULTADOS.....	35
DISCUSSÃO.....	36

	AGRADECIMENTOS.....	39
	LITERATURA CITADA.....	40
3	INTERAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL DE UM PREDADOR COM SUA PRESA SOB EXPOSIÇÃO INDIRETA COM O INSETICIDA REGULADOR DE CRESCIMENTO LUFENUROM	50
	RESUMO	51
	ABSTRACT	52
	INTRODUÇÃO	53
	MATERIAL E MÉTODOS	54
	RESULTADOS.....	58
	DISCUSSÃO.....	61
	AGRADECIMENTOS.....	65
	LITERATURA CITADA.....	65
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

***Alabama argillacea*: praga desfolhadora do algodoeiro**

O algodoeiro tem sido uma das principais culturas de contribuição para o agronegócio brasileiro, constituindo uma atividade socioeconômica de grande importância para a região Nordeste, seja na oferta de matéria-prima para a indústria têxtil e oleaginosa, seja na geração de empregos e renda, especialmente quando explorada por pequenos e médios agricultores (Beltrão 2003). O último levantamento realizado pela CONAB para a safra 2018/2019 para a produção do algodoeiro estima crescimento superior a 23% na área plantada, 18,1% na produção nacional e lucro de R\$ 14,23 bilhões para os produtores, 41,7% maior que a safra anterior. Na região Nordeste, a segunda maior produtora do país, estima-se aumento de 21,7% da área plantada com destaque para os estados da Bahia, Piauí e Maranhão (CONAB 2018a).

Entretanto, a presença de espécies pragas tem sido comum em todos os sistemas de produção de algodão do mundo (Luttrell *et al.* 1994). Desse modo, os insumos agrícolas ainda tem sido apontados como os principais responsáveis pela elevação dos custos de produção (CONAB 2018b). Na região Centro-Oeste, maior produtora do país, as despesas com inseticidas estimadas para a safra 2018/2019 são de R\$ 1.917,78 por hectare (IMEA 2018), representando cerca de 20% do custo total de produção. Na Bahia, segundo maior estado produtor, a adoção do vazio sanitário, estabelecido por meio da portaria Nº 253/2018 pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB), visa a prevenção e o controle das principais pragas na lavoura do algodão (ABAPA 2018). Essa medida preventiva pode reduzir infestações de pragas remanescentes da safra

anterior. De acordo com Silva *et al.* (2018), cerca de 23 espécies de pragas do agroecossistema algodoeiro podem ser encontradas em restos culturais durante o vazio sanitário.

Dentre as pragas que atacam o algodoeiro estão: *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) (Santos & Torres 2010), *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) (Ramalho *et al.* 2012), *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) (Butler Junior *et al.* 1991) e lepidópteros praga, entre elas: *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Tay *et al.* 2013), *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Pashley 1986), *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Mukherjee 1982) e *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) (Ramalho *et al.* 2014).

Dentre as pragas que tem causado redução da produção nacional e aumento nos gastos com insumos agrícolas em cultivos de algodão, destaca-se a lagarta desfolhadora *A. argillacea* (Embrapa 2013), também conhecida como curuquerê-do-algodoeiro. No Brasil, *A. argillacea* é considerada a principal praga desfolhadora da cultura do algodoeiro (Ramalho *et al.* 2014). Uma gama de fatores ecológicos contribui para o status dessa praga, incluindo a monofagia, o amplo alcance geográfico, a alta mobilidade e fecundidade e seu potencial migratório (Hendricks *et al.* 1975). Segundo Bortoli *et al.* (2015), a ausência de medidas de controle dessa praga pode ocasionar redução significativa na produtividade do algodoeiro.

Perdas significativas à produção de algodão são observados, geralmente, quando as lagartas atingem o quinto ínstar, cerca de 14 a 21 dias após a eclosão (Oliveira *et al.* 2002), quando as lagartas podem causar desfolhamento total das plantas. A desfolha reduz o potencial fotossintético e, dependendo da intensidade e da fase da planta, ocasiona prejuízos à produção (Marchini 1976). O ataque mais severo ocorre após o período de floração e é caracterizado pela destruição das folhas da haste principal da planta, o que reduz o crescimento da planta e afeta a altura e o diâmetro caulinar (Quirino & Soares 2001).

A temperatura ideal para o seu desenvolvimento é 30 °C, em média. (Medeiros *et al.* 2003). Durante o processo reprodutivo a fêmea, a uma temperatura de 25 °C, deposita em média 400 a 500 ovos, individualmente ou agrupados, sendo o período de incubação de dois a três dias. Os ovos são redondos, achatados e inicialmente esverdeados, tornando-se mais escuros próximos da eclosão (Santos 1999). Ao eclodirem as lagartas medem cerca de 3,7 mm de comprimento e locomovem-se como “mede-palmo” (Carvalho 1981). Após a eclosão, se alimenta de folhas, mas podem se alimentar também das grandes veias e dos pecíolos (Santos 2001). Em condições de laboratório, à temperatura constante de 25 °C, a fase larval apresenta cinco ínstaes com duração média de 9 a 14 dias nas cultivares IAC 16, 17 e 18, BRS 201, BRS Verde e Acala 90, com fotofase variando entre 12 e 14 horas (Carvalho 1981, Santos *et al.* 2008).

A lagarta desenvolvida constrói um casulo durante o desenvolvimento do estágio de pupa de modo a se protegerem contra o ataque de predadores (Chocorosqui & Pasini 2000). Essa fase dura cerca de 8 a 9 dias a 25 °C e fotofase de 14 horas (Carvalho 1981). A mariposa é parda e apresenta manchas de coloração escura nas asas anteriores e corpo recoberto por escamas. Possui 36 mm, em média de envergadura e apresenta hábitos noturnos (Carvalho 1981). A longevidade dos adultos é de 10 a 13,6 dias, a 25 °C de temperatura e fotofase de 14 horas (Kasten Junior & Parra 1984); e 7,5 e 7,8 dias nas cultivares BRS Verde e Acala 90, em campo (Santos *et al.* 2008).

Controle químico da *Alabama argillacea* com inseticidas reguladores de crescimento

De acordo com Martinelli & Omoto (2006), o controle de insetos nas lavouras de algodão é responsável por um relatório anual de aplicação de cerca de 10.000 kg de ingredientes ativos de inseticidas no Brasil. Recentemente, no Cerrado brasileiro, são realizadas de 18 a 23 pulverizações para o controle do bicudo (*A. grandis*) (Miranda & Rodrigues 2018). Contudo, o plantio de variedades de algodoeiro geneticamente modificado, que produzem proteínas derivadas

de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt), tem ocasionado a supressão de populações de lepidópteros-praga nesta cultura (Wu *et al.* 2008) e reduzido o número de pulverizações, com variação de 2 a 4 por safra, para o controle destas (Miranda & Rodrigues 2018). Para o controle de *A. argillacea*, tem sido recomendados produtos à base de *B. thuringiensis*, piretroides, organofosforados, avermectinas e reguladores de crescimento (Agrofit 2018).

Os inseticidas reguladores de crescimento, vulgarmente conhecidos por IGRs (*insect growth regulator*) fazem parte da terceira geração de inseticidas (Williams 1967). São compostos inibidores da síntese de quitina, o principal componente do exoesqueleto de insetos (Desneux *et al.* 2007). No entanto, ainda apresentam limitado uso na agricultura pela lenta ação, por atuar apenas em algumas fases do ciclo de vida e serem específicos para determinados grupos de insetos (Casida & Quistad 1998). Na cultura do algodão, a eficiência destes inseticidas tem sido relatada para o controle de lagartas da família Noctuidae, como *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Storch *et al.* 2007), *S. frugiperda* (Pratissoli *et al.* 2004) e Erebidae, como *A. argillacea* (Scarpellini 2001). O inseticida lufenurum a 15,0 g i.a./ha tem demonstrado ser altamente eficiente no controle de lagartas de *A. argillacea*, ocasionando mortalidade acima de 90% entre lagartas de primeiro ao quarto ínstar 48 horas após o início da alimentação de folhar tratadas (Scarpellini 2001). O regulador de crescimento lufenurum é uma molécula com ação inseticida pertencente ao grupo das benzoiluréias e possui como fórmula geral a estrutura carbonyl-2,6-difluorobenzamide. Sua ação é inibir a síntese de quitina ocasionando alterações no processo de ecdise e morte do inseto durante a muda (Mulder & Gijswigt 1973, Wilson & Cryan 1997). Contudo, visando auxiliar a tomada de decisão e limitar os danos causados pelas pulverizações nos artrópodes benéficos presentes no algodoeiro, no contexto do manejo integrado de pragas, faz-se necessário investigar o impacto dessa molécula sobre insetos não-alvo que exercem o controle biológico de pragas nessa cultura.

Podisus nigrispinus*: controle biológico de *Alabama argillacea

O controle biológico de pragas do algodoeiro, por insetos entomófagos, é realizado por predadores (Ramalho 1994) e parasitoides (Ramalho *et al.* 2007). Predadores, especialmente aqueles do gênero *Podisus*, tem potencial para uso em programas de manejo integrado de pragas (MIP) (Lemos *et al.* 2005). São inimigos naturais generalistas (Zanuncio *et al.* 1994) que se estabelecem, sobrevivem e se reproduzem em agroecossistemas temporários, produzem um grande número de descendentes por geração (Oliveira *et al.* 2002), apresentam um rápido desenvolvimento pós-embrionário (Medeiros *et al.* 2003) e se adaptam bem as diferentes temperaturas e espécies de presas (Lemos *et al.* 2003).

O predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) é uma das espécies da subfamília Asopinae mais estudadas na região Neotropical (De Clercq 2000, Freitas *et al.* 2006). Tem sido relatado em vários países do Sul e do Centro da América como um importante agente de controle biológico (Lemos *et al.* 2005, Silva *et al.* 2009) por ser agressivo e possuir alta capacidade reprodutiva (Pires *et al.* 2009). Sua ocorrência tem sido registrada em diferentes culturas, como eucalipto (Zanuncio *et al.* 1994), soja (Corrêa-Ferreira & Moscardi 1995), hortaliças em geral (Carvalho & Souza 2002) e algodão (Medeiros *et al.* 2000). Na cultura do algodão, por sua vez, os predadores do gênero *Podisus* tem sido apontados como um dos agentes de controle biológico com potencial para regular as populações de pragas, especialmente as da ordem Lepidoptera (Gravena & Cunha 1991, Grosman *et al.* 2005, Zanuncio *et al.* 2008).

A coloração dos ovos desta espécie varia de verde-acinzentada ao cinza-prateado, tornando-se avermelhados próximos da eclosão (Torres *et al.* 2001). Cada ovo é circundado, na periferia do pseudopérculo, por uma coroa de longos processos micropilares, com cerca de um terço do comprimento total do ovo, de cor branca translúcida, sem tornar-se evidente, devido a sua coloração mais clara durante o desenvolvimento embrionário. As ninfas são ovaladas ou

subovaladas, apresentam cabeça, tórax e pernas de coloração castanho-escuro, abdome vermelho, com placas medianas e laterais negras, manchas amareladas dorso-lateralmente durante o quarto e quinto ínstaes, antenas castanho escuras, com exceção de um anel vermelho no ápice do segundo e terceiro artículos, olhos vermelhos, manchas oclares presentes e tamanho variando de 1,39 mm a 7,19 mm durante o período ninfal (Grazia *et al.* 1985, De Clercq & Degheele 1990). Os adultos medem de 8,5 a 12,0 mm de comprimento, sendo as fêmeas usualmente maiores que os machos (Vivan *et al.* 2003). A coloração dos adultos é, geralmente, pardo-esverdeada, mas as fêmeas criadas em laboratório podem ter coloração variando de pardo-esverdeada a marrom-avermelhado (Nascimento *et al.* 1996).

O período de incubação dura cerca de 4 dias. As ninfas apresentam cinco ínstaes com duração de 4,0; 4,9; 4,7; 4,8 e 5,8 dias, respectivamente, mantidos a 25 °C e fotofase de 12 horas (Moreira *et al.* 1998). O período ninfal tem duração de 24,2 dias, em média, sendo que o predador leva cerca de 32,21 dias para completar o ciclo de vida, a 25°C e fotofase de 14 horas (Medeiros *et al.* 2000). A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento desse inseto varia de 26 a 28 °C e fotofase de 14 horas (Medeiros *et al.* 2003). As fêmeas necessitam de 2 a 4 dias para a maturação sexual, enquanto os machos requerem de 1 a 2 dias após a emergência. Os machos acasalam a primeira vez no segundo dia após atingir a fase adulta, enquanto que as fêmeas o fazem no terceiro dia. O acasalamento ocorre a qualquer hora do dia, porém é mais comum entre às 6 e 9h da manhã (Carvalho *et al.* 1994). As fêmeas comumente são copuladas mais de uma vez e podem colocar aproximadamente 200 ovos quando alimentadas com lagartas de *A. argillacea*. A maior capacidade de oviposição ocorre entre 8 e 18 dias de idade, com média de aproximadamente 9 ovos/dia (Medeiros *et al.* 2000, Torres & Zanuncio 2001). Apesar das fêmeas iniciarem a ovogênese e a maturação dos ovos logo após a emergência, o acasalamento é importante para manter a produção dos ovos e a oviposição (Soares *et al.* 2011).

Vários são os fatores que podem interferir na capacidade de predação de *P. nigrispinus*, como a alimentação e a planta hospedeira da presa. O consumo de alimento também pode variar em função do tamanho da presa, do ínstar do predador (Santos *et al.* 1996), da temperatura e da densidade da presa (Oliveira *et al.* 2001). Em laboratório, ninfas de quinto ínstar desse predador são capazes de consumir de 9 a 15,8 lagartas de *A. argillacea* (Santos *et al.* 1995) e de 12 a 40 lagartas de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), dependendo de sua idade (De Clercq & Degheele 1994). Durante a fase larval, as fêmeas podem consumir em média 54,7 lagartas de *A. argillacea* (Oliveira *et al.* 2002). A capacidade de predação de *P. nigrispinus* é maior à medida que aumenta a temperatura e o número de presas oferecidas (Mohaghegh *et al.* 2001). Quando alimentados com a presa *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), *P. nigrispinus* preda durante sua fase ninfal de 38,2 a 43,1 lagartas, alimentando-se em média de 2,4 lagartas por dia (Vivan *et al.* 2002).

Além da capacidade de se alimentar de presas, *P. nigrispinus* pode, também, se alimentar do material vegetal das plantas hospedeiras de suas presas, sendo considerado um predador zoofitófago (Zanuncio *et al.* 2002, Holtz *et al.* 2009). Ao se alimentar de material vegetal, esse predador obtém água e nutrientes das plantas como complemento da dieta (Coll & Guershon 2002), sendo este um dos fatores relevantes para o estabelecimento de *P. nigrispinus* em agroecossistemas em regimes de escassez de presas (Holtz *et al.* 2009). Esse comportamento alimentar é facultativo e ocorre dependendo da importância da presa e da planta no desenvolvimento e na reprodução da espécie (Coll 1996). Estudos comprovam que somente a fitogfagia não é suficiente para o desenvolvimento de *P. nigrispinus* (Lemos *et al.* 2001, Evangelista Júnior *et al.* 2004). Por outro lado, alguns estudos tem demonstrado impactos positivos sobre o desenvolvimento, a sobrevivência e a reprodução, além do aumento de peso, em predadores da ordem Hemiptera quando submetidos a regimes de dietas com origem animal e

vegetal simultaneamente (Naranjo & Stimac 1985, Ruberson *et al.* 1986, Evangelista Júnior *et al.* 2004, Holtz *et al.* 2011, Grigolli *et al.* 2017, Pereira *et al.* 2017). Contudo, apesar dos benefícios já conhecidos da suplementação alimentar de *P. nigrispinus* em plantas, estudos sobre o impacto da zoofitofagia na composição nutricional desse predador são escassos. Segundo Morales-Ramos *et al.* (2015), diferenças na composição nutricional da presa e seu impacto nos parâmetros demográficos dos predadores são fatores potenciais que tornam uma presa mais adequada como fonte de alimento. Para predadores, estudos histoquímicos realizados por Lemos *et al.* (2009) revelaram que fêmeas zoofitófagas de *Brotoncoris tabidus* (Signoret) (Hemiptera: Pentatomidae), mostram maior capacidade de armazenar nutrientes no corpo gorduroso. Entretanto, os conteúdos bioquímicos do predador alimentado nas diferente dietas não foram investigados por estes autores.

Efeitos de inseticidas na fisiologia de *Podisus nigrispinus*

O controle biológico apresenta vantagens em relação a outros métodos de controle, porque é mais seguro, permanente e econômico quando utilizado corretamente (Stehr 1982). No entanto, os inimigos naturais podem ser afetados por pulverizações de inseticidas, via contato com os resíduos, ou indiretamente através de alimentos ou água contaminados (Mestdagh *et al.* 1996).

Investigações sobre efeitos colaterais de inseticidas desempenham um papel crucial em programas de MIP, quando as medidas químicas e biológicas são usadas em combinação contra as pragas (Mohaghegh *et al.* 2000, Zanuncio *et al.* 2003). Segundo Hassan *et al.* (1998), a combinação de testes que avaliam o efeito letal e subletal de produtos fitossanitários sobre inimigos naturais, em laboratório, possibilita o conhecimento do efeito total dos compostos sobre estes, permitindo fazer estimativas de chances de sobrevivência de adultos recém-emergidos, ou adultos provenientes de áreas adjacentes, ajudando a estimar as chances de sobrevivência dos estágios de desenvolvimento do inimigo natural.

São considerados inseticidas adequados para programas de MIP aqueles que combinem um eficiente controle da praga com mínima influência negativa sobre a atividade de espécies benéficas (Mohaghegh *et al.* 2000), sendo estes denominados de seletivos (Degrande & Gomez 1990). A seletividade fisiológica está relacionada à interação do produto com o inseto, ocasionando, então, a morte da praga e não afetando os inimigos naturais, em função das diferenças fisiológicas entre eles (Ripper *et al.* 1951), pelos processos biológicos de penetração, metabolismo e/ou sensibilidade no sítio de ação (Graham-Bryce 1987).

Riscos de intoxicação devido ao uso de produtos como piretroides tem sido enfatizados em cultivos de algodão (Tillman & Mulrooney 2000). Entretanto, os resultados de estudos são contrastantes. De acordo com Picanço *et al.* (1997), o piretroide permetrina, seguido de deltametrina e paration metílico foram os inseticidas mais seletivos ao percevejo predador *P. nigrispinus* pela exposição de contato, em comparação com outros grupos de inseticidas. Enquanto, Pereira *et al.* (2005) verificaram relevante toxicidade do piretroide gama-cialotrina, com maior toxicidade para ninfas de quinto ínstar que para adultos de *P. nigrispinus* e maior sensibilidade a ingestão de água tratada com gama-cialotrina (média de CL50 = 1,98 ppm entre ninfas e adultos) que por exposição tópica (média de CL50 = 130,88 ppm entre ninfas e adultos). Os inseticidas que atuam como reguladores de crescimento (IGRs), por sua vez, possuem algumas vantagens sobre os convencionais, tais como uma toxicidade relativamente baixa para os vertebrados e uma maior especificidade para algumas espécies de insetos-alvo (Tunaz & Uygun 2004). Smagghe & Degheele (1995), estudando os efeitos de tebufenozide em *P. nigrispinus*, concluíram que as ninfas não mostraram sensibilidade ao tratamento oral (alimentando-se de larvas de *S. exigua* tratadas) ou a exposição tópica de até 100 ug do inseticida por ninfa. Por outro lado, *Podisus maculiventris* (Say.) (Hemiptera: Pentatomidae) foi sensível ao inseticida nuvalurom, via contato direto e residual, na dose de campo (Cutler *et al.* 2006), e ao inseticida

diflubenzuron, apenas via ingestão, sendo considerado altamente tóxico para esse predador (De Clercq *et al.* 1995). Ainda, de acordo com Cutler *et al.* (2006), em fêmeas expostas a lagartas de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) e plantas de batata tratadas com luvanurum, foi observada redução na longevidade, no número de ovos e na viabilidade dos ovos provenientes dessas fêmeas.

O efeito indireto negativo da ingestão de inseticidas reguladores de crescimento sobre a reprodução e dinâmica populacional de percevejos predadores foi observado por Castro *et al.* (2012), em fêmeas de *P. nigrispinus* alimentadas com lagartas de *A. argillacea* tratada com regulador de crescimento diflubenzuron. Os efeitos sobre os parâmetros da tabela de vida de *P. nigrispinus* incluem: aumento no período necessário para que a população dobre de tamanho, reduções na taxa intrínseca de crescimento da população, aumento no tempo de geração e alterações na taxa líquida de reprodução. Estudo similar foi realizado por Evangelista *et al.* (2002), que verificaram toxicidade de lufenurum a ninfas de *P. nigrispinus* alimentadas com lagartas contaminadas por ingestão e via tópica nas concentrações acima de 50 e 150 mg de i.a./L. Os efeitos incluem: mortalidade de ninfas confinadas em plantas pulverizadas e alimentadas com lagartas tratadas e redução na viabilidade dos ovos. O inseticida teflubenzuron, por sua vez, foi altamente tóxico para ninfas de quarto ínstar (CL 50 = 14,7 mg i.a./L) de *P. maculiventris*. Embora não tenha afetado a sobrevivência das fêmeas, o teflubenzuron ocasionou aumento no tempo de desenvolvimento e reduziu significativamente a viabilidade de ovos (Mohaghegh *et al.* 2000). Desse modo, a toxicidade dos inibidores da síntese de quitina para predadores naturais deve ser considerada, uma vez que estes inseticidas podem ter efeitos subletais sobre o desenvolvimento, a reprodução e sobrevivência dos predadores, quando utilizados nas concentrações recomendadas pelos fabricantes para o controle de pragas (Evangelista Júnior *et al.* 2002, Desneux *et al.* 2007).

Efeito dos inseticidas sobre a nutrição de *Podisus nigrispinus*

Estudos relacionados à seletividade fisiológica de organismos benéficos a inseticidas tem sido amplamente realizados no Brasil. Contudo, o principal objetivo destes estudos tem sido verificar os possíveis efeitos letais e subletais dos inseticidas pulverizados em cultivos de importância econômica sobre os parâmetros bioecológicos dos inimigos naturais. Os aspectos relacionados às alterações nutricionais, morfológicas e histoquímicas do intestino de predadores, quando expostos a inseticidas, por sua vez, tem sido pouco explorados.

Predadores do gênero *Podisus*, assim como outros insetos asopinos, dependem da digestão extra-oral, processo em que o predador injeta toxinas e enzimas, a partir das secreções das glândulas salivares, sobre os tecidos da presa, liquefazendo-os, antes de iniciar o processo de ingestão do conteúdo da presa (Cohen 1990, 1995). A digestão extra-oral é considerada uma digestão inicial. A digestão principal e final, por sua vez, ocorre no intestino médio do predador, onde os nutrientes são absorvidos (Fialho *et al.* 2012).

O epitélio do intestino médio de *P. nigrispinus* é formado por um epitélio simples constituído de células colunares e regenerativas alinhadas sobre uma lâmina basal, envolvida por uma camada de músculo. As células colunares apresentam grânulos citoplasmáticos e um núcleo bem desenvolvido contendo grumos de cromatina condensada e estão envolvidas na síntese e secreção de enzimas digestivas, como amilase, catepsina L, aminopeptidase e α -glucosidase, bem como na absorção de íons e nutrientes, armazenamento e excreção (Fialho *et al.* 2013). A digestão de proteínas é realizada pela ação das enzimas catepsina L e aminopeptidases, secretadas por vesículas secretoras observadas no citoplasma da célula do epitélio. A digestão de carboidratos, por sua vez, ocorre pela ação das enzimas amilase e α -glucosidase (Fialho *et al.* 2012). O lúmen do intestino médio é revestido internamente por uma matriz lipoprotéica situada no ápice da célula colunar chamada matriz perimicrovilar, que contribui para subdivisão da digestão,

otimização da absorção de aminoácidos, imobilização de enzimas digestivas e protege as células intestinais contra riscos mecânicos (Terra 1990, Terra e Ferreira 2012, Teixeira *et al.* 2013). As células regenerativas são encontradas em ninhos espalhados entre a região basal das células colunares (Fialho *et al.* 2013).

As alterações no metabolismo de insetos, tais como interferência na aquisição e metabolização de nutrientes são apontadas como um dos efeitos ocasionados pela exposição de insetos aos inseticidas (Cruz *et al.* 2016, Silva *et al.* 2016). Desse modo alterações nos conteúdos bioquímicos podem refletir em prejuízos à história de vida de *P. nigripinus*. Os efeitos negativos observados no sistema reprodutivo dos insetos exposto a inseticidas são, comumente, associados a implicações na produção de proteínas. (Orr & Downer 1982, Costa *et al.* 2016). Isto, porque as proteínas, tais como vitelogenina, carboxipeptidase vitelogênica, catepsina B e lipoforina, estão envolvidas no processo de gametogênese (Guizzo *et al.* 2012). Alterações nos teores de carboidratos, por sua vez, podem afetar vários parâmetros biológicos (Cruz *et al.* 2016, Silva *et al.* 2016), visto que os carboidratos são macromoléculas de fundamental importância para o desenvolvimento do inseto. Além de ser uma importante fonte energética podendo ser convertido em lipídios. Já o glicogênio, carboidrato de reserva, é a principal fonte de energia durante o período larval pós-alimentação e na fase adulta (Steele 1982, Arrese & Soulages 2010).

As pesquisas com inseticidas tem investigado alterações nutricionais e morfológicas das pragas que atacam o algodoeiro, como os realizados por Cunha *et al.* (2015), para *A. grandis*. Esses autores avaliaram o efeito da exposição da praga a pimetozina. De acordo com os autores, a exposição ao inseticida promoveu mudanças histológicas e alterações nutricionais no intestino médio de *A. grandis*, assim como alterações nos teores de carboidratos e lipídio. Em estudo com inseticida regulador de crescimento, Costa *et al.* (2017) verificaram que a exposição de adultos de *A. grandis* ao inseticida lufenuron proporcionou alterações na composição nutricional, além de

desorganização estrutural e a descamação do epitélio do intestino médio dos insetos. Alterações nutricionais e morfológica da praga *S. frugiperda* expostos a compostos com ação inseticida também foram verificadas por Cruz *et al.* (2016) e Silva *et al.* (2016). Segundo esses autores, os compostos promoveram redução no quantitativo nutricional do inseto.

Para inimigos naturais, as pesquisas de alterações nutricionais e morfológicas são escassas e pouco tem sido investigado sobre o efeito de inseticidas associado às interações tritróficas, nas quais o agente de controle biológico é exposto indiretamente ao inseticida ao se alimentar de uma praga contaminada. Martinez *et al.* (2018) avaliaram o efeito do inseticida permetrina na concentração de 0,46 µg./L sobre a histologia do intestino quando adultos de *P. nigrispinus* se alimentaram de larvas de *T. molitor* pulverizadas com o inseticida permetrina e verificaram alterações morfológicas como epitélio irregularmente delimitado, vacuolização citoplasmática e secreções apócrinas no lúmen, após 6 h após de exposição. Cunha *et al.* (2012, 2013) estudaram a interação de *P. nigrispinus* e algodão Bt, no qual lagartas alimentadas com algodão Bt foram ofertadas ao predador, verificando alterações na distribuição de glicogênio, lipídios e cálcio em decorrência da desorganização da matriz perimicrovilar.

Dentre as possíveis implicações da redução no quantitativo nutricional, tem sido estudados os efeitos desta sobre a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução dos insetos (Guizzo *et al.* 2012). A utilização de análises de alterações morfológicas para diagnosticar de efeitos colaterais induzidos pela exposição a inseticidas, por sua vez, possibilita avaliar os efeitos de compostos xenobióticos sobre o metabolismo (Gregorc *et al.* 2011). De acordo com Martinez *et al.* (2018), o estresse celular induzido pela contaminação por inseticidas pode prejudicar processos fisiológicos como a digestão, comprometendo o potencial do predador como agente de controle biológico de pragas.

Diante do exposto, considerando as interações tritróficas planta/presa/predador, surgem questões sobre de que maneira os agentes de controle biológico (terceiro nível trófico) poderiam ser afetados através dessa relação pela suplementação da dieta em folhas, bem como pelas pulverizações realizadas para o controle de pragas na cultura do algodoeiro. Dentro deste contexto, a pesquisa objetivou analisar o impacto da zoofitofagia no conteúdo bioquímico de *P. nigrispinus*, assim como as alterações morfológicas no intestino médio desse predador, bem como os possíveis parâmetros relacionados ao comportamento alimentar e a nutrição do predador exposto indiretamente ao inseticida lufenurum. Parâmetros como: taxa de consumo, preferência de presa, sobrevivência do predador, além do peso e aspectos nutricionais da presa podem fornecer subsídios para a elucidação de questões relacionadas às possíveis alterações observadas na fisiologia do inseto.

Literatura Citada

- ABAPA (Associação Baiana dos Produtores de Algodão). 2018.** Disponível em: <<http://abapa.com.br/mais-noticias/produtores-iniciam-nova-safra-de-algodao-na-bahia/>>. Acesso em: 27 dez. 2018.
- AGROFIT (Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários). 2018.** Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 31 dez. 2018.
- Bastos, C.S. & J.B. Torres 2006.** Controle biológico e o manejo integrado de pragas do algodoeiro. Campina Grande, Embrapa Algodão. 63p. (Circular Técnica, 72).
- Beltrão, N.E.M. 2003.** Breve história do algodão no Nordeste do Brasil. Campina Grande, Embrapa Algodão, 17p. (Documentos, 117).
- De Bortoli, S.A., A.M. Vacari, M.C. Fernandes, C.P. Bortoli, S.L.P. Bortoli, D.G. Ramalho. 2015.** Effects of planting distances and *Bacillus thuringiensis* Berliner on *Alabama argillacea* (Hübner), *Aphis gossypii* Glover and natural enemies of cotton. Com. Sci. 6: 202-211.
- Bridges, J.W., D.J. Benford & S.A. Hubbard. 1983.** Mechanisms of toxic injury. Ann. NY Acad. Sci. 407: 42-63.

- Butler Junior, G.D., F.D. Wilson & G. Fishler. 1991.** Cotton leaf trichomes and populations of *Empoasca lybica* and *Bemisia tabaci*. *Crop Prot.* 10: 461-464.
- Carvalho, R.S., E.F. Vilela, M. Borges & J.C. Zanuncio. 1994.** Ritmo do comportamento de acasalamento e atividade sexual de *Podisus connexivus* Bergroth (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 23: 197-202.
- Carvalho, C.F. & B. Souza. 2002.** Potencial de insetos predadores no controle biológico aplicado, p. 191-208. In: Parra, J.R.P., Botelho, P.S.M., Corrêa-Ferreira, B.S. & J.M.S. Bento (eds.) *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores.* São Paulo: Manole, 664p.
- Carvalho, S.M. 1981.** Biologia e nutrição quantitativa de *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera, Noctuidae) em três cultivares de algodoeiro. Piracicaba: ESALQ, Dissertação (Mestrado em Entomologia), 97p.
- Casida, J.E. & G.B. Quistad. 1998.** Golden age of insecticide research: past, present, or future? *Annu. Rev. Entomol.* 43: 1-16.
- Castro, A.A., M.C. Lacerda, T.V. Zanuncio, F.S. Ramalho, R.A. Polanczyk, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2012.** Effect of the insect growth regulator diflubenzuron on the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Ecotoxicology* 21: 96-103.
- Chocorosqui, V.R. & A. Pasini. 2000.** Predação de Pupas de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) por Larvas e Adultos de *Calosoma granulatum* Perty (Coleoptera: Carabidae) em Laboratório. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 29: 65-70.
- Cohen, A.C. 1990.** Feeding adaptations of some predaceous Hemiptera. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83: 1215-1223.
- Cohen, A.C. 1995.** Extra-oral digestion in predaceous terrestrial Arthropoda. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 85-103.
- Coll, M. 1996.** Feeding and ovipositing on plants by an omnivorous insect predator. *Oecologia* 105: 214-220.
- Coll, M. & M. Guershon. 2002.** Omnivory in terrestrial arthropods: mixing plant and prey diet. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 267-297.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2018a.** Terceiro levantamento, dezembro 2018. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br> >. Acesso em 26 dez. 2018.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2018b.** Sétimo levantamento, abril 2018. Disponível em: < <http://www.conab.gov.br> >. Acesso em 30 abr. 2018.
- Costa, H.N., F.M. Cunha, G.S. Cruz, C.G. D'Assunção, G.G. Rolim, M.E.G. Barros, M.O. Breda, A.A.C. Teixeira & V.W. Teixeira. 2017.** Lufenuron impact upon *Anthonomus grandis*

- Boheman (Coleoptera: Curculionidae) midgut and its reflection in gametogenesis. *Pestic. Biochem. Physiol.* 137:71-80.
- Corrêa-Ferreira, B.S. & F. Moscardi. 1995.** Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. *BioControl* 5: 196-202.
- Cotter, S. & K. Wilson. 2002.** Heritability of immune function in the caterpillar *Spodoptera littoralis*. *Heredity* 88:229-234.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, F.S.C. Lopes, D.R.S. Barbosa, M.O. Breda, K.A. Dutra, C.A. Guedes, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* 109: 660-666.
- Cunha, F.M., F.H. Caetano, V. Wanderley-Teixeira, J.B. Torres, A.A.C. Teixeira & L.C. Alves. 2012.** Ultra-structure and histochemistry of digestive cells of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with prey reared on Bt-cotton. *Micron* 43: 245-250.
- Cunha, F. M., V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, B.F. Pereira, F.H. Caetano, J. B. Torres, G.G. Goncalves & F.A.B. Santos. 2015.** Effects of Pymetrozine on biochemical parameters and the midgut ultrastructure of *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). *Anim. Biol.* 65: 271-285.
- Cunha, F.M., V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, F.A.B. Santos, L.A. Alves & F.H. Caetano. 2013.** Insect/Bt-cotton interactions: are immunological variables and hemocyte ultrastructure in *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) affected? *Int. J. Pest. Manage.* 59: 157-164.
- Cutler, G.C., C.D. Scott-Dupree, J.H. Tolman & C.R. Harris. 2006.** Toxicity of the insect growth regulator novaluron to the non-target predatory bug *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Biol. Control* 38: 196-204.
- De Clercq, P. 2000.** Predaceous stinkbugs (Pentatomidae: Asopinae), p. 737-789. In: Schaefer, C.W. & A.R. Panizzi (eds.) *Heteroptera of economic importance*. Cambridge, Cambridge University, 828p.
- De Clercq, P., A. De Cock, L. Tirry, E. Viñuela & D. Degheele. 1995.** Toxicity of diflubenzuron and pyriproxyfen to the predatory bug *Podisus maculiventris*. *Entomol. Exp. Appl.* 74: 17-22.
- De Clercq, P. & D. Degheele. 1990.** Description and life history of the predatory bug *Podisus sagitta* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Can. Entomol.* 122: 1149-1156.
- De Clercq, P. & D. Degheele. 1994.** Laboratory measurement of predation by *Podisus maculiventris* and *P. sagitta* (Hemiptera: Pentatomidae) on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 76-83.

- Degrande, P.E. & D.R.S. Gomez. 1990.** Seletividade de produtos químicos no controle de pragas. *Agro. Ciba-Geigy* 7: 8-13.
- Desneux, N., A. Decourtye & J. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Ann. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária). 2013.** Controle de pragas representa 25% no custo de produção do algodão. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2013/agosto/2a-semana/controle-de-pragas-representa-25-no-custo-de-producao-do-algodao/>>. Acesso em: 09 set. 2013.
- Evangelista Júnior, W.S., M.G.C. Gondim Junior, J.B. Torres & E.J. Marques. 2014.** Fitofagia de *Podisus nigrispinus* em algodoeiro e plantas daninhas. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39: 413-420.
- Evangelista Júnior, W.S., C.A. Silva-Torres & J.B. Torres. 2002.** Toxicidade de lufenuron para *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Neotrop. Entomol.* 31: 319-326.
- Fialho, M.C.Q., N.R. Moreira, J.C. Zanuncio, A.F. Ribeiro, W.R. Terra & J.E. Serrão. 2012.** Prey digestion in the midgut of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *J. Insect. Physiol.* 58: 850e856.
- Fialho, M.C.Q., W.R. Terra, N.R. Moreira, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2013.** Ultrastructure and immunolocalization of digestive enzymes in the midgut of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Arthropod. Struct. Develop.* 42; 277-285.
- Freitas, S.P.C., W.S. Evangelista Júnior, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2006.** Development, survival and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) with salt and amino acid solutions supplementary diets. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 49: 449-455.
- Gillespie, J.P., M.R. Kanost & T. Trenczek. 1997.** Biological mediators of insect immunity. *Annu. Rev. Entomol.* 42:611-643.
- Graham-Bryce, I.J. 1987.** Chemical methods, p. 113-159. In: Burn, A.J., T.H. Coaker & P.C. Jepson. *Integrated pest management*. London: Academic, 474p.
- Gravena, S. & H.F. Cunha 1991.** Predator of cotton leafworm first instar larvae, *Alabama argillaceae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomophaga* 36: 481-491.
- Grazia, J., M.C. Del Vecchio & R. Hildebrand. 1985.** Estudos de ninfas de heterópteros predadores: I. *Podisus connexivus*, 1891, (Pentatomidae: Asopinae). *An. Soc. Entomol. Braz.* 14: 303-313.
- Gregorc, A., E.C.M. Silva-Zacarin & R.C.F. Nocelli. 2011.** Cellular response in honey bees to non-pathogenic effects of pesticides, p.161-180. In: Sammataro, D. & J.A.Yoder (eds). *Honey*

Bee Colony Health: Challenges & Sustainable Solutions. New York, Taylor & Francis Group, 320p.

Grigolli, J.F.J., M.M.K. Grigolli, D.G. Ramalho, A.L. Martins, A.M. Vacari & S.A. De Bortoli. 2017. Phytophagy of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) fed on prey and Brassicaceae. Braz. J. Biol. doi:10.1590/1519-6984.16615.

Grosman, A.H., M.V. Breemen, A. Holtz, A. Pallini, A.M. Rugama, H. Pengel, M. Venzon, J.C. Zanuncio, M.W. Sabelis & A. Janssen. 2005. Searching behaviour of an omnivorous predator for novel and native host plants of its herbivores: a study on arthropod colonization of eucalyptus in Brazil. Entomol. Exp. Appl. 116: 135-142.

Guedes, B.A.M., J.C. Zanuncio, F.S. Ramalho & J.E. Serrão. 2007. Midgut morphology and enzymes of the obligate zoophytophagous stink bug *Brontocoris tabidus* (Signoret, 1963) (Heteroptera: Pentatomidae). Pan-Pac. Entomol. 83: 229-235.

Hassan, S. A., Hafes, B., Degrande, P. E. & K. Herai. 1998. The side-effects of pesticides on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae), acute dose-response and persistence tests. J. Appl. Entomol. 1: 63-76.

Hendricks, D.E., P.D. Lingren & J.P. Hollingsworth. 1975. Numbers of bollworms, tobacco budworms, and cotton leafworms caught in traps equipped with fluorescent lamps of five colors. J. Econ. Entomol. 68: 645-649.

Holtz, M., G.D. Dias, M.A.M. Fadini, J.S. Zanuncio-Júnior, T.V. Zanuncio & J.C. Zanuncio. 2009. Sobrevivência e reprodução de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae): efeitos da escassez de presas e da alimentação de plantas. Chil. J. Agric. Res. 69: 468-472.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia). 2018. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/2013-agencia-de-noticias/releases/19942-em-janeiro-ibge-preve-safra-6-0-inferior-a-de-2017.html>>. Acesso em: 30 abr. 2018.

IMEA (Instituto Mato-grossense de Economia Agropecuária). 2018. Custo de produção (Algodão 18/19) levantamento nov/2018. Disponível em: <<http://www.imea.com.br>>. Acesso em: 26 dez. 2018.

Kasten Junior, P. & J.R.P. Parra. 1984. Bioecologia de *Alabama argillacea*. I. Biologia em diferentes temperaturas, na cultivar de algodoeiro IAC-17. Pesqu. Agropec. Bras. 19: 269-280.

Lavine, M.D. & M.R. Strand. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Biochem. Mol. Biol. 32: 1295-1309.

Lemos, W.P., F.S. Ramalho, Serrão, J.E. & J.C. Zanuncio. 2003. Effects of diet on development of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), a predator of the cotton leafworm. J. Appl. Entomol. 128: 12-25.

- Lemos, W.P., J.E. Serrão, F.S. Ramalho, J.C. Zanuncio & M.C. Lacerda. 2005.** Effect of diet on male reproductive tract of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Braz. J. Biol.* 65: 91-96.
- Lemos, W.P., R.S. Medeiros, F.S. Ramalho & J.C. Zanuncio. 2001.** Effects of plant feeding on the development, survival, and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Int. J. Pest Manag.* 27: 89-93.
- Luttrell, R.G., G.P. Fitt, F.S. Ramalho & E.S. Sugonyaev. 1994.** Cotton pest management: Part 1. A Worldwide perspective. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 517- 526.
- Marchini, L. C. 1976.** Avaliação de dano do curuquerê do algodão *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepdoptera-Noctuidae) em condições similares e redução de sua população através de isca tóxicas. Piracicaba: ESALQ. 72p. Dissertação de Mestrado.
- Marmaras, V.J. & M. Lampropoulou. 2009.** Regulators and signalling in insect haemocyte immunity. *Cell. Signal.* 21: 186-195.
- Martinelli, S. & C. Omoto. 2006.** Resistência de lepidóteros-praga a inseticidas na cultura do algodão no Brasil. *Rev. Bras. Ol. Fibras.* 10: 1167-1182.
- Martínez, L.C., A. Plata-Rueda, G.S. Neves, W.G. Gonçalves, J.C. Zanuncio, H. Bozdoğan & J.E. Serrão. 2018.** Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. *Chemosphere.* Doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.08.134.
- Medeiros R.S., F.S. Ramalho, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão, 2003.** Effect of temperature on life table parameters of *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) fed with *Alabama argillacea* (Lep., Noctuidae) larvae. *J. Appl. Entomol.* 127: 209-213.
- Medeiros, R.S., F.S. Ramalho, W.P. Lemos & J.C. Zanuncio. 2000.** Age-dependent fecundity and life-fertility tables for *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae). *J. Appl. Entomol.* 124: 319-324.
- Meister, M. & M. Lagueux. 2003.** *Drosophila* blood cells. *Cell. Microbiol.* 5: 573-580.
- Mestdagh, I., P. De Clercq & D. Degheele. 1996.** Susceptibility of the predatory bug *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae) to pyriproxyfen residues on sweet pepper plants. *Parasitica.* 52:153-161.
- Miranda, J.E. & A.C.B. Ferreira. 2005.** Contra-ataque. *Cad. Téc. Cultivar* 72:7-10.
- Miranda, J.E. & S.M.M. Rodrigues. 2018.** O tamanho do prejuízo do bicudo e a necessidade do monitoramento. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/37767331/artigo---o-tamanho-do-prejuizo-do-bicudo-e-a-necessidade-do-monitoramen-to>>. Acesso em 23 mar. 2019.

- Mohagheh, J., P. De Clercq & L. Tirry. 2000.** Toxicity of selected insecticides to the spined soldier bug, *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Biocontrol Sci. Tech.* 10: 33-40.
- Mohagheh, J., P. De Clercq, & L. Tirry. 2001.** Functional response of the predators *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae): effect of temperature. *J. Appl. Entomol.* 125: 131-134.
- Moreira, L.A., Zanuncio, J.C. & A.J. Molina-Rugama. 1998.** Dados biológicos de *Podisus nigrispinus* (Dallas) alimentado com a lagarta do maracujazeiro *Dione juno juno* (Cramer). *Ann. Soc. Entomol.* 27: 645-647.
- Mukherjee, S.K., 1982.** Agrochemicals in India. In: *Agrochemicals: Fate in Food and Environment*. Symposium proceedings. Rome 7-11 June 1982, IAEA, Vienna, pp. 3-21.
- Nascimento, E.C., J.C. Zanuncio, E. Menin & P.S.F. Ferreira. 1996.** Aspectos biológicos, morfológicos e comportamentais de adultos de *Podisus sculptus* Distant (Heteroptera, Pentatomidae). *Rev. Bras. Zool.* 13: 151-157.
- Naranjo, S.E. & J.L. Stimac. 1985.** Development, survival, and reproduction of *Geocoris punctipes* (Hemiptera, Lygaeidae): effects of plant feeding on soybean and associated weeds. *Environ. Entomol.* 14: 523-530.
- Oliveira, J.E.M., J.B. Torres, A.F. Carrano-Moreira & J.C. Zanuncio. 2001.** Efeito da densidade de presas e do acasalamento na taxa de predação de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em condições de laboratório e campo. *Neotrop. Entomol.* 30: 647-654.
- Oliveira, J.E.M., J.B. Torres, A.F. Carrano-Moreira, F.S. Ramalho. 2002.** Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* em campo. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 37:7-14.
- Pashley, D.P. 1986.** Host associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a sibling species complex? *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79:898-904.
- Pereira, A.I.A, F.S. Ramalho & J.C. Zanuncio. 2005** Susceptibility of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidea) to gamma-cyhalothrin under laboratory conditions. *Sci. Agric.* 62: 478-482.
- Pereira, A.I.A., R.B. Silva, W.S. Tavares, J.B. Malaquias & J.C. Zanuncio. 2017.** Lightweight males of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) neglect lightweight females due low reproductive fitness. *Braz. J. Biol.* 77: 267-276.
- Picanço, M., L.J. Ribeiro, G.L.D. Leite & J.C. Zanuncio. 1997.** Seletividade de inseticidas a *Podisus nigrispinus* predador de *Ascia monuste orseis*. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 32: 369-372.

- Pires, E. M., R. Pinto, M.A. Soares, G.P. Santos, T.V. Zanuncio & J.C. Zanuncio. 2009.** Produção de percevejos predadores. Visconde do Rio Branco, MG, Brazil: Gráfica Suprema Editora.
- Pratissoli, D., R.T., Thuler, F.F. Pereira, E.F. Reis & A.T. Ferreira. 2004.** Ação transovariana de lufenurom (50 g/L) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. Agrotec. 28: 9-14.
- Quirino, E.S. & J.J. Soares. 2001.** Efeito do ataque de *Alabama argillacea* no crescimento vegetativo e sua relação com a fenologia do algodoeiro. Pesqui. Agropecu. Bras. 36: 1005-1010.
- Ramalho, F.S. 1994.** Cotton pest management: part 4. A. Brazilian perspective. Annu. Rev. Entomol. 39: 563-578.
- Ramalho, F.S., F.S. Fernandes, A.R.B. Nascimento, J.L. Nascimento Júnior, J.B. Malaquias & C.A.D. Silva. 2012.** Feeding damage from cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Heteroptera: Aphididae), in cotton with colored fiber intercropped with fennel. Ann. Entomol. Soc. Am. 105: 20-27.
- Ramalho, F.S., J.K.S. Pachu, A.C.S. Lira, J.B. Malaquias, J.C. Zanuncio & F.S. Fernandes. 2014.** Feeding and dispersal behavior of the cotton leafworm, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on Bt and non-Bt cotton: implications for evolution and resistance management. Plos One. 9: e111588.
- Ramalho, F.S., M.A.S. Silva, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2007.** Competition between *Catolaccus grandis* (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Bracon vulgaris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoids of the boll weevil. Braz. Arch. Biol. Techn. 50: 371-378.
- Ripper, W.E., R.M. Greenslade & G.S. Hartley. 1951.** Selective insecticides and biological control. J. Econ. Entomol. 44: 448-459.
- Rodrigues, A.R.S., J.E. Serrão, V.W. Teixeira, J.B. Torres & A.A. Teixeira. 2008.** Spermatogenesis, changes in reproductive structures, and time constraint associated with insemination in *Podisus nigrispinus*. J. Insect. Physiol. 54: 1543-1551.
- Santos, R.L. & J.B. Torres. 2010.** Produção da proteína Cry1Ac em algodão transgênico e controle de lagartas. Rev. Bras. Ciênc. Agrár. 5:509-517.
- Santos, R.L., J.B. Torres & C.B. Bastos 2008.** Desenvolvimento e crescimento populacional de *Alabama argillacea* em algodoeiro de fibra branca e colorida. Pesqui. Agropecu. Bras. 43: 457-463.
- Santos, T.M. & A.L. Boica Jr. 2002.** Biological aspects and predatory capacity of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) fed on *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on cotton genotypes. Sci. Agric. 59: 671-675.

- Santos, T.M., E.N. Silva, & F.S. Ramalho. 1995.** Desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com curuquerê-do-algodoeiro. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 30: 163-167.
- Santos, T.M., E.N. Silva & F. S. Ramalho. 1996.** Consumo alimentar e desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas) sobre *Alabama argillacea* (Huebner) em condições de laboratório. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 31: 699-707.
- Santos, W.J. 1999.** Monitoramento e controle das pragas do algodoeiro, p. 133-174. In: Cia, E., E.C. Freire & W.J. Santos (eds.), *Cultura do Algodoeiro*. POTAFOS, Piracicaba, 286p.
- Santos, W.J. 2001.** Identificação, biologia, amostragem e controle das pragas do algodoeiro, p.181-226. In: EMBRAPA Agropecuária Oeste & EMBRAPA Algodão. *Algodão: Tecnologia de produção*. Dourados, EMBRAPA Agropecuária Oeste, 296p.
- Scarpellini, J.R. 2001.** Effect of emamectin benzoate on several larval stages of cotton leafworm *Alabama argillacea* Hüb. (Lepidoptera: Noctuidae). *Arq. Inst. Biol.* 68: 57-61.
- Schmid-Hempel, P. & D. Ebert. 2003.** On the evolutionary ecology of specific immune defence. *Trends. Ecol. Evol.* 18: 27-32.
- Silva, C.A. 2012.** Supressão do bicudo em algodoeiro. *Cultivar* 154: 8-9.
- Silva, C.A.D., T.V. Zanuncio, B.G. Cunha, A.A. Castro, G.C. Canevari, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2009.** Development and survival of nymphs of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with caterpillars of *Chlosyne lacinia saundersii* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52:105-109.
- Silva, C.T.S., V. Wanderley-Teixeira, F.M. Cunha, J.V. Oliveira, K.A. Dutra, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) treated with citronela oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochem.* 118: 347-352.
- Silva, R.A., P.E. Degrande, C.E.C. Gomes, E.P. Souza & M.F Leal. 2018.** Phytophagous insects in cotton crop residues during the fallow period in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 53: 875-884.
- Silva, T.B.M., H.A.A. Siqueira, A.C. Oliveira, J.B. Torres, J.V. Oliveira, P.A.V. Montarroyos & M.J.D.C. Farias. 2011.** Insecticide resistance in Brazilian populations of the cotton leaf worm, *Alabama argillacea*. *Crop Prot.* 30: 1156-1161.
- Smaghe, G. & D. Degheele. 1995.** Biological activity and receptor-binding of ecdysteroids and the ecdysteroid agonists RH-5849 and RH-5992 in imaginal wing discs of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Eur. J. Entomol.* 92: 333-340.

- Soares, M.A., J.D. Batista, J.C. Zanuncio, J. Lino-Neto & J.E. Serrão. 2011.** Ovary development, egg production and oviposition for mated and virgin females of the predator *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Acta Sci. Agron.* 33: 597-602.
- Stehr, F.W. 1982.** Parasitoids and predators in pest management, p.135-173. In: Metcalf, R.M. & W.L. Luckmann (eds.). *Introduction to insect pest management*. New York: J. Wiley, 672p.
- Storch, G., A.E. Loeck, R.S. Borba, D.A. Magano, C.L. Moraes & A.D. Grützmacher. 2007.** Efeito de inseticidas aplicados em doses subletais sobre a dieta artificial e em lagartas de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Bras. Agrocienc.* 13: 175-179.
- Tay, W.T., M.F. Soria, T. Walsh, D. Thomazoni, P. Silvie & G.T. Behere. 2013.** A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *PLoS One* 8: e80134.
- Teixeira, A.D., M.C.Q. Fialho, J.C. Zanuncio, F.S. Ramalho & J.E. Serrão. 2013.** Degeneration and cell regeneration in the midgut of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) during post-embryonic development. *Arthropod. Struct. Dev.* 42: 237-246.
- Terra, W.R. 1990.** Evolution of digestive systems of insects. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 181-200.
- Terra, W.R. & C. Ferreira. 2012.** Biochemistry and molecular biology of digestion. *Insect Molecular Biology and Biochemistry*, Academic Press, p. 365-418.
- Tillman, P.G. & J.E. Mulrooney. 2000.** Effect of selected insecticides on the natural enemies *Coleomegilla maculata* and *Hippodamia convergens* (Coleoptera: Coccinellidae), *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), and *Bracon mellitor*, *Cardiochiles nigriceps*, and *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in cotton. *J. Econ. Entomol.* 93: 1638-1643.
- Torres, J.B. & J.C. Zanuncio. 2001.** Effects of sequential mating by males on reproductive output of the stinkbug predator, *Podisus nigrispinus*. *BioControl* 46: 469-480.
- Torres, J.B., J.C. Zanuncio & D. Pratissoli. 2001.** Egg mortality factors of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) in *Eucalyptus cloeziana* plantations. *Naturalia* 26: 245-56.
- Vass, E. & A.J. Nappi. 2001.** Cytotoxic reactions associated with insect immunity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 484: 329-348.
- Vilmos, P. & E. Kurucz, 1998.** Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system. *Immunol. Lett.* 62: 59-66.
- Vivan, L.M., J.B. Torres & A.F.S.L. Veiga 2003.** Development and reproduction of a predatory stink bug, *Podisus nigrispinus* in relation to two different prey types and environmental conditions. *BioControl* 48: 155-168.

- Vivan, L.M., J.B. Torres, R. Barros & A.F.S.L. Veiga. 2002.** Tasa de crecimiento poblacional del chinche depredador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) y de la presa *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en invernadero. *Rev. Biol. Trop.* 50: 145-153.
- Young, K.E., W.A. Robbins, L. Xun, D. Elashoff, S.A. Rothmann & S.D. Perreault. 2003.** Evaluation of chromosome breakage and dna integrity in sperm: an investigation of remote semen collection conditions. *J. Androl.* 24: 853-861.
- Williams, C.M. 1967.** Third generation pesticides. *Scient. Am.* 217: 13-17.
- Wu, K.M., Y.H. Lu, H.Q. Feng, Y.Y. Jiang & J.Z. Zhao. 2008.** Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton. *Science* 321: 1676-1678.
- Zanuncio, J.C., C.A.D. Silva, E.R. Lima, F.F. Pereira, F.S. Ramalho & J.E. Serrão. 2008.** Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51: 121-125.
- Zanuncio, J.C., J.B. Alves, T.V. Zanuncio & J.F. Garcia. 1994.** Hemipterous predators of eucalypt defoliator caterpillars. *For. Ecol. Manage.* 65: 65-73.
- Zanuncio, J.C., T.V. Zanuncio, F.A. Freitas & D. Pratissoli. 2003.** Population density of Lepidoptera in a plantation of *Eucalyptus urophylla* in the state of Minas Gerais, Brazil. *Anim. Biol.* 53: 17-26.

CAPÍTULO 2

IMPACTO DA ZOOFITOFAGIA NO CONTEÚDO BIOQUÍMICO DE *Podisus nigrispinus* (DALLAS) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) ALIMENTADO COM LAGARTAS DE *Alabama argillacea* (HÜBNER), E SUPLEMENTADO COM FOLHAS DE ALGODOEIRO¹

ALINE C. S. LIRA², VALÉRIA W. TEIXEIRA^{2,3}, KAMILA A. DUTRA², FRANKLIN M. CUNHA⁴,
LINDOMAR M. SOUZA⁵ E ÁLVARO A. C. TEIXEIRA³.

²Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil,

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil

⁴Faculdade Frassinetti do Recife, Av. Conde da Boa Vista, 921, Boa Vista, 50060-002, Recife, PE, Brazil

⁵Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil

¹Lira, A.C.S., V.W. Teixeira, K.A. Dutra, F.M. Cunha, L.M. Souza & A.A.C. Teixeira. Impacto da zoofitofagia no conteúdo bioquímico de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com lagartas de *Alabama argillacea* (Hübner), suplementado com folhas de algodão. (Submetido a revista Phytoparasitica).

RESUMO – A zoofitofagia é considerada um importante fator para o sucesso na colonização e estabelecimento de *Podisus nigrispinus* nos agroecossistemas. Apesar dos benefícios já conhecidos da suplementação em plantas sobre a biologia de *P. nigrispinus*, pouco se sabe sobre o impacto da zoofitofagia na nutrição desse predador. Este estudo avaliou a influência da zoofitofagia sobre o conteúdo bioquímico e o peso de *P. nigrispinus* alimentado com lagartas de *Alabama argillacea* (Hübner) suplementado com folhas de algodão quando comparados àqueles alimentados apenas com *A. argillacea* e *Tenebrio molitor* L. Para isso, ninfas *P. nigrispinus* foram alimentadas apenas com a presa, ou com presa e folhas de algodão, sendo avaliados o peso e quantificados os nutrientes em ninfas de quinto ínstar de 48 horas de idade. O conteúdo bioquímico e o peso das presas, *T. molitor* e *A. argillacea* e os teores de proteína e carboidratos de folhas de algodão, também, foram avaliados. Ninfas alimentadas apenas com presas mostraram teores de proteína e carboidratos similares. Larvas de *T. molitor* apresentaram alto teor de lipídio, promovendo elevação do lipídio em ninfas alimentadas nessa presa. Ninfas alimentadas com *A. argillacea* e suplementadas em folhas de algodão apresentaram maior teor de proteína, açúcar e glicogênio e maior peso quando comparadas àquelas alimentadas apenas com presas. Folhas de algodão apresentaram teores de proteína de 7,11 mg e carboidratos de 13,71 mg. Com isso, pode-se concluir que a ingestão de material vegetal afeta o conteúdo bioquímico de *P. nigrispinus*, o que favorece a sobrevivência do predador em períodos de escassez de presas.

PALAVRAS-CHAVE: Zoofitofagia, conteúdo bioquímico, bioquímica, *Tenebrio molitor*

IMPACT OF ZOOPHYTOPHAGY ON CHEMICAL CONTENT OF *Podisus nigrispinus*
(DALLAS) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) FED ON LEPIDOPTERAN LARVAE AND
COTTON LEAVES

ABSTRACT – Zoophytophagy is an important factor to colonization and establishment success of *Podisus nigrispinus* in crop ecosystems. However, despite the known benefits of plant supplementation for the biological aspects of *P. nigrispinus*, knowledge about the impact of zoophytophagy on the nutritional components of this predator is scarce. This study evaluated the effects of zoophytophagy on biochemical content of the predator *P. nigrispinus* fed on *Alabama argillacea* (Hübner) larvae, supplemented with cotton leaves when compared to those fed only on either *A. argillacea* or *Tenebrio molitor* L. To this end, nymphs of *P. nigrispinus* were fed only on prey, or on *A. argillacea* and cotton leaves combined and the weight and nutritional components were evaluated in 48-h-old fifth-instar nymphs. The weight and biochemical content in prey were also evaluated and the protein and total sugar contents in cotton leaves were quantified. Nymphs fed only on prey showed similar levels to protein and carbohydrates. Larvae of *T. molitor* had higher lipid content, probably promoting higher lipid content in nymphs fed on this prey. Nymphs fed on *A. argillacea* larvae plus cotton leaves had a higher total protein, total sugar and glycogen contents and higher weight than those fed only on prey. Cotton leaves had total protein content was 7.11 mg and total sugar content was 13.71 mg. With this, it can be concluded that the ingestion of plant material affects the biochemical content of *P. nigrispinus*, it that can allow the survival of the predator in periods of prey scarcity.

KEYWORDS: Zoophytophagy, biochemical content, biochemistry, *Tenebrio molitor*

Introdução

O predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) é uma das espécies da subfamília Asopinae mais estudadas na região Neotropical (De Clercq 2000, Freitas *et al.* 2006). É um percevejo predador de hábito generalista, mas preda preferencialmente Lepidoptera (Oliveira *et al.* 2004b, Espindula *et al.* 2010, De Bortoli *et al.* 2016). O potencial de *P. nigrispinus* como regulador populacional de pragas tem sido relatado em diferentes culturas na América do Sul (Zanuncio *et al.* 1994, De Clercq *et al.* 1998, Moreira *et al.* 1998, Oliveira *et al.* 2002b, Vivan *et al.* 2002).

O agroecossistema algodoeiro tem sido considerado um habitat comum para o estabelecimento de percevejos predadores do gênero *Podisus* (Gravena & Cunha 1991). No Brasil, os estudos realizados apontam *P. nigrispinus* como potencial agente de controle biológico do curuquerê do algodoeiro, *Alabama argillacea* (Hübner) (Lemos *et al.* 2001, Zanuncio *et al.* 2002, Medeiros *et al.* 2004, Pereira *et al.* 2010).

Contudo, *P. nigrispinus* é considerado uma espécie zoofitófaga (Zanuncio *et al.* 2002, Holtz *et al.* 2009). Desta forma, pode se alimentar de material vegetal das plantas hospedeiras de suas presas e obter água e nutrientes das plantas como complemento da dieta (Coll & Guershon 2002). Apesar de estudos recentes mostrarem que alguns predadores zoofitófagos causam prejuízos a cultura ao realizar fitofagia (Aubry *et al.* 2015, 2017, Castane *et al.* 2011, Grigolli *et al.* 2017), é sabido que os predadores da família Pentatomidae, são fitófagos facultativos (Bell *et al.* 2003, Oliveira *et al.* 2006) e podem se alimentar de plantas hospedeiras de suas presas sem danificá-las (Azevedo *et al.* 2007, Torres *et al.* 2010). Alguns autores (Lemos *et al.* 2001, Evangelista Júnior *et al.* 2004) apontam que somente a alimentação em material vegetal não seja suficiente para o desenvolvimento de *P. nigrispinus*. Entretanto, estudos tem demonstrado o impacto positivo sobre o desenvolvimento, longevidade e taxas de reprodução de predadores Hemiptera quando

submetidos a regimes de dietas com origem animal e vegetal simultaneamente (Naranjo & Stimac 1985, Ruberson *et al.* 1986, Evangelista *et al.* 2004, Holtz *et al.* 2011, Grigolli *et al.* 2017). Logo, a composição vegetal do agroecossistema deve ser considerada um importante fator para o sucesso na colonização e estabelecimento de *P. nigrispinus* (Evangelista Júnior *et al.* 2004).

Fêmeas de outro percevejo, *Brotoncoris tabidus* (Signoret) (Hemiptera: Pentatomidae), mostram maior capacidade de armazenar nutrientes nas células do corpo gorduroso quando alimentadas com *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) e suplementados com plantas de *Eucalyprus urophylla* Blake (Lemos *et al.* 2009). A adição de folhas de algodão a dieta de ninfas de *P. nigrispinus*, promove aumento da sobrevivência, do peso dos adultos e das taxas reprodutivas (Lemos *et al.* 2001, Pereira *et al.* 2017). Em estudos de preferência hospedeira, o predador onívoro *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae), preferiu plantas onde a fitofagia forneceu um benefício ao desempenho (Ingegno *et al.* 2011). Contudo, estudos sobre a influência da fitofagia sobre os parâmetros nutricionais em predadores zoofitófagos são escassos. Diante disso, este estudo avaliou o conteúdo bioquímico (proteína, lipídio, açúcares totais e glicogênio) de *P. nigrispinus*, bem como de presas (*T. molitor* e *A. argillacea*) e folhas de algodão (proteína e açúcares totais), a fim de fornecer informações de suporte sobre este pentatomídeo zoofitófago.

Material e Métodos

Plantas e Criação de Insetos. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Histofisiologia de Insetos do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. Os predadores, *P. nigrispinus*, bem como as presas, *A. argillacea* e *T. molitor*, utilizados nos experimentos foram obtidos na Unidade de Controle Biológico do Laboratório de Entomologia da Embrapa Algodão, Campina Grande/PB e criados no

laboratório de Histofisiologia de Insetos à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa (U.R.) de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. *P. nigrispinus* foi criado seguindo a metodologia adaptada de Zanuncio *et al.* (2001) e Oliveira *et al.* (2004a). Ovos de *P. nigrispinus* foram colocados em recipientes cilíndricos de plástico transparente de 500 mL com um chumaço de algodão umedecido para facilitar a eclosão das ninfas. Ninfas de *P. nigrispinus* recém-eclodidas foram separadas em grupos de 60 por recipiente onde este predador recebeu larvas de *T. molitor* e água em um chumaço de algodão úmido. Ninfas de quarto ínstar de *P. nigrispinus* foram separadas em grupos de 20 insetos por recipiente até a fase adulta. Os adultos obtidos foram alimentados, semelhantes às ninfas. Machos e fêmeas com dois dias de idade foram pareados e colocados em recipientes cilíndricos de plástico transparente de 500 mL. Novas larvas de *T. molitor* foram fornecidas a cada três dias, assim como um chumaço de algodão úmido.

A presa, *A. argillacea*, foi criada seguindo a metodologia de Medeiros *et al.* (2003). Adultos recém emergidos foram criados em gaiola de PVC (altura 21,5 cm, diâmetro 15 cm) forrada com papel sulfite como substrato para oviposição. Quinze casais de *A. argillacea* foram mantidos por gaiola de PVC. O topo da gaiola foi coberto com tecido de tipo “voil” e a base fixada em um prato de plástico forrado com papel toalha. Esponjas (2 cm de espessura, 5 cm de diâmetro) foram colocadas nas gaiolas, embebidas com uma solução de mel a 10%, para alimentar os adultos. Durante a oviposição, o papel contendo ovos foi transferido diariamente para gaiolas semelhantes às utilizadas para os adultos. As larvas de *A. argillacea* foram mantidas em gaiolas similares às utilizadas para adultos e alimentadas com folhas de algodão (variedade BRS Safira), coletadas em casa de vegetação e lavadas em água corrente e em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 2 min e seguidas de quatro lavagens na água da torneira. As pupas de *A. argillacea* foram sexadas e mantidas em recipientes cilíndricos plastificados de 500 mL até a fase adulta. *T. molitor* foi mantido no laboratório, alimentado com farelo de trigo (Zamperlini *et al.* 1992) e colmos de cana

de açúcar (*Saccharum* spp. L.), para complementar a alimentação e suprir líquidos (Fraenkel *et al.* 1950).

Bioensaios de Plantas de Algodoeiro. Para a realização do bioensaio, 10 amostras de matéria fresca (MF) de folhas expandidas do terço superior de plantas de algodoeiro da variedade Safira, foram coletadas de plantas com 40 dias após o plantio. As folhas foram colocadas numa solução de hipoclorito de sódio à 0,2% por 2 minutos e depois lavadas em água corrente para retirada de impurezas. Em seguida as folhas ficaram expostas a temperatura ambiente até evaporar o excesso de água. Para o preparo do extrato vegetal foram pesados 0,2 g de folhas e em seguida macerados em 25 mL de etanol a 80% (Bezerra Neto & Barreto 2011). Após a maceração e homogeneização, o macerado foi filtrado em tela de nylon, vertido para um balão volumétrico de 25 mL e em seguida armazenado em refrigerador a -20°C até a realização das análises.

Quantificação de Proteínas. A determinação da proteína solúvel total foi realizada usando o método de Bradford (Bradford 1976). Dez amostras por tratamento foram usadas. As amostras foram centrifugadas durante 3 min a 3000 rpm. Após centrifugação, foram retirados 100 µL de cada amostra e o reagente de Bradford (0,01% de azul de coomassie G-250, 8,5% de ácido fosfórico e 4,7% de etanol) foi adicionado ao volume de 2 mL (2000 µL). As amostras foram agitadas em um vortex e depois deixadas em repouso por 5 minutos (tempo para interagir com o reagente). A absorvância foi lida para cada amostra num espectrofotômetro num comprimento de onda de 595nm e expressa em miligrama por grama de massa fresca (mg/g de MF).

Quantificação de Carboidratos. A determinação dos carboidratos solúveis totais foi realizada pelo método de Yemm & Willis (1954), usando o método do ácido antrônico-sulfúrico. Dez amostras por tratamento foram usadas. As amostras foram centrifugadas durante 3 min a 3000 rpm. Após centrifugação, foram retirados 200 µL de cada amostra e o reagente antrona-ácido sulfúrico foi adicionado ao volume de 2 mL (2000 µL). As amostras foram agitadas em um vortex

e aquecidas em banho-maria por 10 minutos. A absorvância foi lida para cada amostra em um espectrofotômetro a 620nm e expressa em miligrama por grama de massa fresca (mg/g de MF).

Bioensaios de Insetos. Para realização dos bioensaios, ninfas de primeiro ínstar de *P. nigrispinus* foram transferidas para recipientes plásticos de 500 mL e alimentadas diariamente até o quinto ínstar com diferentes dietas, constituindo os seguintes tratamentos: T1: larvas de 40 dias de *T. molitor* (1 larva/dia), presa alternativa considerada a mais adequada para criação massal de *P. nigrispinus* (Torres *et al.* 2016); T2: lagartas de terceiro ínstar de *A. argillacea* (2 lagartas/dia), presa natural; e T3: lagartas de terceiro ínstar de *A. argillacea* (2 lagartas/dia) e folhas de algodoeiro (zoofitofagia). Foi utilizada a cultivar de algodão BRS Safira. Para cada tratamento foram utilizadas 100 ninfas, sendo cinco recipientes com 20 ninfas cada. As ninfas ficaram em jejum por um período de 6 horas antes da preparação das amostras.

Quantificação de Proteínas. Para a quantificação total de proteína solúvel, o método de Bradford (1976) foi usado com 10 amostras por tratamento. Os insetos foram imobilizados a uma temperatura de 4°C e macerados em tampão fosfato de sódio (pH 7,4, 0,1 M) na proporção de uma larva/mL de tampão para *T. molitor*, três larvas/mL de tampão para *A. argillacea* e uma ninfa/mL de tampão para *P. nigrispinus* dos diferentes grupos de dieta. Cada tratamento consistiu de 10 amostras, totalizando 10 larvas de *T. molitor*, 30 larvas de *A. argillacea* e 10 ninfas de *P. nigrispinus* por tratamento (dieta). A mistura (insetos + tampão) foi armazenada em um microtúbulo devidamente etiquetado e mantida a -20 °C até o uso. O procedimento foi realizado em gelo para evitar a oxidação da amostra. As amostras foram centrifugadas durante 3 min a 3000 rpm. Após centrifugação, foram retirados 100 µL de cada amostra e o reagente de Bradford (0,01% de azul de coomassie G-250, 8,5% de ácido fosfórico e 4,7% de etanol) foi adicionado ao volume de 5 mL (5000 µL). As amostras foram agitadas em um vortex e depois deixadas em repouso por 2 min (tempo para interagir com o reagente). A absorvância foi lida para cada

amostra num espectrofotômetro num comprimento de onda de 595nm e expressa em microgramas por mililitro (mg/mL).

Quantificação de Lipídio e Carboidratos. A determinação do lipídio, açúcar total e glicogênio foi realizada pelo método de Van Handel (1985a, b). Os insetos foram imobilizados a uma temperatura de 4°C e macerados em tampão fosfato de sódio (pH 7,4, 0,1 M) na proporção de 1 larva/mL de tampão para *T. molitor*, 3 larvas/mL de tampão para *A. argillacea* e 5 ninfas/mL de tampão para *P. nigrispinus* dos diferentes grupos de dieta. Cada tratamento consistiu de 10 amostras, totalizando 10 larvas de *T. molitor*, 30 larvas de *A. argillacea* e 50 ninfas de *P. nigrispinus* por tratamento (dieta). A mistura (insetos + tampão) foi armazenada em um microtúbulo devidamente etiquetado e mantida a -20 °C até o uso. O procedimento foi realizado a baixa temperatura para evitar a oxidação da amostra. As amostras foram centrifugadas durante 3 min a 3000 rpm. Após centrifugação, foram retirados 200 µL da amostra. Então, adicionou-se 200 µL da mistura a 200 µL de sulfato de sódio e 800 µL de metanol + clorofórmio (1: 1) e centrifugou-se a 3000 rpm durante 3 min. O precipitado (pelet) foi utilizado para análise de glicogênio e o sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio para separar lipídios e açúcares. Para isso, 600µL de água destilada foram adicionados ao sobrenadante. Em seguida, o material foi centrifugado a 3000 rpm durante 3 min. Os lipídios foram analisados em espectrofotômetro, utilizando o reagente vanilina-ácido fosfórico, enquanto que para o açúcar total e o glicogênio foi utilizado o reagente antrona-ácido sulfúrico. A absorvância foi lida a 625 nm de comprimento de onda e expressa em microgramas por mililitro (mg/mL).

Medições de Peso. Visando converter os teores de macronutrientes acima do micrograma por mililitro de solução reagente em miligramas por grama de inseto (mg/g de inseto), ninfas de quinto ínstar com 48 h de idade dos diferentes grupos de dieta, larvas de 40 dias de idade de *T. molitor* e larvas de terceiro ínstar de *A. argillacea* foram pesadas em balança analítica digital de

alta precisão (Mark M214A - BEL Engineering) (0,0001G). A conversão foi realizada utilizando a seguinte equação:

$$FD = (FD1 \times \text{teor do nutriente})/1000$$

Onde:

FD = Fator de diluição. Expressa o teor de nutriente em mg/g de inseto

FD1 = (peso do tampão (g) + peso do inseto (g))/ peso do inseto (g)

Teor do nutriente = teor do nutriente (mg/mL).

Análises Estatísticas. Para a quantificação de teores de proteínas solúveis totais e carboidratos solúveis totais de folhas de algodoeiro, a média e o erro padrão de cada tratamento foram calculados. Os dados de quantificação de proteína solúveis totais, lipídio, carboidratos totais e glicogênio, assim como o peso de ninfas de *P. nigrispinus* e presas foram submetidos a testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett). Os dados de quantificação de lipídio, carboidratos totais e glicogênio de ninfas de *P. nigrispinus* e presas, assim como peso de presas foram transformados em raiz quadrada (x+1), para o ajuste de suposições da análise de variância. Além disso, as variáveis proteína solúveis totais, lipídio, carboidratos totais, glicogênio e o peso de ninfas de *P. nigrispinus* foram submetidas à análise de variância (Proc ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey HSD (ou seja, $df > 1$); enquanto as variáveis proteína solúveis totais, lipídio, carboidratos totais, glicogênio e o peso de presas (ou seja, $df = 1$) foram comparadas pelo teste t (Proc ttest). Nos resultados do teste t para aquelas variáveis que exigiram transformação (isto é, lipídio, carboidratos totais, glicogênio e o peso de ninfas de presas) foi adotado o método Satterthwaite para o grau de liberdade devido à homogeneidade desigual da

variância. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico SAS (SAS Institute 2002) e definidas ao nível de significância de 0,05.

Resultados

Quantificação de Proteínas. O teor de proteína solúvel total observado nas folhas de algodão foi de $7,1 \pm 0,57$ mg/g de MF. O teor de proteína solúvel total diferiu entre as presas ($F_{1, 18} = 5,38$; $P < 0,0001$), sendo que as larvas de *T. molitor* apresentaram maior teor de proteínas solúveis totais quando comparadas as lagartas de *A. argillacea* (Fig. 1A). A zoofitofagia afetou a quantidade de proteínas totais solúveis no predador *P. nigrispinus* ($F_{2, 27} = 4,33$; $P = 0,0234$) com relação àquelas alimentadas apenas com *T. molitor* (Fig. 1B). As ninfas de quinto ínstar alimentadas com lagartas de *A. argillacea* e suplementadas com folhas de algodoeiro apresentaram aumento na quantidade de proteínas totais solúveis quando comparadas aquelas alimentadas com larvas de *T. molitor*. Contudo, não foi observada diferença entre os teores de proteínas solúveis totais observados em ninfas suplementadas com folhas de algodoeiro e de ninfas alimentadas apenas com lagartas de *A. argillacea*.

Quantificação de Lipídio e Carboidratos. As presas mostraram diferentes teores de lipídio ($F_{1, 10,3} = 2,97$; $P < 0,0136$), entre si. A quantidade de lipídio foi maior em larvas de *T. molitor*, quando comparadas a lagartas de *A. argillacea* (Fig. 2A). A quantidade de lipídio observada em ninfas de quinto ínstar de *P. nigrispinus*, diferiu entre as dietas ($F_{2, 27} = 144,18$; $P < 0,0001$) (Fig. 2B). As ninfas de quinto ínstar alimentadas com *T. molitor* apresentaram maior quantidade de lipídios, seguidas das ninfas alimentadas apenas com *A. argillacea*. As ninfas alimentadas com *A. argillacea* e folhas de algodoeiro mostraram menor quantidade de lipídio quando comparadas as demais dietas. O teor de carboidratos solúveis totais observado nas folhas de algodão foi de $13,7 \pm 1,10$ mg/g de MF. O nível de açúcar total diferiu entre as presas ($F_{1, 11,7} = 5,51$; $P = 0,0001$),

sendo maior em larvas de *T. molitor* quando comparado a lagartas de *A. argillacea* (Fig. 3A). A zoofitofagia afetou a quantidade de açúcar total ($F_{2, 27} = 8,67$; $P = 0,0012$) (Fig. 3B). Houve um aumento da quantidade de açúcar total em ninfas alimentadas com lagartas de *A. argillacea* e folhas de algodoeiro, quando comparadas as ninfas alimentadas apenas com presas. O teor de glicogênio diferiu entre as presas ($F_{1, 11,6} = 6,42$; $P < 0,0001$), sendo maiores em lagartas de *A. argillacea* quando comparadas a larvas de *T. molitor* (Fig. 4A). A zoofitofagia, por sua vez, promoveu maiores teores de glicogênio no predador *P. nigrispinus* em ninfas alimentadas com lagartas de *A. argillacea* e folhas de algodoeiro, quando comparadas as ninfas alimentadas apenas com presas ($F_{2, 27} = 15,26$; $P < 0,0001$) (Fig 4B).

Medições de Peso. O peso das presas diferiu ($F_{1, 18} = -41,96$; $P < 0,0001$) (Fig 5A). O peso de ninfas foi afetado pela dieta ($F_{2, 87} = 27,45$; $P < 0,0001$) (Fig. 5B). O maior peso foi verificado em ninfas alimentadas com lagartas de *A. argillacea* e folhas de algodoeiro, seguidas das ninfas alimentadas apenas com *A. argillacea*. As ninfas alimentadas com *T. molitor* mostraram menor peso quando comparadas as demais dietas.

Discussão

O padrão nutricional observado em ninfas de *P. nigrispinus* foi afetado pelos nutrientes fornecidos pelas presas e folhas de algodoeiro. Ninfas alimentadas apenas com presas mostraram teores de proteína e carboidratos similares. Entretanto, a análise quantitativa dos nutrientes das presas revelou teores maiores de proteínas, lipídio e açúcar em *T. molitor* e maiores teores de glicogênio, em *A. argillacea*. Um fator a ser considerado, para justificar os teores de proteínas verificados em ninfas alimentadas apenas em presas, é a quantidade de presas ingeridas diariamente pelo predador, visto que o consumo de duas lagartas de *A. argillacea* (Oliveira *et al.* (2002b) aumenta, conseqüentemente, a quantidade de nutrientes fornecidos ao predador. Outro

fator a ser considerado é que, apesar da larva de *T. molitor* apresentar maior peso, essa presa apresenta um tegumento mais rígido que a lagarta de *A. argillacea*, o que implica uma barreira física para ninfas de *P. nigrispinus* e pode exigir do predador um gasto energético maior durante a predação e consumo da presa. De acordo com Grimmond *et al.* (1994), quanto maior a rigidez do tegumento da presa, maior o gasto energético do predador para o manuseio desta e, portanto, menor ganho de energia líquida pelo predador. Desse modo, apesar do teor de proteína por miligrama de inseto ser maior em larvas de *T. molitor* quando comparadas a larvas de *A. argillacea*, o custo energético de predação e a quantidade de presas consumidas influenciam os teores de proteína fornecidos e absorvidos por ninfas de *P. nigrispinus*, resultando em conteúdos similares para ninfas alimentadas apenas em presas. As folhas de algodão, por sua vez, fornecem teores de proteína e açúcar e afetam o conteúdo bioquímico (proteína, açúcares totais e glicogênio) em *P. nigrispinus*.

Estudos realizados por Lemos *et al.* (2001) e Evangelista Junior *et al.* (2004) apontam que somente a dieta com água ou planta não é suficiente para completar o desenvolvimento e a sobrevivência de *Podisus*. Contudo, os benefícios da suplementação com plantas para o estabelecimento, desenvolvimento e sucesso reprodutivo de *Podisus* em cultivos que favoreçam a fitofagia são amplamente conhecidos (Zanuncio *et al.* 1993, Lemos *et al.* 2001, 2009, Oliveira *et al.* 2002a, Evangelista Junior *et al.* 2004, Pereira *et al.* 2010). Ainda, segundo Lemos *et al.* (2001), o primeiro e o quinto ínstar são os mais afetados pela fitofagia em *P. nigrispinus*, justificando a escolha de ninfas de quinto ínstar para análise nutricional na presente pesquisa.

Maior quantidade de proteína armazenada no corpo gorduroso de fêmeas adultas do predador *B. tabidus* alimentadas com *T. molitor* e *E. urophylla*, simultaneamente, que naquelas alimentadas apenas com *T. molitor* (Lemos *et al.* 2009), corroborando resultados verificados no presente estudo. Uma vez que o sucesso reprodutivo está diretamente relacionado aos nutrientes

adquiridos na fase imatura em várias espécies de insetos (Milano *et al.* 2010), podemos inferir que o aumento no teor proteico em ninfas de *P. nigrispinus* que realizaram fitofagia pode está relacionado aos benefícios da reprodução observados em estudos anteriores (Lemos *et al.* 2001, Pereira *et al.* 2017).

É possível que a quantidade de carboidratos fornecida pela planta durante a fitofagia seja um dos fatores relevantes à capacidade de estabelecimento e colonização desse inimigo natural, em agroecossistemas com escassez de presas. Os açúcares são importantes fontes de reserva energética. Os dois carboidratos de reserva prevalente nos insetos são o glicogênio e a trealose. O glicogênio é o carboidrato complexo armazenado no corpo gorduroso (Steele 1982), que ao ser convertido em trealose, é liberada na hemolinfa (Van der Horst 2003). Quando a trealose do corpo gorduroso atinge uma certa concentração, sua síntese é inibida e UDP-glicose é usada para síntese de glicogênio (Friedman 1978). O glicogênio serve como fonte de energia durante o período larval pós-alimentação e na fase adulta (Arrese & Soulages 2010). A conversão trealose-glicogênio pode, por sua vez, justificar a equivalência de açúcar total e glicogênio para as ninfas alimentadas apenas em presa, visto que lagartas de *A. argillacea* forneceram mais glicogênio enquanto larvas de *T. molitor* forneceram maior teor de açúcar. Assim, podemos sugerir que o predador é capaz de converter o carboidrato excedente no carboidrato de menor teor, visando manter níveis balanceados desses nutrientes na circulação do predador.

O desenvolvimento e o sucesso reprodutivo, também, podem ser favorecidos pela quantidade de carboidratos fornecida pelo material vegetal durante a fitofagia. A maior capacidade de armazenar glicogênio pode estar relacionada ao maior peso de adultos, conforme verificado em estudos anteriores. De acordo com Lemos *et al.* (2001), a adição de folhas de algodão a dieta de ninfas de *P. nigrispinus*, alimentados com lagartas de *A. argillacea* promoveu um aumento no peso dos adultos recém-emergidos. Do mesmo modo, Pereira *et al.* (2017)

observaram que ninfas de *Podisus* alimentadas com pupas de *T. molitor* e suplementadas com folhas de algodão resultaram em adultos mais pesados que os alimentados apenas com *T. molitor* e foram preferidos por seus parceiros sexuais que não realizaram fitofagia.

O teor de lipídio, por sua vez, foi afetado apenas pelo tipo de presa. Larvas de *T. molitor* apresentaram uma quantidade maior dessa macromolécula quando comparadas as lagartas de *A. argilacea* e esse incremento impacta diretamente na bioquímica do predador alimentado nessa dieta. De acordo com Morales-Ramos *et al.* (2016), larvas de *T. molitor* alimentadas com farelo de trigo apresentaram uma proporção maior de lipídio que de proteínas solúveis e açúcares, corroborando os resultados observados nesse estudo. Por outro lado, a baixa quantidade de lipídio observada em ninfas suplementadas com folhas de algodoeiro, pode estar atrelada ao fato de a maior concentração de lipídios na cultura do algodoeiro estar presente nas sementes, as quais são direcionadas para a produção industrial de fibra e óleo (Godim-Tomaz *et al.* 2016), e também, decorrente do fato de que ninfas alimentadas em dietas com alta disponibilidade de carboidratos apresentam menor necessidade de reserva de lipídios, visto que o glicogênio, o principal açúcar em inseto mostra-se em teores elevados quando *P. nigripinus* realiza fitofagia.

Desse modo, podemos inferir que a suplementação com folhas de algodoeiro por ninfas de *P. nigripinus* (zoofitofagia), apesar de não contribuir de forma isolada para o desenvolvimento desse predador, promove um incremento nesta dieta, influenciando nos conteúdos químicos. Portanto, pode ser utilizada como fonte de energia, favorecendo a sobrevivência e o estabelecimento do predador na cultura.

Agradecimentos

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

agradecer, também, a Unidade de Controle Biológico (UCB) da Embrapa Algodão, Campina Grande/PB, pelo suporte para o desenvolvimento deste estudo.

Literatura Citada

- Arrese, E.L. & J.L. Soulages. 2010.** Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev. Entomol.* 55: 207–225.
- Aubry, O., D. Cormier, G. Chouinard & E. Lucas. 2017.** Influence of extraguild prey and intraguild predators on the phytophagy of the zoophytophagous bug *Campylomma verbasci*. *J. Pest Sci.* 90: 287-297.
- Aubry, O., D. Cormier, G. Chouinard & E. Lucas. 2015.** Influence of plant, animal and mixed resources on development of the zoophytophagous plant bug *Campylomma verbasci* (Hemiptera: Miridae). *Biocontrol Sci. Technol.* 25:1426-1442.
- Azevedo, D.D., J.C. Zanuncio, J.S. Zanuncio Júnior, G.F. Martins, S. Marques-Silva, M.F. Sossai & J.E. Serrão. 2007.** Biochemical and morphological aspects of salivary glands of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 50:469-477.
- Bell, H.A., R.E. Down, E.C. Fitches, J.P. Edwards & A.M.R. Gatehouse. 2003.** Impact of genetically modified potato expressing plant-derived insect resistance genes on the predatory bug *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Biocontrol Sci. Technol.* 13: 729-741.
- Bezerra Neto, E. & L.P. Barreto. 2011.** Methods for chemical analysis in plants. Imprensa Universitária da UFRPE, Recife, PE, Brasil. 267p.
- Bradford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of dye-binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Castane, C., J. Arno, R. Gabarra & O. Alomar. 2011.** Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biol. Control* 59:22-29
- Coll, M. & M. Guershon. 2002.** Omnivory in terrestrial arthrods: mixing plant and prey diet. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 267-297.
- De Bortoli, S.A., A.M. Vacari, V.L. Laurentis, C.P. Bortoli, R.F. Santos & A.K. Otuka. 2016.** Selection of prey to improve biological parameters of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) in laboratory conditions. *Braz. J. Biol.* 76: 307-314.
- De Clercq, P. 2000.** Predaceous stinkbugs (Pentatomidae: Asopinae), p. 737-789. In: Schaefer, C. W. & A.R. Panizzi (eds.), *Heteroptera of economic importance*. Cambridge University, Cambridge, 828p.

- De Clercq, P., F. Melevede, I. Mestdagh, K. Vandendurpel, J. Mohaghegh, & D. Degheele. 1998.** Predation on the tomato looper *Chrysodeixis chalcites* (Esper) (Lep., Noctuidae) by *Podisus maculiventris* (Say) and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Het., Pentatomidae). J. Appl. Entomol. 122: 93-98.
- Espindula, M.C., J.C. Zanuncio, G.S. Andrade, P.L. Pastori, H.N. Oliveira & G.C. Magevski. 2010.** Desenvolvimento e reprodução de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) alimentado com lagartas de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). Idesia. 28: 17-24.
- Evangelista Júnior, W. S., Gondim Junior, M. G. C., Torres, J. B., & Marques, E. J. 2004.** Phytophagy by *Podisus nigrispinus* on cotton plants and weeds. Pesqu. Agropecu. Bras. 39: 413-420.
- Fraenkel, G., M. Blewett & M. Coles. 1950.** The nutrition of the mealworm, *Tenebrio molitor* L. (Tenebrionidae, Coleoptera). Physiol. Zool. 23: 92-108.
- Freitas, S.P.C., W.S. Evangelista Júnior, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2006.** Development, survival and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) with salt and amino acid solutions supplementary diets. Braz. Arch. Biol. Technol. 49: 449-455.
- Friedman, S. 1978.** Trehalose regulation, one aspect of metabolic homeostasis. Annu. Rev. Entomol. 23: 389-407.
- Gondim-Tomaz, R.M.A., N.M. Erismann, E. Cia, J.I. Kondo, M.G. Fuzatto & C.R.L. Carvalho. 2016.** Teor de óleo e composição de ácidos graxos em sementes de diferentes genótipos de algodoeiro. Braz. J. Food Technol. 19: e2015071
- Gravena, S. & Cunha, H.F. 1991.** Predation of cotton leafworm first instar larvae, *Alabama argillacea* (Lep.: Noctuidae). Entomophaga 6: 418-491.
- Grigolli, J.F.J., M.M.K. Grigolli, D.G. Ramalho, A.L. Martins, A.M. Vacari & S.A. De Bortoli. 2017.** Phytophagy of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) fed on prey and Brassicaceae. Braz. J. Biol. 77: 703-709.
- Grimmond, N.M., M.R. Preest & F.H. Pough. 1994.** Energetic cost of feeding on different kinds of prey for the lizard *Chalcides ocellatus*. Funct. Ecol. 8: 17-21.
- Holtz, A.M., G. A. Almeida, M.A.M. Fadini, J.C. Zanuncio, J.S. Zanuncio & G.S. Andrade. 2011.** Phytophagy on eucalyptus plants increases the development and reproduction of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). Acta Sci. Agron. 33: 231-235.
- Holtz, M., G.D. Dias, M.A.M. Fadini, J.S. Zanuncio-Júnior, T.V. Zanuncio & J.C. Zanuncio. 2009.** Sobrevivência e reprodução de *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae): efeitos da escassez de presas e da alimentação de plantas. Chil. J. Agric. Res. 69: 468 -472.

- Ingegno, B.L., M.G. Pansa & L. Tavella. 2011.** Plant preference in the zoophytophagous generalist predator *Macrolophus pygmaeus* (Heteroptera: Miridae). *Biol. Control* 58: 174-181.
- Lemos, W.P., J.C. Zanuncio, F.S. Ramalho & J.E. Serrão. 2009.** Fat body of the zoophytophagous predator *Brontocoris tabidus* (Het.: Pentatomidae) females: Impact of the herbivory and age. *Micron*. 40: 635–638.
- Lemos, W.P., R.S. Medeiros, F.S. Ramalho & J.C. Zanuncio. 2001.** Effects of plant feeding on the development, survival, and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Int. J. Pest Manag.* 27: 89-93.
- Medeiros R.S., F.S. Ramalho, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2003.** Effect of temperature on life table parameters of *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) fed with *Alabama argillacea* (Lep., Noctuidae) larvae. *J. Appl. Entomol.* 127: 209-213.
- Medeiros, R.S., F.S. Ramalho, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2004.** Estimative of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) development time with non linear models. *Neotrop. Entomol.* 33: 141–148.
- Milano, P, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, M.L. Oda & F.L. Consoli. 2010.** Effects of adult feeding on the reproduction and longevity of Noctuidae, Crambidae, Tortricidae and Elachistidae species. *Neotrop. Entomol.* 39: 172-180.
- Morales-Ramos, J.A., M.G. Rojas, K.S. Shelby & T.A. Coudron. 2015.** Nutritional value of pupae versus larvae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as food for rearing *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *J. Econ. Entomol.* 109: 564-571.
- Moreira, L.A., J.C. Zanuncio & A.J. Molina-Rugama. 1998.** Dados biológicos de *Podisus nigrispinus* (Dallas) alimentado com a lagarta do maracujazeiro *Dione juno juno* (Cramer). *An. Soc. Entomol. Bras.* 27: 645–647.
- Naranjo, S.E. & J.L. Stimac. 1985.** Development, survival, and reproduction of *Geocoris punctipes* (Hemiptera, Lygaeidae): effects of plant feeding on soybean and associated weeds. *Environ. Entomol.* 14: 523-530.
- Oliveira, H.N., D. Pratisoli, E.P. Pedruzzi & M.C. Espindula. 2004a.** Desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* alimentado com *Spodoptera frugiperda* e *Tenebrio molitor*. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39: 947-951.
- Oliveira, H.N., M.C. Espindula, D. Pratisoli & E.P. Pedruzzi. 2004b.** Ganho de peso e comportamento de oviposição de *Podisus nigrispinus* utilizando lagartas de *Spodoptera frugiperda* e larvas de como presas *Tenebrio molitor*. *Cienc. Rural* 34: 1945-1948.
- Oliveira, J.A., M.G.A. Oliveira, R.N.C. Guedes & M.J. Soares. 2006.** Morphology and preliminary enzyme characterization of the salivary glands from the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Bull. Entomol. Res.* 96: 251–258.

- Oliveira, J.E.M., J.B. Torres, A.F.C. Moreira & R. Barros. 2002a.** Efeito das plantas do algodoeiro e do tomateiro, como complemento alimentar, no desenvolvimento e na reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera:Pentatomidae). Neotrop. Entomol. 31: 101-108.
- Oliveira, J.E.M., J.B. Torres, A.F. Carrano-Moreira & F.S. Ramalho. 2002b.** Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de Alabama argillacea em campo. Pesqu. Agropec. Bras. 37: 7-14.
- Pereira, A.I.A., F.S. Ramalho, K.C.V. Rodrigues, J.B. Malaquias, J.V.S. Souza & J.C. Zanuncio. 2010.** Food extraction by the males of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) from cotton leafworm larvae. Braz. Arch. Biol. Technol. 53: 1027–1035.
- Pereira, A.I.A., R.B. Silva, W.S. Tavares, J.B. Malaquias & J.C. Zanuncio. 2017.** Lightweight males of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) neglect lightweight females due low reproductive fitness. Braz. J. Biol. 77: 267–276.
- Ruberson, J.R., J.M. Tauber & C.A. Tauber. 1986.** Plant feeding by (Heteroptera, Pentatomidae): effect on survival, development, and pre oviposition period *Podisus maculiventris*. Environ. Entomol. 15: 894-897.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Steele, J.E. 1982.** Glicogênio-fosforilase em insetos. Insect Biochem.12: 131-147.
- Torres, J.B., E.M. Barros, R.R. Coelho & R.M.M. Pimentel. 2010.** Zoophytophagous pentatomids feeding on plants and implications for biological control. Arthrop. Pl. Interact. 4: 219-227.
- Torres, J.B., J.C. Zanuncio & M.A. Moura. 2006.** The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidoperan larval control in Eucalyptus in Brazil. Biocont. News. Inf. 27: 1-18.
- Van der Horst, D.J. 2003.** Hormônios adipocinéticos de insetos: liberação e integração do metabolismo energético de vôo. Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol. 136: 217-226.
- Van Handel, E. 1985a.** Rapid determination of total lipids in mosquitoes. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1: 302-304.
- Van Handel, E. 1985b.** Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1: 299-301.
- Vivan, L.M., J.B. Torres, A.F.S.L. Veiga & J.C. Zanuncio. 2002.** Comportamento de predação e conversão alimentar de *Podisus nigrispinus* sobre a traça-do-tomateiro. Pesqu. Agropec. Bras. 37: 581-587.

- Yemm, E.W. & A.J. Willis. 1954.** The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Bioch. J.* 57: 508-514.
- Zamperlini, B., J.C. Zanuncio, J.E.M. Leite & M.A.L. Bragança. 1992.** Influência da alimentação de *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) no desenvolvimento ninfal de *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). *Rev. Árv.* 16: 224-203.
- Zanuncio, J.C., A.J. Molina-Rugama & J.E. Serrão. 2001.** Nymphal development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with combinations of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. *Biocontrol Sci. Tech.* 11: 331-337.
- Zanuncio, J.C., A.T. Ferreira, T.V. Zanuncio & J.F. Garcia. 1993.** Influence of feeding on *Eucalyptus urophylla* seedlings on the development of the predatory bug *Podisus connexivus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Meded. Fac. Landbouww. Rijksuniv.* 58: 469- 475.
- Zanuncio, J.C., C.A.D. Silva, E. Rodrigues, F.F. Pereira, F.S. Ramalho & J.E. Serrão. 2008.** Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51:125–129.
- Zanuncio, J.C., J.B. Alves, T.V. Zanuncio & J.F. Garcia. 1994.** Hemipterous predators of eucalypt defoliators caterpillars. *Fo. Ecol. Manag.* 65: 65–73.
- Zanuncio, J.C., R.N.C. Guedes, H.N. Oliveira & T.V. Zanuncio. 2002.** Uma década de estudos com percevejos predadores: conquistas e desafios, p. 495-509. In: Parra, J.R., P.S.M. Botelho, B.S. Correa-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.). *Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores*. Manole Editora, São Paulo, 635p.

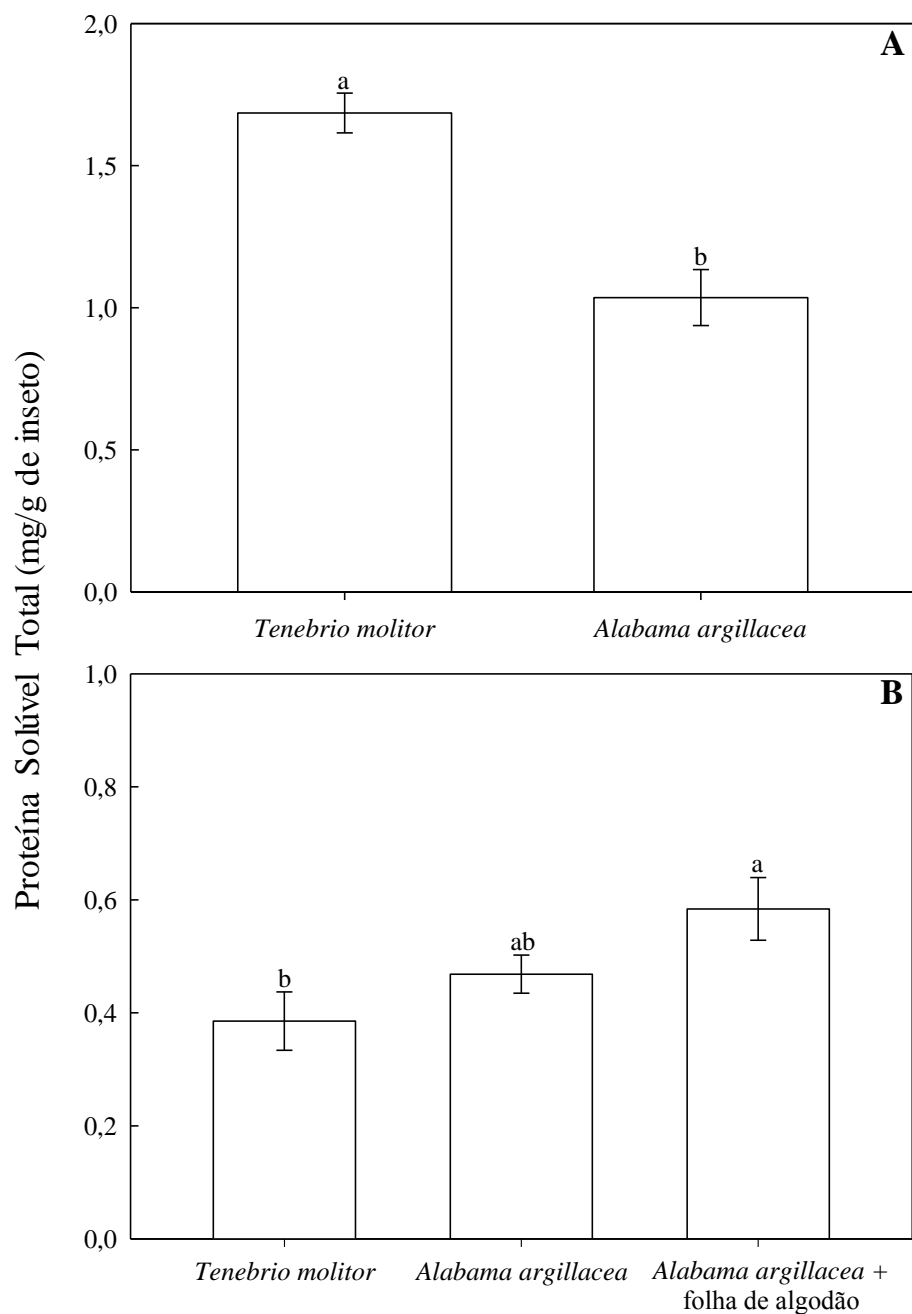


Figura 1. Teor de proteína solúvel total (média \pm EP) de presas (A) e ninfas de quinto ínstar de *Podisus nigrispinus* (B) alimentadas com diferentes dietas. Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste t (A) e teste de Tukey HSD (B) ao nível de significância de 5%. N = 10 repetições / tratamento. Dados originais.

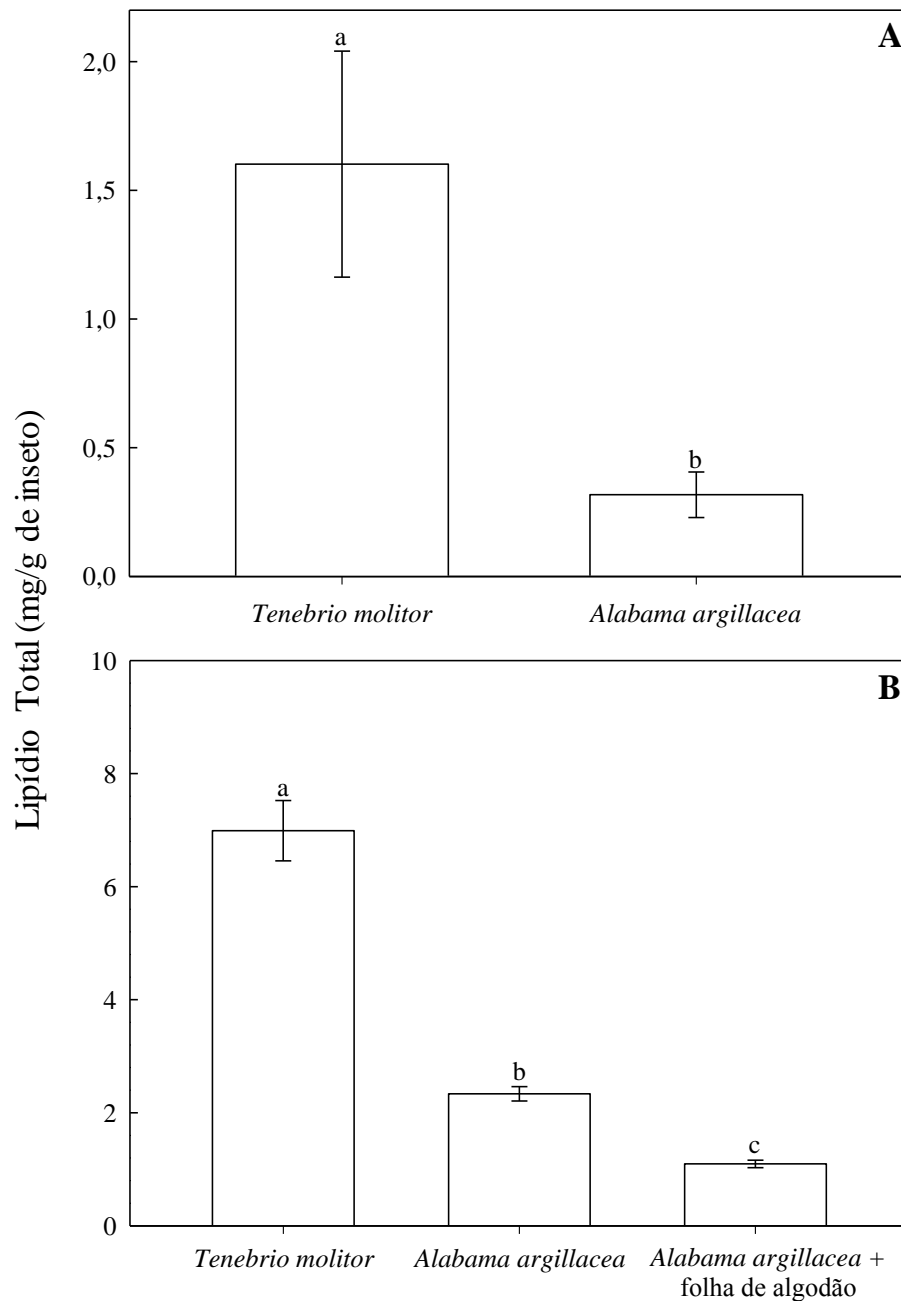


Figura 2. Teor de lipídio total (média \pm EP) de presas (A) e ninfas de quinto ínstar de *Podisus nigrispinus* (B) alimentadas com diferentes dietas. Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste t (A) e teste de Tukey HSD (B) ao nível de significância de 5%. N = 10 repetições / tratamento. A análise foi realizada com os dados transformados em raiz quadrada de $x + 1$.

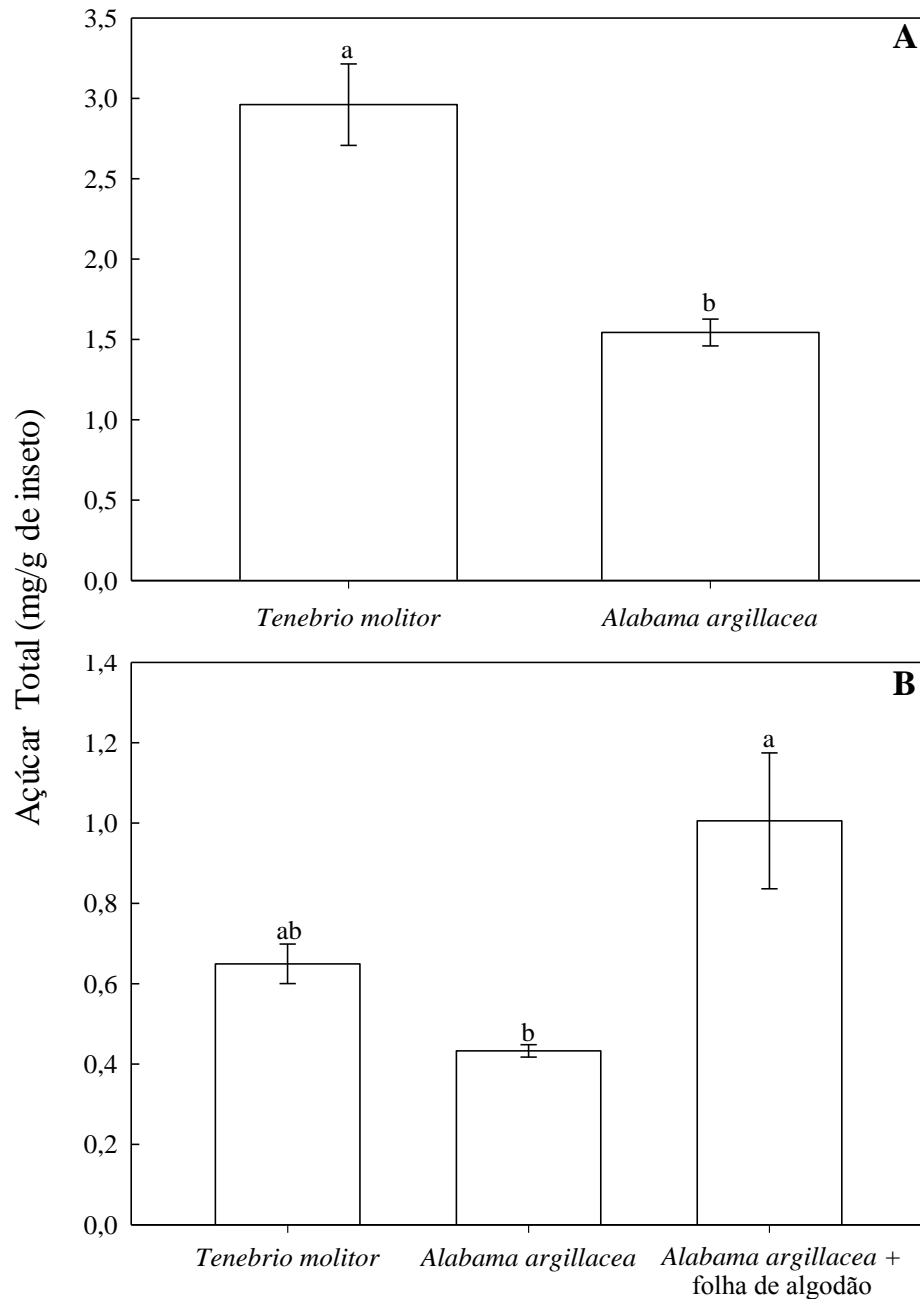


Figura 3. Teor de açúcar total (média \pm EP) de presas (A) e ninfas de quinto ínstar de *Podisus nigrispinus* (B) alimentadas com diferentes dietas. Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste t (A) e teste de Tukey HSD (B) ao nível de significância de 5%. N = 10 repetições / tratamento. A análise foi realizada com os dados transformados em raiz quadrada de $x + 1$.

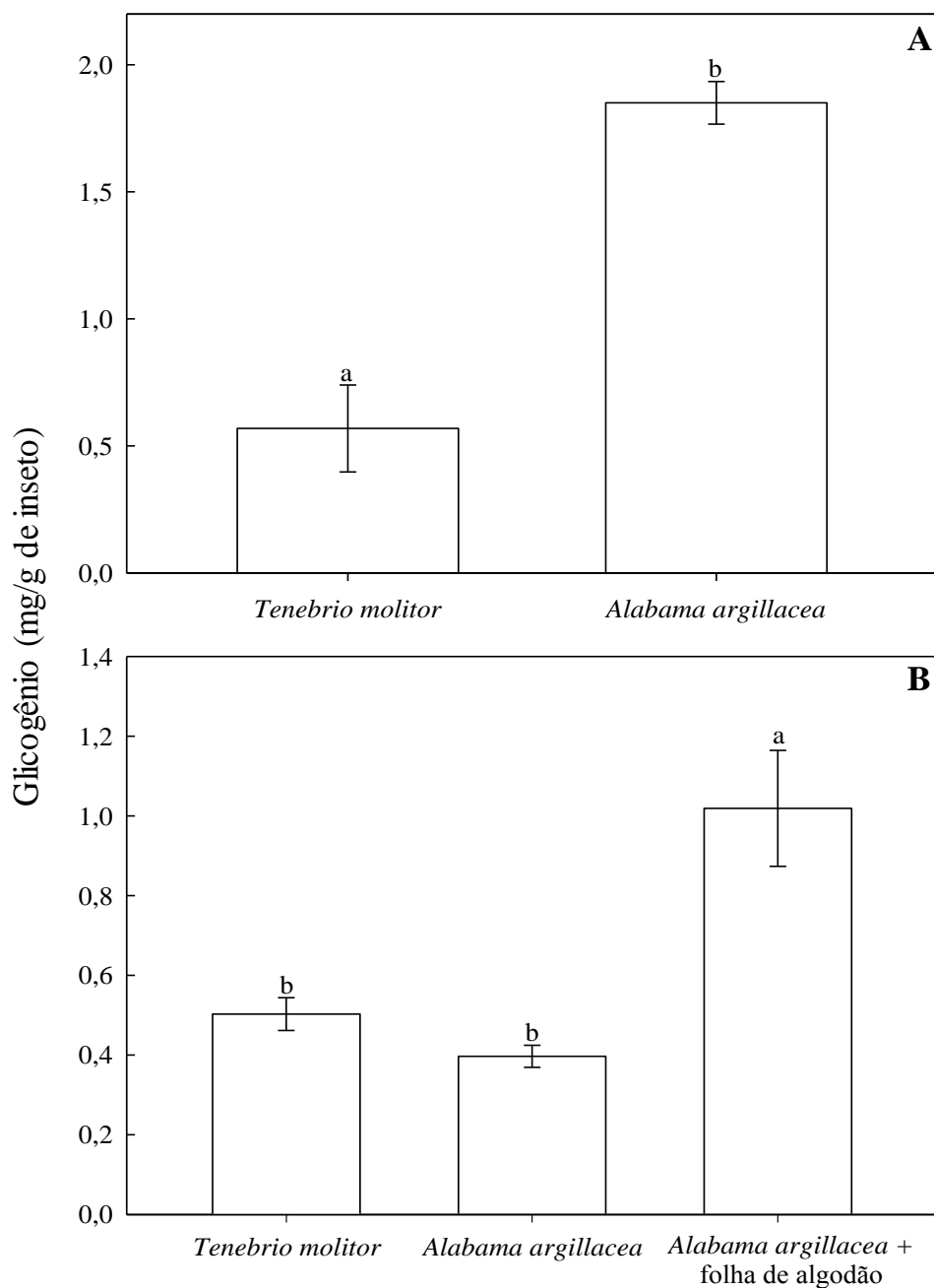


Figura 4. Teor de glicogênio (média \pm EP) de presas (A) e ninfas de quinto ínstar de *Podisus nigrispinus* (B) alimentadas com diferentes dietas. Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste t (A) e teste de Tukey HSD (B) ao nível de significância de 5%. N = 10 repetições / tratamento. A análise foi realizada com os dados transformados em raiz quadrada de $x + 1$.

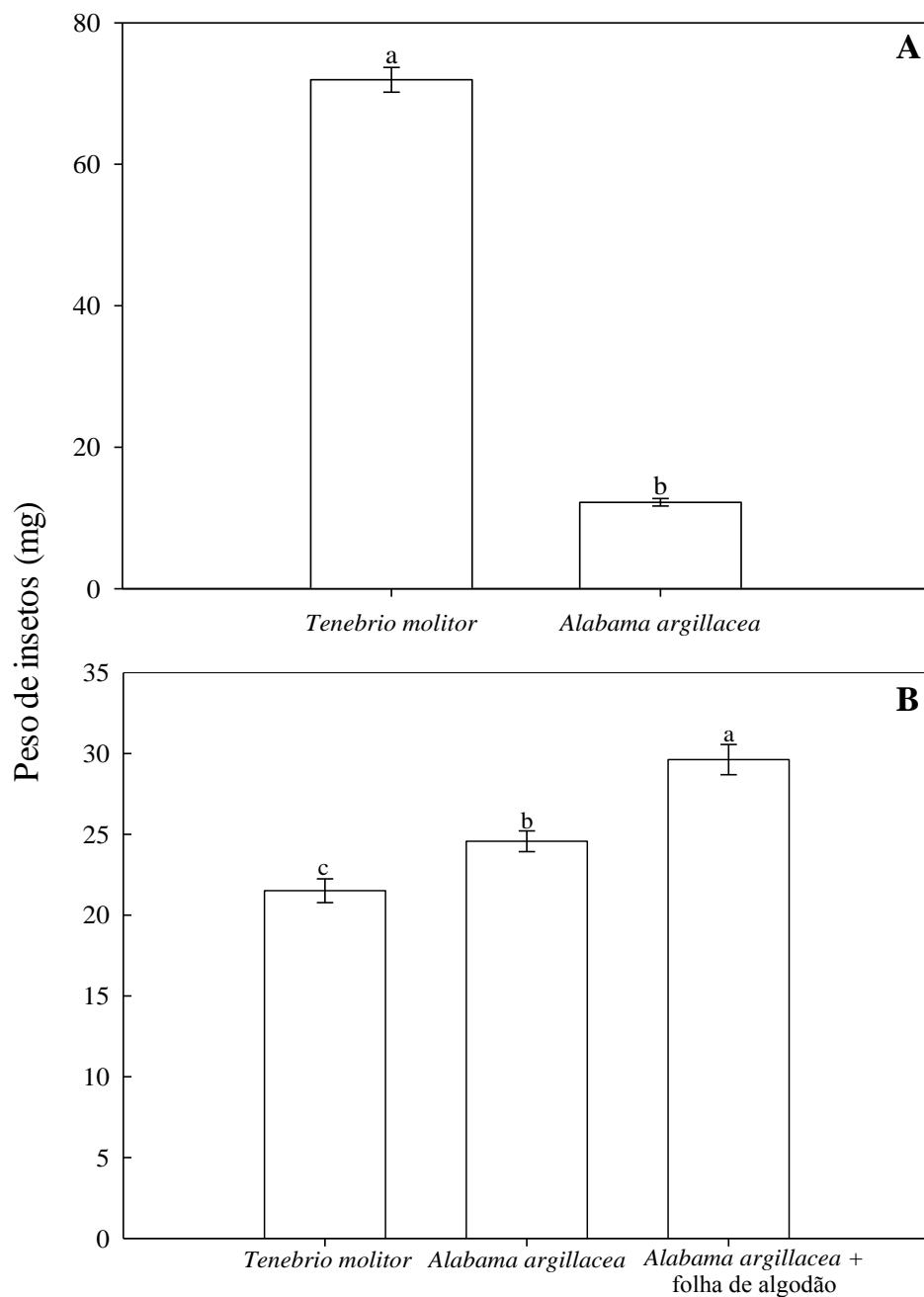


Figura 5. Peso (média \pm EP) de presas (A) e ninfas de quinto ínstar de *Podisus nigrispinus* (B) alimentadas com diferentes dietas. Barras seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste t (A) e teste de Tukey HSD (B) ao nível de significância de 5%. N = 10 repetições / tratamento.

CAPÍTULO 3

INTERAÇÃO MORFOFISIOLÓGICA E COMPORTAMENTAL DE UM PREDADOR COM SUA PRESA SOB EXPOSIÇÃO INDIRETA COM O INSETICIDA REGULADOR DE CRESCIMENTO LUFENUROM¹

ALINE C. S. LIRA², VALÉRIA W. TEIXEIRA^{2,3}, ÁLVARO A. C. TEIXEIRA³, FRANKLIN M. CUNHA⁴ E
GLAUCILANE S. CRUZ²

²Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil,

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brazil

⁴Faculdade Frassinetti do Recife, Av. Conde da Boa Vista, 921, Boa Vista, 50060-002, Recife, PE, Brazil

¹Lira, A.C.S., V.Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, F.M. Cunha & G.S. Cruz. Interação morfofisiológica e comportamental de um predador com sua presa sob exposição indireta com o inseticida regulador de crescimento lufenurum (A ser submetido).

RESUMO – O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão indireta do inseticida lufenurom sobre os parâmetros nutricionais e morfológicos do intestino médio de ninfas do predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), a taxa de consumo, a preferência de presa e a sobrevivência do predador, assim como sobre o peso e os aspectos nutricionais da presa, *Alabama argillacea* Hübner (Lepidoptera: Erebidae). Para isso, foram utilizadas ninfas de quarto e quinto ínstar de *P. nigrispinus* consumindo lagartas de *A. argillacea* alimentadas em folhas de algodoeiro tratadas com lufenurom na concentração de 50 g.i.a./ha. Para análise na presa, foram utilizadas lagartas de terceiro ínstar de *A. argillacea*. Os resultados mostraram que ninfas de quarto ínstar apresentaram redução nos teores de lipídio, açúcar e glicogênio e consumiram mais lagartas tratadas que não tratadas, em teste sem chance de escolha, enquanto que ninfas de quinto ínstar mostraram aumento apenas nos teores de lipídio, contudo não diferiram no consumo. A ingestão indireta do inseticida promoveu desorganização e descamação celular e lise da camada epitelial. Ninfas de quarto e quinto ínstar sobreviveram em média 3,2 e 6,1 dias após a exposição ao lufenurom, respectivamente. Em teste com chance de escolha, não foi verificada preferência de presas, tratadas e não tratadas, por ninfas de *P. nigrispinus*. Lagartas de *A. argillacea* tratadas apresentaram redução apenas nos teores de glicogênio, mas não no seu peso. Pelos resultados obtidos, pode-se inferir que os parâmetros nutricionais, morfológicos, comportamentais e biológicos de ninfas de *P. nigrispinus* são afetados pela ingestão indireta do lufenurom.

PALAVRAS-CHAVE: Interações tri-tróficas, algodão, inseticida, morfologia, controle biológico, curuquerê do algodoeiro

PHYSIOLOGICAL AND BEHAVIORAL INTERACTION OF A PREDATOR WITH ITS
PREY UNDER INDIRECT EXPOSURE TO THE INSECT GROWTH REGULATOR
LUFENURON

ABSTRACT – In this study was evaluated the effect of the indirect ingestion of lufenuron insecticide on the nutritional and histological parameters of nymphs of the predator *Podisus nigripinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), as well as the predator consumption rate, prey preference, weight and nutritional aspects of the prey, *Alabama argillacea* Hübner (Lepidoptera: Erebidae). Nymphs of 4th- and 5th- instars of *P. nigripinus* preying upon *A. argillacea* larvae fed on leaves of cotton treated with the insecticide lufenuron were used. For analysis with prey, third instar of *A. argillacea* larvae were used. The results showed that 4th- instar nymphs exhibited reduction only in lipid, sugar and glycogen contents and greater number of treated larvae than untreated prey, in no-choice test, while 5th- instar nymphs increased lipid content and exhibited similar predation rate. The exposure of *P. nigripinus* to the insecticide resulting in cellular disorganization and desquamation and lysis of the epithelium. Nymphs of 4th- and 5th- instars of *P. nigripinus* survived on average 3.2 and 6.1 days after fed on lufenuron-treated larvae, respectively. In choice-test, no prey preference was observed by nymphs of *P. nigripinus*. Regarding the nutritional parameter of treated *A. argillacea* larvae, was observed reduction of glycogen. Further, prey weight was not affected. From the results obtained, we can infer that the nutritional, morphological, behavioral and biological parameters of nymphs of *P. nigripinus* may be affected by the indirect ingestion of the insecticide lufenuron.

KEY WORDS: Tritrophic interaction, cotton, pesticide, morphology, biological control, cotton leafworm.

Introdução

No contexto do manejo integrado, os inseticidas reguladores de crescimento (IGR) surgem como uma opção para o controle de pragas, por serem produtos de baixa toxicidade para os mamíferos e agentes de controle biológico (Dhadialla *et al.* 1998; Lira *et al.* 2015). Os IGRs afetam hormônios específicos responsáveis pelo processo de ecdise nos insetos (Bueno *et al.* 2017). Assim, estes produtos atuam na fase jovem de insetos e sua ação depende da exposição e da quantidade a que são expostos (Evangelista *et al.* 2002; Stecca *et al.* 2017). De modo geral, os inseticidas podem contaminar os seus alvos via contato com os resíduos, ou via oral, através de alimentos ou água contaminados (Mestdagh *et al.* 1996). Contudo, os IGRs, e em especial o lufenurom, contaminam, mais especialmente, via oral, afetando negativamente a sobrevivência, a reprodução e a dinâmica populacionais dos insetos alvos (Scarpellini 2001, Pratisoli *et al.* 2004, Storch *et al.* 2007, Castro *et al.* 2012). Além disso, a exposição à IGRs podem ocasionar alterações nutricionais e morfológicas no intestino médio dos insetos, tais como redução de nutrientes, desorganização estrutural e descamação do epitélio do intestino médio, conforme foi relatado por Costa *et al.* (2017) para adultos de *Anthonomus grandis* Boh.

Na cultura do algodoeiro, bem como em vários outros agroecossistemas, o percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) tem sido observado predando naturalmente diversas espécies de lepidópteros-praga (Gravena & Cunha 1991, Grosman *et al.* 2005, Silva-Torres *et al.* 2010). Dentre elas, a lagarta desfolhadora *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) (Oliveira *et al.* 2002). No entanto, alguns estudos tem investigado como os IGRs interagem com *P. nigrispinus* e mostrado que a fase jovem desse predador, também, pode ser afetada negativamente pela ação desses compostos. Estudos realizados por Evangelista *et al.* (2002), mostraram que ninfas de quinto instar de *P. nigrispinus* foram afetadas quando foram confinadas em plantas pulverizadas e predaram lagartas de *A. argillacea tratadas* com o inseticida

lufenuron nas concentrações acima de 50 mg de i.a./L, enquanto que as ninfas expostas apenas ao resíduo nas folhas não foram afetadas. Do mesmo modo, em estudos realizados por Stecca *et al* (2017), os IGRs lufenuron, teflubenzuron, triflumuron, tebufenozide e novaluron mostraram-se nocivos para ninfas de quarto instar de *P. nigrispinus*, quanto estas foram expostas aos resíduos dos inseticidas, porém levemente tóxico para os adultos desse predador.

Contudo, embora sejam conhecidos os efeitos dos inseticidas reguladores de crescimento no desenvolvimento de *P. nigrispinus*, não há relatos sobre onde e como esses inseticidas interagem negativamente nos processos morfofisiológicos e comportamentais relacionados à nutrição deste predador. Assim, o presente trabalho teve por objetivo analisar as alterações nutricionais e morfológicas (intestino médio) desse predador, bem como os possíveis parâmetros relacionados ao comportamento alimentar de *P. nigrispinus* exposto indiretamente ao lufenuron, tais como: taxa de consumo, preferência de presa e a sobrevivência do predador, assim como peso e aspectos nutricionais da presa, visando fornecer subsídios para a elucidação de questões relacionadas aos efeitos tritróficos na fisiologia desse predador.

Material e Métodos

Criação de Insetos. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Fisiologia de Insetos do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. Os predadores, *P. nigrispinus*, bem como as presas, *A. argillacea* e *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), utilizados nos experimentos foram obtidos na Unidade de Controle Biológico do Laboratório de Entomologia da Embrapa Algodão, Campina Grande/PB e mantidos à temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa (U.R.) de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 12 h. *P. nigrispinus* foi criado seguindo a metodologia adaptada de Oliveira *et al.* (2004) e Zanuncio *et al.* (2001). *A. argillacea* foi criada seguindo a metodologia de Medeiros *et al.* (2003).

T. molitor foi mantido no laboratório, alimentado com farelo de trigo (Zamperlini *et al.* 1992) e colmos de cana de açúcar (*Saccharum* spp. L.) para complementar a alimentação e suprir líquidos (Fraenkel *et al.* 1950).

Bioensaios. Ninfas de primeiro ínstar de *P. nigrispinus* foram transferidas para recipientes cilíndricos de plástico transparente de 500 mL com um chumaço de algodão umedecido, cada recipiente contendo 20 ninfas. As ninfas foram alimentadas diariamente com lagartas de terceiro e quarto ínstar de *A. argillacea* e folhas de algodoeiro. Foi utilizada a cultivar de algodão BRS Safira. Ninfas de quarto e quinto ínstar de *P. nigrispinus* com até 48 horas de idade com peso médio de $11,28 \pm 1,48$ e $29,62 \pm 0,83$ mg, respectivamente, foram privadas de alimento (presa) por um período de 24 horas e, em seguida, utilizadas nos bioensaios. Os tratamentos constaram de ninfas submetidas a alimentação por 24 horas com lagartas de terceiro e quarto ínstars de *A. argillacea* alimentadas com folhas de algodão tratadas com o inseticida lufenurom (Match[®] EC) na concentração de 50 g.i.a./ha (100 µL do inseticida/100 mL de água) e lagartas de terceiro e quarto ínstars de *A. argillacea* alimentadas em folhas de algodão não tratadas com inseticida (controle).

Quantificação de Nutrientes em *Podisus nigrispinus*. Logo após a alimentação, as ninfas foram imobilizadas a temperatura de 4 °C e maceradas em tampão fosfato de sódio (pH 7,4 e 0,1 M). Para a quantificação de proteínas totais utilizou-se o método de Bradford (1976). Cada amostra constou de uma ninfa macerada em 1 mL de tampão fosfato. O procedimento foi realizado em baixa temperatura para evitar oxidação das amostras. Cada amostra foi devidamente etiquetada e mantida a temperatura de -20 °C até ser utilizada. Foram utilizadas 10 amostras por tratamento, totalizando 10 ninfas/tratamento. Para a análise de lipídio, açúcar total e glicogênio, cada amostra constou de três ninfas, as quais foram maceradas em 1 mL de tampão fosfato. Foram utilizadas 10 amostras por tratamento, totalizando 30 ninfas/tratamento. Os conteúdos de lipídio, açúcar total e

glicogênio foram avaliados utilizando o método de Van Handel (1985a, b). Para a quantificação de lipídio foi utilizado o método de ácido fosfórico-vanilina enquanto que para o açúcar total e o glicogênio utilizou-se o método de ácido sulfúrico-antrona.

Histologia de Intestino Médio *Podisus nigrispinus*. A extração foi realizada logo após o período de alimentação (24 h). As ninfas foram imobilizadas à temperatura de 4 °C e foi retirado o intestino médio. O material coletado foi fixado com formol a 10% em tampão Mollinig-Carson (0,1 M, pH 7,2) por 24 h. Posteriormente, foi desidratado em banhos crescentes de etanol (70, 80, 90, 95 e 100%), cada banho com duração de 10 min. Em seguida, os intestinos médios foram impregnados e emblocados em historesina. Cortes de 5 µm foram obtidos em um micrótomo Leica RM 2035 e corados com azul de toluidina. Secções coradas foram examinadas usando um microscópio de luz (Olympus BX-49). As fotos foram tiradas com uma câmera (Olympus BX-51) montada no microscópio. Quatro ninfas foram utilizadas por tratamento, considerando cada ninfa uma repetição.

Taxa de Consumo de *Podisus nigrispinus*. Foi avaliada a predação por um período de 24 horas, sendo os intervalos de avaliação: 1, 3, 6, 12 e 24 horas. Foi ofertada ao predador uma lagarta por vez. Uma nova lagarta foi ofertada após o consumo total da anterior. Foram utilizadas 20 ninfas por tratamento, tratado e não tratado, sendo 40 ninfas de quarto ínstar e 40 ninfas de quinto ínstar. Foram contabilizadas lagartas consumidas no intervalo de tempo acima citado, sendo considerado, para a última presa ofertada, o consumo parcial ou completo da mesma.

Preferência de Presa. O teste de preferência, foi constituído por uma arena plástica cilíndrica (21 cm de diâmetro e 1,8 cm de altura), onde foi acondicionada na região central, uma ninfa de *P. nigrispinus* privada de alimento por 24 horas. Equidistantes ao predador, foram ofertadas uma lagarta de terceiro ínstar de *A. argillacea* alimentada com folha de algodoeiro tratada com lufenurum, de um lado da arena e uma lagarta alimentada com folha de algodoeiro não tratada do

lado oposto à ninfa tratada. Foi verificado qual o tratamento preferido pelo predador até a realização da primeira predação. Foram avaliadas 20 ninfas de quarto e quinto instares, por tratamento.

Análise de Sobrevivência *Podisus nigrispinus*. Foram realizadas avaliações diárias para análise de sobrevivência do predador após a alimentação com lagartas de *A. argillacea* alimentadas com folhas de algodão tratadas ou não tratadas com o inseticida lufenurum. Lagartas de *A. argillacea* de terceiro e quarto ínstar e um chumaço de algodão embebido em água destilada foram ofertados as ninfas diariamente. A sobrevivência foi avaliada até os insetos alcançarem a fase adulta.

Peso de *Alabama argillacea*. Para verificar o peso de *A. argillacea* exposta ao inseticida, lagartas de terceiro ínstar foram pesadas em balança analítica digital de alta precisão (0,0001 g) após 24 horas de exposição a folhas de algodoeiro tratadas com o inseticida lufenurum. Água destilada foi utilizada como tratamento controle. Para cada tratamento foram pesadas 60 lagartas, sendo 6 repetições com 10 lagartas cada.

Quantificação de Nutrientes em *Alabama argillacea*. Após 24 horas de alimentação, as lagartas de terceiro ínstar expostas a folhas tratadas com lufenurum, ou não tratadas foram imobilizadas a temperatura de 4 °C e maceradas em tampão fosfato de sódio (pH 7,4 e 0,1 M). Cada amostra constou de três lagartas maceradas em 1 mL de tampão fosfato. O procedimento foi realizado em baixa temperatura para evitar oxidação das amostras. Cada amostra foi devidamente etiquetada e mantida a temperatura de -20 °C até ser utilizada. Foram utilizadas 10 amostras por tratamento, totalizando 30 lagartas/tratamento. Para a quantificação de proteínas totais utilizou-se o método de Bradford (1976). Os conteúdos de lipídio, açúcar total e glicogênio foram avaliados utilizando o método de Van Handel (1985a, b).

Análises Estatísticas. Para verificar a hipótese nula sobre a normalidade e homogeneidade dos dados obtidos nas análises bioquímicas, de peso de lagartas e taxa de consumo foram realizados,

respectivamente, os testes de Shapiro-Wilk e Levene. Os dados de quantificação de lipídios de ninfas de quinto ínstar de *P. nigrispinus*, quantificação de proteína e lipídio de *A. argillacea* e taxa de consumo de presas foram transformados em raiz quadrada ($x+1$), para atender as suposições da análise de variância. Assumindo a normalidade, as médias das análises bioquímicas e de peso de lagartas foram comparadas pelo teste de t ao nível de 5% de probabilidade utilizando o Proc GLM do SAS (SAS Institute 2001). Assumindo a normalidade, as médias de taxa de consumo foram comparadas pelo teste de t ao nível de 5% de probabilidade. Além disso, o número acumulado de lagartas consumidas por ninfas de *P. nigrispinus* em função do tempo de avaliação foi calculado utilizando a análise de regressão, realizada pelo ProcREG do SAS (SAS Institute 2001), selecionando a equação com parâmetros significativos ($P < 0,05$) e o maior coeficiente de correlação ajustado (r). Os dados de preferência foram submetidos à análise de qui-quadrado (χ^2). Os dados de sobrevivência foram submetidos à análise de sobrevivência utilizando o Proc LifeTest do SAS.

Resultados

Quantificação de Nutrientes em *Podisus nigrispinus*. A ingestão indireta do inseticida lufenurom por ninfas de *P. nigrispinus* afetou significativamente alguns parâmetros nutricionais do predador. O teor de proteína não foi afetado em ninfas de quarto ínstar em nenhum dos tratamentos ($t_{(1, 18)} = 0,42$; $P = 0,6792$) (Fig. 1A). Entretanto, houve redução significativa nos teores de lipídio ($t_{(1, 18)} = 2,86$; $P = 0,0124$), açúcar total ($t_{(1, 18)} = 4,48$; $P = 0,0003$) e glicogênio ($t_{(1, 18)} = 4,21$; $P = 0,0005$) em ninfas de quarto ínstar expostas indiretamente ao lufenurom quando comparadas as de ninfas do tratamento controle (Fig. 1A). Ninfas de quinto ínstar alimentadas com lagartas de *A. argillacea* alimentadas com folhas de algodoeiro tratadas com o inseticida lufenurom não mostraram alterações significativas na quantidade de proteínas solúveis ($t_{(1, 18)} =$

0,45; $P = 0,6569$), açúcar total ($t_{(1, 18)} = 0,65$; $P = 0,5208$) e glicogênio ($t_{(1, 18)} = -0,06$; $P = 0,9519$) quando comparadas ao tratamento controle (Fig. 1B). Contudo, ninfas de quinto ínstar mostraram aumento significativo no teor de lipídio quando alimentadas com *A. argillacea* tratadas com lufenurom ($t_{(1, 18)} = -4,11$; $P = 0,0007$) (Fig. 1B).

Histologia de Intestino Médio *Podisus nigrispinus*. A morfologia da região mediana do intestino médio de ninfas de quarto e quinto ínstar de *P. nigrispinus* foi afetada pela ingestão de lagartas alimentadas em folhas de algodão tratadas com lufenurom. Não foi visualizada nenhuma alteração histológica no tratamento controle, em ambos os estágios de desenvolvimento (Figs. 2A, 2B, 3A, 3B). Por outro lado, ninfas de quarto ínstar tratadas com lufenurom, mostraram alterações morfológicas no epitélio, tais como: desorganização e descamação do epitélio, presença de cromatina condensada nos núcleos celulares, protusões, matriz perimicrovilar danificada, aumento de vacúolos citoplasmáticos e lise do epitélio (Figs. 2C e 2D). Já nas ninfas de quinto ínstar tratadas com lufenurom verificou-se desorganização estrutural e descamação do epitélio, matriz perimicrovilar apresentando lesões em várias regiões e camada muscular preservada (Figs. 3C e 3D).

Taxa de Consumo de *Podisus nigrispinus*. A taxa de consumo de ninfas de *P. nigrispinus* foi significativamente afetada pela ingestão indireta do inseticida lufenurom. Ninfas de quarto ínstar de *P. nigrispinus* mostraram aumento no consumo de lagartas tratadas com o inseticida lufenurom nos intervalos de 12 ($t_{(1, 38)} = -2,55$; $P = 0,0150$) e 24 horas ($t_{(1, 38)} = -3,44$; $P = 0,0014$) de alimentação, quando comparadas ao tratamento controle (Fig. 4A). Ninfas de quarto ínstar consumiram em média de 1,0 a 2,8 lagartas de *A. argillacea* não tratadas e de 1,0 a 3,5 lagartas tratadas com lufenurom nos intervalos de 1, 3, 6, 12 e 24 horas, respectivamente (Fig. 4A). Por outro lado, não houve diferença no consumo de lagartas tratadas com o inseticida lufenurom por ninfas de quinto ínstar. Ninfas de quinto ínstar consumiram em média de 0,8 a 4,8 lagartas de *A.*

argillacea não tratadas e de 0,8 a 5,2 lagartas tratadas com lufenurom nos intervalos de 1, 3, 6, 12 e 24 horas, respectivamente (Fig. 4B).

Preferência de Presa. Ninfas de quarto ($\chi^2 = 0,10030$; gl = 1; P = 0,7515) e quinto ínstar ($\chi^2 = 0,4040$; gl = 1; P = 0,5250) de *P. nigrispinus* não mostraram preferência por presas no teste com chance de escolha. Para as ninfas de quarto ínstar, 45,0% escolheram predaram lagartas não tratadas e 55,0%, lagartas tratadas com lufenurom. Em ninfas de quinto ínstar, foram 40,0% predando lagartas não tratadas e 60,0%, tratadas.

Análise de Sobrevivência. A sobrevivência de ninfas de quarto ínstar de *P. nigrispinus* foi afetada pela ingestão de lagartas alimentadas em folhas de algodão tratadas com lufenurom ($\chi^2 = 125,34$; gl = 1; P < 0,0001). Ninfas de quarto ínstar que predaram lagartas alimentadas com folhas tratadas sobreviveram em média $3,2 \pm 0,10$ dias (Fig. 5A). Além disso, 100% das ninfas de quarto ínstar morreram antes de realizar muda para o quinto ínstar. Por outro lado, ninfas de quarto ínstar que predaram lagartas não tratadas com lufenurom completaram o desenvolvimento, realizando a muda para o quinto ínstar e para a fase adulta com 93,2% de viabilidade. Os predadores do tratamento controle alcaçaram a fase adulta em cerca de $11,7 \pm 0,21$ dias.

Do mesmo modo, a sobrevivência de ninfas de quinto ínstar de *P. nigrispinus* foi afetada pela ingestão de lagartas alimentadas em folhas de algodão tratadas com lufenurom ($\chi^2 = 111,91$; gl = 1; P < 0,0001). Em média, essas ninfas de quinto ínstar sobreviveram $6,1 \pm 0,14$ dias (Fig. 5B), sendo verificada mortalidade de 100% das ninfas antes de realizarem a muda para a fase adulta. Por outro lado, ninfas de quinto ínstar que predaram lagartas não tratadas com lufenurom completaram o desenvolvimento, com 93,2% de viabilidade, em $7,9 \pm 0,06$ dias.

Peso de *Alabama argillacea*. O peso das lagartas de terceiro ínstar *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão não tratadas e tratadas com o inseticida lufenurom não diferiram significativamente ($t_{(1, 10)} = 2,62$; P = 0,3603). As lagartas alimentadas com folhas

tratadas pesaram em média $12,6 \pm 0,66$ mg, enquanto as alimentadas com folhas não tratadas, o peso médio observado foi de $11,8 \pm 0,40$ mg.

Bioquímica *Alabama argillacea*. Os teores de proteína total ($t_{1, 18} = 0,81$; $P = 0,4283$), lipídio ($t_{1, 18} = -0,17$; $P = 0,8684$) e açúcar total ($t_{1, 18} = -0,49$; $P = 0,6297$) não foram afetados em lagartas de *A. argillacea* alimentadas com folhas de algodoeiro tratadas com o inseticida lufenurom. Entretanto, houve redução significativa nos teores de glicogênio ($t_{1, 18} = 3,88$; $P = 0,0013$) em lagartas expostas ao inseticida lufenurom (Fig. 6).

Discussão

A ingestão indireta do inseticida lufenurom por ninfas de *P. nigrispinus* proporcionou alterações nos componentes nutricionais do predador. A exposição ao lufenurom promoveu alterações morfológicas no intestino médio de ninfas de *P. nigrispinus*. Dos parâmetros relacionados ao comportamento alimentar do predador e a nutrição da presa, apenas a taxa de consumo de presas por ninfas de quarto ínstar de *P. nigrispinus* e os teores de glicogênio da presa, *A. argillacea*, foram afetados pela exposição ao lufenurom e a sobrevivência das ninfas de *P. nigrispinus* foi afetada pela ingestão indireta do lufenurom.

Em Hemiptera, o processo inicial da digestão é extra oral. Contudo, o processo principal de digestão é mais evidente nas regiões mediana e posterior do intestino médio do predador (Cohen 1998; Fialho *et al.* 2012, Guedes *et al.* 2007). Entretanto, o estresse celular induzido pela exposição de *P. nigrispinus* a inseticidas nestas regiões podem prejudicar processos fisiológicos como a digestão (Martinez *et al.* 2018). Alterações morfológicas associadas a redução nutricional ocasionadas pela exposição ao inseticida lufenurom já haviam sido relatadas por Costa *et al.* (2017) para adultos de *Anthonomus grandis* Boheman. Segundo esses autores, a exposição ao lufenurom promoveu desorganização estrutural e a descamação do epitélio do intestino médio de

A. grandis e redução de proteínas presentes no intestino médio do inseto, mas não afetou a sua sobrevivência. De acordo com Smith *et al.* (1969), a perda citoplasmática está provavelmente correlacionada com a atividade degenerativa da camada epitelial. Desse modo, podemos sugerir que o estresse químico induzido pela exposição ao lufenurom pode ter desencadeado um mecanismo de resposta celular, resultando em alterações estruturais, tais como a descamação da camada epitelial do intestino de *P. nigripinus*, refletindo no quantitativo nutricional do predador.

A redução nos teores de lipídios, açúcar total e glicogênio em ninfas de quarto ínstar pode, ainda, estar relacionada ao gasto energético requerido na defesa contra o agente estressante. De acordo com Cunha *et al.* (2012), os carboidratos estão envolvidos na defesa contra agentes estressantes como inseticidas. Segundo esses autores, a mudança no padrão de distribuição de glicogênio nas células epiteliais do intestino médio de *P. nigripinus* alimentados com lagartas tratadas com Bt, por meio do deslocamento desse nutriente para a região apical das células, é um mecanismo de resposta ao tratamento com o inseticida e exige um gasto energético maior pelo predador. Resultados semelhantes foram observados por Costa *et al.* (2017) em análise histoquímica de intestino médio para adultos de *A. grandis* após 24 horas de exposição ao lufenurom. Por outro lado, Orr & Downer (1982) sugerem que a redução nas reservas de carboidratos e lipídios é um dos efeitos da ação direta do inseticida, mas também pode ser promovida por alterações no sistema neuroendócrino que resultam em perturbação do equilíbrio fisiológico do inseto. Desse modo, podemos inferir que a redução nos teores de carboidratos e lipídios foram resultados das alterações morfológicas e nos processos metabólicos do predador, porém, impactando na homeostase de *P. nigripinus*, visto que a ruptura observada no intestino médio de *P. nigripinus* exposto ao lufenurom pode exigir um gasto energético maior por parte do predador, quando comparadas as demais alterações morfológicas, além de prejudicar o processo

de absorção de nutrientes e acarretar toxemia com consequente morte do inseto, fenômeno este relatado por Gill *et al.* (1992) para insetos tratados com *Bacillus thuringiensis* (Bt).

Ninfas de quinto ínstar de *P. nigrispinus*, por sua vez, estão em um estágio de desenvolvimento mais avançado e tem maior peso quando comparadas as ninfas de quarto ínstar. Assim, possuindo maior reserva de nutrientes o que pode torná-las menos suscetíveis as alterações metabólicas e comportamentais promovidas pela exposição ao inseticida. Contudo, as alterações nos teores de lipídio em ninfas de quinto ínstar podem estar relacionadas alterações no metabolismo deste, devido ao estresse químico causado pela ação do inseticida. Estudos mostram que alguns inseticidas tem como efeito aumentar a lipofilia e a biodisponibilidade de lipídios na circulação, por meio da ação das enzimas carboxilesterases que atuam no processo de detoxificação, mediante estresse químico ocasionado pela exposição a compostos xenobióticos, tais como inseticidas (Gilham *et al.* 2003, Ross *et al.* 2010). As carboxilesterases controlam a lipólise de triglicerídeos, resultando em lipoproteínas de baixa densidade e altos teores de ácidos graxos na circulação, mediando a regulação de processos inflamatórios pelas células imunes e atuando na regulação de conteúdos teciduais e manutenção da homeostase fisiológica (Steffens *et al.* 2005). Desse modo, podemos sugerir que não houve prejuízo nos processos de absorção de nutrientes em ninfas de quinto ínstar. Contudo, a exposição ao lufenuron pode ter desencadeado o processo de detoxificação, resultando em aumento nos teores de lipídios biodisponíveis em ninfas expostas ao inseticida.

Segundo a literatura, os fatores biológicos são afetados pela redução no quantitativo nutricional (Cruz *et al.* 2016, Silva *et al.* 2016). De acordo com Cruz *et al.* (2016), alterações no metabolismo, tais como interferência no processo de aquisição e metabolização dos nutrientes, são alguns dos efeitos causados pela exposição de insetos aos inseticidas. Desse modo, o aumento na taxa de consumo de presas por ninfas de quarto ínstar de *P. nigrispinus*, em teste sem chance

de escolha, pode ser uma resposta comportamental do predador para compensar o déficit nutricional ocasionado pela exposição ao lufenurom. O peso e o quantitativo nutricional das presas não foram afetados negativamente pelo lufenurom e parecem não ter interferido no comportamento alimentar do predador, visto que a taxa de consumo de presas por ninfas de quinto ínstar, as quais não apresentaram redução de nutrientes, não foi afetada. Além disso, considerando que *P. nigrispinus*, constitui o terceiro nível trófico da cadeia alimentar, é provável que a ingestão indireta tenha promovido, ao predador, menor exposição ao inseticida a que à presa, alvo direto do lufenurom. Contudo, os resultados mostram que o consumo de presas tratadas proporcionou a ingestão de quantidade do inseticida suficiente para causar alterações nutricionais e afetar a sobrevivência das ninfas. A toxicidade do lufenurom para ninfas de *P. nigrispinus* foi verificada em estudo realizado por Evangelista Júnior *et al.* (2002), no qual o lufenurom nas concentrações de 10 e 50 g.i.a ha⁻¹, ocasionou mortalidade de 100% em ninfas de quinto ínstar alimentadas com lagartas tratadas, não atingindo o estágio adulto, suportando os nossos resultados. Do mesmo modo, por Stecca *et al.* (2017), no qual o lufenurom na concentração 7,5 g.i.a ha⁻¹ foi nocivo para ninfas de quarto ínstar de *P. nigrispinus*, ocasionando mortalidade de 100% dos insetos expostos ao inseticida via contato.

Diante do exposto, podemos inferir que, embora os inseticidas reguladores de crescimento sejam considerados produtos de menor impacto aos inimigos naturais, para *P. nigripinus*, a exposição indireta ao inseticida lufenurom além de promover efeitos adversos sobre a nutrição e os aspectos comportamentais relacionados à predação, interferiu no processo de muda e ocasionou mortalidade do predador, apresentando mecanismo de ação similar ao observado nos insetos-praga. Por outro lado, a capacidade predatória foi mantida, visto que não houve preferência de presas pelo predador, em teste com chance de escolha. O quantitativo nutricional e o peso das lagartas de *A. argillacea* não tiveram relação com as alterações nos níveis nutricionais das ninfas

de *P. nigrispinus* que se alimentaram de lagartas alimentadas em folhas tratadas com o inseticida lufenuron. Desse modo, as alterações morfológicas no intestino médio de *P. nigrispinus* despontam como um fator preponderante para as alterações observadas no quantitativo nutricional do predador.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradecemos também a Unidade de Controle Biológico (UCB) da Embrapa Algodão, Campina Grande/PB pelo suporte para o desenvolvimento deste estudo e ao (Centro de Apoio a Pesquisa da UFRPE (CENAPESQ) pela disponibilização de equipamentos.

Literatura Citada

- Bradford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of dye-binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Bueno, A. F. & S. Freitas. 2004.** Effect of the insecticides abamectin and lufenuron on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* under laboratory conditions. *BioControl* 39: 277-283.
- Bueno, A.F., G.A. Carvalho, A.C. Santos, D.R. Sosa-Gómez & D.M. Silva. 2017.** Pesticide selectivity to natural enemies: challenges and constraints for research and field recommendation. *Cien. Rural* 47:1-8.
- Cohen, A.C. 1995.** Extra-oral digestion in predaceous terrestrial Arthropoda. *Ann. Rev. Entomol.* 40:85-103.
- Costa, H.N., F.M. Cunha, G.S. Cruz, C.G. D'assunção, G.G. Rolim, M.E.G. Barros, M.O. Breda, A.A.C. Teixeira & V.W. Teixeira. 2017.** Lufenuron impact upon *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae) midgut and its reflection in gametogenesis. *Pestic Bioch. Physiol.* 137:71-80.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, F.S.C. Lopes, D.R.S. Barbosa, M.O. Breda, K.A. Dutra, C.A. Guedes, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum*

- gratissimum* (Lamiales: Lamiaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 109: 660-666.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, C.G. D'Assunção, F.M. Cunha, A.A.C. Teixeira, C.A. Guedes, K.A. Dutra, D.R.S. Barbosa & M.O. Breda. 2017.** Effect of trans-anethole, limonene and your combination in nutritional components and their reflection on reproductive parameters and testicular apoptosis in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Chem. Biol. Interact. 263: 74-80.
- Cunha, F.M., F.H. Caetano, V. Wanderley-Teixeira, J.B. Torres, A.A.C. Teixeira & L.C. Alves. 2012.** Ultra-structure and histochemistry of digestive cells of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with prey reared on Bt-cotton. Micron 43: 245–250.
- Dhadialla, T.S., G.R. Carlson & D.P. Le. 1998.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. Annu. Rev. Entomol. 43: 545-569.
- Evangelista Júnior, W.S., C.S. Silva-Torres & J.B. Torres. 2002.** Toxicity of lufenuron to *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). Neotrop. Entomol. 31: 319-326.
- Fialho, M.C.Q., N.R. Moreira, J.C. Zununcio, A.F. Ribeiro, W.R. Terra & J.C. Serrão. 2012.** Prey digestion in the midgut of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). J. Insect Physiol. 85:850-856.
- Fraenkel, G., M. Blewett & M. Coles. 1950.** The nutrition of the mealworm, *Tenebrio molitor* L. (Tenebrionidae, Coleoptera). Physiol. Zool. 23: 92-108.
- Gilham, D., S. Ho, M. Rasouli, P. Martres, D.E. Vance & R. Lehner. 2003.** Inhibitors of hepatic microsomal triacylglycerol hydrolase decrease very low density lipoprotein secretion. Faseb J. 17:1685–1687.
- Gill, S.S., E.A. Cowles & P.V. Pietrantonio. 1992.** The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37: 615-634.
- Gravena, S. & H.F. Cunha 1991.** Predator of cotton leafworm first instar larvae, *Alabama argillaceae* (Lepidoptera: Noctuidae). Entomophaga 36: 481-491.
- Grosman, A.H., M.V. Breemen, A. Holtz, A. Pallini, A.M. Rugama, H. Pengel, M. Venzon, J.C. Zanuncio, M.W. Sabelis & A. Janssen. 2005.** Searching behaviour of an omnivorous predator for novel and native host plants of its herbivores: a study on arthropod colonization of eucalyptus in Brazil. Entomol. Exp. Appl. 116: 135-142.
- Guedes, B.A.M., J.C. Zanuncio, F.S. Ramalho & J.E. Serrão. 2007.** Midgut morphology and enzymes of the obligate zoophytophagous stink bug *Brontocoris tabidus* (Signoret, 1963) (Heteroptera: Pentatomidae). Pan-Pac. Entomol. 83: 229-235.
- Lira, A.C.S., O.Z. Zanardi, V.H. Beloti, G.P. Bordini, P.T. Yamamoto, J.R.P. Parra & G.A. Carvalho. 2015.** Lethal and sublethal impacts of acaricides on *Tamarixia radiata* (Hemiptera:

- Eulophidae), an important ectoparasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). J. Econ. Entomol. 108: 2278-2288.
- Malaquias, J.B., F.S. Ramalho, C. Omoto, W.A. Godoy & R.F. Silveira. 2014.** Imidacloprid affects the functional response of predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to strains of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Bt cotton. Ecotoxicology. 23: 192–200.
- Malaquias, J.B., C. Omoto, F.S. Ramalho, W.A.C. Godoy & R.F. Silveira. 2015.** Bt cotton and the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) in the management of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to lambda-cyhalothrin. J. Pest Sci. 88: 57-63.
- Martínez, L.C., A. Plata-Rueda, G. da Silva Neves, W.G. Gonçalves, J.C. Zanuncio, H. Bozdoğan & J.E. Serrão. 2018.** Permethrin induces histological and cytological changes in the midgut of the predatory bug, *Podisus nigrispinus*. Chemosphere. 212: 629-637.
- Medeiros, R.S., F.S. Ramalho, J.C. Zanuncio & J.E. Serrão. 2003.** Effect of temperature on life table parameters of *Podisus nigrispinus* (Het., Pentatomidae) fed with *Alabama argillacea* (Lep., Noctuidae) larvae. J. Appl. Entomol. 127: 209-213.
- Medeiros, R.S., F.S. Ramalho, J.E. Serrão & J.C. Zanuncio. 2004** Estimative of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) development time with non linear models. Neotrop. Entomol. 33: 141-148.
- Oliveira, H.N., D. Pratissoli, E.P. Pedruzzi & M.C. Espindula. 2004.** Development of the predator *Podisus nigrispinus* fed on *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. Pesqu. Agropec. Bras. 39: 947-951.
- Oliveira, J.E.M., J.B. Torres, A.F. Carrano-Moreira, F.S. Ramalho. 2002.** Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* em campo. Pesqu. Agropec. Bras. 37:7-14, 2002.
- Orr, G.L. & R.G.H. Downer. 1982.** Effect of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) on carbohydrate and lipid reserves in the American cockroach, *Periplaneta americana* L. Pest. Biochem. Physiol. 17: 89–95.
- Ross, M.K., T.M. Streit, K.L. Herring & S. Xie. 2010.** Carboxylesterases: dual roles in lipid and pesticide metabolism. J. Pest. Sci. 35: 257–264.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Silva, C.T.S., V. Wanderley-Teixeira, F.M. Cunha, J.V. Oliveira, K.A. Dutra, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. Acta Histochem. 118: 347-352.

- Silva-Torres, C.S.A., Pontes, I.V.A.F., Torres, J.B. & Barros, R. 2010.** New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 39: 835-838.
- Smith, D.S., K. Compher, M. Janners, C. Lipton & L.W. Wittle. 1969.** Cellular organization and ferritin uptake in the mid-gut epithelium of a moth, *Ephestia kühniella*. *J. Morphol.* 127: 41-71.
- Stecca, C.S., D.M. Silva, A.F. Bueno, A. Pasini, M.D. Denez & K. Andrade. 2017.** Selectivity of insecticides used in soybean crop to the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Semina: Ciênc. Agrár.* 38: 3469-3480.
- Steffens, S., N.R. Veillard, C. Arnaud, G. Pelli, F. Burger, C. Staub, M. Karsak, A. Zimmer, J.L. Frossard & F. Mach. 2005.** Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature* 434:782-786
- Van Handel, E. 1985a.** Rapid determination of total lipids mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1: 302-304.
- Van Handel, E. 1985b.** Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 1: 299-301.
- Zamperlini, B., J.C. Zanuncio, J.E.M. Leite & M.A.L. Bragança. 1992.** The influence of feeding on *Tenebrio molitor* L., 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) food on nymphal development of *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Hemiptera: Pentatomidae). *Rev. Árv.* 16: 224-203.
- Zanuncio, J.C., A.J. Molina-Rugama & J.E. Serrão. 2001.** Nymphal development and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) fed with combinations of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pupae and *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. *Biocontrol Sci. Tech.* 11: 331-337.

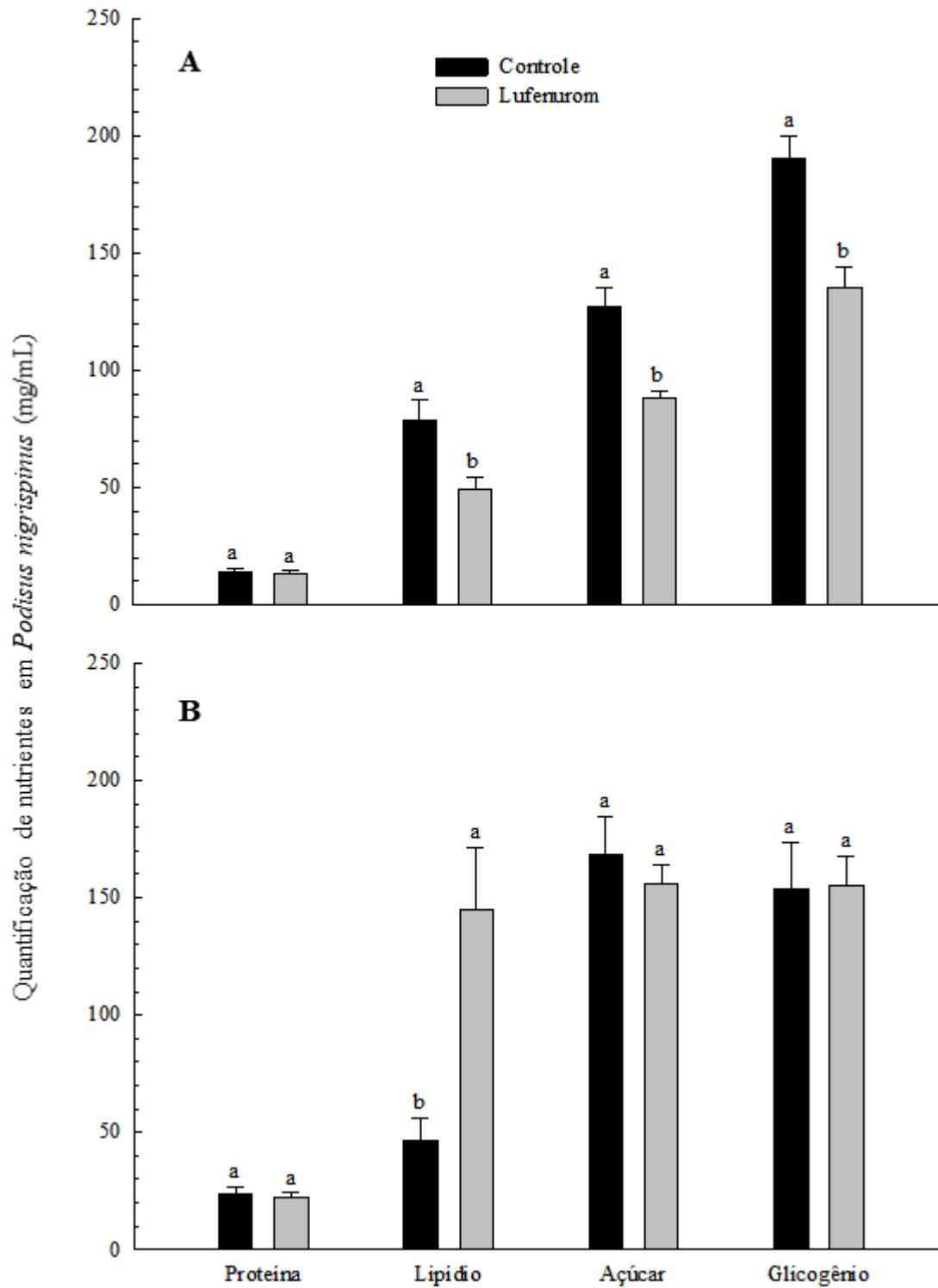


Figura 1. Quantidade de nutrientes (média \pm EP) de ninfas de quarto (A) e quinto (B) ínstar de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão

tratadas e não tratadas com o inseticida lufenurom. Barras seguidas por letras diferentes diferem significativamente pelo teste t ao nível de 5% de significância.

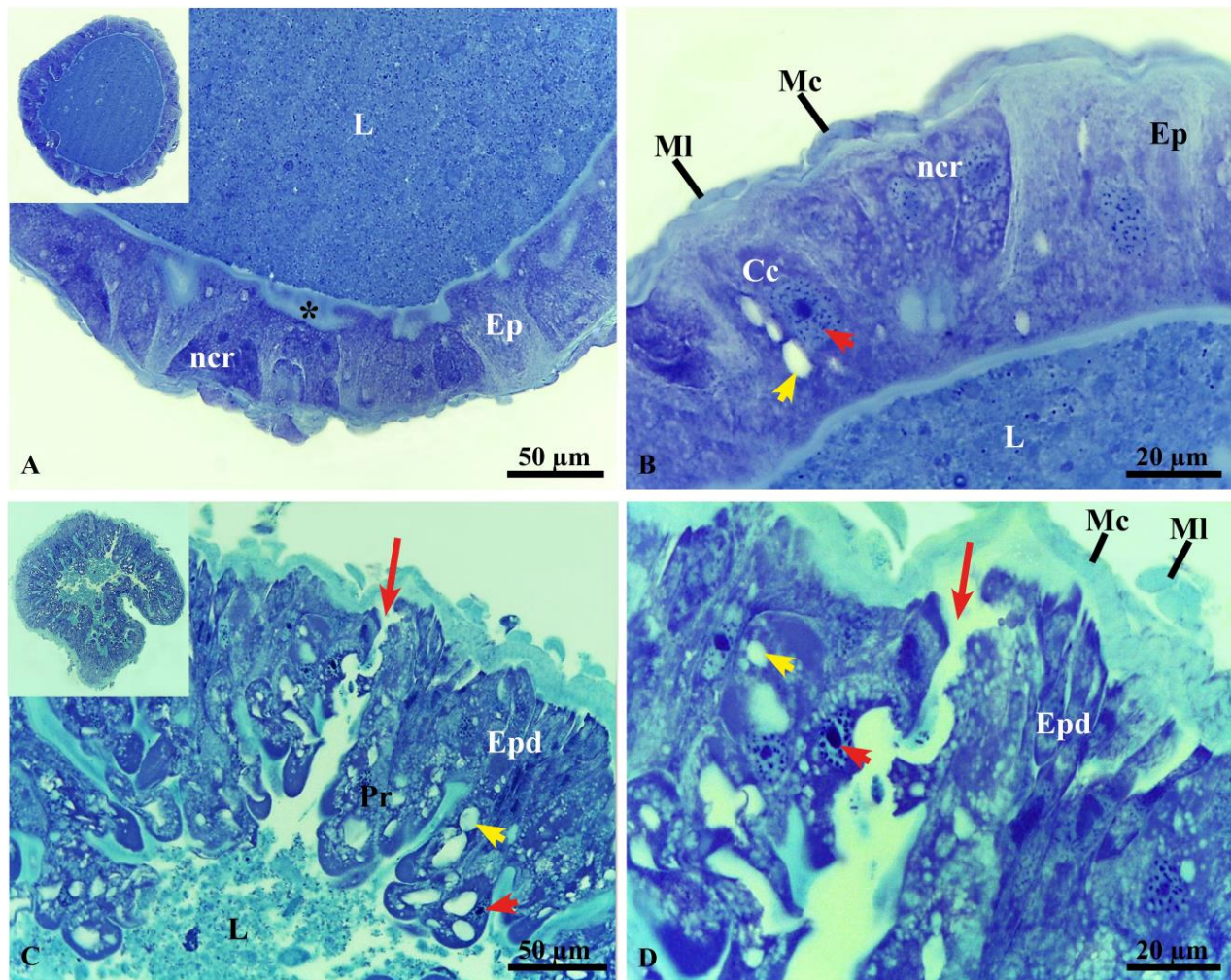


Figura 2. Corte transversal do intestino médio de ninfas de quarto ínstar de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão não tratadas e tratadas com o inseticida lufenurom. Controle (A e B). Exposto ao lufenurom por 24 h (C e D). Coloração Azul de Toluidina. Epitélio simples (Ep), célula colunar (Cc), núcleo (seta curta vermelha), ninhos de células regenerativas (ncr), matriz perimicrovilar (asterisco), vacúolo citoplasmático (seta curta amarela), músculo circular (Mc), músculo longitudinal (MI), lúmen (L), epitélio desorganizado (Epd), protusão (Pr) e lise da camada epitelial (seta longa vermelha).

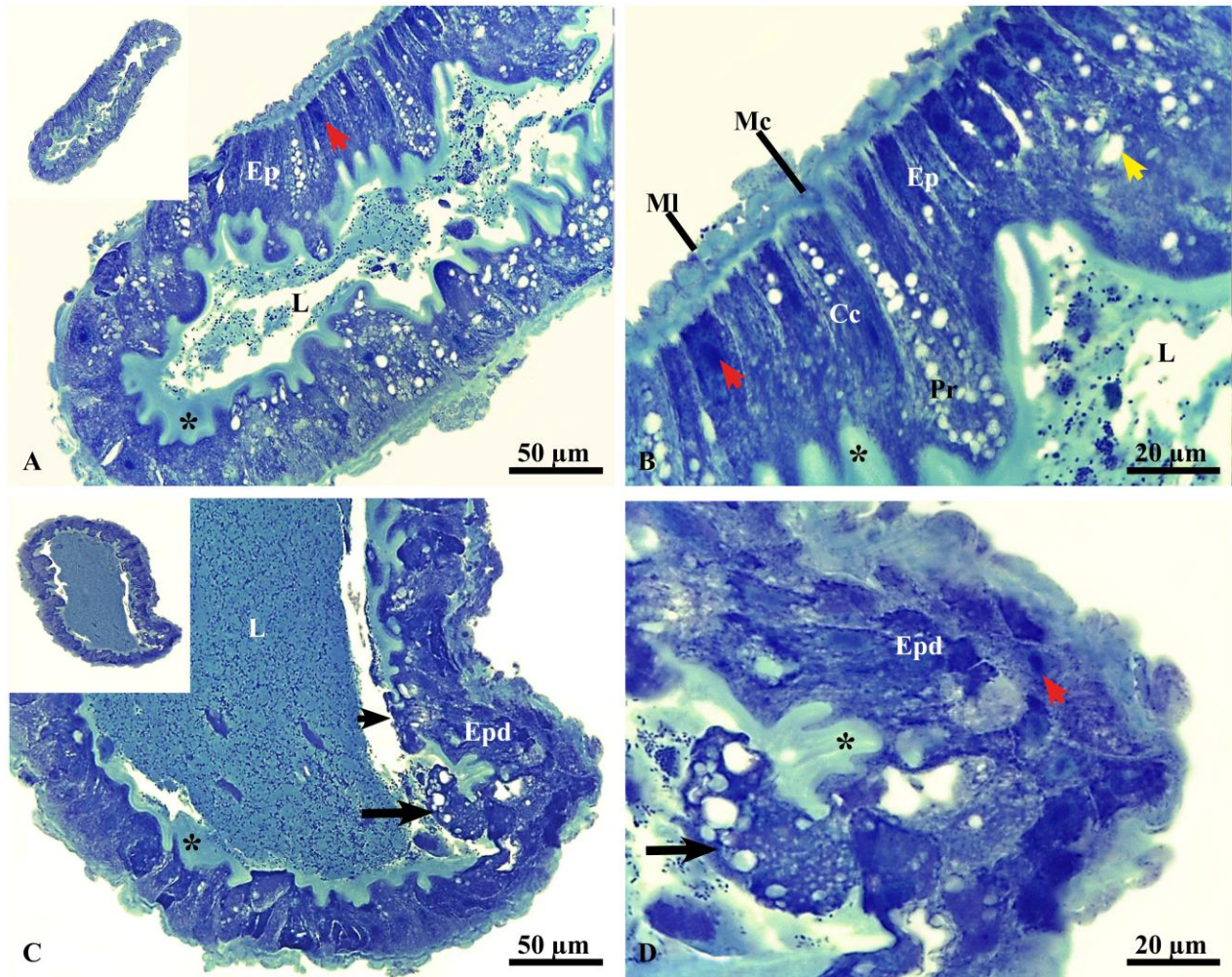


Figura 3. Corte transversal do intestino médio de ninfas de quinto ínstar de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão não tratadas e tratadas com o inseticida lufenurom. Controle (A e B). Exposto ao lufenurom por 24 h (C e D). Coloração Azul de Toluidina. Epitélio simples (Ep), célula colunar (Cc), núcleo (seta curta vermelha), ninhos de células regenerativas (ncr), matriz perimicrovilar (asterisco), vacúolo citoplasmático (seta curta amarela), músculo circular (Mc), músculo longitudinal (MI), lúmen (L), protusão (Pr), epitélio desorganizado (Epd), ausência de matriz perimicrovilar (seta curta preta) e descamação celular (seta longa preta).

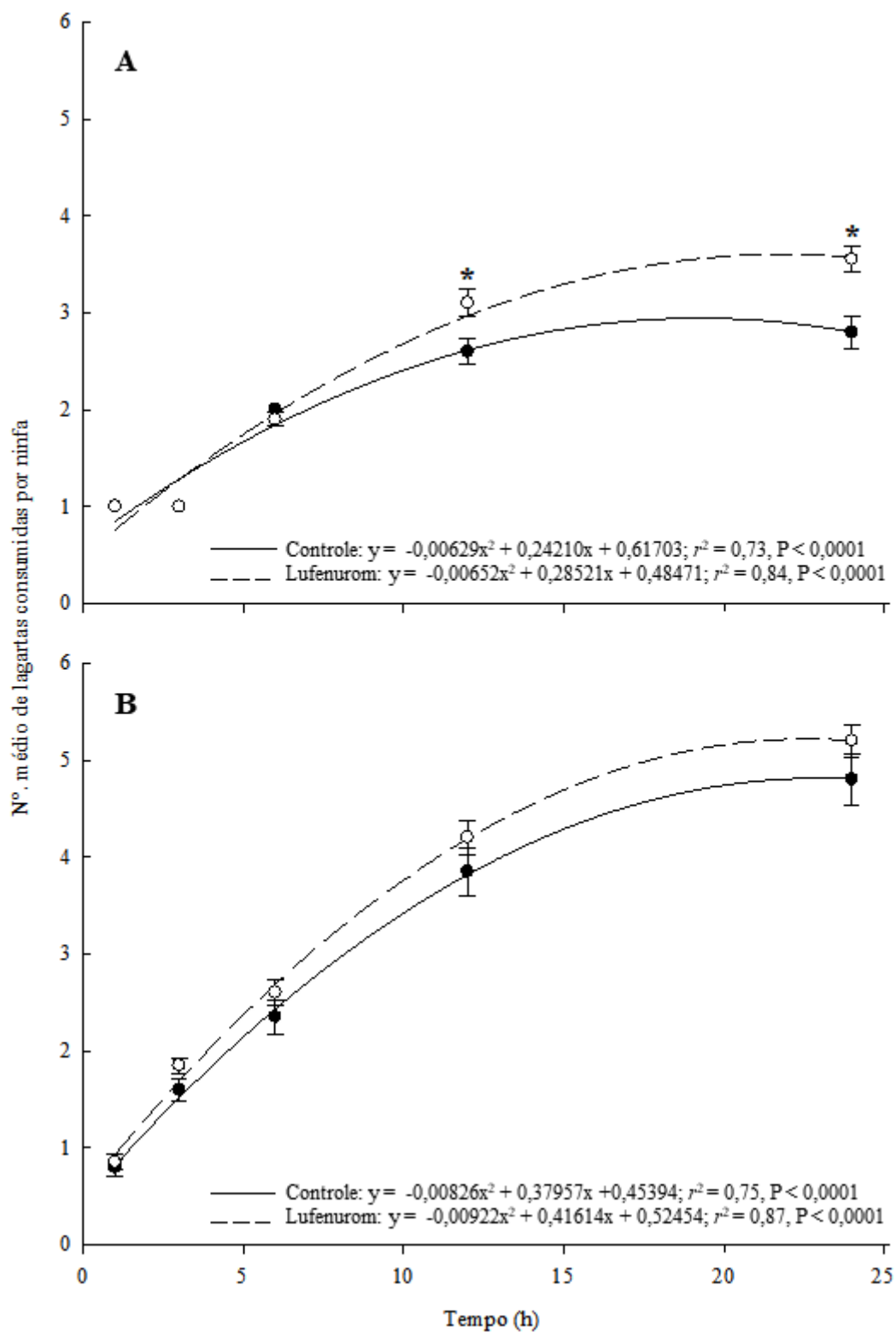


Figura 4. Taxa de consumo de ninfas de quarto (A) e quinto (B) ínstar de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão não tratadas e

tratadas com o inseticida lufenurom em função do tempo de exposição. *Médias diferem significativamente dentro de cada intervalo de tempo pelo teste t ao nível de 5% de significância.

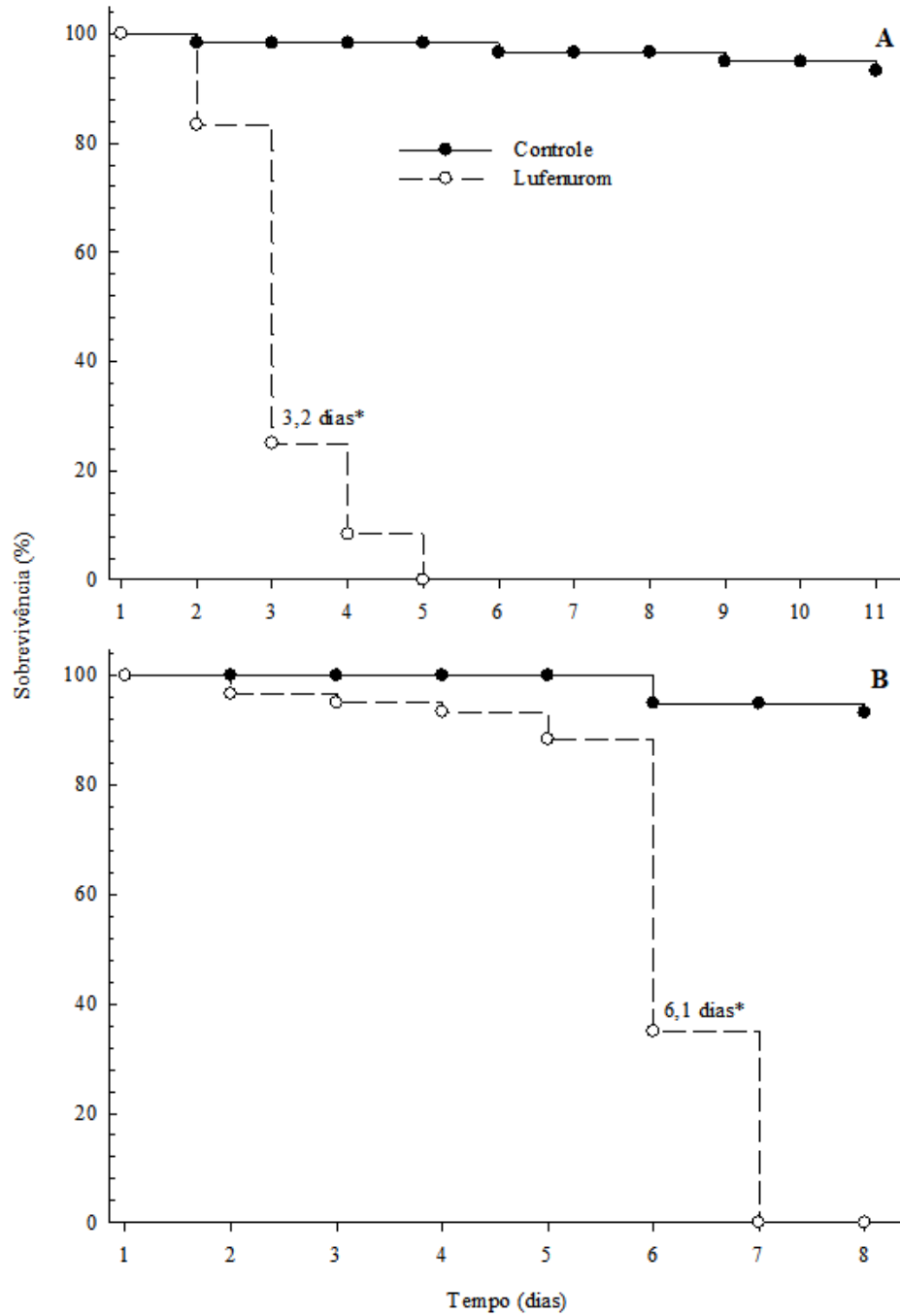


Figura 5. Sobrevivência de ninfas quarto (A) e quinto (B) ínstar de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão não tratadas e tratadas com o inseticida lufenurum. *Tempo médio de sobrevivência estimado para de ninfas tratadas, pelo Proc LifeTest do SAS.

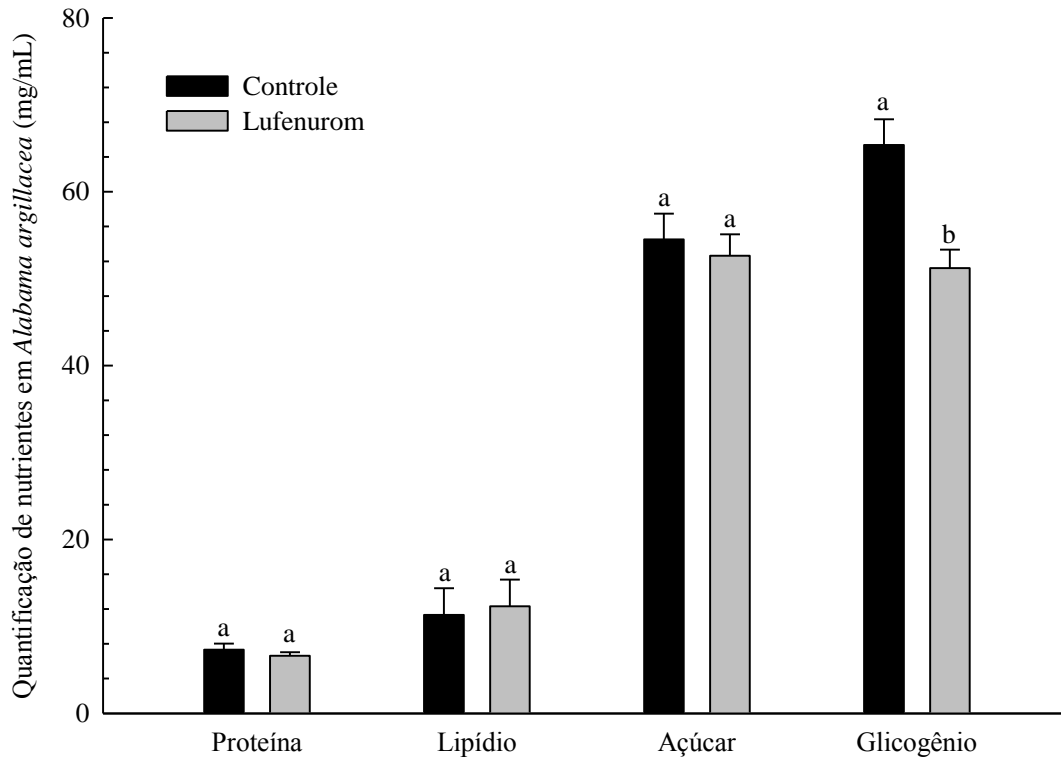


Figura 6. Quantidade de nutrientes (média \pm EP) de lagartas de *Alabama argillacea* alimentadas com folhas de algodão tratadas e não tratadas com o inseticida lufenurom. Barras seguidas por letras diferentes diferem significativamente pelo teste t ao nível de 5% de significância.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ninfas de *Podisus nigrispinus* alimentadas com *Alabama argillacea* e suplementadas em folhas de algodão apresentaram maior teor de proteína, açúcar e glicogênio e maior peso quando comparadas àquelas alimentadas apenas com presas. Pelos resultados obtidos, pode-se inferir que a fitofagia em folhas de algodoeiro representam de fato uma suplementação nutricional, alterando a composição nutricional de ninfas e fornecendo nutrientes que possibilitam a sobrevivência do predador em regime de escassez de presas. A ingestão indireta de lufenurom por ninfas de *P. nigrispinus*, por sua vez, promoveu redução nos teores de lipídio, açúcar e glicogênio em ninfas de quarto ínstar e maior consumo de lagartas de *A. argillacea* tratadas que não tratadas, aumento apenas nos teores de lipídio em ninfas de quinto ínstar do predador, desorganização e descamação celular e lise da camada epitelial no intestino médio, além da mortalidade em ninfas independente do ínstar. Na presa *A. argillacea*, apenas os teores de glicogênio foram afetados pelo lufenurom, sem, no entanto afetar seu peso. Pelos resultados obtidos, concluímos que os parâmetros nutricionais, comportamentais e biológicos de ninfas de *P. nigrispinus* são afetados pela ingestão indireta do inseticida lufenurom. Nossa pesquisa comprova a importância da suplementação de predadores zoofitófagos em plantas, o que torna a fitofagia um comportamento alimentar vantajoso para o predador. Por outro lado, embora inseticidas reguladores de crescimento sejam considerados mais seletivos, a exposição indireta ao lufenurom pode prejudicar processos histofisiológicos, interferindo na composição nutricional, comportamento alimentar e a sobrevivência de ninfas do predador *P. nigrispinus*.