

203

Circular
TécnicaSete Lagoas, MG
Dezembro, 2014

Autores

Michelle Vilela

Engenheira Agrônoma, D.Sc. em Entomologia, Pós-doutoranda da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, michellevilela@live.com

Simone Martins Mendes

Engenheira Agrônoma, D.Sc. em Entomologia, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, simone.mendes@embrapa.br

Fernando Hercos Valicente

Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Entomologia (Genética Molecular), Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, fernando.valicente@embrapa.br

Samantha S. de Sousa Carvalho

Graduanda em Ciências Biológicas - Centro Universitário de Sete Lagoas-UNIFEMM, Estagiária Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, samanthastefannie@hotmail.com

Alice Emanuele dos Santos

Graduanda em Ciências Biológicas - Centro Universitário de Sete Lagoas-UNIFEMM, Estagiária Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, alice.emanuele@hotmail.com

Christiane Almeida dos Santos

Licenciada em Ciências Biológicas

Octávio Gabryel Araújo

Graduado em Ciências Biológicas, Mestrando em Entomologia Universidade Federal de Lavras, araujo.octavio.ento@gmail.com

Tatiane A. Nascimento Barbosa

Licenciada em Ciências Biológicas, Sete Lagoas, MG, taty71@hotmail.com

Eduardo Alexandre Rezende de Carvalho

Graduando Engenharia Agrônoma - Universidade Federal de São João Del Rey-UFSJ- Campus Sete Lagoas, Estagiário Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, eduardoalexandre12@hotmail.com

Victor Hugo Duarte da Costa

Engenheiro Agrônomo, mestrando em produção vegetal pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, victorhugodc@yahoo.com.br

Embrapa

Metodologia para Criação e Manutenção de *Helicoverpa armigera* em Laboratório

Introdução



Helicoverpa armigera (Hubner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga recém-identificada no Brasil. Sua presença foi constatada por meio de coletas feitas no Oeste da Bahia em janeiro de 2013, em lavouras de algodão, soja e milho e relatada por meio de laudo de oficialização emitido pela Embrapa Cerrados ao

Ministério da Agricultura em 22 de março de 2013. Até então, ocupava o *status* de praga quarentenária A1 (IN 52, de 20 do novembro de 2007), no entanto, há indícios de que essa espécie já estava presente no país com base em amostras recolhidas pela equipe da Embrapa Soja no Mato Grosso, Distrito Federal e Paraná (SPECHT et al., 2013).

Esse inseto, cuja presença ainda não havia sido relatada nas Américas, é uma das principais pragas polífagas das culturas agrícolas na África, Oceania, Ásia e Europa. As lagartas se alimentam em todos os estádios de desenvolvimento das plantas, tanto nas estruturas reprodutivas como nas vegetativas, sendo identificadas se alimentando das estruturas de maior valor econômico (LIMA et al., 2006; CZEPAK et al., 2013b).

Os adultos apresentam grande capacidade de dispersão e adaptação em diversas plantas hospedeiras, e existem relatos de larvas se alimentando em mais de 180 espécies vegetais. Tem sido observada lagarta causando danos em botões florais, flores e maçãs do algodoeiro, bem como em frutos verdes e maduros do tomateiro, grãos de milho em formação e de plântulas e estruturas reprodutivas da soja (CZEPAK et al., 2013b).

Em algodão, são encontradas causando dano em todas as fases de crescimento, mas a maçã é a estrutura preferida. O dano causado nas maçãs do algodoeiro pode causar queda delas e servir de entrada para fungos secundários. Lagartas grandes (mais de 24 mm), de quinto e sexto instares, são mais prejudiciais, uma vez que consomem cerca de 50% de sua dieta nesse estágio de desenvolvimento, o que implica a necessidade de controlar as larvas ainda pequenas (menos de 7 mm) (CRUZ, 2013).

No Brasil, *H. armigera* foi encontrada causando grandes problemas em diversas lavouras e, em função da sua alta capacidade de dispersão e aptidão para desenvolver-se em vários hospedeiros, tem alto potencial de dano econômico (CZEPAK et al., 2013a; SPECHT et al., 2013; LIU et

al., 2004). Foram detectados surtos também em soja, tomate, feijão comum, caupi, milho e sorgo, com relatos de ataques em pimentão, café e citros, dentre outras plantas (ENTENDENDO..., 2014). A ocorrência dessa praga no país foi uma questão que causou mobilização dos vários setores do agronegócio na busca por formas sustentáveis de manejo (ÁVILA, et al., 2013; AÇÕES... 2013).

O manejo desse inseto ainda encontra-se em fase de estabelecimento (CZEPAK et al., 2013a). Para isso, é imprescindível elaborar um programa de controle, sustentado nos conhecimentos de biologia e em medidas de manejo integrado de pragas nas condições brasileiras. Portanto, um ponto inicial para viabilizar os estudos e testes com este inseto-praga é o estabelecimento da criação e manutenção de *H. armigera* em laboratório. Assim, esse trabalho relata a experiência obtida com a criação dessa espécie em laboratórios da Embrapa Milho e Sorgo.

Metodologia de Criação

A metodologia de criação de *H. armigera* utilizada nos Laboratórios de Entomologia da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG, foi adaptada daquela existente para criação de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera:Noctuidae), utilizada na mesma Unidade, e de experiências relacionadas por Giolo et al. (2006), Parra (2001), Garcia et al. (2006) para criação de *H. zea*.

Estabelecimento da Colônia de *H. armigera* em Laboratório

Para o estabelecimento das colônias de *H. armigera* em laboratório, é necessário um número inicial em torno de 300 indivíduos. Assim, durante as coletas em campo deve-se considerar a mortalidade natural causada por fatores bióticos, para calcular o número inicial de insetos.

Condições do Ambiente de Criação

A criação deve ser feita em ambiente controlado. De acordo com Kurbanetal (2007), *H. armigera* pode ter diapausa facultativa em temperaturas em torno de 20 °C. Ainda segundo esse autor, fotoperíodos curtos também podem induzir diapausa. Contudo, o principal fator é temperatura baixa. Assim, a criação deve ser mantida em salas com ambiente controlado e temperatura de 27 (± 2 °C), umidade relativa de 50 ($\pm 10\%$) e fotofase de 12 horas, para fase larval. Para os adultos, umidade relativa deve ser mais alta ($70 \pm 10\%$).

A Criação de *H. armigera*

Fase Jovem (Lagartas)

As lagartas recém-eclodidas são repicadas em uma quantidade de 10 indivíduos em cada copo plástico de 50,0 mL contendo dieta artificial (Tabela 1) (Figura 1a), para a alimentação do inseto na fase jovem. Os copos são fechados com tampas de acrílico e colocados em suportes de isopor com furos apropriados (Figura 1b), onde ficam durante uma semana até a sua individualização em coletor universal (50 mL). A individualização e transferência para copos mais resistentes fazem-se necessárias em razão do alto canibalismo dessa espécie e também por sua voracidade, podendo inclusive furar o copo plástico. Após esta etapa, as lagartas são mantidas no recipiente até fase de pupa e posterior emergência dos adultos (Figura 2), quando estes são retirados dos coletores e colocados nas gaiolas (Figura 3).

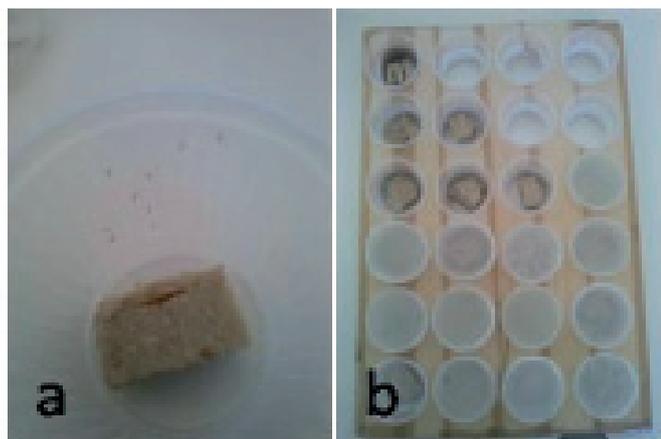


Figura 1. a) Copo plástico com dieta artificial e 10 lagartas recém-eclodidas de *Helicoverpa armigera*. b) Suporte de isopor com copos de plástico.



Figura 2. a) Copos plásticos resistentes com dieta artificial, esquerda com pupa e direita com lagarta de *Helicoverpa armigera*. b) Bandeja de plástico com vários copos de plásticos resistentes.

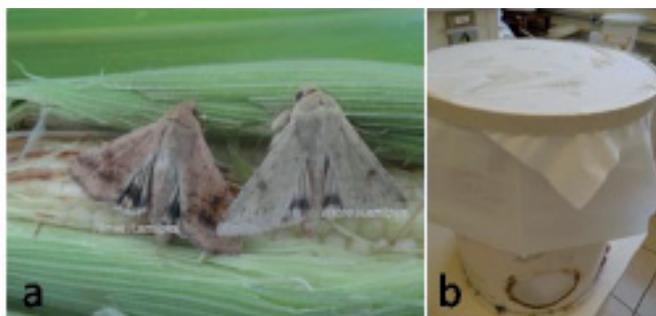


Figura 3. a) Adultos de *Helicoverpa armigera*. b) Gaiola utilizada em criação de Lepidópteros.

Dieta Artificial

Para o preparo da dieta artificial (Tabela 1), devem-se seguir os seguintes passos:

1- Feijão deve ser cozido em pressão por 20 a 25 minutos; em seguida, devem ser separados e pesados os demais ingredientes (Figura 4);

Tabela 1. Ingredientes (gramas ou mililitros) utilizados na fabricação de dieta artificial para alimentação de lagartas (fase jovem) de *Helicoverpa armigera* em laboratório

Ingredientes sólidos (G)	1 Forma pequena (24,5 x 15,5 x 3 cm Volume 1,2 L)	2 Formas grandes (25,5 x 39 x 3 cm Volume 2,5 L)
	Feijão branco	75,00
Germe de Trigo	60,00	329,6
Farelo de Soja	30,00	164,0
Leite em pó	30,00	124,0
Levedura de Cerveja	37,50	206,0
Ácido Ascórbico	3,60	19,6
Ácido Sórbico	1,80	10,0
Metilparahidroxibenzoato (Nipagin®)	3,00	23,2
Tetraciclina	0,12	0,40
Ágar	23,00	76,0
Ingredientes líquidos (mL)		
Solução Vitamínica	9,0	32,0
Formaldeído	3,60	20,0
Inibidor de Fungos	3,00	24,0

2- Deixar duas bandejas de alumínio esterilizando em estufa a 75 °C;

3- Preparar inibidor de fungos (Figura 5). Utilizar máscara e luvas para o preparo do inibidor (Tabela 2);

4- Colocar a água, depois os dois ácidos, e misturar;

5- Colocar a solução em recipiente de vidro, vedar, identificar e guardar na geladeira (Figura 9). Essa solução tem a validade de 30 dias;



Figura 4. Ingredientes utilizados para o preparo da dieta artificial de *Helicoverpa armigera*.

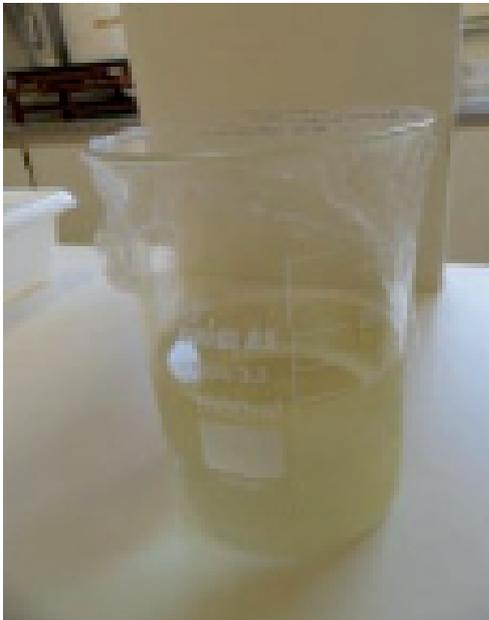


Figura 5. Inibidor de fungos.

Tabela 2. Ingredientes (mililitros) utilizados na fabricação do inibidor de fungos utilizado como ingrediente da dieta artificial para alimentação de lagartas (fase jovem) de *Helicoverpa armigera* em laboratório

Ingredientes líquidos	Quantidade (mL)
Ácido Propiônico	41,8
Ácido Fosfórico	4,2
Água	54

6- Após cozido, separar o feijão do caldo;

7- Adicionar água ao caldo até completar 3 litros de líquido; 8- Cozinhar o ágar nos 3 litros de líquido, em fogão ou em forno micro-ondas;

9- Colocar o feijão no liquidificador e acrescentar 1 litro de água para bater;

10- Adicionar os ingredientes sólidos e o ágar cozido, aos poucos, no liquidificador;

11- Adicionar o formaldeído e o inibidor de fungos por último;

12- Retirar as bandejas/formas da estufa com luvas apropriadas e colocar sobre uma bancada que suporte altas temperaturas;

13- Distribuir a dieta nas bandejas (usar máscara) e deixar esfriar. Depois de fria, colocar as bandejas dentro de um plástico (saco de 10 kg), identificando-as com o nome da dieta e guardar na geladeira. Sempre que for utilizar a dieta, retirar o plástico, enxugar o excesso de água com papel toalha e deixar no germicida por no mínimo 25 minutos.

Fase Adulta (Mariposas)

Os adultos são criados em gaiolas para a obtenção de ovos (Figura 3b). As gaiolas podem ser feitas com tubos de PVC (Figura 10) de diferentes diâmetros (dependendo do número de casais que serão colocados em cada gaiola, geralmente 29 cm de diâmetro), cortados em alturas que sejam apropriadas para a manutenção e acomodação delas no laboratório (geralmente em torno de 40 cm). As gaiolas devem ser tampadas, na parte superior e inferior, de forma que possam ser abertas para a retirada dos ovos e higienização.

As gaiolas são forradas com guardanapos de papel que servem como substrato de oviposição. São colocados dentro das gaiolas, copos de plástico de 50,0 mL contendo dieta líquida (Tabela 3), para a alimentação das mariposas (Figura 6). A dieta dos adultos é oferecida por capilaridade em copos tampados

com tampas acrílicas com orifício no centro onde é colocado rolo dental de algodão hidrofóbico. O preparo da dieta é realizado com a simples mistura dos ingredientes (Tabela 3).

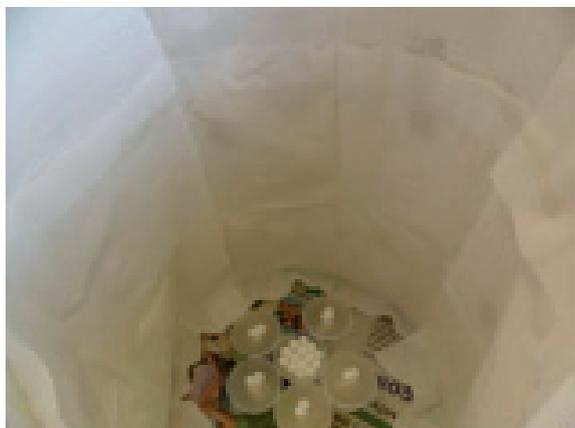


Figura 6. Gaiola para criação de adultos de *Helicoverpa armigera*, forrada com guardanapo de papel e ao fundo recipientes com dieta líquida.

As gaiolas devem ser acondicionadas em sala climatizada de forma a manter a temperatura em 26 ± 2 °C, fotofase de 12 horas e umidade relativa do ar de $70 \pm 10\%$, por quatro dias.

Os guardanapos, contendo as posturas (Figura 7a), serão retirados das gaiolas e acondicionados em sacos plásticos fechados (Figura 7b) em sala climatizada até a eclosão das larvas, em aproximadamente dois dias.

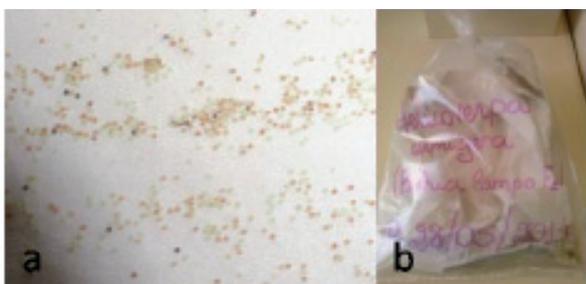


Figura 7. a) Postura de *Helicoverpa armigera*. b) Posturas acondicionadas em saco plástico.

Dieta Líquida

Para o preparo da dieta líquida oferecida para os adultos, deve-se separar (Tabela 3) e misturar todos os ingredientes em um Becker e depois colocar em um recipiente de vidro,

vedar bem, identificar e guardar na geladeira. Essa solução tem a validade de 7 dias.

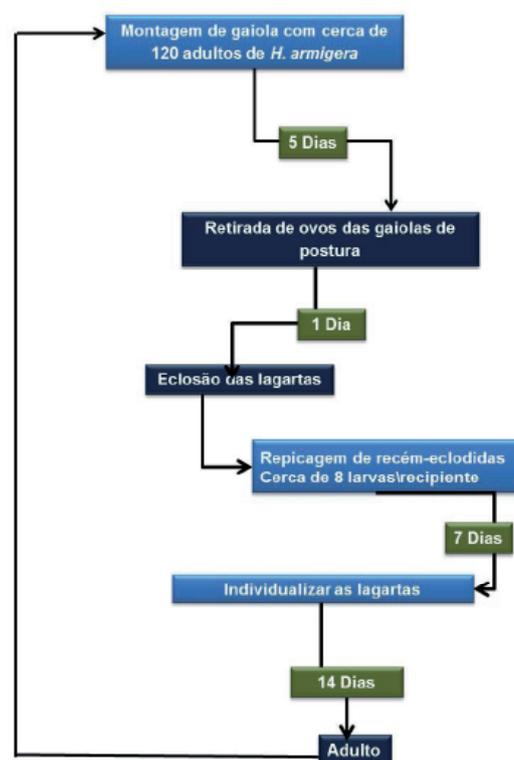
Tabela 3. Ingredientes utilizados na fabricação da dieta líquida para alimentação das mariposas de *Helicoverpa armigera* em laboratório

Ingredientes	Quantidade
Água destilada	1 L
Ácido ascórbico	1 g
Açúcar	25 g

Fluxograma e Ciclo de vida

Cada etapa do ciclo de desenvolvimento de *H. armigera* está apresentada no fluxograma a seguir e requer cuidados específicos. Sob essas condições de criação, foi possível manter em laboratório 12 gerações do inseto, sendo que após esse período a criação entrou em declínio.

Fluxograma de criação de *Helicoverpa armigera* em laboratório



Agradecimentos

Aos laboratoristas Osmar S. de Souza, Celso G. Vieira e Eustáquio Francisco de Souza, pela dedicação na criação desses insetos, e à Fapemig, pelo aporte financeiro na condução da criação.

Referências

- AÇÕES emergenciais propostas pela Embrapa para o manejo integrado de *Helicoverpa* spp. em áreas agrícolas. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/alerta-helicoverpa/Manejo-Helicoverpa.pdf>>. Acesso em: 4 out. 2013.
- ÁVILA, C. J.; VIVAN, L. M.; TOMQUELSKI, G. V. **Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) e nos sistemas de produção agrícolas.** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. (Embrapa Agropecuária Oeste. Circular Técnica, 23). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/90758/1/CT201323-cpao.pdf>>. Acesso em: 7 ago. 2013.
- CRUZ, I. Desafio complexo. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 15, n. 168, p. 4-11, maio 2013. Encarte. Caderno Técnico: Milho.
- CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHÃES, P. C. (Ed.). **A cultura do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 517 p.
- CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K. C.; VIVAN, L. M.; GUIMARÃES, H. O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013a.
- CZEPAK, C.; VIVAN, L. M.; ALBERNAZ, K. C. Praga da vez. **Cultivar: grandes culturas**, Pelotas, ano 15, n. 167, p. 20-27, abr. 2013b.
- ENTENDENDO a *Helicoverpa*. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/helicoverpa/entendendo.html>>. Acesso em: 15 maio 2014.
- GARCIA, M. S.; BUSATO, G. R.; ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A. M.; GIORGI, F.; BERNARDI, D. Volume de dieta artificial em recipientes de vidro para criação de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 1-4, jun. 2006.
- GIOLO, F. P.; BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; MANZONI, C. G.; BERNADI, O.; ART, M. Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p.167-171, 2006.
- KURBAN, H. A.; YOSHIDA, Y. I.; SONODA, S.; TSUMUKI, H. Pupal diapause of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): sensitive stage for thermal induction in the Okayama (western Japan) population. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 97, p. 219-223, 2007.
- LIMA, L. H. C.; QUEIRÓZ, P. R.; OLIVEIRA, M. R. V. **Caracterização por meio de RAPD-PCR de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808) (Lepidoptera, Noctuidae), proveniente de Burkina Faso.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 36 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Documentos, 143).
- LIU, Z.; LI, D.; GONG, P.; WU, K. Life table studies of the Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hbner) (Lepidoptera Noctuidae), on different hos plants. **Environmental Entomology**, College Park, v. 33, n. 6, p. 1570-1576, 2004.
- SPECHT, A.; GOMEZ, D. R. S.; PAULA-MORAES, S. V. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera*

(Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 6, p. 689-692, 2013.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos paraprogramas de controle ciológico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134 p.

THOMAZONI, D.; SORIA, M. F.; PEREIRA, E. J. G.; DEGRANDE, P. E. **Helicoverpa armigera**: perigo iminente aos cultivos de algodão, soja e milho do estado de Mato Grosso. [Cuiabá]: IMAmt, 2013. (IMAmt. Circular técnica, 5).

Circular Técnica, 203

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rod. MG 424 km 45 Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027 1100
Fax: (31) 3027 1188
E-mail: cnpms.sac@embrapa.br
1ª edição
1ª impressão (2014): on line

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê de publicações

Presidente: Presidente: Sidney Netto Parentoni.
Secretário-Executivo: *Elena Charlotte Landau.*
Membros: *Dagma Dionísia da Silva, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro, Monica Matoso Campanha, Maria Marta Pastina, Rosângela Lacerda de Castro e Antonio Claudio da Silva Barros.*

Expediente

Revisão de texto: *Antonio Claudio da Silva Barros.*
Normalização bibliográfica: *Rosângela Lacerda de Castro.*
Tratamento das ilustrações: *Tânia Mara A. Barbosa.*
Editoração eletrônica: *Tânia Mara A. Barbosa.*