

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Distribuição Espacial e Amostragem Sequencial de Insetos de Importância Econômica
para o Cultivo de Milho

Thiago Alexandre Mota

Dourados-MS
Maio 2014

Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais
Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Thiago Alexandre Mota

Distribuição Espacial e Amostragem Sequencial de Insetos de Importância Econômica
para o Cultivo de Milho

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Orientador: Marcos Gino Fernandes

Dourados-MS
Maio 2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil**

M917d Mota, Thiago Alexandre.
Distribuição espacial e amostragem sequencial de insetos de importância econômica para o cultivo de milho / Thiago Alexandre Mota – Dourados-MS : UFGD, 2014. 106 f.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes.
Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) Universidade Federal da Grande Dourados

1. Milho – Cultivo. 2. Pragas agrícolas. I. Fernandes, Marcos Gino. II. Título.

CDD: 635.67

“DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E AMOSTRAGEM SEQUENCIAL DE INSETOS
DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA PARA O CULTIVO DE MILHO”

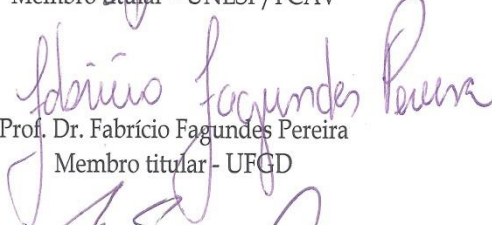
Por

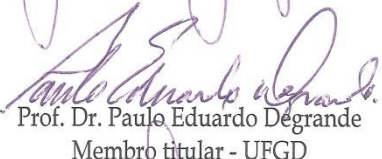
THIAGO ALEXANDRE MOTA


Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação


Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes
Orientador - UFGD


Prof. Dr. Antonio Carlos Busoli
Membro titular - UNESP/FCAV


Prof. Dr. Fabrício Fagundes Pereira
Membro titular - UFGD


Prof. Dr. Paulo Eduardo Degrande
Membro titular - UFGD


Prof. Dr. Rosilda Mara Mussury Franco Silva
Membro suplente - UFGD

Aprovada em: 07 de maio de 2014.

Biografia do Acadêmico

Thiago Alexandre Mota, nascido em nove de março de mil novecentos e oitenta e seis, natural de Dourados, Estado de Mato Grosso do Sul, possui graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura) pela Universidade Federal da Grande Dourados, onde foi bolsista de iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Ingressou no Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade na mesma Universidade, realizando trabalhos com insetos de importância econômica em algodoeiro, e com bolsa da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (Fundect), obteve o título de mestre em 2011. Neste mesmo ano, ingressou no Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, trabalhando com distribuição espacial e amostragem sequencial de insetos de importância agrícola em milho. Foi bolsista de doutorado do CNPq e representante discente da turma de Doutorado no conselho da pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade por três anos 2011-2012; 2012-2013; 2013-2014.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por todas as oportunidades que me ocorreram e por tudo em minha vida, os quais sem fé não conseguiria completar essa etapa.

A Universidade Federal da Grande Dourados, principalmente através da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pela oportunidade de desenvolver meu trabalho e por ser minha segunda casa nesses nove anos de formação.

Ao Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes, exemplo de profissional, pela amizade e aprendizado e incentivo e paciência, o qual me deu oportunidade de ser seu orientado e com quem aprendi muito.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Aos servidores da UFGD, pela colaboração para a realização do presente trabalho.

A Fundação MS, especialmente ao Dr. André Luis Faleiros Lourenção pela colaboração em ceder as áreas experimentais.

A minha equipe de campo Éder Alcebiades Alegre, Maria Freire de Sousa e Elison Floriano Tiago.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade por colaborarem com minha formação especialmente Dr. Fabrício Fagundes Pereira, Dr. Valter Vieira Alves Júnior, Dr. Manoel Araécio Uchôa-Fernandes, Dr. Crébio José Ávila, Dr. Paulo Eduardo Degrande e Dr. Harley Nonato de Oliveira.

Aos pesquisadores Silvana Paula-Moraes da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (Embrapa), Erick Burkness (University of Minnesota) e Steven Naranjo United States Department of Agriculture (USDA) pela ajuda e paciência em esclarecer algumas dúvidas.

Aos colegas da Entomologia pela amizade, Samir Oliveira Kassab, Camila Rossoni, Antônio de Souza Silva, Rogério Hidalgo Barbosa, Márcio Marinho Carneiro, Paulo Rogério Beltramim da Fonseca, Jean Carlo de Quadros, Carla Cristina Dutra, Patricia Bellon, Wagner Justiniano, Isaías de Oliveira, Gilmar Vieira Coutinho, Dhemes Fliver Ramos, Magda Freitas Fernandes.

A minha namorada Suzana Targanski Sajovic Pereira, por todo amor carinho e paciência comigo nesses anos de doutorado e por me fazer feliz, tenho certeza que sem você, sua ajuda e compreensão em todos os momentos, tudo seria muito mais difícil.

SUMÁRIO

1. Resumo Geral.....	12
2. Revisão Bibliográfica.....	13
2.1 Milho e Plantas Geneticamente Modificadas.....	13
2.2 Distribuição Espacial de Insetos.....	15
2.3 Plano de Amostragem Sequencial.....	20
2.4 Referências Bibliográficas.....	23
Manuscrito 1. Distribuição Espacial e Amostragem Sequencial de Plantas Atacadas por <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho.....	26
Manuscrito 2. Distribuição Espacial de <i>Diabrotica speciosa</i> (Coleoptera: Chrysomelidae) em Cultivos de Milho.....	46
Manuscrito 3. Distribuição Espacial de <i>Dichelops melacanthus</i> (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) em Cultivos de Milho.....	63
Manuscrito 4. Plano de Amostragem Sequencial de <i>Dichelops melacanthus</i> (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) em Milho.....	81
Manuscrito 5. O milho <i>Bt</i> altera a distribuição espacial do predador <i>Cycloneda sanguinea</i> (L.) (Coleoptera: Coccinellidae)?.....	94
Anexos.....	106

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1.

Tabela I. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para *Spodoptera frugiperda* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho DKB 177 2012 and 2013.....42

Tabela II, Teste de qui-quadrado para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (Poisson, Binomial negativa) em milho DKB 177, 2012 e 2013.....43

Capítulo 2.

Tabela I. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Diabrotica speciosa* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho *Bt* DKB 350 PRO 2012 e 2013.....59

Tabela 2. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Diabrotica speciosa* por unidade amostral e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho não-*Bt* DKB 177 2012 e 2013.....60

Tabela 3 Teste de qui-quadrado (χ^2) para adultos de *Diabrotica speciosa* (Poisson, Binomial Negativa e Binomial Positiva) em milho DKB 350PRO (*Bt*).....61

Tabela 4 Teste de qui-quadrado (χ^2) para adultos de *Diabrotica speciosa* (Poisson, Binomial Negativa e Binomial Positiva) em milho DKB 177 (não-*Bt*).....62

Capítulo 3.

Tabela I. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Dichelops melacanthus* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho 2012.....76

Tabela II. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Dichelops melacanthus* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho 2013.....77

Tabela 3. Teste de qui-quadrado (χ^2) para ninfas, adultos e total de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) (Poisson) em cultivares de milho, 2012 e 2013.....78

Tabela 4. Teste de qui-quadrado (χ^2) para ninfas, adultos e total de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) (Binomial Negativa) em cultivares de milho, 2012 e 2013.....79

Tabela 5. Teste de qui-quadrado (χ^2) para ninfas, adultos e total de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) (Binomial Positiva) em cultivares de milho, 2012 e 2013.....80

Capítulo 4.

Tabela I. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Cycloneda sanguinea* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho.....104

Tabela 2 Teste de qui-quadrado (χ^2) para adultos de *Cycloneda sanguinea* (Poisson, Binomial Negativa) em milho.....105

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1.

Figura 1. Linhas de decisão do plano de amostragem sequencial para o número de plantas infestadas com *Spodoptera frugiperda* com base na distribuição binomial negativa.....44

Figura 2. Curva característica de operação do teste sequencial da razão de probabilidade para o total de plantas com a presença de *Spodoptera frugiperda*.....44

Figura 3. Curva do tamanho esperado de unidades amostrais $E_p(n)$ do teste sequencial da razão de probabilidade para plantas infestadas com *Spodoptera frugiperda*.....45

Capítulo 5.

Figura 1. Linhas de decisão do plano de amostragem sequencial para o número de adultos de *Dichelops melacanthus* com base na distribuição binomial negativa.....92

Figura 2. Curva característica de operação do teste sequencial da razão de probabilidade para o total de adultos de *Dichelops melacanthus*.....92

Figura 3. Curva do tamanho esperado de unidades amostrais $E_p(n)$ do teste sequencial da razão de probabilidade para adultos de *Dichelops melacanthus*.....93

RESUMO GERAL

A utilização de plantas geneticamente modificadas para resistência a insetos têm destaque, diminuindo aplicações de inseticidas, e conseqüentemente sendo menos impactantes ao meio ambiente. A redução ou ausência das populações de pragas alvo dessa tecnologia, pode alterar o comportamento de populações de insetos não-alvo. Um exemplo é a distribuição espacial desses organismos nos agroecossistemas. Insetos que podem ser danosos para culturas e que não sejam alvos de plantas resistentes necessitam ser manejados quando seus níveis populacionais excedem os níveis de segurança, caracterizando assim, os níveis de ação. A utilização racional de inseticidas e o conhecimento dos níveis populacionais para tomada de decisão fazem parte da filosofia que caracteriza o Manejo Integrado de Praga (MIP). As decisões de manejar ou não uma população praga dependem da correta amostragem no campo, porém ressalta-se que métodos de amostragem que sejam rápidos confiáveis e pouco onerosos para o agricultor são mais desejados. Nesse sentido, a amostragem sequencial oferece vantagens por conter todos esses requisitos em comparação aos planos de amostragens convencionais. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi analisar a distribuição espacial e construir um novo plano de amostragem sequencial binomial para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) em milho. Foi analisado também possíveis mudanças na distribuição espacial devido ao uso do milho *Bt* de uma praga não-alvo *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) e de um importante inimigo natural, também não alvo do milho-*Bt* *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae).

Palavras-chave: *Zea mays*, tomada de decisão, milho *Bt*, binomial.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Milho e Plantas Geneticamente Modificadas

Um das mais importantes fontes de alimento humano, animal e como matéria-prima na indústria de alimentos no mundo, a cultura do milho *Zea mays* L., é cultivada no Brasil em grande escala e em praticamente todo o território, com área em torno de 15 milhões de hectares (Conab, 2013). Porém, problemas fitossanitários como a incidência de pragas pode comprometer o rendimento e a qualidade da produção, causando prejuízos, com impactos econômicos significativos (Fernandes, 2003).

O complexo de pragas do milho é bastante extenso, podendo destacar a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Bod., 1850); o percevejo-do-milho *Leptoglossus zonatus* (Dallas, 1852); a larva alfinete *Diabrotica speciosa* (Germ., 1824) e a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith 1794), sendo esta última a principal praga desta cultura, tendo preferência por cartuchos de plantas jovens podendo ocasionar perdas anuais superiores a 400 milhões de dólares (Cruz, 1999).. No Brasil seu controle, baseia-se principalmente na utilização de milho *Bt* com cerca de 44,4% na área de verão e 75% na safrinha (Mendes et al., 2005).

O desenvolvimento de variedades geneticamente modificadas que apresentam resistência ao ataque de determinados insetos-praga, surgiu como uma ferramenta para a aplicação de inseticidas (Nunes, 2010). Devido à evolução de técnicas biotecnológicas, genes da bactéria Gram positiva *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), estão sendo introduzidos em plantas de milho, conferindo a estas plantas efetivo controle de lagartas. No Brasil, o milho *Bt* comercializado é efetivo contra danos e infestações de *S. frugiperda* (Fernandes et al., 2003a; Walquil et al., 2013).

Depois da soja, o milho é a segunda cultura geneticamente modificada mais cultivada no mundo, com área global de 39 milhões de hectares em 2011 (James, 2012).

Assim, a utilização de plantas de milho *Bt* expressando o grupo de proteínas cristais Cry é uma importante ferramenta para o Manejo Integrado de Pragas (MIP). Apesar dos potenciais benefícios da utilização das modificações genéticas em plantas transgênicas, para o futuro da agricultura, estas ainda são questionadas devido seus possíveis riscos (Bruinsma et al., 2003).

O Manejo Integrado de Pragas, quando desenvolvido no seu maior grau de integração de táticas de controle, caracteriza-se em alterar o meio ambiente o mínimo possível. Desta forma, para qualquer agroecossistema, a amostragem rápida e eficiente de populações de insetos e inimigos naturais é fundamental para que o MIP seja alcançado de forma correta (Fernandes et al., 2003b). Segundo Giles et al. (2000), o estabelecimento de um plano confiável de amostragem, depende do conhecimento da distribuição espacial dos indivíduos de uma população de espécie praga na área da cultura.

Ainda não se sabe, com exatidão, como as plantas geneticamente modificadas afetam as populações de organismos que se inter-relacionam em um agroecossistema. Neste sentido, o conhecimento da possível alteração na forma da disposição espacial de insetos pragas e/ou benéficos, é extremamente importante, pois pode alterar o método de amostragem dessas espécies na cultura, além da sua forma de controle (Rodrigues et al., 2010).

O Brasil é o país tropical com maior importância no cenário agrícola mundial. Essa posição foi conquistada com muitos anos de pesquisa voltada para um melhor aproveitamento das suas vantagens naturais: clima tropical e subtropical, cerrados e germoplasma selecionado e adaptado de grande variabilidade (Da Silveira et al., 2005). Algumas linhagens de *Bt* produzem proteínas capazes de matar certos insetos. Estas proteínas são ingredientes ativos dos inseticidas biológicos à base de *Bt*, que são usados

há muitos anos (exemplos comerciais: Dipel[®], Xentari[®], Javlin[®], Foray[®], M-one[®], Vip[®]) (Schnepf et al., 1998; Icoz & Stotzky, 2007).

O uso de culturas *Bt* pode ter um impacto positivo na biodiversidade, pois as reduções de pulverizações podem permitir a sobrevivência de insetos benéficos (Mcwhorter, 1998). Monitoramentos realizados nos campos de culturas *Bt* nos EUA desde sua liberação comercial têm demonstrado que a densidade populacional e biodiversidade de insetos em campos de milho *Bt* têm sido significativamente maiores do que em campos tratados com inseticidas (Mcgloughlin, 1999; Pray & Ma, 2001).

Os benefícios dos cultivos *Bt* em relação aos cultivos convencionais, incluem a redução no uso de inseticidas químicos para controle de pragas, conservação de inimigos naturais e aumento de produção promovendo benefícios à saúde humana e ao meio-ambiente (Shelton et al., 2002; Naranjo, 2005; Huang et al 2005; Cattaneo et al., 2006), sendo os primeiros dez anos de cultivo de algodão *Bt* (1996-2006), responsáveis por reduções de 22,9 % de aplicações de inseticidas nesta cultura mundialmente (Brookes & Barfoot, 2008).

2.2 Distribuição Espacial de Insetos

Para que o padrão do arranjo espacial de indivíduos de uma população de insetos numa área de cultivo seja conhecido, é necessário que se tenha dados de contagem de indivíduos em amostras representativas desta área. Esses dados de contagem, de acordo com Young & Young (1998), podem ser utilizadas para inferir sobre a forma de distribuição espacial da população considerada. Para a descrição das formas de distribuição de uma população utilizam-se os índices de agregação e as distribuições de frequências.

Índices Razão Variância/Média: esta razão (I) é um índice que serve para medir o desvio de um arranjo dos dados da aleatoriedade. Para este índice, os valores em torno de um indicam disposição espacial ao acaso ou aleatória, valores menores que

um indicam disposição espacial regular ou uniforme, e os valores significativamente maiores que um representam disposição agregada ou contagiosa (Rabinovich, 1980). As limitações desse índice, segundo Southwood (1966), residem na influência do tamanho da unidade amostral sobre a quantidade de indivíduos observados, sendo extremamente afetados nas disposições de contágio. Esse índice é estimado através de:

$$I = \frac{s^2}{m}$$

onde: s^2 = variância amostral e m = média amostral.

O teste de afastamento da aleatoriedade consiste em rejeitar a aleatoriedade se:

$$\chi^2 = I \cdot (N-1)$$

sendo,

I = valor do índice de dispersão I ;

N – número total de unidades amostrais.

Com $N-1$ graus de liberdade, compara-se o valor do qui-quadrado calculado (χ^2) com o qui-quadrado tabelado (X^2) e não rejeita-se a aleatoriedade ($I = 1$) se:

$$\chi^2_{(N-1 \text{ gl}; \alpha = 0,025)} > X^2 > \chi^2_{(N-1 \text{ gl}; \alpha = 0,975)}$$

Índice de Morisita: o índice de Morisita ($I\delta$) é relativamente independente da média e do número de amostras. Quando $I\delta = 1$ a distribuição é ao acaso; quando $I\delta > 1$ a distribuição é do tipo contagiosa e quando $I\delta < 1$ indica uma distribuição regular (Silveira Neto et al., 1976).

A limitação do índice de Morisita reside no fato de que este é demasiadamente influenciado pelo tamanho da amostra (N) (Barbosa, 1982), tornando-se necessário, para sua utilização segura, que o número de unidades amostrais seja o mesmo em todos os campos que estejam sendo comparados (Mesina, 1986). É dado por:

$$I_{\delta} = N \frac{(\sum_{i=1}^N x_i^2 - \sum_{i=1}^N x_i)}{(\sum_{i=1}^N x_i)^2 - \sum_{i=1}^N x_i}$$

onde: N = tamanho da amostra e x_i = número de insetos na i-ésima unidade amostral.

O teste de aleatoriedade é calculado por:

$$\chi_{\delta}^2 = I_{\delta} (\sum_{i=0}^n x_i - 1) + N - \sum_{i=0}^n x_i$$

I_{δ} = valor do índice de Morisita;

N = tamanho da amostra;

X_i = número de insetos na i-ésima unidade amostral.

Quando $\chi_{\delta}^2 \geq \chi_{(N-1)gl, \alpha=0.005}^2$, rejeita-se a aleatoriedade.

Expoente k da Distribuição Binomial Negativa: o expoente k é um índice adequado de dispersão quando o tamanho e os números de unidades amostrais são os mesmos em cada amostra, sendo, frequentemente influenciado pelo tamanho das unidades amostrais. Este parâmetro é uma medida inversa do grau de agregação, nesse caso os valores negativos indicam uma distribuição regular ou uniforme, os valores positivos, próximos de zero, indicam disposição agregada e os valores superiores a oito indicam uma disposição ao acaso (Southwood 1966; Elliot et al., 1990). Sobre esse aspecto, Poole (1974) utiliza outra interpretação, para ele quando $0 < k < 8$, o índice indica distribuição agregada, e quando $0 < k > 8$ aponta para distribuição aleatória. É calculado pela seguinte expressão:

$$k = \frac{m^2}{(s^2 - m)}$$

onde,

m^2 = média amostral;

s^2 = variância amostral.

Distribuição teórica de frequência:

Distribuição de Poisson: também conhecida como distribuição aleatória, caracteriza-se por apresentar variância igual à média ($s^2 = m$).

$$P(0) = e^{-m}$$

e

$$P(x) = \frac{m}{x} \cdot P(x-1)$$

onde,

X= classes 1,2,3...

e= base do logaritmo neperiano ($e= 2,718282...$)

$P(x)$ = probabilidade de encontrar x indivíduos na amostra

m = média amostral

Distribuição Binomial Negativa: apresenta variância maior que a média, indicando, assim, distribuição agregada, além de possuir dois parâmetros: a média (m) e o parâmetro k ($k > 0$).

$$P(0) = \left(1 + \frac{m}{k}\right)^{-k}$$

$$P(x) = \frac{k+x-1}{x} \cdot \left(\frac{m}{m+k}\right) \cdot P(x-1)$$

para $x = 1, 2, 3, \dots$

Distribuição Binomial Positiva: caracteriza-se por apresentar variância menor que a média ($s^2 < m$), esse modelo matemático descreve a distribuição regular. Sua função probabilística é:

$$P(x) = \frac{k!}{x!(k-x)!} \cdot p^x \cdot q^{(k-x)}$$

Onde k é um número inteiro e positivo e x é o número de vezes que o evento ocorre. As fórmulas de recorrência para calcular as probabilidades de x ocorrências são:

$$P(0) = q^k$$

e

$$P(x) = \frac{p}{q} \cdot \frac{(k-x+1)}{x} \cdot P(x-1)$$

onde,

$$x = 1, 2, 3, \dots, k$$

p – é a probabilidade de que qualquer espaço seja ocupado por um indivíduo;

q – não ocorrer a presença do indivíduo;

k – tamanho da unidade amostral.

Teste de qui-quadrado de aderência: para a verificação do teste de ajuste dos dados coletados em campo às distribuições teóricas de frequência, utilizou-se o teste qui-quadrado de aderência que compara o total das frequências observadas na área amostral, com as frequências esperadas, de acordo com Young & Young (1998), sendo estas frequências definidas pelo produto das probabilidades de cada classe e o número total de unidades amostrais utilizadas. Para a realização deste teste, optou-se por fixar uma frequência esperada mínima igual à unidade.

$$X^2 = \sum_{i=1}^{nc} \frac{(FO_i - FE_i)^2}{FE_i}$$

onde,

nc = número de classes da distribuição de frequências;

FO_i = frequência observada na i -ésima classe;

FE_i = frequência esperada na i -ésima classe.

$$\chi^2 \geq \chi^2_{(nc-1, \alpha=0.005)},$$

onde,

X^2 = qui-quadrado calculado;

χ^2 = qui-quadrado tabelado;

nc = número de classes da distribuição de frequências;

np = número de parâmetros estimados na amostra.

2.3 Plano de Amostragem Sequencial

Dentre características positivas do Manejo Integrado de Pragas ressalta-se a diminuição da utilização do controle químico. Órgãos governamentais de pesquisa e extensão têm desenvolvido métodos de amostragem convencionais, onde o número ou tamanho da amostra é fixo, sendo o controle químico realizado somente quando se atinge o nível de controle da praga (Bianco, 1995). No entanto, a amostragem seqüencial caracteriza-se por utilizar número de amostras de tamanho variável, ao contrario da amostragem convencional que utiliza número de amostras de tamanho fixo (Barbosa, 1992). A decisão de terminar a amostragem e tomar uma decisão depende, em cada etapa, dos resultados obtidos até então. Em certos casos, a amostragem seqüencial requer, em média, amostras com um terço do tamanho que seria utilizado com a amostragem de tamanho fixo (Wald, 1947).

De acordo com Ruesink & Kogan (1975), três requisitos básicos são necessários para o desenvolvimento de planos de amostragem seqüencial de insetos pelo método de razão de probabilidade: 1º a obtenção de uma função de probabilidades que descreva a distribuição espacial dos insetos; 2º o nível de dano na forma de duas densidades críticas, tais que o dano econômico ocorrerá se a população ultrapassar o limite superior previamente estabelecido, e não ocorrerá dano econômico caso a população permaneça abaixo do limite inferior estabelecido; 3º seleção de níveis máximos de probabilidade de cometer erros na decisão sobre densidades populacionais, ou seja, a probabilidade de predizer uma densidade populacional não prejudicial como sendo prejudicial chamada de erro do tipo I, e a probabilidade de predizer uma densidade prejudicial como sendo não prejudicial chamada de erro do tipo II.

O plano de amostragem sequencial pode ser elaborado com base no Teste Sequencial da Razão de Verossimilhança (TSRV), conforme a metodologia

desenvolvida por Wald (1945). A finalidade do plano é testar com o menor número possível de amostras a hipótese nula (H_0) contra a hipótese alternativa (H_1), com uma específica probabilidade de erro. A hipótese H_0 indica que a população está abaixo do nível de segurança, enquanto a hipótese H_1 indica que a população está acima do nível de controle.

Para o desenvolvimento do plano sequencial são construídas duas linhas de decisão, uma superior e outra inferior, são necessárias para a realização do teste TSRP. Sendo essas duas linhas de decisão paralelas o limitante entre a aplicação ou não do controle, chamadas de S_0 e S_1 são representadas pelos seguintes modelos matemáticos: $S_0 = h_0 + SN$ e $S_1 = h_1 + SN$.

O modelo de distribuição espacial agregado (Binomial Negativo) é dado por:

$$h_0 = \frac{b}{\ln \left[\frac{u_1(u_0 + K)}{u_0(u_1 + K)} \right]}$$

$$h_1 = \frac{a}{\ln \left[\frac{u_1(u_0 + K)}{u_0(u_1 + K)} \right]}$$

$$S = K \frac{\left[\frac{u_1 + K}{u_0 + K} \right]}{\ln \left[\frac{u_1(u_0 + K)}{u_0(u_1 + K)} \right]}$$

onde: $a = \ln \left(\frac{1-\beta}{\alpha} \right)$; $b = \ln \left(\frac{\beta}{1-\alpha} \right)$; u_0 = nível de segurança; u_1 = nível de dano

econômico; α = erro tipo I; β = erro tipo II; k = índice kc (k comum), calculado pelo método proposto por Bliss & Owen (1958), ou seja:

$$\frac{1}{Kc} = \frac{\sum_i w_i, x_i, y_i}{\sum_i w_i, x_i^2}$$

onde: $x_i = \bar{X}_i^2 - \frac{s_i^2}{n_i}$; $y_i^2 - \bar{X}_i$; n_1 = tamanho da amostra; s_i^2 = variância amostral; \bar{X}_i =

média estimada;

$$w_i = \frac{0.5(n_1 - 1)k_c^4}{\bar{X}_1^2 (\bar{X}_i + k_c)^2 \left(k_c (k_c + 1) - \frac{(2k_c - 1)}{n_i} - \frac{3}{n_i^2} \right)}$$

Como a variável w_i envolve o parâmetro desconhecido K_c , o processo de estimação dessa variável deve ser iterativo e uma estimativa inicial do k_c deve ser obtida através de:

$$\frac{1}{k_c} = \frac{\sum_i x_i y_i}{\sum_i x_i^2}$$

A avaliação do TSRV de Wald (1945) é baseada na Curva Característica de Operação CO(p) e na Curva do Tamanho Esperado de unidades Amostras Ep(n).

Portanto após a definição das duas linhas de decisão, é importante determinar as duas funções. A CO(p), sendo a representação gráfica que visa fornecer a probabilidade de terminar a amostragem e não aconselhar o controle para um determinado grau de infestação da lavoura. Essa função emprega uma variável auxiliar h dependente de p. Já A Ep(n) representa o número médio de observações necessárias para tomar a decisão de realizar ou não o controle, e depende de p. As funções utilizadas para a determinação de ambas as curvas, em qualquer tipo de distribuição espacial, são apresentadas por Young & Young (1998):

$$CO(p) = \frac{\frac{(1 - \beta)^h - 1}{\alpha}}{\frac{(1 - \beta)}{\alpha} - \frac{(\beta)^h}{1 - \alpha}}$$

$$E_p(n) = \frac{CO(p)(h_0 - h_1) + h_1}{p - S}$$

onde: p= número médio de indivíduos por unidade amostral; h=variável auxiliar dependente de p.

Para a cultura do algodão, relata-se que, ovos de *Heliothis virescens* (Fabricius 1781) e *Alabama argilácea* (Hübner), apresentam distribuição espacial agregada, para a cultivar *Bt*, e não-*Bt*, não observando mudanças no comportamento de oviposição das duas pragas, em ambas cultivares. Este conhecimento é importante, pois possibilita a recomendação quando necessária de inseticidas com ação ovicida em regiões localizadas da cultura (Rodrigues, 2008).

Fernandes (2003) relata que o comportamento de oviposição de *S. frugiperda*, não diferiu entre a cultivar de milho *Bt* e não-*Bt*, sendo o número médio e a distribuição espacial e temporal de ovos semelhantes para as duas cultivares. Porém ressalta-se que a distribuição espacial obtida pelo pesquisador, não responde a que modelo de disposição os ovos apresenta na cultura (uniforme, agregada ou aleatória), mas sim, como esta se distribui pela planta de forma vertical.

Referências Bibliográficas

- Barbosa, JC; Perecin D 1982.** Modelos probabilísticos para distribuição de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), na cultura do milho. Científica 10: 181-191.
- Barbosa, JC 1992.** A amostragem seqüencial, p. 205-211. In Fernandes, OA; Correia, ACB; De Bortoli, SA (eds.), Manejo integrado de pragas e nematóides. Jaboticabal, FUNEP, 253p.
- Bianco, R 1995.** Construção e validação de planos de amostragem para o manejo da lagarta de cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do milho. Tese de doutorado, ESALQ/USP, Piracicaba, 113p.
- Bliss, CI; Owen, ARG 1958.** Negative Binomial Distributions with a Common k. Biometrika 45: 37-58.
- Brookes, G; Barfoot, P 2008.** Global impact of biotech crops: Socio-economic and environmental effects, 1996–2006. AgBioForum, 11: 21–38.
- Bruinsma, M; Kowalchuk, GA; Van Veen, JA 2003.** Effects of genetically modified plants on microbial communities and processes in soil. Biol. Fertl. Soils, 37:0 329-37.
- Cattaneo, MG; Yafuso, C; Schmidt, C; Huang, CY; Rahman M 2006.** Farm-scale evaluation of the impacts of transgenic cotton on biodiversity, pesticide use, and yield. Proc Natl Acad Sci. USA 103:7571–7576.
- Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB 2013.** Acompanhamento de safra brasileira: grãos, nono levantamento, Julho de 2013. http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_07_09_09_04_53_bol_etim_graos_junho__2013.pdf

- Cruz, I 1999.** Manejo de pragas da cultura de milho. In: Seminário sobre a cultura do milho “safrinha”, 5., 1999, Barretos, SP. Curso para agricultores. Campinas: CATI/IAC/IEA, p. 27-56. Métodos de criação de agentes entomófagos de *Spodoptera frugiperda*, In: BUENO, VHP. Controle Biológico de Pragas: Produção Massal e Controle de Qualidade. Lavras: Ed. UFLA p. 237-275.
- Da Silveira, JMFJ; Borges, JA; Buainain, AM 2005.** Biotecnologia e agricultura da ciência e tecnologia aos impactos da inovação. São Paulo em Perspectiva, v. 19, n. 2, p. 101-114.
- Elliott, NC; Kiechefer, RW; Walgenbach, DD 1990.** Binomial sequential sampling methods for cereal aphids in small grains. Journal of Economic Entomology 83: 1381-1387.
- Fernandes, OD 2003.** Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) em *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. Piracicaba, 164p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- Fernandes, OD; Parra, JRP; Ferreira Neto, A; Pícoli, R; Borgatto, AF; Demétrio, GB 2003a.** Efeito do milho geneticamente modificado (MON810) sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Brasileira de Milho Sorgo 2: 25-35.
- Fernandes, MG; Busoli, AC; Barbosa, JC 2003b.** Amostragem sequencial de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro. Neotropical Entomology 32: 117-122.
- Giles, KL; Royer, TA; Elliott, NC; Kindler, SD 2000.** Development and validation of a binomial sequential sampling plan for the greengug (Homoptera: Aphididae) infesting winter wheat in the southern plains. Journal of Economic Entomology. 93: 1522-1530.
- Huang, J; Ruifa, H; Rozelle, S; Pray, C 2005.** Insect-resistant GM rice in farmers’ fields: assessing productivity and health effects in China. Science. 308: 688 - 90.
- Icoz, I; Stotzky, G. 2007.** Fate and effects of insect-resistant *Bt* crops in soil ecosystems. Review. Soil Biology and Biochemistry, Vol. 40, No. 3. p. 559-586.
- James, C 2004.** Preview: Global status of commercialized transgenic crops 2004, ISAAA Briefs. 2004, Ithaca, NY.
- James, C 2012.** Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2012. ISAAA Brief No. 44. ISAAA: Ithaca, NY.
- McGloughin, M 1999.** Ten reasons why biotechnology will be important to the developing world. AgBioForum, v. 2, n. 3-4, p.163-174, 1999.
- Mcwhorter, E 1998.** *Bt* Cotton: management prevention pays off. Cotton Farming, p.14-15, June.
- Mendes, S. M., K. G. B. Boregas, M. E. Lopes, M. S. Waquil, and J. M. Waquil. 2011.** Fall armyworm responses to genetically modified maize expressing the toxin Cry 1A(b). Pesquisa Agropecuária Brasileira 46: 239-244.
- Mesina, RRV. 1986.** Disposição espacial de *Panonychus ulmi* (Koch, 1836) (Acarina: Tetranychidae) e determinação do número de amostras na macieira. Dissertação de mestrado, Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 88p.
- Naranjo, SE 2005.** Long-term assessment of the effects of transgenic *Bt* cotton on the abundance of nontarget arthropod natural enemies. Environ Entomol 34: 1193-1210.
- Nunes, DH 2010.** Efeito do algodoeiro geneticamente modificado (Bollgard®) em organismos não-alvo. 110f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- Pray, CE; Ma, D 2001.** Impact of *Bt* cotton in China. *World Development*, 29: 5
- Poole, RW 1974.** An introduction to quantitative ecology. New York, Mcgraw-Hill.
- Rabinovich, JE 1980.** Introducción a la ecología de poblaciones animales, Compañía Editorial Continental, Mexico.
- Rodrigues, TR 2008.** Distribuição Espacial de Insetos em Algodoeiro *Bt* e não-*Bt*. Dourados, 56p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.
- Rodrigues, TR; Fernandes, MG; Santos, HR dos 2010.** Distribuição Espacial de *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera, Aphididae) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera, Aleyrodidae) em algodoeiro *Bt* e não-*Bt*. *Revista Brasileira de Entomologia* 54(1): 136–143.
- Ruesink, W.G. & M. Kogan. 1975.** The quantitative basis of pest management and measuring, p. 309-351. In R.L. Metcalf & W.H. Luckmann (eds.), *Introduction to insect pest management*. New York, John Wiley & Sons Inc, 548p.
- Silveira Neto, S., O. Nakano, D. Barbin, and N. A. V. Nova. 1976.** Manual de ecologia dos insetos, Editora Agronômica Ceres, Piracicaba, Brazil.
- Schnepf, E; Crickmore, N; Rie, JV; Lereclus, D; Baum, J; Feitelson, J; Zeigler, DR; Dean, DH 1998.** *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, New York, 62: 3, p. 775-806.
- Shelton, AM; Zhao, JZ; Roush, RT 2002.** Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. *Annual Reviews in Entomology*, 47:845-881.
- Southwood, R. 1966.** Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations, Methuen, Michigan.
- Young, LJ; Young, J 1998.** *Statistical Ecology: A Population Perspective*, Kluwer Academic, Boston.
- Wald, A 1945.** Sequential tests of statistical hypotheses. *The Annals of Mathematical Statistics* 16: 117-186.
- Wald, A 1947.** *Sequential analysis*. New York, Wiley 212 p.
- Waquil, JM; Dourado, PM; Carvalho, RA de; Oliveira, WS; Berger, GU; Head, GP; Martinelli, S 2013.** Manejo de lepidópteros-praga na cultura do milho com o evento *Bt* piramidado Cry1A.105 e Cry2Ab2. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(12), 1529-1537.

Distribuição Espacial e Plano de Amostragem Sequencial de Plantas Atacadas por *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho*

Thiago Alexandre Mota¹, Marcos Gino Fernandes¹, Eder Alcebiades Alegre¹, Maria Freire de Sousa¹, Elison FlorianoTiago¹ e André Luiz Faleiros Lourenção²

¹Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-970, Dourados, MS, Brasil. e-mail: thiamota@hotmail.com,

²Fundação MS, Estrada da Usina Velha, Km 02 – Caixa Postal 137, Zip Code 79150-00 Zona Rual, Maracajú, MS, Brasil.

*Manuscrito elaborado de acordo com as normas do periódico International Journal of Pest Management

<http://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?journalCode=ttpm20&page=instructions#.UIApGhZBtUQ>

Abstract

The fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) is a serious pest in maize fields (*Zea mays* L.) in Brazil and all across the American continent. In this work, we analyzed the spatial distribution of corn plants infested with *S. frugiperda*, to be retrofitted to a sequential sampling plan based on the binomial count. Data were collected during the winter season between 2012 and 2013 in six maize fields located in the south of the Mato Grosso do Sul state. Each sampling area comprised 50 plots, each measuring 50 m² (5 × 10 m) in area. The evaluations were performed on ten infested plants per plot week to total between five and seven samples per field. Through the indices of dispersion and frequency, we observed that the spatial distribution of the plants infested with the fall armyworm was aggregated, with a tendency towards randomness. The sequential sampling plan was developed in accordance with the Sequential Probability Ratio Test. The same error rates were used in this research (α and $\beta = 0.05$ %). The sampling plan resulted in two decision boundaries. The upper boundary $S_1 = 4.6257 + 1.438n$ (population control is recommended) and the lower boundary $S_0 = -4.6257 + 1.438n$ (population control was not necessary). Sampling size for the decision-making process to control *S. frugiperda* required thirteen sample units.

Keywords: negative binomial; fall armyworm; decision making; integrated pest management; plants infested

Resumo

A lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) é uma importante praga em campos de milho (*Zea mays* L.) no Brasil e em todo o continente americano. Neste trabalho, foram realizadas amostragens para determinar o padrão de distribuição espacial de plantas de milho infestadas com *S. frugiperda*, e estes dados empregados para a construção de um plano de amostragem sequencial com base na contagem binomial. Os dados foram amostrados durante período de safrinha entre 2012 e 2013 em seis campos de milho localizadas no sul de Mato Grosso do Sul. Cada área de amostragem foi composta por 50 parcelas, cada um medindo 50 m² (5 x 10 m) na área. As avaliações foram realizadas em dez plantas infestadas por parcela semanalmente. Através dos índices de dispersão e frequência, foi observado que a distribuição espacial de plantas infestadas pela lagarta do cartucho foi agregada, com uma tendência para a aleatoriedade. O plano de amostragem sequencial foi desenvolvido de acordo com a razão da máxima verossimilhança. Semelhantes taxas de erro foram utilizadas nesta pesquisa (α e $\beta = 0,05$ %). O plano de amostragem resultou em dois limites de decisão. O limite superior $S_1 = 4,6257 + 1,438n$ (controle populacional é recomendado) e o limite inferior $S_0 = 4,6257 + 1,438n$ (controle populacional não é necessário). São necessárias no máximo 13 unidades amostrais para a tomada de decisão para o controle de *S. frugiperda* em milho.

Palavras-chave: Binomial Negativa; lagarta-do-cartucho; tomada de decisão; manejo integrado de pragas; plantas infestadas.

1. Introdução

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) é uma espécie endêmica do continente americano, distribuindo-se desde a Argentina até os EUA (Sparks 1979, Cruz., 1995), sendo a principal praga do milho, inclusive no Brasil (Mendes et al., 2011). Esta espécie é responsável por perdas significativas na produção, causando uma redução de até 39% de rendimento da cultura e perdas no valor U\$ 500 milhões de dólares anualmente só nos EUA . O controle é alcançado principalmente com inseticidas sintéticos, que, no entanto, podem afetar negativamente as populações de organismos não-alvo e causar contaminação ambiental (Dequech et al., 2007; Valicente et al., 2010).

Para o manejo bem sucedido dos insetos-praga, o reconhecimento das populações de artrópodes interrelacionados no agroecossistema é de grande importância (Fernandes et al., 2003). Para aferir este efeito, a aplicação do conhecimento de amostragem de insetos com as estimativas de densidade populacional, aumenta a acurácia do processo de tomada de decisão de manejar ou não o inseto-alvo. A implementação de um modelo rápido, confiável e de baixo custo para a amostragem de populações de pragas é, de acordo com os princípios do Manejo Integrado de Pragas (MIP), bastante importante para a eficiência do controle.

No desenvolvimento de um plano de amostragem sequencial de insetos utilizando o método da razão de probabilidade, são necessários três requisitos básicos, que incluem: 1) a aquisição de uma função de probabilidade que descreve a distribuição espacial dos insetos, 2) avaliar o grau de danos na forma de duas densidades críticas, de tal forma que os danos econômicos ocorrem se a população excede o limite superior estabelecido previamente, e os danos econômicos não ocorrem se a população mantém-se abaixo do limite inferior definido, e 3) a seleção dos níveis máximos de probabilidade de cometer erros na decisão em relação às densidades populacionais

(Young e Young 1998). Assim, a previsão de uma densidade de população não prejudicial como sendo prejudicial é denominada erro de tipo I, e a probabilidade de prever uma densidade prejudicial como não sendo prejudicial é o erro do tipo II (Binns, 1994; Fernandes et al., 2003). Em relação ao primeiro requisito, a distribuição espacial dos organismos no campo pode ser considerada como agregados, uniforme ou aleatório, que são estatisticamente nomeados como binomial negativa, binomial positiva e de Poisson, respectivamente (Kuno, 1991). Para cada tipo de distribuição espacial, as variações do método de cálculos são realizadas para o estabelecimento do plano de amostragem sequencial, de acordo com a função dos vários parâmetros envolvidos (Taylor, 1984). Quanto ao segundo requisito, os níveis de dano econômico é estabelecido na forma de duas densidades críticas, onde pode-se afirmar que em particular tem sido um dos obstáculos ao desenvolvimento dos planos de amostragem sequenciais no Brasil (Fernandes et al., 2003).

A amostragem sequencial é caracterizada pela utilização de um número variável de unidades de amostragem, dependendo do tamanho da população amostrada (Ruesink, 1980). Na amostragem sequencial, a avaliação pode classificar rapidamente a população do organismo alvo em categorias tais como baixo, médio ou alto, ou mesmo indicar se é necessário adotar alguma medida de controle. Portanto, o momento de terminar a amostragem e tomar uma decisão depende dos resultados obtidos nas amostragens precedentes (Wald, 1945). Assim, a amostragem sequencial têm se mostrado mais rápida do que a amostragem convencional, porque o último leva em conta um número fixo de amostras. Para ilustrar, Rice, (2006) estabeleceu como 100 plantas por campo o número médio para tomada de decisão de manejo de *Striacosta albicosta* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Porém, o plano de amostragem sequencial

desenvolvido por Paula-Moraes et al., (2011), para a mesma praga, estabelece número de unidades amostrais entre 38 e 41 plantas.

Planos de amostragem baseados na contagem binomial são mais práticos para campo em comparação aos planos enumerativos (contagem total de indivíduos), uma vez que o primeiro leva em consideração apenas a infestação (presença-ausência), resultando em menor tempo para tomada de decisão (Naranjo et al., 1995; Hodgson et al., 2004). Um plano de amostragem sequencial binomial para plantas de milho infestadas com *S. frugiperda* é uma alternativa plausível e encontrado na literatura (Farias et al., 2001b). Porém, ao utilizar amostragens binomiais, a precisão do plano é menor em comparação a contagem enumerativa, resultando em bias (Bins e Nyrop, 1992; Legg e Moon, 1994). Considerando os danos ocasionados por *S. frugiperda* no milho, minimizar os efeitos de bias, diminuindo os níveis máximos de probabilidade de cometer erros na decisão, torna-se necessário.

Tendo em mente que a amostragem sequencial oferece um meio simples de estimar a densidade da população, minimizando automaticamente o número de unidades de amostra necessária para satisfazer um determinado nível de precisão (Naranjo and Castle, 2010), os objetivos deste trabalho foram descrever o padrão de distribuição espacial de *S. frugiperda* na cultura do milho e desenvolver um plano de amostragem sequencial com um tamanho de unidade de amostragem fixa, com base no Teste Sequencial da Razão de Probabilidade (TSRP).

2. Material e Métodos

2.1 Área amostral

Este estudo foi realizado durante dois anos de milho segunda safra “safrinha”, entre 2012 e 2013, em seis campos de milho (dois em Dourados e um em Maracajú em 2012, e dois em Maracajú e um em Dourados em 2013) localizados no sul de Mato Grosso do Sul, Brasil. Os campos foram semeados com o milho não-*Bt* DKB 177. Não

foram utilizados inseticidas durante a área experimental. Cada campo foi dividido em 50 parcelas, com 50 m^2 ($5 \times 10 \text{ m}$) para cada parcela. A unidade de amostragem para todas as datas de amostragem envolveu 10 plantas aleatoriamente selecionadas que foram avaliadas semanalmente em cada parcela, totalizando 500 plantas por campo. Foram avaliados, o número total de plantas com a presença de lagartas de *S. frugiperda*, utilizando sete amostragens por campo.

2.2 Distribuição Espacial

As análises estatísticas para determinar o padrão de distribuição espacial de plantas infestadas com o inseto levou em consideração o número de plantas com a presença da lagarta nas parcelas nos seis campos de trabalho, e os seguintes índices de dispersão foram utilizados para este fim:

Índice Razão de variância / média: Esta relação (I) é um índice que mede o desvio de um arranjo de dados aleatórios. Para este índice, os valores iguais a 1 indicam disposição espacial aleatória ou acaso, valores inferiores a 1 indicam arranjo espacial regular ou uniforme, e valores significativamente maiores do que 1 indicam agregação ou distribuição contagiosa (Rabinovich, 1980). As limitações desse índice encontram-se na influência do tamanho da unidade de amostragem, bem como no número de casos observados, sendo extremamente afectada pelas disposições da agregação (Southwood, 1966).

Morisita: O Índice de Morisita (I_δ) é relativamente independente da média e o número das amostras. Quando $I_\delta = 1$ a distribuição é aleatória e quando $I_\delta > 1$ a distribuição é contagiosa, enquanto $I_\delta < 1$ indica a distribuição regular (Silveira Neto et al., 1976). A limitação do Índice de Morisita reside no facto de ser excessivamente influenciado pelo tamanho da amostra (N), em que, para uma utilização segura, o

número de unidades de amostragem tem de ser o mesmo para todos os campos a serem comparadas.

Expoente K da distribuição binomial negativa: Expoente K é um índice de dispersão adequado quando o tamanho e número de unidades de amostra são as mesmas em cada amostra, sendo muitas vezes influenciado pelo tamanho da unidade de amostragem. Este parâmetro é uma medida inversa do grau de agregação, e neste caso, os valores negativos indicam uma distribuição normal ou uniforme, os valores positivos perto de zero indicam um arranjo agregado e os valores mais elevados, até 8, indicam uma distribuição aleatória (Southwood, 1966; Elliot, 1977).

As distribuições teóricas de frequência utilizadas para avaliar a distribuição espacial da espécie observada são como se segue, de acordo com Young and Young (1998).

A distribuição de Poisson, também denominado de distribuição aleatória, é caracterizada por apresentar um desvio igual à média (Southwood, 1966).

Binomial Negativa: Este índice mostra maior variação do que a média, indicando, assim, uma distribuição agregada. Ele tem dois parâmetros: a média (m) e o parâmetro K ($K > 0$).

O teste do qui-quadrado: Para verificar o teste de aptidão dos dados coletados às distribuições teóricas de frequência, foi utilizado o teste do qui-quadrado para aderência ao comparar o total das frequências observadas na área de amostra com as frequências esperadas, de acordo com Young and Young (1998), onde estas frequências são definidas pelo produto das probabilidades de cada classe e o número total de unidades de amostragem utilizado. No presente estudo, foi selecionado para corrigir uma frequência mínima esperada igual a 1, devido ao número de classes mínimas necessárias para encontrar o grau de liberdade.

2.3 Plano de Amostragem Sequencial

O plano de amostragem sequencial construído para a lagarta do cartucho foi baseado no teste sequencial da razão de probabilidade (TSRP), de acordo com a metodologia desenvolvida por Wald (1945). O objetivo deste plano é testar, com o menor número possível de unidades amostrais, a H_0 hipóteses e H_1 . Hipótese H_0 indica que a população está abaixo do nível de segurança, e, por conseguinte, admite-se que não há nenhuma necessidade de controlar a praga, enquanto a hipótese H_1 indica que a população está acima do nível de segurança, e a sua aceitação implica que é necessário aplicar métodos de controle.

As linhas de decisão foram construídas, assim, para a realização do teste TSRP. O limite superior de decisão indica o número de amostragens necessárias para atingir o nível de controle proposto, por outro lado, o limite inferior de decisão indica o número total de amostragens a partir do qual se pode afirmar que esta população está abaixo do nível de segurança; assim, a necessidade de aplicar as medidas de controle é eliminada, e a amostragem continua. O limite superior da decisão de ensaio é definida como: $S_1 = h_1 + Sn$. O limite inferior de decisão é definida pelo teste de TSRP: $S_0 = -h_0 + Sn$, em que, em ambas as equações, (n) indica o número de unidades de amostragem a ser utilizado na amostragem, e os valores de h_0 , h_1 e S são definidos em função da binomial negativa.

Portanto, de acordo com o modelo de distribuição espacial do organismo estudado, para determinar os limites de decisão na primeira observação, um valor de n igual a 1, foi usado e os limites superior e inferior foram determinadas para o número de unidade de amostragem 1, na segunda observação de um valor de n igual a 2, foi utilizado, determinando, assim, os limites superior e inferior para o número de unidade

de amostragem de 2. Este foi mantido até a última unidade necessária de amostras para o plano de amostragem ser alcançado.

Avaliação do teste TSRP é feito na Curva Característica de Operação CO (p) e na Curva do Tamanho Esperado de Unidades Amostrais Ep(n). Assim, após a definição do plano de amostragem sequencial, é importante determinar a Curva Característica Operacional CO(p), que é uma representação gráfica e visa proporcionar a probabilidade de conclusão da amostragem e não aconselhar o controle até atingir certo grau de infestação das culturas. Esta curva indica a probabilidade de aprovação de uma decisão correta ou incorreta para qualquer nível de infestação. A Curva do Tamanho Esperado de Unidades Amostrais Ep(n) representa o número médio de observações necessárias para a decisão de realizar ou não o controle.

3. Resultados

3.1 Distribuição Espacial

Os valores da razão variância média e do Índice Morisita foram superiores a unidade na maioria das amostragens, indicando agregação da população da lagarta do cartucho (Tabela 1). No entanto, é também enfatizada a forte tendência de processo aleatório da população, observado por valores iguais a unidade para esses índices, um fato confirmado pelos valores do expoente K, com 15 amostragens com valores maiores do que 8 do total de 32 amostragens (Tabela 1).

Para ajustar a distribuição de frequência de plantas milho atacadas por *S. frugiperda*, foram realizados os testes da binomial negativa e Poisson. Devido a forte tendência para agregação e aleatorização da população, observados nos índices de dispersão, a hipótese de uniformidade da população e o ajuste a distribuição binomial positiva foram descartados.

As frequências das classes numéricas de plantas atacadas por *S. frugiperda* para o teste de Poisson tiveram razoáveis ajustes para este modelo de distribuição aleatória,

sendo, 19 amostragens do total de 34 amostragens coletadas no presente estudo (Tabela 2).

Os valores do teste de qui-quadrado, calculados para o modelo da binomial negativa teve bons ajustes para este modelo. As exceções são observadas em amostras com baixa ou média igual a zero (Tabela 2). Das 34 amostras, 24 amostras com o modelo de distribuição agregada.

Os índices de frequências calculadas neste estudo confirmam os resultados dos índices de dispersão, ou seja, a população de *S. frugiperda* se comporta de forma agregada propensa a aleatoriedade no milho.

3.2 Plano de Amostragem Sequencial

O plano de amostragem sequencial construído neste estudo baseou-se na distribuição de probabilidade binomial negativa, isto é, plantas atacadas por *S. frugiperda* distribui-se de forma agregada. O nível de controle adotado (μ_1) foi duas plantas infestadas e com lagartas de *S. frugiperda* por unidade amostral. O nível de segurança adotado (μ_0) foi uma planta infestada por unidade amostral. Os valores de Kc calculados levaram em conta todas as médias e variâncias das amostras obtidas, resultando em valor igual a 16,16. A utilização de valores de erro do Tipo I e II foram determinadas como $\alpha = \beta = 0,05$ valores aceitáveis para o trabalho com pragas. A linha superior a partir da qual é aceito H_1 é $S_1 = 4,6257 + 1,438n$ e o limite superior para aceite H_0 é $S_0 = -4,6257 + 1,438n$ (Figura 1).

Para tomada de decisão, a amostragem deve ser efetuada com o número total de plantas atacadas e com lagartas de *S. frugiperda* e comparados com os valores da equação (Figura 1). Assim, se o número de plantas com lagartas é igual ou menor do que o número da equação resultante, a amostragem é completa e aceita-se a hipótese H_0 e o controle da praga não é feito. No entanto, quando o número acumulado é maior ou

igual ao limite superior da equação, a amostragem é suspensa, e H_1 é aceito, isto é, o controle da praga é realizado. Se os valores acumulados do número de plantas atacadas por *S. frugiperda* paira entre os valores de H_1 e H_0 , a amostragem deve continuar até que o número máximo de amostras necessárias para a decisão seja atingido. Neste trabalho, a tomada de decisão pode ser realizada somente a partir da quarta unidade de amostragem em diante (Figura 1).

A curva característica de operação, representado por CO (p) dá a probabilidade de tomar uma decisão correta para um determinado nível de infestação. Quando a média das plantas atacadas é igual a 1, o teste indica que o controle não é recomendado apenas com uma probabilidade de 1% de erro do tipo I. Apartir de duas plantas infestadas, ou seja, quando o nível de controle é atingido, a probabilidade de incorrer em erro é quase zero (Figura 2).

O número esperado de unidades amostrais $E_p(n)$ para o teste da razão da máxima verossimilhança indica que uma infestação de 1,5 plantas infestadas com lagarta, o número máximo de amostras necessárias para a tomada de decisão é igual a 12. Em infestações de duas plantas infestadas com lagarta, apenas seis unidades amostrais ou seja 60 plantas são necessárias para finalização do processo de tomade de decisão (Figura 3).

4. Discussão

No presente estudo observou-se que o arranjo da distribuição espacial das plantas atacadas por *S. frugiperda*, segue o mesmo padrão de probabilidade da binomial negativa, com uma tendência para aleatoriedade. Os dados encontrados neste estudo diferem daqueles de Melo et al., (2006) que concluíram a distribuição aleatória de plantas de milho com injúrias de *S. frugiperda*. Farias et al., (2001b) também chegou à mesma conclusão sobre a agregação da população, contudo para lagartas pequenas.

A agregação observada neste estudo pode ser devido a oviposição dessa praga que é realizada com massas de ovos. Este é um resultado lógico, considerando os seguintes fatos: massas de ovos que podem ter cerca de 200 ovos e as lagartas pequenas, espera-se agregar nas plantas próximas aos sítios de oviposição (Mitchell e Fuxa, 1987).

O estabelecimento do número de plantas atacadas por unidade de amostragem a ser avaliado é muito importante e pode ter variações bruscas (Pimentel, 1991). Neste trabalho, utilizou-se 10 plantas com lagartas de *S. frugiperda* por parcela que de acordo Farias et al., (2001b) parece ser um número razoável para o conhecimento da distribuição espacial da praga em milho.

O plano de amostragem sequencial serve para classificar as amostras acima ou abaixo de um limiar (Espino et al., 2008). O nível de dano usada na literatura é $\mu_1 = 0,2$, por outras palavras, 20% das plantas atacadas por *S. frugiperda*, este nível é comumente utilizada para esta praga na América do Sul (Farias et al., 2001b, Farias et al., 2001c; Serra and Trumper, 2006). No presente estudo, foi utilizado o nível de dano correspondente a duas plantas atacadas, $\mu_1 = 2,0$ cujo valor corresponde a 20% das plantas infestadas. Assim, para o uso do plano de amostragem proposto aqui, o monitoramento deve ser conduzido para a lagarta do cartucho, inspecionando 10 plantas seguidas ao acaso, por unidade de amostragem.

Foi desenvolvido um plano de amostragem com $\alpha = \beta = 0,05$, pois, os planos desenvolvidos com taxas de erro de 0,1 produzem linhas que são mais distantes do que as linhas com taxas de erro de 0,05. Linhas muito separadas delimitam uma área maior de indecisão, o que implica que mais unidades de amostra são necessárias para chegar a uma decisão quanto a população do inseto se aproxima do limiar econômico (Espino et al., 2008).

Uma vez que o plano de amostragem sequencial binomial é desenvolvido, o plano é tipicamente avaliado por meio do $CO(p)$ e $Ep(n)$ (Binns et al., 2000). A função característica de operação é a probabilidade de que a hipótese nula (onde a média da população está abaixo do nível de segurança indicado) será aceita para qualquer valor dado da média (Barrigossi et al., 2003).

O tamanho da unidade de amostragem e do ajuste do nível de controle para o plano de amostragem proposto aqui, são vantajosas para a tomada de decisão rápida, porque a curva do tamanho da amostra esperada mostra que o número máximo de unidades de amostra neste trabalho é muito menor do que aquelas de Farias et al., (2001a), que descreveram que o nível de dano de 20% de plantas com lagartas, é necessário um número máximo de 24 unidades de amostragem, ao passo que no presente trabalho doze unidades amostrais são suficientes.

No presente estudo, nós mostramos que o plano de amostragem sequencial com base na contagem de plantas infestadas com lagartas de *S. frugiperda* é mais rápido e, portanto, menos dispendioso para o agricultor na tomada de decisões.

Agradecimentos

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

References

- Barrigossi, J. A. F., G. L. Hein, and L. G. Higley. 2003. Economic Injury Levels and Sequential Sampling Plans for Mexican Bean Beetle (Coleoptera: Coccinellidae) on Dry Beans. *Journal of Economic Entomology* 96: 1160-1167.
- Binns, M.R. 1994. Sequential sampling for classifying pest status, pp. 137-174. *In* L. Pedigo and G. Buntin (eds.), *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*. CRC, Boca Raton, FL
- Binns, M. R., and J. P. Nyrop. 2002. Sampling insect populations for the purpose of ipm decision making. *Annual Review of Entomology* 37: 427-453.
- Binns, M. R., J. P. Nyrop, and W. van der Werf. 2000. Sampling and monitoring in crop protection [electronic resource]: the theoretical basis for developing practical decision guides, CABI Publ.
- Bliss, C. I., and A. R. G. Owen. 1958. Negative Binomial Distributions with a Common k . *Biometrika* 45: 37-58.

- Cruz, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa, CNPMS, 1995. 45p. (Embrapa. CNPMS. Circular Técnica, 21).
- Dequech, S. T. B., L. M. Fiuza, R. F. P. d. Silva, and R. C. Zumba. 2007. Histopatologia de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Lep., Noctuidae) infectadas por *Bacillus thuringiensis aizawai* e com ovos de *Campoletis flavicincta* (Hym., Ichneumonidae). *Ciência Rural* 37: 273-276.
- Elliot, J. M. 1977. Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates, Freshwater Biological Association.
- Espino, L., M. O. Way, and L. T. Wilson. 2008. Sequential Sampling Plans for Sweep Net and Visual Sampling of *Oebalus pugnax* 1 in Rice. *Southwestern Entomologist* 33: 53-64.
- Farias, P. R. S., J. C. Barbosa, and A. C. Busoli. 2001a. Amostragem Sequencial (Presença-Ausência) para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na Cultura do Milho. *Neotropical Entomology* 30: 691-695.
- Farias, P. R. S., J. C. Barbosa, and A. C. Busoli. 2001b. Distribuição Espacial da Lagarta-do-Cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na Cultura do Milho. *Neotropical Entomology* 30: 681-689.
- Farias, P. R. S., J. C. Barbosa, and A. C. Busoli. 2001c. Amostragem sequencial com base na lei de Taylor para levantamento de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. *Scientia Agricola* 58: 395-399.
- Fernandes, M. G., A. C. Busoli, and J. C. Barbosa. 2003. Amostragem sequencial de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro. *Neotropical Entomology* 32: 117-122.
- Giles, K. L., T. A. Royer, N. C. Elliott, and S. D. Kindler. 2000. Development and validation of a binomial sequential sampling plan for the greenbug (Homoptera: Aphididae) infesting winter wheat in the southern plains. *Journal of Economic Entomology* 93: 1522-1530.
- Kuno, E. 1991. Sampling and analysis of insect populations. *Annual Review of Entomology* 36: 285-304.
- Legg, D.E., and R.D. Moon. 1994. Bias and variability in statistical estimates, pp. 99-118. In L.P. Pedigo and G.D. Buntin (eds.), *Handbook of Sampling Methods for Arthropods in Agriculture*, CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Melo, E. P. d., M. G. Fernandes, P. E. Degrande, R. M. A. Cessa, J. L. Salomão, and R. F. Nogueira. 2006. Spatial distribution of plants infested with *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on corn crop. *Neotropical Entomology*. 35: 689-697.
- Mendes, S. M., K. G. B. Boregas, M. E. Lopes, M. S. Waquil, and J. M. Waquil. 2011. Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A(b) Pesquisa Agropecuária Brasileira 46: 239-244.
- Mitchell, F. L., and J. R. Fuxa. 1987. Distribution, abundance, and sampling of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in South-central Louisiana cornfields. *Environmental Entomology* 16: 453-458.
- Naranjo, S. E., and S. J. Castle. 2010. Sequential sampling plans for estimating density of glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae) on citrus. *Crop Protection* 29: 1363-1370.
- Paula-Moraes, S., E. C. Burkness, T. E. Hunt, R. J. Wright, G. L. Hein, and W. D. Hutchison. 2011. Cost-Effective binomial sequential sampling of western bean cutworm, *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae), egg masses in corn. *Journal of Economic Entomology*. 104: 1900-1908.
- Pimentel, D. 1991. *CRC Handbook of Pest Management in Agriculture*. 3, CRC Press.

- Rabinovich, J. E. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales, Compañía Editorial Continental, Mexico.
- Rice, M. E. 2006. Eastern movement of the western bean cutworm into Indiana and Ohio. Proceedings: Indiana CCA Conference, Indianapolis, IN.
- Ruesink, W. G. 1980. Introduction to Sampling Theory, pp. 61-78. In M. Kogan and D. G. Herzog (eds.), Sampling Methods in Soybean Entomology. Springer, New York.
- Serra, G. V., and E. V. Trumper. 2006. Sequential sampling protocols for *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae), on *Zea mays* fields: influence of sampling unit size. Bulletin of Entomological Research 96: 471-477.
- Silveira Neto, S., O. Nakano, D. Barbin, and N. A. V. Nova. 1976. Manual de ecologia dos insetos, Editora Agronômica Ceres.
- Southwood, R. 1966. Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations, Methuen, London, 391 p.
- Sparks, A. N. 1979. A Review of the Biology of the Fall Armyworm. The Florida Entomologist 62: 6.
- Taylor, L. R. 1984. Assessing and interpreting the spatial distribution of insect populations. Annual Review of Entomology 29: 32 1-57.
- Valicente, F. H., E. A. de Toledo Picoli, M. J. V. de Vasconcelos, N. P. Carneiro, A. A. Carneiro, C. T. Guimarães, and U. G. Lana. 2010. Molecular characterization and distribution of *Bacillus thuringiensis* cry1 genes from Brazilian strains effective against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Biological Control 53: 360-366.
- Wald, A. 1945. Sequential tests of statistical hypotheses. The Annals of Mathematical Statistics 16: 117-186.
- Young, L. J., e J. Young. 1998. Statistical Ecology: A Population Perspective, Kluwer Academic, Boston.

Tabela 1. Estatísticas: {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para *Spodoptera frugiperda* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho não-Bt DKB 177, “safrinha” 2012 e 2013.

Campo	Índices	Amostras													
		2012						2013							
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	
I	\bar{m}	0,18	0,24	3,86	4,72	4,82	5,86	0,04	0,08	3,1	7,4	5,24	-	-	
	S^2	0,31	0,75	5,22	5,26	4,64	5,71	0,03	0,11	3,31	4,08	8,18	-	-	
	I	1,743*	3,15*	1,35 ns	1,11 ns	0,96 ns	0,97 ns	0,97 ns	1,44*	1,06 ns	0,55*	1,56*	-	-	
	$I\delta$	5,55*	10,69*	1,09 ns	1,02 ns	0,99 ns	0,99 ns	0 ns	8,33*	1,02 ns	0,94*	1,10*	-	-	
	k	0,24 ag	0,11 ag	10,91 al	40,73 al	-129,36 un	-236,32 un	-1,96 un	0,17 ag	44,42 al	-16,50 un	9,31 al	-	-	
	χ^2	85,44	154,66	66,32	54,67	47,17	47,78	48	71	52,41	27,02	76,54	-	-	
	\bar{m}	0,18	0,16	3,84	4,1	4,38	5,9	0	0,08	0,02	0,44	3,46	-	-	
II	S^2	0,31	0,25	4,09	6,09	5,54	4,62	0	0,11	0,02	0,98	6,09	-	-	
	I	1,74*	1,62*	1,06 ns	1,48*	1,26 ns	0,78 ns	-	1,44*	1 ns	2,24*	1,76*	-	-	
	$I\delta$	5,55*	5,35*	1,01 ns	1,11*	1,05 ns	0,96 ns	-	8,33*	-	3,89*	1,21*	-	-	
	k	0,24 ag	0,25 ag	57,52 al	8,43 al	16,44 al	-27,24 un	-	0,17 ag	-	0,35 ag	4,55 ag	-	-	
	χ^2	85,44	79,5	52,27	72,8	62,05	38,38	-	71	49	109,81	86,24	-	-	
	\bar{m}	0,16	0,58	4,14	5,32	5,46	-	0,86	3,6	4,08	4,02	4,42	4,58	4,34	
	S^2	0,25	0,98	4,98	5,69	7,06	-	1,59	4,44	6,32	5,2	7,39	6,73	7	
III	I	1,62*	1,69*	1,20 ns	1,06 ns	1,29 ns	-	1,85*	1,23 ns	1,54 ns	1,29 ns	1,67*	1,47*	1,61*	
	$I\delta$	5,35*	2,21*	1,04 ns	1,01 ns	1,05 ns	-	1,99*	1,06 ns	1,13 ns	1,07 ns	1,14*	1,10*	1,13*	
	k	0,25 ag	0,83 ag	20,40 al	76,19 al	18,51 al	-	1,01 ag	15,26 al	7,43 al	13,65 al	6,57 al	9,71 al	7,06 ag	
	χ^2	79,5	83,06	58,94	52,42	63,44	-	90,72	60,55	75,9	63,42	81,94	72,09	79,08	

* = significativamente diferente em at 5% para o teste de qui-quadrado; ag = agregado; al = aleatório; ns = não significativo.

- = valores insuficientes para análise.

Tabela 2, Teste de qui-quadrado para *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (Poisson, Binomial Negativa) em Milho não-Bt DKB 177, “safrinha” 2012 e 2013.

Campo	Amostragens	Poisson		Binomial Negativa		
		χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-3)	
I	2012	1	2,29i	0	0,40i	0
		2	6,72**	1	1,59ns	1
		3	3,88ns	7	3,44ns	6
		4	8,09ns	8	9,84ns	6
		5	2,78ns	7	2,74ns	6
	2013	6	-	7	5,72ns	6
		1	0,001i	0	0,02i	0
		2	0,090i	0	0,44i	-1
		3	11,19ns	6	10,45ns	5
		4	39,84**	8	21,12**	5
II	2012	5	31,18**	8	31,03**	8
		1	1,60i	0	0,67i	0
		2	4,06i	0	2,80ns	1
		3	8,83ns	7	8,55ns	6
		4	6,61ns	6	7,99ns	7
	2013	5	2,62ns	7	3,40ns	7
		6	14,43ns	8	7,18ns	6
		1	0 ⁱ	-1	-	-3
		2	0,090i	0	0,44i	-1
		3	0,010ns	6	-	-
III	2012	4	10,80**	1	5,46ns	1
		5	21,54**	6	12,09ns	6
		1	4,06i	0	2,80ns	1
		2	2,36ns	1	1,20ns	1
		3	14,46ns	6	22,94ns	7
	2013	4	18,77ns	8	17,30ns	7
		5	15,17ns	8	15,49ns	7
		1	3,99ns	2	3,29ns	2
		2	16,94**	6	13,31ns	6
		3	3,68ns	6	4,60ns	7
2013	4	8,99ns	7	19,93**	6	
	5	5,45ns	8	6,77ns	8	
	6	6,07ns	7	10,02ns	8	
	7	5,43ns	6	8,00ns	7	

ns - não significantivo; ** - significantivo a 1%; χ^2 – valor do qui-quadrado calculado; GL – graus de liberdade nc – numero de classes observadas; i - insuficiência de classes.

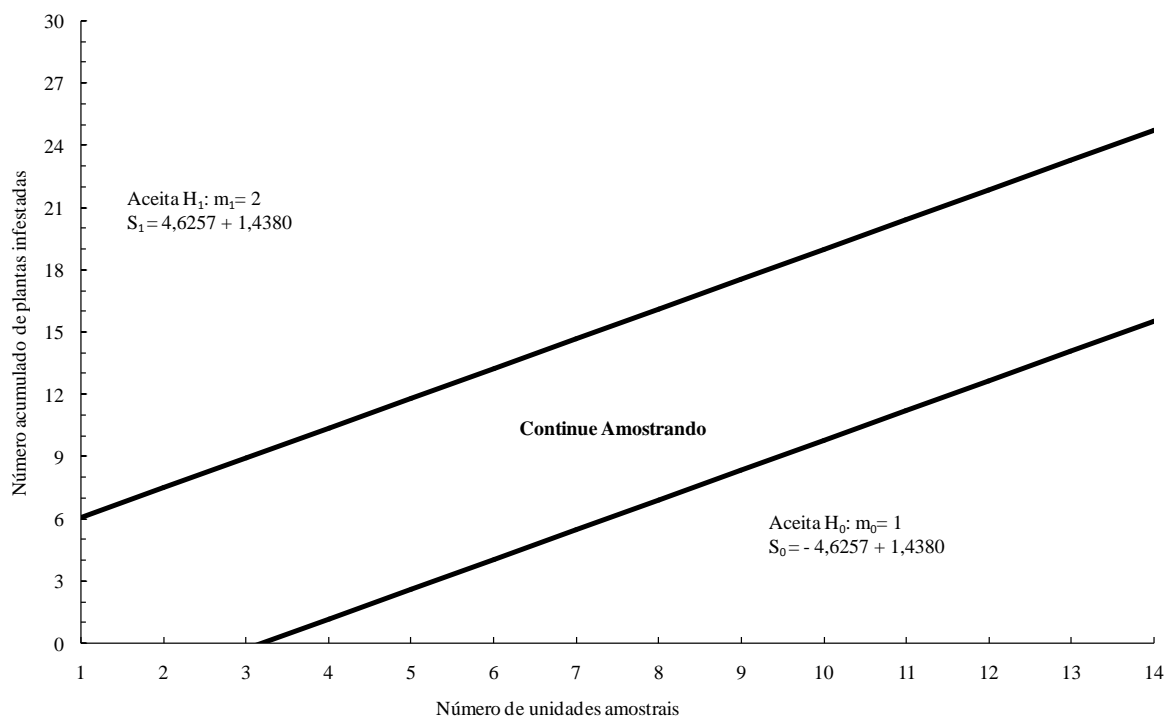


Figura 1. Linhas de decisão do plano de amostragem sequencial para o número de plantas infestadas com lagartas de *Spodoptera frugiperda* com base na distribuição binomial negativa.

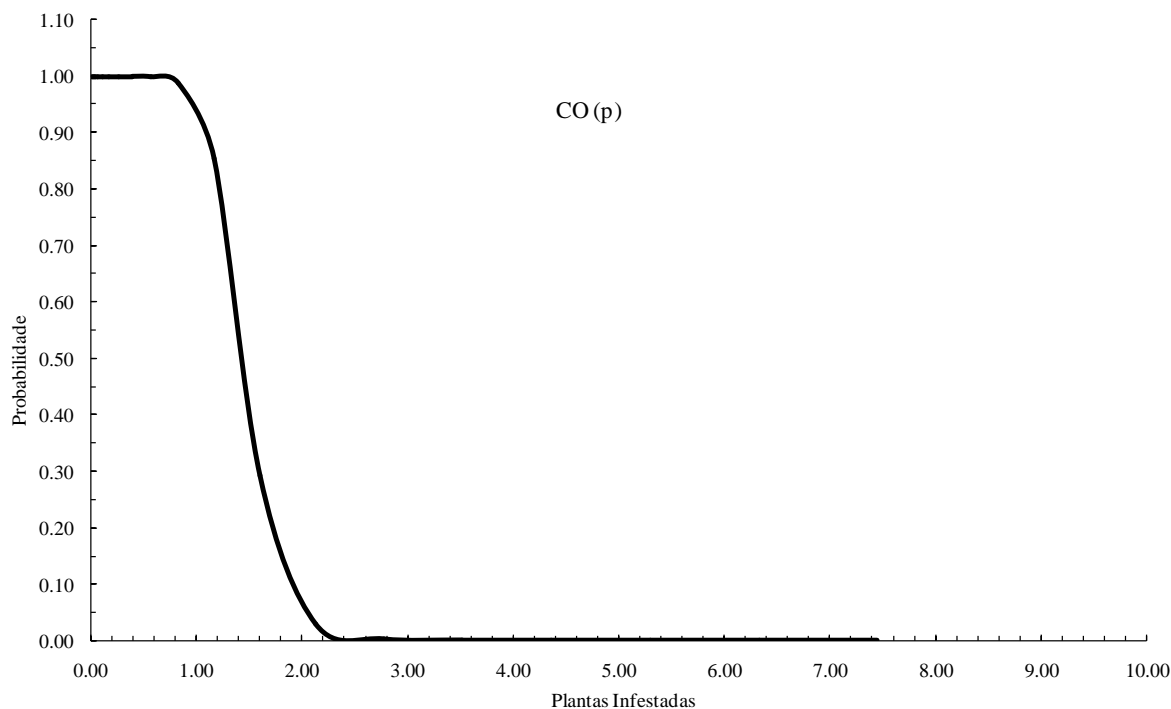


Figura 2. Curva característica de operação do teste sequencial da razão de probabilidade para o total de plantas com a presença de *Spodoptera frugiperda*.

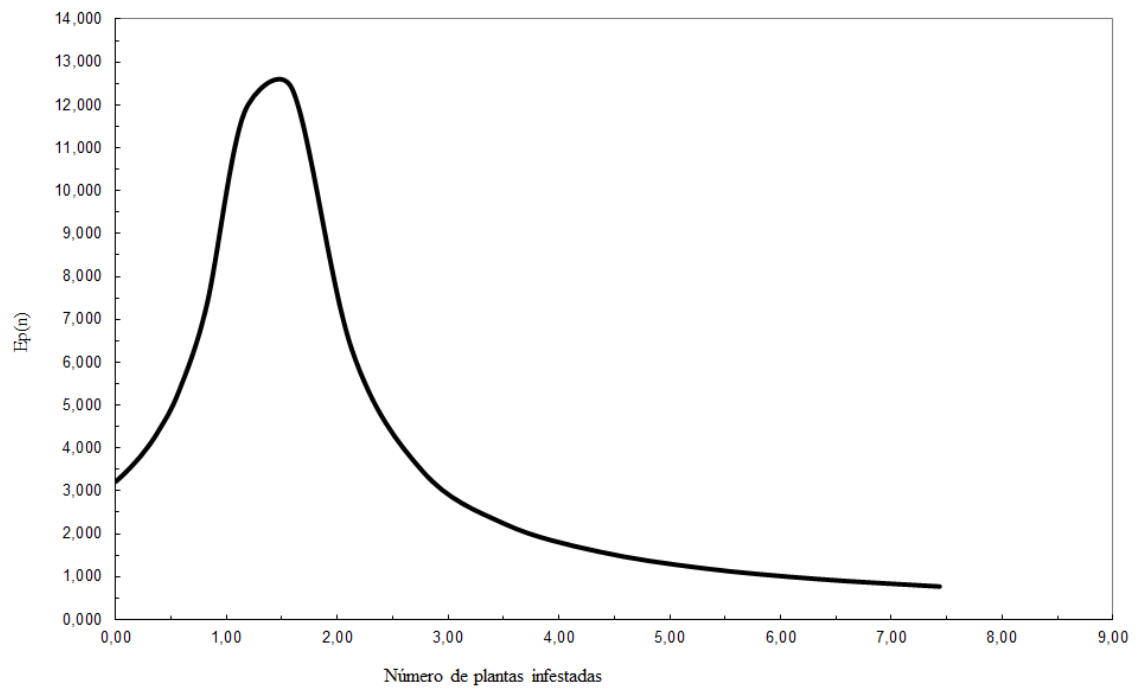


Figura 3. Curva do tamanho esperado de unidades amostrais $E_p(n)$ do teste sequencial da razão de probabilidade para plantas infestadas com *Spodoptera frugiperda*

Mota et al., Spatial Distribution
of *Diabrotica speciosa* on Maize
Journal of Economic Entomology
Sampling and biostatistics

T. A. Mota
Programa de Pós-graduação em
Entomologia e Conservação da
Biodiversidade.
Rodovia Dourados/ Itahum Km 12, Zip
code 241, Post Office Box 79.804-970
Dourados, MS Brazil
Phone: 55 (67) 8134-0933
E-mail thiamota@hotmail.com

**Distribuição Espacial de adultos de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae)
em cultivos de milho***

T. A. Mota^{1,2}, M. G. Fernandes², E. A. Alegre², M. F. Sousa², E. F. Tiago² and A. L.
Lourenção³

¹ Corresponding author, e-mail: thiamota@hotmail.com

² Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade
Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) Dourados, MS, Brazil.

³ Fundação MS, Maracajú, MS, Brazil.

*Manuscrito elaborado de acordo com o periódico Journal of Economic Entomology
<http://www.entsoc.org/publish-esa>

ABSTRACT

To develop a sequential sampling plan based on the guidelines of Integrated Pest Management (IPM), it is important to know the spatial distribution of the pest in question. The corn rootworm *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) is a significant pest in the field corn *Zea mays* L. Brazil. The objective of the present study was to collect data on the distribution model of the adults of *D. speciosa* in the *Bt* and non-*Bt* maize fields. Samples were collected in six field trials of 250 m² each, during 2012 and 2013. Each field was divided into 100 plots, each measuring 25 m² (5 × 5 m) in area. The sampling unit for all the samples involved five randomly selected plants that were tested in each plot, a total 500 of plants per field. The number of adults of *D. speciosa*, was counted weekly, for a total of between five and seven samples per field. The dispersion index (variance / mean; Morisita index and the exponent of the negative binomial K) and chi-square fit of the values observed and expected for the theoretical frequency distribution (Poisson, negative binomial and binomial positive), showed that regardless of the cultivar, the adults of *D. speciosa* showed an aggregated distribution pattern, adjusting to the negative binomial model.

KEY WORDS: Probability distribution; negative binomial; sampling; *Bt* maize; dispersion pattern.

RESUMO

Para desenvolver um plano de amostragem sequencial com base nas diretrizes do Manejo Integrado de Pragas (MIP), é importante conhecer a distribuição espacial da praga em questão. *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) é uma praga importante no campo de milho *Zea mays* L. no Brasil. O objetivo do presente estudo foi coletar dados sobre o modelo de distribuição dos adultos de *D. speciosa* nos campos de milho *Bt* e não-*Bt*. As amostras foram coletadas em seis ensaios de campo de 250 m² cada, durante 2012 e 2013. Cada campo foi dividido em 100 parcelas, cada uma medindo 25 m² (5 x 5 m) na área. A unidade de amostragem para todas as amostras envolveu cinco plantas selecionadas aleatoriamente, que foram testadas em cada parcela, num total de 500 plantas por área. O número de adultos de *D. speciosa*, foi contado semanalmente totalizando sete amostragens por campo. Através da análise dos índices de dispersão (variância / média, índice de Morisita e o expoente K da binomial negativa) e o teste qui-quadrado ajustado para os valores observados e esperados para a distribuição teórica de frequência (Poisson, binomial negativa e binomial positiva) e independentemente da cultivar, os adultos de *D. speciosa* apresentaram um padrão de distribuição agregada, ajustando-se ao modelo da binomial negativa.

PALAVRAS-CHAVE: Distribuição de probabilidades, binomial negativa, milho *Bt*, padrão de distribuição.

Introdução

O conhecimento sobre a distribuição espacial de insetos não só serve para propósitos de estudos ecológicos e comportamentais, mas também é útil como uma estratégia para manejar populações de insetos considerados pragas (Giles et al. 2000, Park & Tollefson 2006a). Inicialmente, a área em estudo deve ser dividida em várias unidades ou quadrantes (grids) do mesmo tamanho, e, posteriormente, o modelo de ocupação da área deve ser descrito para os indivíduos da população como uma distribuição de suas frequências observadas em cada quadrante (Kuno 1991).

Os padrões espaciais de distribuição dos organismos no campo são distinguíveis em três tipos, agregado, uniforme e aleatório (Ricklefs 2003). Categorizando a distribuição de um organismo numa destas três categorias pode ser conseguida através dos índices de dispersão e a distribuição teórica das suas frequências (Barbosa et al. 1992). Embora os índices de agregação e de dispersão não descrevem matematicamente a distribuição da população estudada (Elliot 1971), fornecem dados para uma aproximação à realidade. É importante notar que o conhecimento da distribuição das frequências (que descrevem matematicamente a distribuição espacial da praga) é vital para determinar os critérios adequados de amostragem, análises estatísticas, e decisão de empregar medidas de controle (Ruesink 1980, Taylor 1984).

O gênero *Diabrotica* Chevrolat é um importante grupo de insetos que ocorrem nas Américas, danificando diferentes cultivares. Nos campos de milho, *D. barberi* Smith & Lawrence na fase larval, tem sido uma praga importante, difícil de controlar na região do Corn Belt americano (French et al. 2004). Mesmo nesta região, os prejuízos devido a alta população de *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte chega a quase US\$ 1 bilhão de dólares anuais (Walsh 2003, Spencer et al. 2009).

No Brasil, a larva alfinete *Diabrotica speciosa* (Germar) causa problemas principalmente na soja, feijão e batata. Sua presença em *Zea mays* L. (Poaceae), pode causar perdas significativas na produção devido ao consumo de raízes por larvas, enquanto os adultos alimentam-se da parte aérea da planta. As lesões provocadas às folhas de plantas jovens de milho são semelhantes aos produzidos por *Spodoptera frugiperda* Smith (Gassen 1989, Marques et al. 1999; Ávila & Parra 2003, Menezes-Netto et al. 2012).

Dentre os métodos de manejo de *D. speciosa* em milho é a aplicação de inseticida no plantio e tratamento de sementes, têm sido mais utilizado entanto, este último muitas vezes não é eficiente devido à sua baixa dose e o efeito residual curto (Viana & Marochi 2010). A alternativa para a aplicação de inseticidas é a utilização do milho *Bt* geneticamente modificado resistente aos insetos. O mercado do milho *Bt* começou em 2008 e atualmente, cerca de 20% da área de milho é semada com esta tecnologia, mostrando um aumento anualmente. O Milho *Bt* MON (88017) oferece resistência às larvas de *D. speciosa*, devido à proteína Cry3Bb1 (Devos et al. 2013). No entanto, a cultivar *Bt* mais comercializada no Brasil não tem resistência a esta praga, o que torna os métodos de controle convencionais indispensáveis (Carneiro 2009, James 2011).

Embora esta tecnologia esteja sendo cada vez mais adotada pelos agricultores, levando à redução do uso de inseticidas (Mendes et al. 2011), não é conhecida com certeza, se a proteína de *Bt* das culturas modificadas afetam as populações de vários organismos nos agroecossistemas (Dutton et al. 2002, Sanvido et al. 2009). Por esta razão, os estudos que visam a detecção de alterações na distribuição espacial das populações de insetos alvo e não-alvo, em resposta a culturas *Bt* são altamente desejáveis (Rodrigues et al. 2010).

Assim, uma alteração na distribuição espacial de uma praga, que é uma consequência direta da cultura geneticamente modificada, resultará em planos de amostragem sequenciais diferentes, por exemplo, o número de unidades amostrais e o tempo para tomada de decisão.

Portanto, avaliamos a distribuição espacial de *D. speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) presente na cultura do milho *Bt* e comparamos-o com a população presente nos campos de milho não-*Bt*

Material e Métodos

Campo amostral

Este estudo foi realizado durante dois anos de milho segunda safra “safrinha”, entre 2012 e 2013, em seis campos de milho (dois em Dourados e um em Maracaju em 2012, e dois em Maracaju e um em Dourados em 2013) localizados no sul de Mato Grosso do Sul, Brasil. Os campos foram semeados com milho transgênico *Bt* (DKB 390 VTPRO) expressando as toxinas Cry1A.105 + Cry2Ab2 e milho não-*Bt* (DKB 177). Não foram aplicados inseticidas durante o estudo. Cada campo foi dividido em 100 parcelas, cada uma medindo 25 m² (5 × 5 m). A unidade de amostragem para todas as amostras envolveu 5 plantas aleatoriamente selecionadas que foram avaliadas semanalmente em cada parcela, totalizando 500 plantas por campo. Contamos o número total de adultos de *D. speciosa*, utilizando sete amostragens por campo.

Distribuição Espacial

As análises estatísticas para determinar o padrão de distribuição espacial do inseto levou em consideração o número total de indivíduos encontrados nas parcelas nos seis campos de trabalho, e os seguintes índices de dispersão foram utilizados para este fim:

Índice Razão de variância / média: Esta relação (*I*) é um índice que mede o desvio de um arranjo de dados aleatórios. Para este índice, os valores iguais a um indicam disposição espacial aleatória ou acaso, valores inferiores a um indicam arranjo espacial regular ou uniforme, e valores significativamente maiores do que um, indicam agregação ou distribuição contagiosa (Rabinovich, 1980). As limitações desse índice encontram-se na influência do tamanho da unidade de amostragem, bem como no número de casos

observados, sendo extremamente afetada pelas disposições da agregação (Southwood, 1966).

Morisita: O Índice de Morisita (I_{δ}) é relativamente independente da média e o número das amostras. Quando $I_{\delta} = 1$ a distribuição é aleatória e quando $I_{\delta} > 1$ a distribuição é contagiosa, enquanto $I_{\delta} < 1$ indica a distribuição regular (Silveira Neto et al., 1976). A limitação do Índice de Morisita reside no facto de ser excessivamente influenciado pelo tamanho da amostra (N), em que, para uma utilização segura, o número de unidades de amostragem tem de ser o mesmo para todos os campos a serem comparadas.

Expoente K da distribuição binomial negativa: Expoente K é um índice de dispersão adequado quando o tamanho e número de unidades de amostra são as mesmas em cada amostra, sendo muitas vezes influenciado pelo tamanho da unidade de amostragem. Este parâmetro é uma medida inversa do grau de agregação, e neste caso, os valores negativos indicam uma distribuição normal ou uniforme, os valores positivos perto de zero indicam um arranjo agregado e os valores mais elevados, até 8, indicam uma distribuição aleatória (Southwood, 1966; Elliot, 1977).

As distribuições teóricas de frequência utilizadas para avaliar a distribuição espacial da espécie observada são realizadas como se segue, de acordo com Young & Young (1998).

A distribuição de Poisson, também denominada de distribuição aleatória, é caracterizada por apresentar um desvio igual à média (Southwood, 1966).

Binomial Negativa: Este índice mostra maior variação do que a média, indicando, assim, uma distribuição agregada. Ele tem dois parâmetros: a média (m) e o parâmetro K ($K > 0$).

A distribuição binomial positiva é o modelo matemático que melhor representa a distribuição regular ou uniforme, onde a variância é menor que a média (Rabinovich, 1980). A função de probabilidades é obtida pela expansão do binômio $(p+q)^k$, onde k é o tamanho

da unidade amostral, p é a probabilidade de que qualquer espaço seja ocupado por um indivíduo, e q é a probabilidade de não ocorrer a presença desse indivíduo.

O teste do qui-quadrado: Para verificar o teste de aptidão dos dados coletados às distribuições teóricas de frequência, foi utilizado o teste do qui-quadrado para aderência ao comparar o total das frequências observadas na área de amostra com as frequências esperadas, de acordo com Young & Young (1998), onde estas frequências são definidas pelo produto das probabilidades de cada classe e o número total de unidades de amostragem utilizado. No presente estudo, foi selecionado para corrigir uma frequência mínima esperada igual a um, devido ao número de classes mínimas necessárias para encontrar o grau de liberdade.

Resultados

Considerando os resultados do índice variância/média, os valores significativos acima da unidade, foram predominantes em relação aos valores iguais à unidade de ambos os cultivares de *Bt* e não-*Bt* (Tabelas 1 e 2). Os resultados para valores acima da unidade, também foram observados para o cálculo do índice de Morisita, isto é, a maior parte da distribuição de dados indica uma distribuição agregada para os adultos de *D. speciosa*, independentemente da cultivar (Tabelas 1 e 2). Não foi observada diferença nos valores para cada cultivar quando considerado o expoente K da distribuição binomial negativa, ou seja, a maior parte dos dados foram positivos, não superior a 8, o que caracteriza comportamento de agregação da população (Tabelas 1 e 2).

Os testes de ajustes de frequências das classes numéricas de adultos de *D. speciosa* nas áreas de milho *Bt* e não-*Bt*, e os valores de qui-quadrado foram avaliados para cada distribuição teórica. Assim, a distribuição binomial positiva não apresentou um bom ajuste para os dados com o padrão de distribuição uniforme e, portanto, apenas uma amostra de milho *Bt* foi definida para este modelo (Tabela 3 e 4). No que diz respeito à distribuição de Poisson, houve ajustes para algumas datas de amostragem, com este modelo de distribuição

(aleatória), embora ainda insuficientes para a conclusão. Estes resultados foram encontrados em ambas as cultivares (Tabelas 3 e 4).

Os dados coletados no campo foram submetidos ao teste da distribuição binomial negativa, indicando um bom ajuste para esse modelo de distribuição. Do total de 30 amostragens, 19 apresentaram valores não significativos para ambas as cultivares. Assim, os adultos *D. speciosa*, apresentam uma distribuição agregada, tanto nas áreas de milho *Bt*, como nas áreas de milho convencional.

Discussão

O primeiro passo no desenvolvimento de um plano de amostragem sequencial para a tomada de decisão é o conhecimento da distribuição espacial da população da praga em questão. Este é um elemento importante que influencia o número ou o tamanho das amostras e eficiência na tomada de uma decisão de controlar ou não uma determinada população, sendo esta prática essencial para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Hutchinson 1994, Young & Young 1998, Nyrop et al. 1999, Park & Tollefson 2006b).

No presente estudo, a necessidade de utilizar os índices de frequência e os índices de dispersão surge, porque não foi possível completar a distribuição espacial de qualquer organismo com base em apenas um único índice probabilístico, devido às limitações de que cada teste possui (Rabinovich 1980, Hurlbert 1990, Perry 1995). A distribuição espacial da *D. speciosa* indicou ser a mesma para ambas as cultivares testadas. Uma distribuição similar foi encontrada para os ovos, larvas e adultos de *D. virgifera* e *D. Barberi* nos EUA (Hein et al. 1985, McAuslane et al. 1987, Park & Tollefson 2006a, Park & Tollefson 2006b, Schumann & Vidal 2012) e ovos de *D. longicornis* (Foster et al. 1979, Hein et al. 1985).

A agregação ocorre devido ao fato de que as populações dos indivíduos tendem a movimentar para áreas onde a população é mais abundante (Taylor & Taylor 1977). Em *D. speciosa* esta agregação é explicada pelo feromônios sexuais exalados por fêmeas para atrair

os machos para o acasalamento (Ventura et al. 2001). Como as amostragens, no presente estudo concentraram-se, principalmente pelas primeiras horas do dia, e embora os resultados de Nardi et al. (2012) indicarem que a comunicação sexual é concentrada no final da fotofase e o início da escotofase comparados com o período da manhã, é de salientar que outros fatores também podem influenciar a distribuição agregada de adultos de *D. speciosa* em milho.

A planta geneticamente modificada resistente a lagartas (*Bt*), não é um fator influente na distribuição espacial desta praga, como verificado por Rodrigues et al. (2010), que estudaram a distribuição espacial de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae) em algodão *Bt* e não *Bt* no Brasil, bem como a postura de ovos em *Striacosta albicosta* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) nas cultivares de milho *Bt* e não-*Bt* expressando a toxina Cry1F nos EUA (Paula-Moraes et al. 2011). Portanto, um plano de amostragem sequencial de adultos desta praga não-alvo daqueles cultivares de milho-*Bt* pode ser conduzido sem discriminação alguma de cultivar. Fernandes et al. (2011) em estudos semelhantes, propuseram um plano de amostragem sequencial de *Frankliniella schultzei* Trybom (Thysanoptera: Thripidae) em algodão *Bt* e convencional. No presente estudo, observou-se que o manejo de adultos de *D. speciosa* em milho, é independente da cultivar.

Uma vez que a distribuição se torna agregada, recomenda-se o desenvolvimento de um plano de amostragem sequencial com base no modelo binomial negativo para as medidas de manejo que utilizam inseticidas. Esta técnica é mais rápida e mais confiável do que as medidas de amostragem convencionais.

Agradecimentos

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Ávila, C. J., and J. R. P. Parra. 2003. Leaf consumption by *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) adults on different host plants. *Scientia Agricola* 60: 789-792.
- Barbosa, J. C., O. A. Fernandes, A. C. B. Correia, and S. A. De Bortoli. 1992. A amostragem sequencial. Manejo integrado de pragas e nematóides. Funep, Jaboticabal, Brazil.
- Carneiro, A. A. C. 2009. Milho *Bt*: teoria e prática da produção de plantas transgênicas resistentes a insetos-praga. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Brazil.
- Devos, Y., L. Meihls, J. Kiss, and B. Hibbard. 2013. Resistance evolution to the first generation of genetically modified *Diabrotica*-active *Bt*-maize events by western corn rootworm: management and monitoring considerations. *Transgenic. Res.* 22: 269-299.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis, and F. Bigler. 2002. Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
- Elliot, J. M. 1971. Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates. Freshwater Biological Association, Westmorland, United Kingdom.
- Fernandes, M. G., R. R. Spessoto, P. E. Degrande, and T. R. Rodrigues. 2011. Sequential Sampling of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) and *Frankliniella schultzei* Trybom (Thysanoptera: Thripidae) on Cotton Crop. *Neotrop. Entomol.* 40: 258-263.
- Foster, R. E., W. G. Ruesink, and W. H. Luckmann. 1979. Northern corn rootworm *Diabrotica longicornis* egg sampling. *J. Econ. Entomol.* 72: 659-663.
- French, B. W., A. A. Beckler, and L. D. Chandler. 2004. Landscape features and spatial distribution of adult northern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in the South Dakota areawide management site. *J. Econ. Entomol.* 97: 1943-1957.
- Gassen, D. N. 1989. Insetos subterrâneos prejudiciais as culturas no sul do Brasil. Documentos-Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, Passo Fundo, Brazil.
- Giles, K. L., T. A. Royer, N. C. Elliott, and S. D. Kindler. 2000. Development and validation of a binomial sequential sampling plan for the greenbug (Homoptera: Aphididae) infesting winter wheat in the southern plains. *J. Econ. Entomol.* 93: 1522-1530.
- Hein, G. L., J. J. Tollefson, and P. N. Hinz. 1985. Design and cost considerations in the sampling of northern and western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs. *J. Econ. Entomol.* 78: 1495-1499.
- Hurlbert, S. H. 1990. Spatial distribution of the montane unicorn. *Oikos.* 58: 257-271.
- Hutchinson, W. D. 1994. Sequential sampling to determine population density, pp. 207-244. In L. Pedigo and G. Buntin (eds.), *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- James, C. 2011. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011, ISAAA Brief, Ithaca, NY.
- Kuno, E. 1991. Sampling and Analysis of Insect Populations. *Ann. Rev. Entomol.* 36: 285-304.
- Marques, G. B. C., C. J. Ávila, and J. R. P. Parra. 1999. Damages caused by larvae and adults of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) in corn. *Pesqui. Agropecuária Brasileira.* 34: 1983-1986.

- McAuslane, H. J., C. R. Ellis, and O. B. Allen. 1987.** Sequential sampling of adult northern and western corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae) in southern ontario. *Can. Entomol.* 119: 577-585.
- Mendes, S. M., K. G. B. Boregas, M. E. Lopes, M. S. Waquil, and J. M. Waquil. 2011.** Fall armyworm responses to genetically modified maize expressing the toxin Cry 1A(b). *Pesqui. Agropecu. Bras.* 46: 239-244.
- Menezes-Netto, A. C., A. C. Varella, and O. A. Fernandes. 2012.** Maize-Dwelling insects omnivory in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses. *Braz. Arch. Biol.Tech.* 55: 97-100.
- Nardi, C., R. A. Luvizotto, J. R. Parra, and J. M. Bento. 2012.** Mating behavior of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ. Entomol.* 41: 562-570.
- Nyrop, J. P., M. R. Binns, and W. van der Werf. 1999.** Sampling for IPM decision making: where should we invest time and resources? *Phytopathology.* 89: 1104-1111.
- Park, Y.-L., and J. J. Tollefson. 2006a.** Spatial distributions of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs and larvae: implications for sampling. *J. Kans. Entomol. Soc.* 79: 129-135.
- Park, Y. L., and J. J. Tollefson. 2006b.** Development and economic evaluation of spatial sampling plans for corn rootworm *Diabrotica* spp. (Col., Chrysomelidae) adults. *J. Appl. Entomol.* 130: 337-342.
- Paula-Moraes, S., E. C. Burkness, T. E. Hunt, R. J. Wright, G. L. Hein, and W. D. Hutchison. 2011.** Cost-Effective binomial sequential sampling of western bean cutworm, *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae), egg masses in corn. *J. Econ. Entomol.* 104: 1900-1908.
- Perry, J. N. 1995.** Spatial analysis by distance indices. *J. Anim. Ecol.* 64: 303-314.
- Poole, R. W. 1974.** An introduction to quantitative ecology, McGraw-Hill, New York, US.
- Rabinovich, J. E. 1980.** Introducción a la ecología de poblaciones animales, Compañía Editorial Continental, Mexico.
- Ricklefs, R. E. 2003.** A economia da natureza, Guanabara-Koogan, Brazil.
- Rodrigues, T. R., M. G. Fernandes, and H. R. d. Santos. 2010.** Distribuição espacial de *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera, Aphididae) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera, Aleyrodidae) em algodoeiro *Bt* e não-*Bt*. *Rev. Bras. Entomol.* 54: 136-143.
- Ruesink, W. G. 1980.** Introduction to sampling theory, pp. 61-78. In M. Kogan and D. G. Herzog (eds.), *Sampling Methods in Soybean Entomology*. Springer, New York.
- Sanvido, O., J. Romeis, and F. Bigler. 2009.** An approach for post-market monitoring of potential environmental effects of *Bt*-maize expressing Cry1Ab on natural enemies. *J. Appl. Entomol.* 133: 236-248.
- Schumann, M., and S. Vidal. 2012.** Dispersal and spatial distribution of western corn rootworm larvae in relation to root phenology. *Agr. Forest. Entomol.* 14: 331-339.
- Silveira Neto, S., O. Nakano, D. Barbin, and N. A. V. Nova. 1976.** Manual de ecologia dos insetos, Editora Agronômica Ceres, Piracicaba, Brazil.
- Southwood, R. 1966.** Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations, Methuen, Michigan.
- Spencer, J. L., B. E. Hibbard, J. Moeser, and D. W. Onstad. 2009.** Behaviour and ecology of the western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Agr. Forest. Entomol.* 11: 9-27.
- Taylor, L. R. 1984.** Assessing and Interpreting the Spatial Distributions of Insect Populations. *Ann. Rev. Entomol.* 29: 321-357.

- Taylor, L. R., and R. A. J. Taylor. 1977.** Aggregation, migration and population mechanics. *Nature*. 265: 415-421.
- Ventura, M. U., E. P. Mello, A. R. M. Oliveira, F. Simonelli, F. A. Marques, and P. H. G. Zarbin. 2001.** Males are attracted by female traps: A new perspective for management of *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) using sexual pheromone. *Neotrop. Entomol.* 30: 361-364.
- Viana, P. A., and A. I. Marochi. 2010.** Controle químico da larva de *Diabrotica* spp. na cultura do milho em sistema de plantio direto. *Rev. Bras. Milho. Sorgo.* 1: 1-11.
- Walsh, G. C. 2003.** Host range and reproductive traits of *Diabrotica speciosa* (Germar) and *Diabrotica viridula* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), two species of South American pest rootworms, with notes on other species of Diabroticina. *Environ. Entomol.* 32: 276-285.
- Young, L. J., and J. Young. 1998.** *Statistical ecology: A population perspective*, Kluwer Academic, Boston.

Tabela 1. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Diabrotica speciosa* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita (I δ) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho Bt DKB 350 PRO 2012 e 2013.

Campo	Índices	Amostragens									
		2012					2013				
		7 D.A.E	14 D.A.E	21 D.A.E	28 D.A.E	35 D.A.E	7 D.A.E	14 D.A.E	21 D.A.E	28 D.A.E	35 D.A.E
I	\bar{m}	1,13	1,04	0,62	1,07	0,78	0,12	0,34	0,22	0,31	0,67
	S^2	1,71	1,41	0,76	1,43	1,06	0,20	0,46	0,25	0,45	1,01
	I	1,51*	1,35*	1,23 ^{ns}	1,34*	1,36*	1,73*	1,37*	1,15 ^{ns}	1,47*	1,50*
	I δ	1,45*	1,34*	1,37 ^{ns}	1,32*	1,46*	7,57*	2,13*	1,73 ^{ns}	2,58*	1,76*
	k	2,20 ^{ag}	2,90 ^{ag}	2,68 ^{ag}	3,09 ^{ag}	2,15 ^{ag}	0,16 ^{ag}	0,89 ^{ag}	1,41 ^{ag}	0,64 ^{ag}	1,31 ^{ag}
	χ^2	149,83	134,46	121,87	133,18	134,82	171,33	136,58	114,36	146,41	149,41
	\bar{m}	1,03	0,9	0,51	0,45	1,08	0,09	0,23	0,04	0,09	0,15
II	S^2	0,99	1,42	0,59	0,57	1,28	0,12	0,44	0,03	0,10	0,18
	I	0,96 ^{ns}	1,58*	1,16 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,19 ^{ns}	1,36*	1,91*	0,96 ^{ns}	1,14 ^{ns}	1,26 ^{ns}
	I δ	0,97 ^{ns}	1,64*	1,33 ^{ns}	1,61*	1,17 ^{ns}	5,55*	5,13*	0	2,77 ^{ns}	2,85*
	k	-34,32 ^{un}	1,54 ^{ag}	3,02 ^{ag}	1,64 ^{ag}	5,64 ^{ag}	0,24 ^{ag}	0,25 ^{ag}	-1,32 ^{un}	0,62 ^{ag}	0,57 ^{ag}
	χ^2	96,02	156,66	115,66	126,11	117,92	135,44	190,04	96	113,22	125
	\bar{m}	0,85	0,61	0,54	0,47	-	0,3	0,12	0,1	0,21	0,14
	III	S^2	1,13	0,82	0,67	0,63	-	0,37	0,20	0,11	0,43
I		1,33*	1,35*	1,25 ^{ns}	1,35*	-	1,24 ^{ns}	1,73*	1,11 ^{ns}	2,04*	2,45*
I δ		1,40*	1,58*	1,46*	1,75*	-	1,83*	7,57*	2,22 ^{ns}	6,19*	12,08*
k		2,50 ^{ag}	1,72 ^{ag}	2,15 ^{ag}	1,33 ^{ag}	-	1,22 ^{ag}	0,16 ^{ag}	0,9 ^{ag}	0,20 ^{ag}	0,09 ^{ag}
χ^2		132,64	134,08	123,77	133,85	-	123,33	171,33	110	202,80	243,14

* = significativo a 5% para o teste de qui-quadrado; ag = agregado; al = aleatório; ns = não significativo.

Tabela 2. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Diabrotica speciosa* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita (I δ) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho não-Bt DKB 177 2012 e 2013.

Campo	Índices	Amostragens									
		2012					2013				
		7 D.A.E	14 D.A.E	21 D.A.E	28 D.A.E	35 D.A.E	7 D.A.E	14 D.A.E	21 D.A.E	28 D.A.E	35 D.A.E
I	\bar{m}	0,88	1,07	0,43	0,76	0,54	0,07	0,4	0,27	0,29	0,81
	S^2	1,13	1,01	0,44	0,81	0,71	0,10	0,86	0,46	0,57	1,04
	I	1,29 ^{ns}	0,94 ^{ns}	1,04 ^{ns}	1,06 ^{ns}	1,32*	1,51*	2,17*	1,71*	1,97*	1,28 ^{ns}
	$I\delta$	1,33*	0,95 ^{ns}	1,10 ^{ns}	1,08 ^{ns}	1,60*	9,52*	3,97*	3,70*	4,43*	1,35*
	k	3,01 ^{ag}	-20,91 ^{un}	9,43 ^{al}	11,43 ^{al}	1,66 ^{ag}	0,13 ^{ag}	0,34 ^{ag}	0,38 ^{ag}	0,29 ^{ag}	2,79 ^{ag}
	χ^2	127,90	93,93	103,51	105,57	131,18	150,14	215	169,29	195,13	127,64
	\bar{m}	1,04	0,6	0,14	0,6	0,7	0,1	0,07	0,08	0,03	0,12
II	S^2	1,06	0,88	0,22	0,78	0,89	0,17	0,10	0,07	0,04	0,20
	I	1,02 ^{ns}	1,48*	1,59*	1,31*	1,27 ^{ns}	1,71*	1,51*	0,92 ^{ns}	1,65*	1,73*
	$I\delta$	1,02 ^{ns}	1,80*	5,49*	1,52*	1,40*	8,88*	9,52*	0	33,33*	7,57*
	k	37,18 ^{al}	1,24 ^{ag}	0,23 ^{ag}	1,91 ^{ag}	2,46 ^{ag}	0,13 ^{ag}	0,13 ^{ag}	-1,13 ^{un}	0,04 ^{ag}	0,16 ^{ag}
	χ^2	101,76	146,66	157,42	130	127,14	170	150,14	92	163,66	171,33
	\bar{m}	0,68	0,42	1,03	0,66	-	0,43	0,19	0,14	0,13	0,29
	III	S^2	0,84	0,52	1,24	0,89	-	0,71	0,27	0,22	0,13
I		1,24 ^{ns}	1,25 ^{ns}	1,20 ^{ns}	1,35*	-	1,65*	1,45*	1,59*	1,03 ^{ns}	1,62*
$I\delta$		1,36 ^{ns}	1,62*	1,19 ^{ns}	1,53*	-	2,54*	3,59*	5,49*	1,28 ^{ns}	3,20*
k		2,78 ^{ag}	1,62 ^{ag}	5,01 ^{ag}	1,86 ^{ag}	-	0,65 ^{ag}	0,41 ^{ag}	0,23 ^{ag}	3,80 ^{ag}	0,46 ^{ag}
χ^2		123,17	124,66	119,33	134	-	163,97	144,15	157,42	102,38	160,65

* = significativo a 5% para o teste de qui-quadrado; ag = agregado; al = aleatório; ns = não significativo.

Tabela 3 Teste de qui-quadrado (χ^2) para adultos de *Diabrotica speciosa* (Poisson, Binomial Negativa e Binomial Positiva) em milho DKB 350PRO (*Bt*)

Campo	Amostragens	Poisson		Binomial Negativa		Binomial Positiva		
		χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	
I	2012	7 D.A.E	29,738**	3	19,12**	4	62,00**	2
		14 D.A.E	20,54**	3	13,03**	3	31,69**	1
		21 D.A.E	7,40 ^{ns}	2	4,70 ^{ns}	2	28,42**	1
		28 D.A.E	8,65 ^{ns}	3	4,10 ^{ns}	3	27,22**	1
		35 D.A.E	9,93**	2	5,72 ^{ns}	2	34,52**	1
	2013	7 D.A.E	7,87**	1	6,24 ^{ns}	1	8,00 ⁱ	-1
		14 D.A.E	3,51 ^{ns}	1	0,43 ^{ns}	1	26,56 ⁱ	0
		21 D.A.E	2,53 ^{ns}	1	0,50 ^{ns}	1	29,81 ⁱ	0
		28 D.A.E	2,50 ^{ns}	1	1,28 ^{ns}	1	30,45 ⁱ	0
		35 D.A.E	2,53 ^{ns}	2	1,00 ^{ns}	2	27,73**	1
II	2012	7 D.A.E	3,41 ^{ns}	3	3,49 ^{ns}	2	4,53*	1
		14 D.A.E	19,13**	3	12,91**	3	35,47**	1
		21 D.A.E	3,63 ^{ns}	2	1,98 ^{ns}	1	27,44 ⁱ	0
		28 D.A.E	8,65 ^{ns}	3	4,10 ^{ns}	3	27,22**	1
		35 D.A.E	17,09**	3	14,41**	3	35,99**	1
	2013	7 D.A.E	1,54 ⁱ	0	0,59 ⁱ	0	1,59 ⁱ	-1
		14 D.A.E	23,52**	1	6,12 ^{ns}	1	33,90 ⁱ	0
		21 D.A.E	0 ⁱ	0	0 ⁱ	-1	25,24 ⁱ	-1
		28 D.A.E	0,30 ⁱ	0	0,14 ⁱ	-1	27,28 ⁱ	0
		35 D.A.E	1,78 ⁱ	0	0,60 ⁱ	0	27,27 ⁱ	-1
III	2012	7 D.A.E	6,41 ^{ns}	2	2,91 ^{ns}	2	14,47**	1
		14 D.A.E	10,95**	2	6,07 ^{ns}	2	31,21**	1
		21 D.A.E	6,49 ^{ns}	2	2,80 ^{ns}	1	27,94**	1
		28 D.A.E	10,01**	2	0,70 ^{ns}	1	26,42**	0
		35 D.A.E	-	-	-	-	-	-
	2013	7 D.A.E	1,85 ^{ns}	1	0,12 ^{ns}	1	2,96 ⁱ	0
		14 D.A.E	3,62 ⁱ	0	0,31 ⁱ	0	129,50 ⁱ	-1
		21 D.A.E	0,24 ⁱ	0	0,11 ⁱ	-1	26,34 ⁱ	-1
		28 D.A.E	3,80 ^{ns}	1	1,94 ^{ns}	1	28,07 ⁱ	0
		35 D.A.E	8,17 ⁱ	0	1,10 ^{ns}	1	28,69 ⁱ	-1

ns - Não significativo, ** - significativo ao nível de 1%, χ^2 - valor do qui-quadrado calculado, GL - graus de liberdade, i = insuficiência de classes nc - número de classes observadas no campo.

Tabela 4 Teste de qui-quadrado (χ^2) para adultos de *Diabrotica speciosa* (Poisson, Binomial Negativa e Binomial Positiva) em milho DKB 177 (não-Bt)

Campo	Amostragens	Poisson		Binomial Negativa		Binomial Positiva		
		χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	
I	2012	7 D.A.E	2,71 ^{ns}	3	3,98 ^{ns}	2	2,99 ^{ns}	1
		14 D.A.E	3,01 ^{ns}	3	3,46 ^{ns}	2	25,85**	1
		21 D.A.E	0,15 ^{ns}	1	0,18 ^{ns}	1	26,61**	0
		28 D.A.E	1,44 ^{ns}	2	2,62 ^{ns}	2	28,12**	1
		35 D.A.E	8,54*	2	4,03 ^{ns}	2	32,28**	1
	2013	7 D.A.E	2,12 ⁱ	0	1,10 ^{ns}	1	2,16 ⁱ	-1
		14 D.A.E	7,59**	1	8,33 ^{ns}	2	31,06 ⁱ	0
		21 D.A.E	4,69 ^{ns}	1	4,31 ^{ns}	1	31,14 ⁱ	0
		28 D.A.E	16,62**	1	10,95**	2	33,98 ⁱ	0
		35 D.A.E	3,42 ^{ns}	2	1,50 ^{ns}	2	35,35**	1
II	2012	7 D.A.E	3,12 ^{ns}	3	3,02 ^{ns}	2	5,72*	1
		14 D.A.E	5,12 ^{ns}	2	3,11 ^{ns}	2	29,52**	1
		21 D.A.E	2,93 ⁱ	0	0,91 ⁱ	0	28,14**	-1
		28 D.A.E	1,44 ^{ns}	2	8,16 ^{ns}	2	28,12**	1
		35 D.A.E	8,88*	2	6,30 ^{ns}	2	28,61**	1
	2013	7 D.A.E	6,07 ⁱ	0	4,61 ⁱ	0	6,16 ⁱ	0
		14 D.A.E	15,27**	1	1,10 ⁱ	0	26,29 ⁱ	-1
		21 D.A.E	0,01 ⁱ	0	-	-1	26,36 ⁱ	-1
		28 D.A.E	1,30 ⁱ	0	0,72 ⁱ	-1	26,70 ⁱ	-1
		35 D.A.E	3,64 ⁱ	0	0,31 ⁱ	0	27,29 ⁱ	-1
III	2012	7 D.A.E	0,81 ^{ns}	2	1,47 ^{ns}	2	2,99 ^{ns}	1
		14 D.A.E	2,62 ^{ns}	1	0,40 ^{ns}	1	27,42**	1
		21 D.A.E	4,68 ^{ns}	3	2,67 ^{ns}	3	29,33**	1
		28 D.A.E	3,25 ^{ns}	2	0,71 ^{ns}	2	29,49**	1
		35 D.A.E	-	-	-	-	-	-
	2013	7 D.A.E	2,53 ^{ns}	1	2,44 ^{ns}	2	3,02 ⁱ	0
		14 D.A.E	3,45 ^{ns}	1	0,15 ⁱ	0	26,34 ⁱ	0
		21 D.A.E	2,92 ⁱ	0	0,21 ⁱ	0	26,13 ⁱ	-1
		28 D.A.E	0,11 ⁱ	0	0,08 ⁱ	-1	26,01 ⁱ	-1
		35 D.A.E	4,92 ^{ns}	1	1,00 ^{ns}	1	27,05 ⁱ	0

ns - Não significativo, ** - significativo ao nível de 1%, χ^2 - valor do qui-quadrado calculado, GL - graus de liberdade, i = insuficiência de classes nc - número de classes observadas no campo.

Pest Management

Distribuição Espacial de *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) em Cultivos de Milho*

T A Mota^{1,2}, M G Fernandes², E A Alegre², M F.Sousa², E F Tiago; P H R Fernandes² A L

F Lourenção³

¹ Corresponding author, e-mail: thiamota@hotmail.com

² Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) Dourados, MS Brazil.

³Fundação MS.

Corresponding Author: Thiago Alexandre Mota

Email: thiamota@hotmail.com

Phone Number: 55 (67) 8134-0933

Running title: Spatial Distribution of *Dichelops melacanthus* in the Maize Crops.

*Manuscrito elaborado de acordo com as normas do periódico Neotropical Entomology
http://seb.org.br/downloads/IFA_NENT_Final.pdf

Resumo

Para um manejo sustentável de pragas, é fundamental a utilização de um plano de amostragem que caracteriza o tamanho da população e permite a tomada de decisão correta. Portanto, o conhecimento da distribuição espacial do inseto em questão torna-se um requisito essencial. O objetivo deste trabalho foi estudar a distribuição espacial do percevejo *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) em campos de milho-*Bt* e não-*Bt*. As amostragens foram realizadas em seis campos de 250 m², durante os anos agrícolas 2012 e 2013, utilizando milho de segunda safra “safrinha”. Cada campo foi dividido em 100 parcelas de 25 m² (5 x 5 m). A unidade de amostragem para todas as parcelas envolveu cinco plantas selecionadas aleatoriamente, totalizando 500 plantas por campo. Utilizando os índices de dispersão e os índices de frequência, a distribuição espacial de ninfas, adultos e total (ninfas+adulto) de *D. melacanthus* observada no estágio inicial de plantas de milho é agregado, e a cultura *Bt* não alterou esse padrão de distribuição da população desta praga.

Palavras-Chave: Binomial Negativa, dispersão, Milho *Bt*, agregado, Percevejo barriga verde.

Abstract

To improve a program of sustainable pest management a good sampling plan which characterizes the population and enables correct decision making becomes essential. Therefore, a proper understanding of the spatial distribution of the insect in question becomes mandatory. Cultivars of the genetically modified *Bt* maize are considered to influence the non-target populations to some degree due to the decreased numbers of insects found on them. The objective of this work was to study the spatial distribution of the bug, *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) in corn. Samples were collected from the six field trials of 250 m², during 2012 and 2013. Each field was divided into 100 plots, of the 25 m² (5 × 5 m). The sampling unit for all the samples involved five randomly selected plant samples tested per plot, amounting to a total of 500 plants per field. Using the dispersion index and index of frequency, the spatial distribution of the *D. melacanthus* nymphs, adults and total (adult + nymph) was observed on the corn as the aggregated distribution type, and when cultivating the *Bt* variety this distribution pattern for this insect pest remained unchanged.

Keywords: Negative binomial, dispersion, *Bt* maize, aggregated, stink bug.

Introdução

Popularmente conhecida como barriga verde, *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) é uma importante praga em diferentes culturas de importância econômica como a soja, milho e o trigo (Ávila & Panizzi 1995, Panizzi & Corrêa-Ferreira 1997, Manfredi-Coimbra *et al* 2005). No milho (*Zea mays* L.) os prejuízos devido a presença dessa praga foi registrado pela primeira vez em Rio Brilhante MS em 1993 (Ávila & Panizzi 1995). Sugere-se que a intensificação do cultivo de milho de segunda época e o aumento da adoção do sistema de plantio direto e necessário à soja proporciona condições favoráveis ao aumento populacional dessa praga (Ávila & Panizzi 1995, Panizzi 1997, Chocorosqui & Panizzi 2004).

O ataque de *D. melacanthus* ocorre no começo do ciclo dessa cultura, nos tecidos vegetais e a frequência de penetração dos estiletes bucais e a duração da alimentação associados às secreções salivares, podem causar necrose tecidual (Slansky & Panizzi 1987). Assim, observam-se pontos escuros nas folhas do cartucho, causando o amarelecimento e lesões nas folhas deformadas, além do perfilhamento exagerado (Corrêa-Ferreira & Panizzi 1999).

Para o controle de *D. melacanthus*, recomenda-se a utilização de inseticidas por meio do tratamento de sementes ou pela pulverização foliar (Cruz *et al* 1999). Assim a integração do tratamento de sementes associados às pulverizações em pós-emergência podem alcançar até 80 % de controle dessa população (Brustolin *et al* 2011). Porém, ressalta-se que as atuais recomendações para tomada de decisão, não são sustentadas a partir de amostragens, que classificam os níveis populacionais da espécie monitorada, por meio de planos de amostragem sequencial.

A fim de determinar os padrões de distribuição espacial de uma determinada espécie em um determinado ecossistema, os dados de contagens individuais devem ser obtidos,

conforme Young & Young (1998). Estes dados podem ser usados para fazer inferências sobre a distribuição espacial da população amostrada.

Os padrões de distribuições espaciais de organismos podem ser classificados em três tipos: agregados, uniforme e aleatório (Ricklefs 2003). Colocar o padrão de distribuição de um organismo sob uma destas três categorias pode ser conseguido através do índice de dispersão e a distribuição teórica de frequências (Barbosa 1992). Embora os índices de agregação e dispersão não descreverem matematicamente a distribuição da população estudada (Elliot 1977), no entanto fornecem dados para uma aproximação à realidade. É importante notar que o conhecimento da distribuição de frequência (que descreve matematicamente a distribuição espacial da praga) é altamente essencial para determinar o critério adequado de amostragem, análises estatísticas, e a decisão de controlar (Ruesink 1980, Taylor 1984).

Geralmente, é importante conhecer o comportamento específico das infestações provocadas por estas pragas, a fim de determinar e utilizar estratégias de manejo adequadas para o seu controle, por exemplo, para identificar o tipo específico de distribuição espacial no domínio. É, portanto, necessário possuir os dados para contar essas pragas e para determinar seus padrões de distribuição espacial, que definem os padrões de comportamento da população.

A utilização de um modelo rápido, confiável e de baixo custo para as populações de pragas amostradas é, de acordo com a filosofia do Manejo Integrado de Pragas (MIP), é essencial para a produção de alimentos mais sustentáveis economicamente e ecologicamente. Assim, é necessário estabelecer um plano de amostragem confiável para conhecer a distribuição espacial das espécies de pragas na cultura (Giles *et al* 2000). Assim, o objetivo deste estudo foi analisar as possíveis diferenças na distribuição espacial de *D. melacanthus* no cultivo de milho *Bt* em comparação com o milho convencional.

Material e Métodos

Campo amostral

Este estudo foi realizado durante dois anos de milho segunda safra “safrinha”, entre 2012 e 2013, em seis campos de milho (dois em Dourados e um em Maracaju em 2012, e dois em Maracaju e um em Dourados em 2013) localizados no sul de Mato Grosso do Sul, Brasil. Os campos foram semeados com milho transgênico *Bt* (DKB 390 VTPRO) expressando as toxinas Cry1A.105 + Cry2Ab2 e milho não-*Bt* (DKB 177). Não foram aplicados inseticidas durante o estudo. Cada campo foi dividido em 100 parcelas, cada uma medindo 25 m² (5 × 5 m). A unidade de amostragem para todas as amostras envolveu 5 plantas aleatoriamente selecionadas que foram avaliadas semanalmente em cada parcela, totalizando 500 plantas / campo. Contamos o número de ninfas e adultos de *D.melacanthus*, utilizando sete amostragens por campo.

Distribuição Espacial

As análises estatísticas para determinar o padrão de distribuição espacial do inseto levou em consideração o número total de indivíduos encontrados em cinco plantas/ parcela nos seis campos de trabalho os seguintes índices de dispersão foram calculados e usados para este fim:

Índice Razão de variância / média: Esta relação (I) é um índice que mede o desvio de um arranjo de dados aleatórios. Para este índice, os valores iguais a um indicam disposição espacial aleatória ou acaso, valores inferiores a um indicam arranjo espacial regular ou uniforme, e valores significativamente maiores do que um indicam agregação ou distribuição contagiosa (Rabinovich 1980). As limitações desse índice encontram-se na influência do tamanho da unidade de amostragem, bem como no número de casos observados, sendo extremamente afetada pelas disposições da agregação (Southwood 1966).

Morisita: O Índice de Morisita (I_{δ}) é relativamente independente da média e o número das amostras. Quando $I_{\delta} = 1$ a distribuição é aleatória e quando $I_{\delta} > 1$ a distribuição é contagiosa, enquanto $I_{\delta} < 1$ indica a distribuição regular (Silveira Neto *et al* 1976). A limitação do Índice de Morisita reside no facto de ser excessivamente influenciado pelo tamanho da amostra (N), em que, para uma utilização segura, o número de unidades de amostragem tem de ser o mesmo para todos os campos a serem comparadas.

Expoente K da distribuição binomial negativa: Expoente K é um índice de dispersão adequado quando o tamanho e número de unidades de amostra são as mesmas em cada amostra, sendo muitas vezes influenciado pelo tamanho da unidade de amostragem. Este parâmetro é uma medida inversa do grau de agregação, e neste caso, os valores negativos indicam uma distribuição normal ou uniforme, os valores positivos perto de zero indicam um arranjo agregado e os valores mais elevados, até 8, indicam uma distribuição aleatória (Southwood 1966, Elliot 1977).

As distribuições teóricas de frequências utilizadas para avaliar a distribuição espacial da espécie observada são como se segue, de acordo com Young & Young (1998):

A distribuição de Poisson, também denominado de distribuição aleatória, é caracterizada por apresentar um desvio igual à média (Southwood 1966).

Binomial Negativa: Este índice mostra maior variação do que a média, indicando, assim, uma distribuição agregada. Ele tem dois parâmetros: a média (m) e o parâmetro K ($K > 0$).

A distribuição binomial positiva é o modelo matemático que melhor representa a distribuição regular ou uniforme, onde a variância é menor que a média (Rabinovich 1980). A função de probabilidades é obtida pela expansão do binômio $(p+q)^k$, onde k é o tamanho da unidade amostral, p é a probabilidade de que qualquer espaço seja ocupado por um indivíduo, e q é a probabilidade de não ocorrer a presença desse indivíduo.

O teste do qui-quadrado: Para verificar o teste de aptidão dos dados coletados às distribuições teóricas de frequência, foi utilizado o teste do qui-quadrado para aderência ao comparar o total das frequências observadas na área de amostra com as frequências esperadas, de acordo com Young & Young (1998), onde estas frequências são definidas pelo produto das probabilidades de cada classe e o número total de unidades de amostragem utilizado. No presente estudo, foi selecionado para corrigir uma frequência mínima esperada igual a um, devido ao número de classes mínimas necessárias para encontrar o grau de liberdade.

Resultados

As médias de insetos/amostragem observadas em todos os campos amostrais e em ambos os anos amostrados foram consideradas baixas, tanto na contagem de ninfas e adultos, quanto o total de indivíduos, mostrando uma baixa infestação dessa praga, mesmo com a contagem enumerativa, ou seja, a contagem de todos os indivíduos presentes nas cinco plantas amostradas por parcelas. Considerando a amostragem da população, isto é, a soma de ninfa e adultos, observa-se maiores médias apenas nas cultivares da área II de 2013, porém não excedendo mais do que 2,5 percevejos por parcela (Tabela I e Tabela II).

Os valores da razão variância/média (I) calculados para ninfas e para o total de *D. melacanthus* foram significativamente maiores que a unidade, independentemente da cultivar de milho estudado (*Bt* e não-*Bt*), ou seja, disposição agregada no campo. Observam-se diferenças para adultos desse percevejo, quando considerado as duas cultivares, sendo a maior parte das amostragens seguindo padrão agregado no milho *Bt*, diferente do milho não-*Bt* como valores significativamente iguais a unidade, padrão esse ao acaso (Tabela I e Tabela II).

Considerando os valores do índice de Morisita (I_{δ}), verifica-se que adultos, ninfas e o total na maior parte das avaliações, os valores foram superiores a unidade, permitindo

confirmar a disposição agregada da população nas duas cultivares analisadas. Tal fato pode ser verificado quando analisado o expoente K da binomial negativa, com valores positivos e abaixo de oito o que evidencia a agregação de ninfas adultos e o total de *D. melacanthus* (Tabela I e Tabela II).

Para a análise dos três modelos teóricos de frequência, (Poisson, binomial negativa e positiva), quando os valores do qui-quadrado juntamente com os graus de liberdade, não são significativos, existe um encaixe ao modelo calculado, uma vez que não é descartada a hipótese nula. De maneira geral, houve um melhor ajuste aos testes de frequência de Poisson e binomial negativa e resultados pouco conclusivos com o teste da binomial positiva, para todos os parâmetros avaliados, descartando a possibilidade da uniformidade de ninfas, adultos e o total de *D. melacanthus* (Tabela IV). Referindo-se distribuição espacial de ninfas, apesar da pouca suficiência de classes para boa parte dos valores de qui-quadrado, observa-se um ajuste melhor dos valores ao modelo da binomial negativa, uma vez que, para ambas as cultivares houve ajuste mais satisfatório para esse modelo (Tabelas III e IV).

A distribuição espacial de *D. melacanthus*, quando considerado tanto ninfas, quanto adultos, é mais clara e um bom ajuste ao modelo da binomial negativa é observado (Tabela IV). Para esse modelo, e considerando tanto na cultivar *Bt*, quanto na não-*Bt*, houve uma maior quantidade de valores de qui-quadrados ajustados com os graus de liberdade requeridos. Assim, para adultos e o total (ninfas + adultos), a distribuição espacial de *D. melacanthus* é do tipo agregada, e a cultivar transgênica não teve influência sobre esse padrão.

Discussão

Para o desenvolvimento de um plano de amostragem sequencial, requisitos como o nível de controle e o nível de segurança e as funções de probabilidades de erro na decisão populacional, são informações necessárias para a utilização do modelo sequencial de Wald

(1947). O terceiro requisito é a obtenção de uma função de probabilidades que descreva a distribuição da espécie praga em questão (Young & Young 1998, Hutchinson 1994). Para cada modelo de distribuição espacial apresentada para determinadas populações, há variação no método a ser utilizado para o estabelecimento do plano de amostragem, em função dos diferentes parâmetros envolvidos (Fernandes 2003).

No presente trabalho, foram utilizados diferentes modelos matemáticos para a descrição da distribuição espacial de *D. melachantus*. Mesmo os resultados observados para distribuição espacial de ninfas apresentarem melhor ajuste para o modelo da binomial negativa, e razoável ajuste para Poisson, essas semelhanças são normalmente observados (Terry *et al* 1989). Assim, é importante a utilização conjunta com os modelos de probabilidades, os índices de dispersão, que apesar de não descreverem a distribuição matematicamente (Elliott *et al* 1990), são auxiliados pelos resultados similares em diferentes testes, ou seja, com maior acurácia e validade para a conclusão da distribuição espacial da população (Myers 1978). Complementando, para resultados com os índices de frequência mais conclusivos e devido aos resultados bastante próximos para ninfas como relatado, optou-se por rejeitar a hipótese nula com nível de erro de 0,01% de probabilidade. Portanto, valores de qui-quadrado abaixo dos valores tabelados a essa probabilidade em específicos graus de liberdade, são classificados com não significativos.

A ampla literatura especializada utiliza os métodos probabilísticos juntamente com os índices de dispersão para análise de distribuição espacial de várias espécies de insetos pragas no Brasil (Farias *et al* 2001, Fernandes *et al* 2003, Pereira *et al* 2004). Apesar de vários trabalhos relatarem a utilização de modelos de regressão empírica, em detrimento aos métodos probabilísticos, como Taylor Power Law (Hodgon *et al* 2004, Naranjo & Flint 1995) é notável que para a utilização satisfatória desse modelo é necessário um conjunto de médias e variâncias com pelo menos 40 dados amostrais (Binss *et al* 2000). Aqui, nós

utilizamos 30 amostragens para cada cultivar (*Bt* e não-*Bt*) o que inviabiliza a utilização do modelo de regressão. Ainda, a utilização dos modelos probabilísticos tem como limitação para a sua acurácia, as possíveis mudanças de densidades de artrópodes, fato esse não observado no presente trabalho quando considerados médias para todos os campos.

A distribuição agregada de *D. melacanthus* encontrados no presente trabalho, parece ser padrão para artrópodes de modo geral, diferente do padrão aleatório, pois este implica que todos os pontos têm a mesma probabilidade de serem ocupados, ou seja, uma falta de interação entre as espécies bem como a homogeneidade do habitat (Southwood 1978, Rabinovich 1980, Davis 1994). Para pentatomídeos é relatado a distribuição agregada para ninfas e adultos de *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) em soja (Souza *et al* 2013).

O fato de campos de cultivos de milho *Bt* não influenciarem a distribuição espacial de *D. melacanthus*, parece ser fator normalmente encontrado na literatura para outras espécies pragas e inimigos naturais não alvos da tecnologia (Rodrigues *et al* 2010, Fonseca *et al* 2013, Reay-Jones *et al* 2010, Paula-Moraes *et al* 2011, Mota *et al* 2013). Então, a construção do plano de amostragem sequencial não discrimina a cultivar utilizada, sendo uma ferramenta útil para a avaliação da densidade e tomada de decisão de manejar ou não *D. melacanthus* em cultivo de milho.

Agradecimentos

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

Ávila CJ, Panizzi AR (1995) Occurrence and damage by *Dichelops* (*Neodichelops*) *melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) on corn. An Soc Entomol Bras 24:193-195

- Barbosa JC (1992) A amostragem sequencial. In: Fernandes AO, Correia ACB, DE Bortoli AS (eds) Manejo integrado de pragas e namatóides. Jaboticabal, Funep, pp 205-211
- Binns MR, Nyrop JP, van der Werf W (2000) Sampling and monitoring in crop protection: the theoretical basis for developing practical decision guides. Wallingford, CABI Publishing, 284 p
- Brustolin C, Bianco R, Neves PMOJ (2011) Inseticidas em pré e pós-tratamento do milho (*Zea mays* L.), associados ao tratamento de sementes, sobre *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). Rev Bras Milho Sorgo 10: 215-223
- Chocorosqui VR, Panizzi AR (2004) Impact of cultivation systems on *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) population and damage and its chemical control on wheat. Neotrop Entomol 33: 487-492
- Corrêa-Ferreira BS, Panizzi AR (1999) Percevejos da soja e seu manejo. <http://ag20.cnptia.embrapa.br/Repositorio/circTec24000ge7ag4ne02wx5ok0ylax21xujlts.pdf/>. Accessed 08 August 2013
- Cruz I, Viana PA, Waquil JM (1999) Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/482101>. 08 August 2013
- Davis PM (1994) Statistics for describing populations. In: Pedigo L, Buntin G (eds.) Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. Boca Raton, CRC, pp 33-54
- Elliott JM (1979) Some methods for the statistical analysis of sample benthic invertebrates. Freshwater Biological Association, Ambleside, 157 p
- Elliott NC, Kiechefer RW, Walgenbach DD (1990) Binomial sequential sampling methods for cereal aphids in small grains. J Econ Entomol 83: 1381-1387
- Farias PRS, Barbosa JC, Busoli AC (2001) Distribuição espacial da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do milho. Neotrop Entomol 30: 681-689
- Fernandes MG, Busoli AC, Barbosa JC (2003) Distribuição espacial de *Alabama argillacea* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro. Neotrop Entomol 32: 107-115
- Fernandes MG, Busoli AC, Barbosa JC (2003) Amostragem sequencial de *Alabama argillacea* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro. Neotrop Entomol 32: 117-122
- Fonseca PRB, Fernandes MG, Degrande, PE, Mota TA, Kassab SO (2013) Spatial distribution of adult *Anthonomus grandis* Bohem (Coleoptera: Curculionidae) and buds with feeding punctures on conventional and *Bt* cotton. Semina 34: 1129-1138
- Giles KL, Royer TA, Elliott NC, Kindler SD (2000) Development and validation of a binomial sequential sampling plan for the greenbug (Homoptera: Aphididae) infesting winter wheat in the southern plains. J Econ Entomol 93:1522-1530
- Hodgson EW, Burkness EC, Hutchison WD, Ragsdale DW (2004) Enumerative and binomial sequential sampling plans for soybean aphid (Homoptera: Aphididae) in soybean. J Econ Entomol 97: 2127-2136
- Hutchison WD (1994) Sequential sampling to determine population density. In: Pedigo L, Buntin G (eds.) Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. Boca Raton, CRC, pp 207-244
- Manfredi-Coimbra S, Silva JJ da, Chocorosqui VR, Panizzi AR (2005) Danos do percevejo *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em trigo. Ciência Rural 35:1243-1247
- Mota TA, Fernandes MG, Alegre EA, Souza MF, Tiago EF, Lourenção (2013) Can *Bt* maize change the spatial distribution of predator *Cycloneda sanguine* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae)? Afric J Biotech 12: 6086-6090

- Myers JH (1978) Selecting a measure of dispersion. *Environ Entomol* 7: 619-621
- Naranjo SE, Flint HM (1995) Spatial distribution of adult *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in cotton and development and validation of fixed-precision sampling plans for estimating population density. *Environ Entomol* 24: 261-270
- Panizzi AR (1997) Wild hosts of pentatomids: Ecological significance and role in their pest status on crops. *Ann Rev Entomol* 42: 99-122
- Panizzi AR, Corrêa-Ferreira (1997) Dynamics in the insect fauna adaptation to soybean in the tropics. *Trends Entomol* 1: 71-88
- Paula-Moraes S, Burkness EC, Hunt TE, Wright RJ, Hein GL, Hutchison WD (2011) Cost-Effective binomial sequential sampling of western bean cutworm, *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae), egg masses in corn. *J Econ Entomol* 104: 1900-1908
- Pereira MFA, Boiça Jr AL, Barbosa JC (2004) Distribuição espacial de *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Neotrop Entomol* 33: 493-498
- Poole RW (1974) An introduction to quantitative ecology. New York, McGraw-Hill, 532 p
- Rabinovich JE (1980) Introducción a la ecología de poblaciones animales. CECSA, México, 313 p
- Reay-Jones F P F, Toews M D, Greene J K, Reeves R B (2010) Development of sampling plans for cotton bolls injured by stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). *J Econ Entomol* 103: 525-532
- Ricklefs RE (2003) A economia da natureza. Guanabara, Koogan, Brazil, 470 p
- Rodrigues TR, Fernandes MG, dos Santos HR (2010) Distribuição espacial de *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera, Aphididae) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera, Aleyrodidae) em algodoeiro *Bt* e não-*Bt*. *Rev. Bras. Entomol* 54: 136-143
- Ruesink WG (1980) Introduction to sampling theory. In: Kogan M, Herzog DG (eds.) Sampling methods in soybean entomology. New York, Springer pp 79-93
- Silveira Neto S, Nakano O, Bardin D, Nova NAV (1976) Manual de ecologia dos insetos. Editora Agronômica Ceres, Brazil, 419 p
- Slansky Jr F, Panizzi AR (1987) Nutritional ecology of seed sucking insects. In: Slansky Jr F, Rodriguez JG (Org) Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. 1ed. New York, Wiley pp 283-320
- Souza LA, Barbosa JC, Grigolli JFJ, Fraga DF, Maldonado Jr W, Busoli AC (2013) Spatial distribution of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean. *Neotrop Entomol* 42: 412-418
- Southwood R (1966) Ecological methods with particular reference to the study of insect populations. Michigan, Methuen 391 p
- Southwood TRE (1978) Ecological methods: with particular reference to the study of insect populations, 2nd edn. London, Chapman and Hall, 524 p
- Taylor LR (1984) Assessing and interpreting the spatial distribution of insect populations. *Ann Rev Entomol* 29: 321-357
- Terry I, Bradley JR, Van Duyn JW (1989) *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs in soybeans: within field and precision level sequential count plans. *Environ Entomol* 18: 908-916
- Young LJ, Young J (1998) Statistical ecology: A population perspective. Kluwer Academic, Boston, 55 p
- Wald A (1947) Sequential analysis. New York, Wiley 212 p.

Tabela I. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Dichelops melacanthus* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita (I δ) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho 2012.

Cultivar	Período Amostral	Ninfa						Adulto						Total					
		\bar{m}	S^2	I	I δ	k	χ^2	\bar{m}	S^2	I	I δ	k	χ^2	\bar{m}	S^2	I	I δ	k	χ^2
Campo I																			
DKB 350PRO	7 D.A.E	0,2	0,3	1,51*	3,68*	0,38ag	150	0,42	0,54	1,30*	1,74*	1,36ag	129,42	0,62	0,9	1,45*	1,74*	1,35ag	144,45
	14 D.A.E	0,09	0,12	1,36*	5,55*	0,24ag	134,44	0,19	0,27	1,45*	3,50*	0,41ag	144,15	0,28	0,42	1,52*	2,91*	0,53ag	150,57
	21 D.A.E	0,02	0,019	0,98ns	-	-1,98un	98	0,23	0,25	1,12ns	1,58ns	1,78ag	111,78	0,25	0,31	1,24ns	2 ^{ns}	1,03ag	123
	28 D.A.E	0,06	0,11	1,95*	20*	0,06ag	194	0,36	0,53	1,48*	2,38*	0,73ag	147,33	0,42	0,62	1,49*	2,20*	0,84ag	148,47
	35 D.A.E	0,02	0,02	0,98ns	-	-1,98un	98	0,42	0,71	1,69*	2,67*	0,60ag	167,52	0,44	0,75	1,71*	2,64*	0,61ag	169,63
DKB 177	7 D.A.E	0,01	0,17	1,71*	8,88*	0,13ag	170	0,61	0,74	1,22*	1,36*	2,74ag	120,96	0,71	0,89	1,26ns	1,36*	2,72ag	124,77
	14 D.A.E	0,11	0,15	1,44*	5,45*	0,24ag	143,54	0,41	0,64	1,58*	2,43*	0,70ag	156,56	0,52	0,85	1,65*	2,26*	0,79ag	163,38
	21 D.A.E	0,03	0,04	1,65*	33,33*	0,04ag	163,66	0,33	0,52	1,59*	2,84*	0,55ag	157,9	0,36	0,55	1,54*	2,53*	0,66ag	152,88
	28 D.A.E	0,12	0,2	1,73*	7,57*	0,16ag	171,33	0,09	0,14	1,59*	8,33*	0,15ag	157,66	0,21	0,32	1,56*	3,80*	0,36ag	155,19
	35 D.A.E	0,06	0,07	1,28ns	6,66*	0,20ag	127,33	0,22	0,35	1,61*	3,89*	0,35ag	159,81	0,28	0,4	1,44*	2,64*	0,62ag	143,42
Campo II																			
DKB 350PRO	7 D.A.E	0,13	0,17	1,34*	3,84*	0,37ag	133,15	0,36	0,43	1,20ns	1,58ns	1,73ag	119,55	0,49	0,57	1,17ns	1,36ns	2,80ag	116,3
	14 D.A.E	0,1	0,31	3,13*	24,44*	0,04ag	310	0,2	0,26	1,31*	2,63*	0,60ag	130	0,3	0,5	1,85*	3,90*	0,35ag	183,83
	21 D.A.E	0,07	0,18	2,67*	28,57*	0,04ag	264,42	0,07	0,14	2,09*	19,04*	0,06ag	207,28	0,14	0,32	2,31*	10,98*	0,10ag	228,85
	28 D.A.E	0,24	0,77	3,20*	10,50*	0,10ag	317,66	0,05	0,06	1,36*	10*	0,13ag	135	0,29	0,81	2,80*	7,38*	0,16ag	277,89
	35 D.A.E	0,1	0,17	1,71*	8,88*	0,13ag	170	0,2	0,28	1,41*	3,15*	0,48ag	140	0,3	0,41	1,38*	2,29*	0,78ag	136,66
DKB 177	7 D.A.E	0,21	0,24	1,18ns	1,90ns	1,14ag	117,09	0,26	0,35	1,36*	2,46*	0,70ag	135,53	0,47	0,65	1,39*	1,85*	1,18ag	138,1
	14 D.A.E	0,11	0,19	1,81*	9,09*	0,13ag	179,9	0,07	0,06	0,93ns	-	-1,15un	93	0,18	0,25	1,38*	3,26*	0,46ag	137,55
	21 D.A.E	0,08	0,11	1,43*	7,14*	0,18ag	142	0,11	0,11	1,08ns	1,81ns	0,31ag	107,18	0,19	0,21	1,13ns	1,75ns	1,38ag	112,57
	28 D.A.E	0,05	0,06	1,36*	10*	0,13ag	135	0,13	0,17	1,34*	3,84*	0,37ag	133,15	0,18	0,22	1,27ns	2,61*	0,64ag	126,44
	35 D.A.E	0,13	0,21	1,65*	6,41*	0,19ag	163,92	0,02	0,01	0,98ns	-	-1,98un	98	0,15	0,22	1,53*	4,76*	0,28ag	151,66
Campo III																			
DKB 350PRO	7 D.A.E	0,14	0,12	1,57ns	2,19ns	0,89ag	114,57	0,09	0,08	0,91ns	-	-1,11un	91	0,23	0,25	1,12ns	1,58ns	1,78ag	111,78
	14 D.A.E	0,12	0,34	2,90*	18,18*	0,06ag	288	0,17	0,28	1,67*	5,14*	0,25ag	165,35	0,29	0,61	2,11*	4,92*	0,26ag	208,93
	21 D.A.E	0,08	0,15	1,93*	14,28*	0,08ag	192	0,5	0,81	1,63*	2,28*	0,78ag	162	0,58	0,99	1,71*	2,23*	0,81ag	169,58
	28 D.A.E	0,07	0,14	2,09*	19,04*	0,06ag	207	0,52	0,67	1,30*	1,58*	1,72ag	128,76	0,59	0,85	1,44*	1,75*	1,33ag	142,69
	35 D.A.E	0,03	0,02	0,97ns	-	-1,48un	97	0,16	0,23	1,47*	4,16*	0,33ag	146,5	0,19	0,27	1,45*	3,50*	0,41ag	144,15
DKB 177	7 D.A.E	0,05	0,06	1,36*	10*	0,13ag	135	0,16	0,31	1,98*	7,5*	0,16ag	196,5	0,21	0,36	1,75*	4,76*	0,27ag	174,23
	14 D.A.E	0,05	0,04	0,95ns	-	-1,23un	95	0,13	0,17	1,34*	3,84*	0,37ag	133,15	0,18	0,25	1,38*	3,26*	0,46ag	137,55
	21 D.A.E	0,12	0,14	1,22ns	3,03*	0,53ag	121,33	0,28	0,48	1,73*	3,70*	0,37ag	172	0,4	0,62	1,56*	2,43*	0,70ag	155
	28 D.A.E	0,06	0,13	2,29*	26,66*	0,04ag	227,33	0,25	0,33	1,32*	2,33*	0,77ag	131	0,31	0,43	1,41*	2,36*	0,74ag	139,96
	35 D.A.E	0,03	0,04	1,65*	33,33*	0,04ag	163,66	0,08	0,15	1,93*	14,28*	0,08ag	192	0,11	0,19	1,81*	9,09*	0,13ag	179,9

* = significativo a 5% para o teste de qui-quadrado; ag = agregado; al = aleatório; ns = não significativo.

Tabela II. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Dichelops melacanthus* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita (Id) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho 2013.

Cultivar	Período amostral	Ninfa						Adulto						Total					
		\bar{m}	S^2	I	I_{δ}	k	χ^2	\bar{m}	S^2	I	I_{δ}	k	χ^2	\bar{m}	S^2	I	I_{δ}	k	χ^2
Campo I																			
DKB 350PRO	7 D.A.E	0,13	0,25	1,96*	8,97*	0,13ag	194,69	0,38	0,78	2,06*	3,84*	0,35ag	204,1	0,51	1,36	2,67*	4,31*	0,30ag	264,68
	14 D.A.E	0,12	0,1	0,88ns	-	-1,08un	88	0,56	0,73	1,31*	1,55*	1,80ag	129,71	0,68	0,92	1,36*	1,53*	1,87ag	134,94
	21 D.A.E	0,28	0,38	1,37*	2,38*	0,74ag	136,28	0,39	0,5	1,28ns	1,75*	1,34ag	127,66	0,67	0,82	1,23ns	1,35ns	2,81ag	122,55
	28 D.A.E	0,21	0,2	0,99ns	0,95ns	-21,82un	98,04	0,36	0,45	1,26ns	1,74*	1,36ag	125,11	0,57	0,79	1,39*	1,69*	1,45ag	137,73
	35 D.A.E	0,37	0,78	2,11*	4,05*	0,33ag	208,94	0,18	0,2	1,16ns	1,96ns	1,09ag	115,33	0,55	0,97	1,77*	2,42*	0,70ag	175,9
DKB 177	7 D.A.E	0,18	0,22	1,27ns	2,61*	0,64ag	126,44	0,44	0,49	1,11ns	1,26ns	3,77ag	110,54	0,62	0,96	1,55*	1,90*	1,11ag	154,12
	14 D.A.E	0,28	0,32	1,16ns	1,58ns	1,74ag	114,85	1,26	2,39	1,90*	1,71*	1,39ag	188,28	1,54	3,03	1,97*	1,62*	1,58ag	195,35
	21 D.A.E	0,44	0,45	1,02ns	1,05ns	17,74al	10,1,45	0,79	0,97	1,23ns	1,29ns	3,36ag	122, 26	1,23	1,71	1,39*	1,31*	3,12ag	137,97
	28 D.A.E	0,14	0,12	0,86ns	0	-1,06un	86	0,37	0,43	1,18ns	1,50ns	2,02ag	117,05	0,57	0,79	1,39*	1,69*	1,45ag	137,73
	35 D.A.E	0,32	0,62	1,94*	4,03*	0,33ag	193	0,27	0,32	1,18ns	1,70ns	1,44ag	117,44	0,55	0,97	1,77*	2,42*	0,70ag	175,9
Campo II																			
DKB 350PRO	7 D.A.E	0,35	0,57	1,63*	2,85*	0,54ag	162,14	2,09	3,86	1,84*	1,40*	2,46ag	182,86	2,44	4,85	1,98*	1,40*	2,46ag	196,98
	14 D.A.E	0,23	0,21	0,95ns	0,79ns	-4,94un	94,39	0,47	0,79	1,69*	2,49*	0,67ag	167,89	0,7	1,3	1,86*	2,23*	0,81ag	184,28
	21 D.A.E	0,62	1	1,62*	2,00*	0,99ag	160,58	1,39	1,55	1,11ns	1,08ns	11,82al	110,64	2,01	2,59	1,29ns	1,14*	6,89ag	127,85
	28 D.A.E	0,28	0,26	0,94ns	0,79ns	-4,97un	93,42	0,44	0,43	0,97ns	0,95ns	-20,83un	96,9	0,72	0,85	1,18ns	1,25ns	3,98ag	116,88
	35 D.A.E	0,44	0,77	1,75*	2,78*	0,57ag	174,18	0,23	0,42	1,83*	4,74*	0,27ag	181,34	0,67	1,47	2,20*	2,80*	0,55ag	218,07
DKB 177	7 D.A.E	0,23	0,23	1,04ns	1,18ns	5,57ag	103,08	1,07	1,27	1,19ns	1,18ns	5,50ag	118,23	1,3	1,66	1,28ns	1,21*	4,60ag	126,92
	14 D.A.E	0,2	0,22	1,11ns	1,57ns	1,08ag	110	0,81	1,73	2,13*	2,40*	0,71ag	211,59	1,01	2,55	2,53*	2,51*	0,66ag	250,48
	21 D.A.E	0,4	0,66	1,66*	2,69*	0,06ag	165	1,33	1,35	1,01ns	1,01ns	71,77al	100,83	1,73	2,21	1,28ns	1,16*	6,11ag	127
	28 D.A.E	0,17	0,28	1,67*	5,14*	0,25ag	165,35	0,16	0,15	0,97ns	0,83ns	-6,33un	96,5	0,33	0,48	1,47*	2,46*	0,69ag	145,78
	35 D.A.E	0,29	0,32	1,13ns	1,47ns	2,14ag	112,37	0,33	0,36	1,10ns	1,32ns	3,13ag	109, 42	0,62	0,66	1,06ns	1,11ns	9,10ag	105,74
Campo III																			
DKB 350PRO	7 D.A.E	0,02	0,01	0,98ns	0	-1,98un	98	0,36	0,51	1,43*	2,22*	0,83ag	141,77	0,38	0,54	1,42*	2,13*	0,89ag	140,94
	14 D.A.E	0,08	0,09	1,18ns	3,57ns	0,44ag	117	0,03	0,02	0,97ns	0	-1,48un	97	0,11	0,11	1,08ns	1,81ns	1,33ag	107,18
	21 D.A.E	0,03	0,04	1,65*	33,33*	0,04ag	163,66	0,09	0,14	1,59*	8,33*	0,15ag	157,66	0,12	0,18	1,56*	6,06*	0,21ag	154,66
	28 D.A.E	0,01	0,01	1 ^{ns}	-	-	99	0,05	0,04	0,95ns	0	-1,23un	95	0,06	0,05	0,94ns	0	-1,18un	94
	35 D.A.E	0,33	0,6	1,83*	3,59*	0,39ag	182,15	0,11	0,13	1,26ns	3,63*	0,41ag	125,36	0,44	0,69	1,57*	2,32*	0,76ag	156
DKB 177	7 D.A.E	0,06	0,05	0,94ns	0	-1,18un	94	0,29	0,41	1,41*	2,46*	0,70ag	139,96	0,35	0,55	1,58*	2,68*	0,60ag	156,42
	14 D.A.E	0,03	0,04	1,65*	33,33*	0,04ag	163,66	0,14	0,16	1,15ns	2,19ns	0,89ag	114,57	0,17	0,2	1,19ns	2,20ns	0,87ag	118,29
	21 D.A.E	0,07	0,08	1,22ns	4,76ns	0,30ag	121,57	0,14	0,28	2,02*	8,79*	0,13ag	200,28	0,21	0,38	1,85*	5,23*	0,24ag	183,76
	28 D.A.E	0,03	0,04	1,65*	33,33*	0,04ag	163,66	0,01	0,01	1,00ns	-	-	99	0,04	0,05	1,47*	16,66*	0,08ag	146
	35 D.A.E	0,35	0,63	1,81*	3,36*	0,43ag	179,28	0,12	0,18	1,56*	6,06*	0,21ag	154,66	0,47	0,97	2,08*	3,33*	0,43ag	206,19

* = significativo a 5% para o teste de qui-quadrado; ag = agregado; al = aleatório; ns = não significativo.

Tabela III. Teste de qui-quadrado (χ^2) para ninfas, adultos e total de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) (Poisson) em cultivares de milho, 2012 e 2013.

		Poisson												
Campo	Cultivar	Período Amostral	Ninfa				Adulto				Total			
			2012		2013		2012		2013		2012		2013	
			χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-2)
I	DKB 350PRO	7 D.A.E	6,41*	1	4,44i	0	2,67 ns	1	7,26**	1	4,31 ns	2	14,64**	2
		14 D.A.E	1,54i	0	0,04i	0	3,45 ns	1	2,53 ns	2	3,61 ns	1	3,12 ns	2
		21 D.A.E	-	-	1,43 ns	1	1,93 ns	1	1,51 ns	1	0,72 ns	1	1,52 ns	2
		28 D.A.E	1,40i	0	0,003 ns	1	3,16 ns	1	1,92 ns	1	3,95*	1	0,78 ns	2
		35 D.A.E	-	-	11,22**	1	9,28**	1	2,33 ns	1	8,69**	1	5,91 ns	2
		7 D.A.E	1,19 ns	2	6,32*	1	2,21i	0	1,52 ns	1	2,94 ns	1	10,53**	2
	DKB 177	14 D.A.E	6,74**	1	0,26 ns	1	2,82i	0	27,01**	3	9,15*	2	35,24**	4
		21 D.A.E	2,70 ns	1	0,07 ns	1	1,30i	0	3,19 ns	2	2,65 ns	1	6,99 ns	3
		28 D.A.E	3,72i	0	0,07i	0	3,64i	0	1,82 ns	1	10,02**	1	0,78 ns	2
		35 D.A.E	3,99*	1	10,110**	1	0,57i	0	4,47*	1	2,85 ns	1	5,91 ns	2
		7 D.A.E	2,26i	0	1,74 ns	1	0,70 ns	1	20,54**	5	2,25 ns	2	24,02**	5
		14 D.A.E	4,68i	0	0,06 ns	1	0,78 ns	1	8,26*	2	3,95 ns	2	14,47**	2
II	DKB 350PRO	21 D.A.E	2,17i	0	4,27 ns	2	3,43i	0	3,88 ns	4	5,27i	0	9,80 ns	5
		28 D.A.E	13,44**	1	0,05 ns	1	0,73 ns	1	3,00 ns	1	11,69**	1	5,87 ns	2
		35 D.A.E	2,21i	0	3,82 ns	1	2,72 ns	1	4,36*	1	1,97 ns	1	5,16 ns	2
		7 D.A.E	3,25 ns	1	0,32 ns	1	1,17 ns	1	1,56 ns	1	1,88 ns	2	2,47 ns	3
		14 D.A.E	4,08i	0	1,24 ns	1	0,009i	0	13,18**	2	1,37 ns	1	24,38**	3
		21 D.A.E	1,80i	0	5,63*	1	0,19i	0	0,58 ns	3	1,73 ns	1	3,05 ns	4
	DKB 177	28 D.A.E	0,73i	0	0,92 ns	1	2,26i	0	0,03 ns	1	6,32*	1	0,62 ns	1
		35 D.A.E	3,26i	0	2,91 ns	1	0 ⁱ	0	0,17 ns	1	2,62i	0	4,01 ns	2
		7 D.A.E	0,73i	0	-	-	0,02i	0	3,01 ns	1	1,93 ns	1	3,59 ns	1
		14 D.A.E	6,42i	0	0,37i	0	10,78**	1	0,003i	0	14,66**	1	0,19i	0
		21 D.A.E	2,93i	0	1,30i	0	7,11**	2	0,81i	0	8,87*	2	1,70i	0
		28 D.A.E	3,43i	0	0,01i	-1	6,83 ns	2	0,003i	0	8,08*	2	0,006i	0
III	DKB 350PRO	35 D.A.E	0,01i	0	11,85**	1	2,29 ns	1	1,14i	0	3,45 ns	1	9,43**	1
		7 D.A.E	0,73i	0	0,006i	0	7,51**	1	3,38 ns	1	5,33**	1	2,97 ns	1
		14 D.A.E	0 ⁱ	0	1,30i	0	2,26i	0	0,73i	0	1,79 ns	2	3,07 ns	1
		21 D.A.E	0,98i	0	0,46i	0	3,30 ns	1	4,01i	0	3,95 ns	2	11,28**	1
		28 D.A.E	4,08i	0	1,30i	0	2,35 ns	1	-	-	3,22 ns	1	0,95i	0
		35 D.A.E	1,30i	0	3,80 ns		2,93i	0	1,70i	0	4,08i	0	6,82*	2

ns - Não significativo, ** - significativo ao nível de 1%, χ^2 - valor do qui-quadrado calculado, GL - graus de liberdade, i = insuficiência de classes nc - número de classes observadas no campo.

Tabela IV. Teste de qui-quadrado (χ^2) para ninfas, adultos e total de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) (Binomial Negativa) em cultivares de milho, 2012 e 2013.

		Binomial Negativa												
Campo	Cultivar	Período Amostral	Ninfa				Adulto				Total			
			2012		2013		2012		2013		2012		2013	
			χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)
I	DKB 350PRO	7 D.A.E	1,14 ns	1	1,53 ns	1	3,26 ns	1	2,70 ns	2	3,76 ns	2	2,15 ns	3
		14 D.A.E	0,59i	0	0,0003i	-1	0,15i	0	0,13 ns	2	1,97 ns	1	0,23 ns	2
		21 D.A.E	0,01i	0	0,57 ns	1	0,86i	0	5,23 ns	1	0,01i	0	2,14 ns	2
		28 D.A.E	1,18i	0	0,01i	0	0,87 ns	1	3,01 ns	1	0,57 ns	1	3,46 ns	2
		35 D.A.E	0,0001i	-1	4,76 ns	2	2,63 ns	2	0,32i	0	1,27 ns	1	0,39 ns	2
		7 D.A.E	0,19 ns	1	1,01i	0	0,42i	0	1,55 ns	1	0,40 ns	2	3,08 ns	2
	DKB 177	14 D.A.E	1,87 ns	1	0,38i	0	1,42i	0	9,34 ns	4	1,25 ns	2	8,37 ns	5
		21 D.A.E	0,66 ns	1	0,11 ns	1	0,72i	-1	1,41 ns	2	0,31 ns	1	1,81 ns	3
		28 D.A.E	5,64 ns	1	0,0003i	-1	1,12 ns	1	0,94 ns	1	4,93 ns	1	3,46 ns	2
		35 D.A.E	0,55 ns	1	2,66 ns	2	0,24i	-1	1,25i	0	0,32 ns	1	0,39 ns	2
		7 D.A.E	0,91i	0	1,53 ns	1	0,53 ns	1	9,95 ns	6	0,30 ns	1	19,59**	7
		14 D.A.E	1,75 ns	1	0,003i	0	0,43 ns	1	0,47 ns	2	4,13 ns	2	3,39 ns	3
II	DKB 350PRO	21 D.A.E	1,61i	0	4,12 ns	2	0,0002i	-1	3,03 ns	3	0,43 ns	1	6,31 ns	5
		28 D.A.E	1,84 ns	2	0,01i	0	0,33i	-1	3,99 ns	1	0,85 ns	2	8,35 ns	2
		35 D.A.E	0,42i	0	2,81 ns	2	0,13i	0	0,33 ns	1	0,26 ns	1	5,50 ns	3
		7 D.A.E	0,60i	0	0,10i	0	1,34 ns	1	1,87 ns	3	2,97 ns	1	3,46 ns	3
		14 D.A.E	0,46i	-1	0,21i	0	0,034i	0	2,85 ns	4	0,32i	0	3,19 ns	5
		21 D.A.E	1,43i	0	2,72 ns	2	0,10i	-1	0,58 ns	3	0,26i	0	0,92 ns	4
	DKB 177	28 D.A.E	0,33i	-1	2,17 ns	1	1,20i	-1	0,0001i	0	1,01i	0	3,98 ns	1
		35 D.A.E	0,24i	0	0,94i	0	0,01i	0	0,24i	0	0,21i	0	3,66 ns	1
		7 D.A.E	0,15i	0	0,001i	-1	0,35 ns	1	1,75 ns	1	0,43i	0	0,64 ns	1
		14 D.A.E	1,80 ns	1	0,16i	-1	2,34 ns	1	0,0001i	-1	5,82 ns	2	0,10i	-1
		21 D.A.E	0,42i	0	0,72i	-1	0,37 ns	2	1,66i	0	0,91 ns	2	0,57i	0
		28 D.A.E	0,57i	0	-	-	0,83 ns	1	0,0001i	-1	1,83 ns	2	0,00001i	-1
III	DKB 350PRO	35 D.A.E	0,0001i	-1	3,41 ns	2	0,35 ns	1	0,34i	0	0,45 ns	1	3,85 ns	2
		7 D.A.E	0,33i	-1	0,001i	-1	1,86 ns	0	0,92 ns	1	1,91 ns	0	0,24 ns	1
		14 D.A.E	0,0001i	-1	0,72i	-1	0,91i	0	0,15i	0	3,35 ns	1	0,40i	0
		21 D.A.E	0,26i	0	0,20i	-1	0,93 ns	1	1,13 ns	1	4,13 ns	2	4,08 ns	1
		28 D.A.E	0,97i	0	0,72i	-1	0,25 ns	1	-	-	0,42 ns	1	0,44i	-1
		35 D.A.E	0,71i	-1	1,36 ns	2	0,42i	0	0,57i	0	0,46i	0	2,25 ns	3

ns - Não significativo, ** - significativo ao nível de 1%, χ^2 - valor do qui-quadrado calculado, GL - graus de liberdade, i = insuficiência de classes nc - número de classes observadas no campo.

Tabela V. Teste de qui-quadrado (χ^2) para ninfas, adultos e total de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) (Binomial Positiva) em cultivares de milho, 2012 e 2013.

		Binomial Positiva												
Campo	Cultivar	Período Amostral	Ninfa				Adulto				Total			
			2012		2013		2012		2013		2012		2013	
			χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)	χ^2	GL(nc-3)
I	DKB 350PRO	7 D.A.E	8,31i	0	4,58i	-1	2,82i	0	8,07i	0	8,14**	1	15,78i	0
		14 D.A.E	25,22i	-1	25,16i	-1	30,66i	0	28,32**	1	27,70i	0	27,80**	1
		21 D.A.E	25,00i	-1	27,90i	0	25,91i	0	26,52i	0	25,59i	0	27,59**	1
		28 D.A.E	25,15i	-1	25,41i	0	27,39i	0	25,44i	0	27,28i	0	25,73**	1
		35 D.A.E	25,52i	-1	31,39i	0	31,92i	0	25,13i	0	32,27i	0	26,97**	1
	DKB 177	7 D.A.E	4,02*	1	8,54i	0	2,28i	-1	3,05i	0	4,23*	1	20,71**	1
		14 D.A.E	32,20i	0	27,00i	0	28,02i	-1	34,27**	2	33,31i	0	38,03**	2
		21 D.A.E	28,26i	0	26,24i	0	26,74i	-1	29,87**	1	28,55i	0	33,17**	2
		28 D.A.E	27,34i	-1	25,59i	-1	26,26i	-1	26,97i	0	26,79i	0	25,73**	1
		35 D.A.E	28,67i	0	35,26i	0	25,00i	-1	27,07i	0	27,56i	0	26,97**	1
II	DKB 350PRO	7 D.A.E	2,37i	-1	2,40i	0	1,02i	0	61,80**	3	1,31i	0	80,96**	3
		14 D.A.E	25,90i	-1	25,01i	0	25,86i	0	35,07i	0	28,08**	1	34,25**	1
		21 D.A.E	25,31i	-1	30,60**	1	27,76i	-1	30,81**	2	27,76i	-1	41,05**	3
		28 D.A.E	31,94i	0	25,73i	0	25,06i	-1	26,27i	0	30,02i	0	25,68**	1
		35 D.A.E	25,37i	-1	28,27i	0	27,13i	0	27,22i	0	26,08i	0	29,54**	1
	DKB 177	7 D.A.E	4,80i	0	4,80i	0	1,42i	0	3,86*	1	2,16i	0	8,95*	2
		14 D.A.E	27,84i	-1	25,47i	0	25,05i	-1	41,15**	1	25,69i	0	49,67*	1
		21 D.A.E	25,10i	-1	28,41i	0	26,01i	-1	30,62**	2	25,08i	0	41,77**	3
		28 D.A.E	27,24i	-1	25,63i	0	27,14i	-1	25,17i	-1	29,83i	0	25,01i	0
		35 D.A.E	28,38i	-1	27,62i	0	25,52i	-1	27,13i	0	28,12i	-1	27,59**	1
III	DKB 350PRO	7 D.A.E	0,80i	-1	0,0001i	-1	0,01i	-1	4,25i	0	3,13i	0	5,01i	0
		14 D.A.E	27,29i	-1	25,17i	-1	28,38i	0	25,80i	0	30,67i	0	25,79i	-1
		21 D.A.E	26,15i	-1	25,76i	-1	28,72i	0	26,40i	-1	28,62**	1	27,19i	-1
		28 D.A.E	26,86i	-1	26,01i	-2	29,24i	0	25,06i	-1	29,95**	1	25,27i	0
		35 D.A.E	25,09i	-1	29,39i	0	28,25i	-1	26,50i	-1	28,91i	0	27,64i	0
	DKB 177	7 D.A.E	0,74i	-1	0,0003i	-1	5,70i	-1	3,50i	0	7,03i	0	3,82i	0
		14 D.A.E	25,04i	-1	25,76i	-1	28,36i	-1	28,20i	-1	25,90i	0	25,22i	0
		21 D.A.E	26,04i	-1	25,29i	-1	28,39i	0	25,59i	-1	28,08**	1	27,36i	0
		28 D.A.E	25,67i	-1	26,08i	-1	27,39i	0	25,25i	-1	28,16i	0	26,23i	-1
		35 D.A.E	26,08i	-1	30,54i	-1	26,15i	-1	26,04i	-1	27,06i	0	29,53i	0

ns - Não significativo, ** - significativo ao nível de 1%, χ^2 - valor do qui-quadrado calculado, GL - graus de liberdade, i = insuficiência de classes nc - número de classes observadas no campo.

Pest Management

Plano de Amostragem Sequencial de *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851)

(Hemiptera: Pentatomidae) em Milho*

T A Mota^{1,2}, M G Fernandes², E A Alegre², M F Sousa², E F Tiago; P H R Fernandes²

A L F Lourenção³

¹ Corresponding author, e-mail: thiamota@hotmail.com

² Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) Dourados, MS Brazil.

³Fundação MS.

Corresponding Author: Thiago Alexandre Mota

Email: thiamota@hotmail.com

Phone Number: 55 (67) 8134-0933

Running title: Sequential Sampling plan for *Dichelops melacanthus* in the Maize.

*Manuscrito elaborado de acordo com as normas do periódico Neotropical Entomology
http://seb.org.br/downloads/IFA_NENT_Final.pdf

Resumo

A amostragem sequencial, nos últimos anos, vem ocupando espaço importante na amostragem de pragas, devido principalmente as amostragens convencionais serem onerosas para o produtor. Entre os insetos que injuriam a cultura do milho o percevejo barriga verde *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) vem ganhando grande importância na região centro-oeste do país. No presente trabalho foi proposto um plano de amostragem sequencial para *D. melacanthus* em cultivo de milho. Os dados referentes as médias e variâncias foram coletadas em seis ensaios de campo de 250 m² cada, durante 2012 e 2013. Cada campo foi dividido em 100 parcelas, cada uma medindo 25 m² (5 x 5 m) na área. A unidade de amostragem para todas as épocas de amostras envolveu cinco plantas selecionadas aleatoriamente, que foram observadas em cada parcela, num total de 500 plantas por área. Na construção do plano de amostragem, foi utilizado o nível de dano econômico de dois percevejos adultos por planta. A partir dos dados analisados, foram geradas duas linhas, uma superior e outra inferior, sendo a superior, que representa a condição de que a adoção de um método de controle é recomendado, definida por $S_1 = 6,5159 + 1,413N$, e a inferior representando que a adoção de algum método de controle não é necessário, definida por $S_0 = -6,5159 + 1,413N$. A amostragem sequencial estimou o número máximo esperado de quatorze unidades amostral para se definir a necessidade ou não do controle.

Palavras-Chave: Percevejo barriga verde, Método de Wald, Nível de controle, MIP.

Abstract

The sequential sampling, in recent years, has become important in sampling pests, especially when conventional sampling events are costly to the producer. Among the insects that injure the corn crop the stink bug *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera : Pentatomidae) is gaining more importance in the Midwest region of the country. In this paper we propose a sequential sampling plan *D. melacanthus* in maize cultivation. The data relating to means and variances were collected in six field trials of 250 m² each, during 2012 and 2013. Each field was divided into 100 plots, each measuring 25 m² (5 x 5 m) in area. The sampling unit for all samples involved five randomly selected plants that were tested in each plot, for a total of 500 plants per field. In the construction of the sampling plan, the economic injury level two adult bugs per plant were used. From the data analyzed, two lines, one above and one below, the upper, which is the condition that the adoption of a method of control is recommended, defined by $S_1 = 6.5159 + 1.413 N$, were generated and the lower representing that the adoption of some method of control is not necessary, defined by $S_0 = -6.5159 + 1.413 N$. Sequential sampling estimated the maximum expected number of fourteen samples to define the need or otherwise of control.

Keywords: Stink bug, Wald method, Decision making, IPM.

Introdução

O percevejo barriga verde da soja *Dichelops melacanthus* (Dallas) é uma importante praga para diferentes culturas de importância econômica no Brasil, como soja e trigo (Panizzi & Corrêa-Ferreira 1997, Chocorosqui & Panizzi 2004). No milho *Zea mays* L. suas injúrias são decorrentes da alimentação de ninfas e adultos na base das plântulas, levando ao amarelecimento das folhas perfuradas, pela ação de toxinas digestivas até a morte do cartucho central da planta causando perdas econômicas consideráveis (Slansky Jr & Panizzi 1987). Portanto, medidas de manejo como a aplicação de produtos químicos são recomendadas (Ávila & Panizzi 1995, Gomez 1998). Porém para um maior sucesso do manejo integrado de pragas, o monitoramento e a correta tomada de decisão de intervenção na população da praga alvo são de fundamental importância (Binns & Nyrop 1992).

Para um programa de monitoramento e tomada de decisão de insetos em culturas é necessário que se desenvolva um plano de amostragem e que este processo seja fundamentado em princípios básicos de estatística e o conhecimento da distribuição espacial do inseto (Kuno 1991).

No desenvolvimento do plano de amostragem sequencial de insetos utilizando o método da razão de probabilidade, são necessários três requisitos básicos, que incluem: 1) a aquisição de uma função de probabilidade que descreve a distribuição espacial dos insetos, 2) avaliar o grau de danos na forma de duas densidades críticas, de tal forma que os danos econômicos ocorrem se a população excede o limite superior estabelecido previamente, e os danos econômicos não ocorrem se a população mantém-se abaixo do limite inferior definido, e 3) a seleção dos níveis máximos de probabilidade de cometer erros na decisão em relação às densidades populacionais (Young & Young 1998).

Assim, a previsão de uma densidade de população não prejudicial como sendo prejudicial é denominada erro de tipo I, e a probabilidade de prever uma densidade prejudicial como não sendo prejudicial é o erro do tipo II (Binns 1994, Fernandes *et al* 2003). Em relação ao primeiro requisito, a distribuição espacial dos organismos no campo pode ser considerada como agregada, uniforme e aleatória, que são estatisticamente nomeadas como binomial negativa, binomial positiva e de Poisson, respectivamente (Kuno 1991). Para cada tipo de distribuição espacial, as variações do método de cálculos são realizadas para o estabelecimento do plano de amostragem, de acordo com a função dos vários parâmetros envolvidos (Taylor 1984). Quanto ao segundo requisito, o nível de dano econômico é estabelecido na forma de duas densidades críticas, onde pode-se afirmar que em particular tem sido um dos obstáculos ao desenvolvimento dos planos de amostragem sequenciais no Brasil (Fernandes 2003).

Assim, a amostragem sequencial têm se mostrado mais rápida do que a amostragem convencional, porque esta última leva em conta um número fixo de amostras. A amostragem sequencial é caracterizada pela utilização de um número variável de unidades de amostragem, dependendo do tamanho da população amostrada (Ruesink 1980). Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi construir um plano de amostragem sequencial visando a correta tomada de decisão de manejo de *D. melacanthus* em milho em início de desenvolvimento da cultura.

Material e Métodos

Campo amostral

Este estudo foi realizado durante dois anos de milho segunda safra “safrinha”, entre 2012 e 2013, em seis campos de milho (dois em Dourados e um em Maracaju em 2012, e dois em Maracaju e um em Dourados em 2013) localizados no sul de Mato Grosso do Sul, Brasil. Os campos foram semeados com milho transgênico *Bt* (DKB 390

VTPRO) expressando as toxinas Cry1A.105 + Cry2Ab2 e milho não-Bt (DKB 177). Não foram aplicados inseticidas durante o estudo. Cada campo foi dividido em 100 parcelas, cada uma medindo 25 m² (5 × 5 m). A unidade de amostragem para todas as amostras envolveu 5 plantas aleatoriamente selecionadas que foram avaliadas semanalmente em cada parcela, totalizando 500 plantas / campo. Contamos o número de ninfas e adultos de *D.melacanthus*, utilizando sete amostragens por campo.

Plano de Amostragem Sequencial

O plano de amostragem sequencial construído para percevejos adultos, foi baseada no teste sequencial da razão de probabilidade (TSRP), de acordo com a metodologia desenvolvida por Wald (1945). O objetivo deste plano é testar, com o menor número possível de unidades amostrais, a H₀ hipótese e H₁. Hipótese H₀ indica que a população está abaixo do nível de segurança, e, por conseguinte, admite-se que não há nenhuma necessidade de controle a praga, enquanto a hipótese H₁ indica que a população está acima do nível de segurança, e a sua aceitação implica que é necessário aplicar métodos de controle.

Quando várias amostragens são realizadas em uma mesma amostra ou quando se utiliza de estudos realizados em várias amostras com o intuito de se conseguir maior confiabilidade no cálculo do k da distribuição Binomial Negativa, deve-se determinar o índice K comum (Kc). O Kc é calculado pelo método proposto por Bliss & Owen (1958). Levando em consideração a baixa população de *D. melacanthus* em milho, valores correspondentes aos erros tipos I e II foram previamente fixados para ambos $\alpha = \beta = 0,10$, o que é bastante usual para tipo de trabalho (Naranjo & Hutchinson 1997, Galvan *et al* 2007, Prager *et al* 2013).

As linhas de decisão foram construídas, assim, para a realização do teste TSRP. O limite superior de decisão indica o número de organismos necessários para atingir o

nível de controle proposto, por outro lado, o limite inferior de decisão indica o número total de organismos a partir do qual se pode afirmar que este é população ou abaixo do nível de segurança; assim, a necessidade de aplicar as medidas de controle é eliminado. O limite superior da decisão de ensaio é definida como: $S_1 = h_1 + Sn$. O limite inferior de decisão é definida pelo teste de TSRP: $S_0 h_0 = + Sn$, em que, em ambas as equações, (n) indica o número de unidades de amostragem a ser utilizado na amostragem, e os valores de h_0 , h_1 e S são definidos em função da binomial negativa.

Portanto, de acordo com o modelo de distribuição espacial do organismo estudado, para determinar os limites de decisão na primeira observação, um valor de n igual a 1, foi usado e os limites superior e inferior foram determinadas para o número de unidade de amostragem 1, no segundo observação de um valor de n igual a 2, foi utilizado, determinando, assim, os limites superior e inferior para o número de unidade de amostragem de 2. Este foi mantido até a última unidade necessária de amostras para o plano de amostragem foi alcançado.

Avaliação do teste TSRP é feito na Curva Característica de Operação CO (p) e na Curva do Tamanho Esperado de Unidades Amostras $E_p(n)$. Assim, após a definição do plano de amostragem sequencial, é importante para determinar a Curva Característica Operacional CO(p), que é uma representação gráfica e visa proporcionar a probabilidade de conclusão da amostragem e não aconselhar o controle até um certo grau de infestação das culturas. Esta curva indica a probabilidade de aprovação de uma decisão correta ou incorreta para qualquer nível de infestação. A Curva do Tamanho Esperado de Unidades Amostras $E_p(n)$ representa o número médio de observações necessárias para tomar a decisão de realizar ou não o controle.

Resultados e Discussão

Planos de amostragens sequenciais são bastante conhecidos dentro do Manejo Integrado de Pragas, por estimar a densidade populacional de um determinado inseto economicamente importante, reduzindo até 50 % do tempo de amostragem e tomadas de decisão, em comparação aos planos de amostragem com tamanho fixo (Nyrop & Binns 1991, Binns *et al* 2000).

O plano de amostragem sequencial foi contruído com os resultados da distribuição espacial dos adultos de *D. melacanthus* em milho, ou seja, a disposição agregada, baseada no teste da binomial negativa. A menor abundância de insetos devido a tecnologia de plantas resistentes a insetos (*Bt*) não é um fator influente na distribuição espacial de insetos (Paula-Moraes *et al* 2011, Fonseca *et al* 2011). Como cada modelo de distribuição espacial resulta em planos de amostragem sequencial calculados de forma diferenciada (Young & Young 1998), o modelo apresentado nesse estudo é aplicável plano é viável independentemente da cultivar estudada.

Diversos métodos para estimativa do Kc têm sido proposto (Anscombe 1950, Bliss & Fisher, 1953). O método utilizado no nosso plano de amostragem proposto por Bliss & Owen (1958) é o mais utilizado na literatura (Fernandes *et al* 2003, Fernandes *et al* 2011, Elliott *et al* 2014). Portanto, baseado no conjunto de 60 amostragens, o valor calculado do K comum (Kc) foi 1,339. Foram utilizados níveis de infestação, baseados no número de percevejos adultos fixados por Bianco (2005). Assim, o nível de segurança foi $m_1 = 1$, e o nível de ação foi $m_1 = 2$.

As linhas paralelas para tomada de decisão (Figura1) foram representadas por $S_1 = 6,5159 + 1,413N$, indicando o limite superior e rejeitando H_0 , ou seja, controlar e $S_0 = -6,5159 + 1,413N$, indicando o limite inferior e aceitando H_0 , ou seja, não controlar. A partir das equações matemáticas de S_1 e S_0 , é possível construir uma tabela, para

facilitar os trabalhos de campo. De modo geral, a primeira observação é realizada e anotada no campo do número da primeira unidade amostral. A segunda observação é feita, somada a observação anterior e anotada no campo da segunda unidade amostral. Esse procedimento é repetido para as demais unidades amostrais. Assim, se o total de organismos contados for igual ou exceder ao limite superior, recomenda-se o controle do percevejo. Porém se o total de percevejos contados for igual ou menor que o limite inferior, o controle não é recomendado.

A qualidade do plano de amostragem pode ser avaliada, observando a curva característica operacional $CO(p)$, quanto mais inclinada à curva operacional, menor é a probabilidade de erro relativo ao nível de ação (Naranjo & Hutchinson 1997). A curva operacional observada (Figura 2) apresenta a probabilidade de aceitação de H_0 para algum nível de infestação. Quando a média de infestação de *D. melacanthus* é de um adulto por planta, o teste têm 90% de probabilidade de aceitar H_0 e, portanto, não recomendar o controle, ou seja, há apenas 10% de probabilidade de recomendar o controle, incorrendo no erro tipo I. Quando o nível de ação for alcançado, ou seja, dois percevejos adultos, o teste tem apenas 10 % de probabilidade de aceitar H_0 e não recomendar o controle, quando o mesmo é necessário, ocorrendo o erro tipo II. A partir de três percevejos, a probabilidade de aceitar H_0 e ocorrer o erro tipo II é praticamente nula.

O número máximo de amostras $E_p(n)$ do teste da razão da máxima verossimilhança, requeridas para *D. melacanthus* em milho (Figura 3) denota através de sua curva que uma infestação de aproximadamente 1,15 percevejos adultos, ocorrerá o número máximo de 14 unidades amostrais para tomada de decisão. Para uma média de 2,13 percevejos, serão utilizados aproximadamente 6 unidades amostrais. De fato, não existe uma recomendação de amostragem com tamanho amostral fixado para *D.*

melacanthus em milho, mas comparados com a ampla literatura (Farias *et al* 2001, Pereira *et al* 2004, Paula-Moraes *et al* 2011) o número máximo apresentado no presente trabalho, parece ser bastante razoável.

Agradecimentos

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Ávila CJ, Panizzi AR (1995) Occurrence and damage by *Dichelops* (*Neodichelops*) *melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) on corn. *An Soc Entomol Bras* 24:193-195.
- Anscombe FJ (1950) Sampling theory of the negative binomial and logarithmic series distributions. *Biometrika* 37:358-382.
- Bianco R (2005) O percevejo barriga-verde no milho e no trigo em plantio direto. *Revista Plantio Direto*, Ano XV, n. 89, p. 46-51..
- Binns MR, Nyrop JP (1992) Sampling insect populations for the purpose of IPM decision making. *Annu Rev Entomol.* 37: 427-453.
- Binns MR (1994) Sequential sampling for classifying pest status, pp. 137-174. *In* L. Pedigo and G. Buntin (eds.), *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*. CRC, Boca Raton, FL
- Binns MR, Nyrop JP, van der Werf W (2000) *Sampling and monitoring in crop protection: the theoretical basis for developing practical decision guides*. Wallingford, CABI Publishing, 284 p
- Bliss CI, Fisher RA (1953) Fitting the negative binomial distribution to biological data and note on the eficiente fitting of the negative binomial. *Biometrics* 9: 176-200.
- Bliss CI, Owen ARG (1958) Negative Binomial Distributions with a Common k. *Biometrika* 45: 37-58
- Chocorosqui VR, Panizzi AR (2004) Impact of cultivation systems on *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) populations and damage and its chemical control on wheat. *Neotrop Entomol* 33: 487-492.
- Elliott NC, Brewer MJ, Giles KL, Backoulou BP, McCornack BP, Pendleton BB, Royer TA (2014) Sequential Sampling for Panicle Caterpillars (Lepidoptera: Noctuidae) in Sorghum. *J Econo Entomol*, 107(2):846-853
- Farias PRS, Barbosa JC, Busoli AC (2001) Amostragem Seqüencial (Presença-Ausência) para *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) na Cultura do Milho. *Neotrop Entomol* 30: 691-695.

- Fernandes MG, Busoli AC, Barbosa JC (2003) Amostragem sequencial de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro. *Neotrop Entomol* 32: 117-122.
- Fernandes MG, Spessoto RR, Degrande, PE, Rodrigues TR (2011) Sequential Sampling of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) and *Frankliniella schultzei* Trybom (Thysanoptera: Thripidae) on Cotton Crop. *Neotrop Entomol* 40: 258-263.
- Fonseca PRB, Fernandes MG, Degrande PE, Mota TA, Kassab SO (2013) Spatial distribution of adult *Anthonomus grandis* Bohemn (Coleoptera: Curculionidae) and buds with feeding punctures on conventional and *Bt* cotton. *Semina* 34: 1129-1138.
- Galvan ATL, Burkness EC, Hutchison WD (2007) Enumerative and binomial sequential sampling plans for the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae) in wine grapes. *J Econ Entomol* 100: 1000-1010.
- Gomez SA (1998) Controle químico do percevejo *Dichelops (Neodichelops) melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) na cultura do milho safrinha. *Comunicado Técnico, Embrapa Dourados* 44: 1-5.
- Kuno E (1991) Sampling and Analysis of Insect Populations. *Ann Rev Entomol* 36: 285-304.
- Ruesink WG (1980) Introduction to sampling theory, pp. 61-78. In M. Kogan and D. G. Herzog (eds.), *Sampling Methods in Soybean Entomology*. Springer, New York.
- Naranjo SE, Hutchison WD (1997) Validation of arthropod sampling plans using a resampling approach: software and analysis. *Am Entomol.* 48-57
- Nyrop JP, Binns M (1991) Quantitative methods for designing and analyzing sampling programs for use in pest management. P. 67-132 in *Handbook of Pest Management in Agriculture*, Vol. 2, Pimentel, D. (ed.). CRC Press, Boca Raton, FL.
- Panizzi AR, Corrêa-Ferreira BS (1997) Dynamics in the insect fauna adaptation to soybean in the tropics. *Trends Entomol.* 1: 71-88.
- Paula-Moraes S, Burkness EC, Hunt TE, Wright RJ, Hein GL, Hutchison WD (2011) Cost-Effective binomial sequential sampling of western bean cutworm, *Striacosta albicosta* (Lepidoptera: Noctuidae), egg masses in corn. *J Econ Entomol.* 104: 1900-1908.
- Pereira MFA, Boiça Jr AL, Barbosa JC (2004) Distribuição espacial de *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Neotrop Entomol* 33: 493-498.
- Prager SM, Butler CD, Trumble JT (2013) A sequential binomial sampling plan for potato psyllid (Hemiptera: Trioziidae) on bell pepper (*Capsicum annum*). *Pest Manag. Sci.* 69: 1131-1135.
- Slansky Jr F, Panizzi AR (1987) Nutritional ecology of seed sucking insects. In: Slansky Jr F, Rodriguez JG (Org) *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates*. 1ed. New York, Wiley pp 283-320
- Taylor LR (1984) Assessing and Interpreting the Spatial Distributions of Insect Populations. *Ann Rev Entomol* 29: 321-357.
- Wald A (1945) Sequential tests of statistical hypotheses. *The Annals of Mathematical Statistics* 16: 117-186.
- Young LJ, Young J (1998) *Statistical ecology: A population perspective*, Kluwer Academic, Boston.

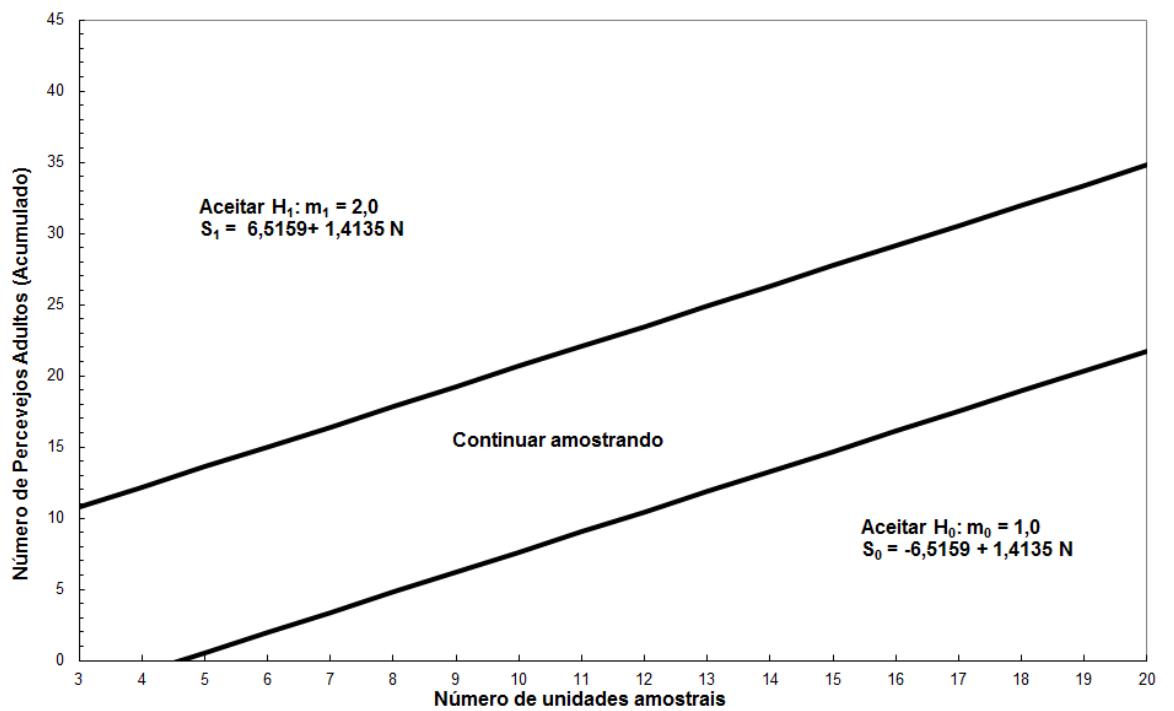


Figura 1. Linhas de decisão do plano de amostragem sequencial para o número de adultos de *Dichelops melacanthus* com base na distribuição binomial negativa.

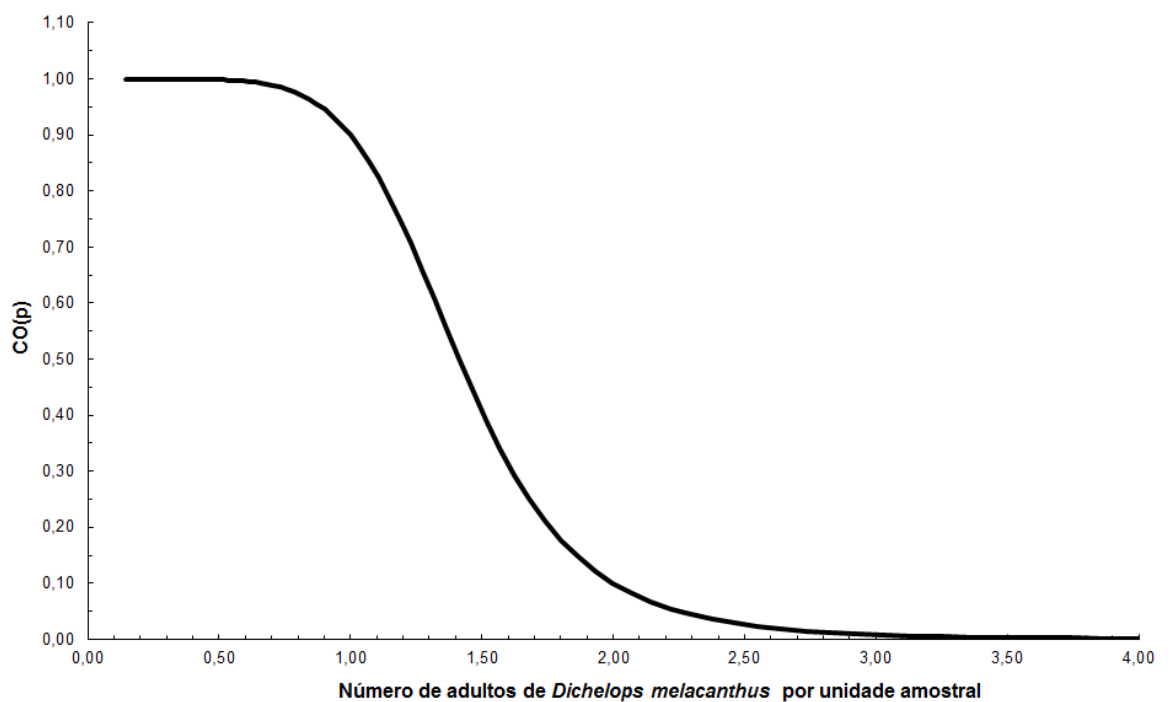


Figura 2. Curva característica de operação do teste sequencial da razão de probabilidade para o total de adultos de *Dichelops melacanthus*.

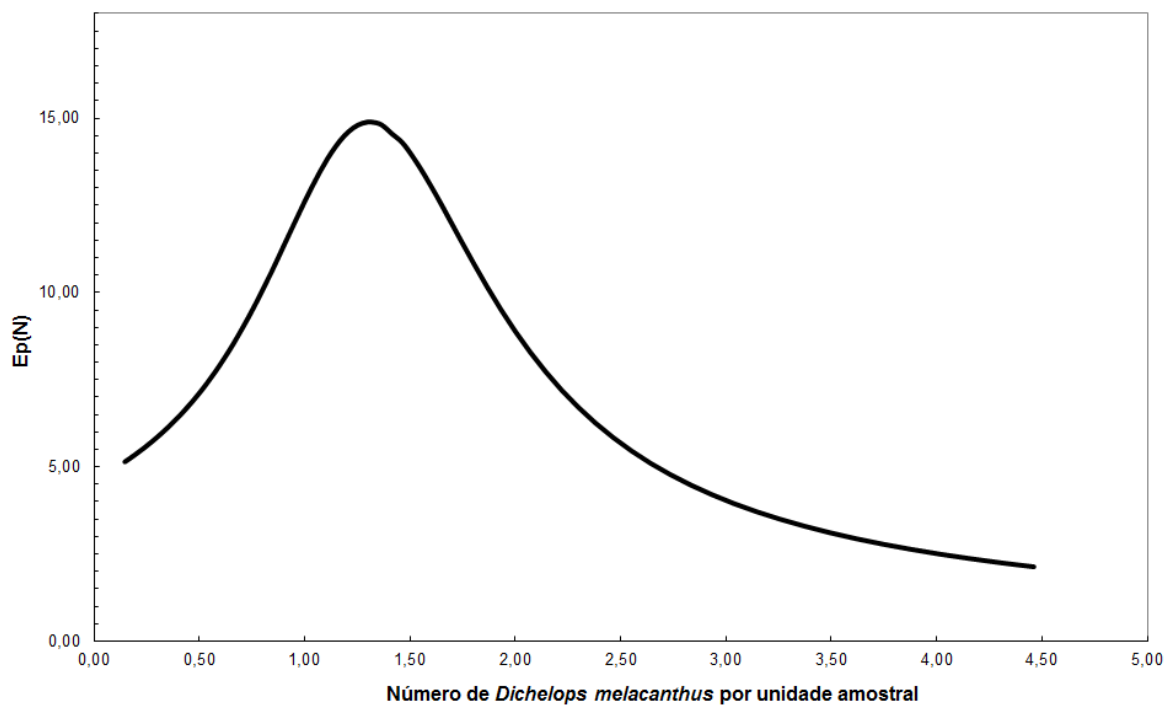


Figura 3. Curva do tamanho esperado de unidades amostrais $E_p(n)$ do teste sequencial da razão de probabilidade para adultos de *Dichelops melacanthus*

O Milho *Bt* altera a distribuição espacial do predador *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae)?*

Thiago Alexandre Mota¹, Marcos Gino Fernandes¹, Eder Alcebiades Alegre¹, Maria Freire de Sousa¹, Elison FlorianoTiago¹ e André Luiz Faleiros Lourenção²

¹Programa de Pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), 79804-970, Dourados, MS, Brasil. e-mail: thiamota@hotmail.com,

²Fundação MS, Estrada da Usina Velha, Km 02 – Caixa Postal 137, Cep 79150-00 Zona Rual, Maracajú, MS, Brasil.

**Manuscrito elaborado de acordo com as normas do periódico African Journal of Biotechnology
http://www.academicjournals.org/journal/AJB/authors#Preparing_your_of_manuscript_

ABSTRACT

Cultivation of *Bt* crops is an important tactic in integrated pest management. The effect of *Bt* maize on arthropod predators needs to be investigated because of the important role of these natural enemies in the absence of target pests. The objective of the present study was to generate information on the distribution model of *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) in *Bt* and non-*Bt* maize. A sampling field of 2.500 m² area, divided into 100 plots, was used in this study. Five plants per plot, totaling 500 plants in each field, were studied. We counted the total number of adults every week, totaling six samples for each field (*Bt* and non-*Bt*). The aggregation index (variance/mean ratio, Morisita index, and exponent k of the negative binomial distribution) and Chi-square fit of the observed and expected values to the theoretical frequency distribution (Poisson and Negative binomial) revealed that, in both the cultivars, the adults of *C. sanguinea* were distributed according to the random distribution model, which fits the pattern of Poisson distribution.

Key-words: Spatial distribution, Natural enemy, Lady beetle, Poisson

RESUMO

O cultivo de culturas *Bt* é uma tática importante no manejo integrado de pragas. O efeito de milho *Bt* em artrópodes predadores necessita de ser investigada, devido ao papel importante destes inimigos naturais na ausência de pragas alvo. O objetivo do presente estudo foi gerar informações sobre o modelo de distribuição de *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae) na cultura do milho *Bt* e não- *Bt*. Um campo de amostragem de 2.500 m² de área, divididas em 100 parcelas, foi usado neste estudo. Cinco plantas por parcela, totalizando 500 plantas em cada campo, foram estudadas. O número total de adultos foi contado semanalmente, totalizando seis amostragens de cada campo (*Bt* e não- *Bt*). Os índices de agregação (razão variância / média, índice de Morisita, e expoente k da distribuição binomial negativa) e ajuste do qui-quadrado dos valores observados e esperados para a distribuição teórica de frequência (Poisson e binomial negativa) revelou que, em ambas as cultivares, os adultos de *C. sanguinea* foram distribuídos de acordo com o modelo de distribuição aleatória, que se encaixa no padrão de distribuição de Poisson.

Palavras-chave: Distribuição espacial, inimigo natural, joaninha, Poisson

Introdução

Desde a sua liberação comercial em 2008, a utilização dos cultivos de milho *Bt* contendo genes de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) resistente a insetos é cada vez mais adotada por agricultores brasileiros (James 2011), devido à diminuição de aplicações de inseticidas direcionados, por exemplo, a praga chave *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Brookes e Barfoot 2007, Mendes et al. 2011). Porém a utilização em larga escala dessa tecnologia pode acarretar em efeitos desconhecidos, em espécies não-alvo da tecnologia *Bt* (Dutton et al. 2002, Sanvido et al. 2009).

As mudanças causadas pelas culturas *Bt* podem influenciar diretamente insetos benéficos, como o contato direto das toxinas em presas e ou hospedeiros oriundos dessas culturas, chamada interação tri-trófica (Lumbierres et al. 2011, Dutra et al. 2012, Mota et al. 2012) e indiretamente em mudanças nos aspectos comportamentais de inimigos naturais devido à diminuição de pragas-alvo da tecnologia (Zwahlen et al. 2000, Stephens et al. 2012).

Espécies de coccinelídeos são predadores polípagos importantes dentro dos agroecossistemas, sendo *Cycloneda sanguinea* (L.) importante predador de pragas como pulgões, cochonilhas e ovos de lepidópteros (Bruck e Lewis 1998, Soares et al. 2004). Funichello et al. (2012), relatam variações em alguns parâmetros biológicos quando alimentados com afídeos provenientes de algodão *Bt*.

A dispersão espacial de uma população de insetos em um dado ecossistema ou agroecossistema corresponde, basicamente, a três modelos: agregada (ou contagiosa), aleatório (ou por-acaso) ou uniforme (ou regular) (Young e Young, 1998). Para determinar o padrão de arranjo espacial de uma dada espécie é necessário ter dados numéricos para os indivíduos no ecossistema a ser considerado. É fundamental que o ecossistema em questão permite a amostragem (Fernandes et al. 2003). Estas amostras,

de acordo com a (Young e Young 1998), pode ser usada para inferir o padrão de distribuição de amostra ou as características de distribuição. Para a descrição dos padrões de distribuição de uma população, são utilizados os índices de agregação e distribuição de frequência.

Estudos sobre as distribuições de frequência de diferentes espécies de insetos em diferentes culturas são importantes para a compreensão da distribuição espacial real desses indivíduos, adotando critérios de amostragem apropriados para estimar parâmetros populacionais (Barbosa et al. 1992). De acordo com (Kuno 1991), inicialmente, a área em estudo deve ser dividido em várias unidades ou redes de mesmo tamanho, e, posteriormente, descrever o modelo de ocupação da área por indivíduos na população como uma distribuição dos indivíduos observados em cada grade de frequência.

Sendo a distribuição de *C. sanguinea* no campo relacionada com a população de presas (Hagen 1962), nós testamos a hipótese de que a ausência da população de *S. frugiperda* em milho *Bt*, influenciaria o padrão de distribuição espacial de adultos de *C. sanguinea*, quando comparado com populações em milho convencional infestadas com *S. frugiperda*.

Material e Métodos

Este estudo foi realizado durante dois anos de milho segunda safra “safrinha”, entre 2012 e 2013, em seis campos de milho (dois em Dourados e um em Maracaju em 2012, e dois em Maracaju e um em Dourados em 2013) localizados no sul de Mato Grosso do Sul, Brasil. Os campos foram semeados com milho transgênico *Bt* (DKB 390 VTPRO) expressando as toxinas Cry1A.105 + Cry2Ab2 e milho não-*Bt* (DKB 177). Não foram aplicados inseticidas durante o estudo. Cada campo foi dividido em 100 parcelas, cada uma medindo 25 m² (5 × 5 m). A unidade de amostragem para todas as

amostras envolveu 5 plantas aleatoriamente selecionadas que foram avaliadas semanalmente em cada parcela, totalizando 500 plantas / campo. Contamos o número de ninfas e adultos de *D.melacanthus*, utilizando sete amostragens por campo

Distribuição Espacial

As análises estatísticas para determinar o padrão de distribuição espacial do inseto levou em consideração o número de indivíduos encontrados nas parcelas nos seis campos de trabalho, e os seguintes índices de dispersão foram utilizados para este fim:

Índice Razão de variância / média: Esta relação (I) é um índice que mede o desvio de um arranjo de dados aleatórios. Para este índice, os valores iguais a 1 indicam disposição espacial aleatória ou acaso, valores inferiores a 1 indicam arranjo espacial regular ou uniforme, e valores significativamente maiores do que 1 indicam agregação ou distribuição contagiosa (Rabinovich, 1980). As limitações desse índice encontram-se na influência do tamanho da unidade de amostragem, bem como no número de casos observados, sendo extremamente afectada pelas disposições da agregação (Southwood, 1966).

Morisita: O Índice de Morisita (I_{δ}) é relativamente independente da média e o número das amostras. Quando $I_{\delta} = 1$ a distribuição é aleatória e quando $I_{\delta} > 1$ a distribuição é contagiosa, enquanto $I_{\delta} < 1$ indica a distribuição regular (Silveira Neto et al., 1976). A limitação do Índice de Morisita reside no facto de ser excessivamente influenciado pelo tamanho da amostra (N), em que, para uma utilização segura, o número de unidades de amostragem tem de ser o mesmo para todos os campos a serem comparadas.

Expoente K da distribuição binomial negativa: Expoente K é um índice de dispersão adequado quando o tamanho e número de unidades de amostra são as mesmas em cada amostra, sendo muitas vezes influenciado pelo tamanho da unidade de

amostragem. Este parâmetro é uma medida inversa do grau de agregação, e neste caso, os valores negativos indicam uma distribuição normal ou uniforme, os valores positivos perto de zero indicam um arranjo agregado e os valores mais elevados, até 8, indicam uma distribuição aleatória (Southwood 1966, Elliot 1977).

As distribuições teóricas de frequência utilizadas para avaliar a distribuição espacial da espécie observada são como se segue, de acordo com Young and Young (1998).

A distribuição de Poisson, também denominado de distribuição aleatória, é caracterizada por apresentar um desvio igual à média (Southwood, 1966).

Binomial Negativa: Este índice mostra maior variação do que a média, indicando, assim, uma distribuição agregada. Ele tem dois parâmetros: a média (m) e o parâmetro K ($K > 0$).

O teste do qui-quadrado: Para verificar o teste de aptidão dos dados coletados às distribuições teóricas de frequência, foi utilizado o teste do qui-quadrado para aderência ao comparar o total das frequências observadas na área de amostra com as frequências esperadas, de acordo com Young e Young (1998), onde estas frequências são definidas pelo produto das probabilidades de cada classe e o número total de unidades de amostragem utilizado. No presente estudo, foi selecionado para corrigir uma frequência mínima esperada igual a 1, devido ao número de classes mínimas necessárias para encontrar o grau de liberdade.

Resultados e Discussão

Índices de Dispersão: Os dados relacionados ao qui-quadrado dos índices variância média e Morisita, apresentam valores significativamente iguais a unidade em três amostragens realizadas no milho *Bt*, sendo os três valores restantes significativamente maiores que a unidade. Observa-se que na cultivar convencional,

apenas a quarta amostragem apresentou valor de qui-quadrado significativamente maior que a unidade, sendo o restante, iguais a unidade pelo teste de qui-quadrado. Os valores do parâmetro K ajustaram a agregação em quatro amostragens para as duas cultivares, sendo a sexta amostragem ajustando-se a uniformidade (Table 1.).

Os índices de dispersão resultaram uma distribuição aleatória para adultos de *C. sanguinea* no milho não-*Bt*, porém os índices foram pouco conclusivos quando observado o comportamento de adultos em milho *Bt*. Assim fez - se a necessidade de calcular os índices de frequência, o que é padrão nos estudos de distribuição espacial de artrópodes (Maruyama et al. 2002, Fernandes et al. 2003, Martins et al. 2010, Rodrigues et al. 2010).

Distribuições Teóricas de Frequências: O teste de frequência calculado a partir dos dados de classes observadas no campo, mostram um arranjo de *C. sanguinea* não indicaram um bom ajuste a Binomial Negativa para ambos cultivares de milho (*Bt* e não-*Bt*) (Table 2.). Para a distribuição de Poisson, observam-se quatro amostragens bem ajustados ao teste em milho *Bt*. Para o milho convencional todas as amostragens tiveram um bom ajuste a Poisson.

A partir dos resultados dos índices de frequência, observa-se que adultos de *C. sanguinea* apresentam distribuição ao acaso. Ainda, a ausência de lagartas de *S. frugiperda* não foi fator influente na distribuição espacial do predador, uma vez que em ambas cultivares os resultados foram semelhantes. Então, pressupõe-se que fatores indiretos relacionados com a ausência de presas em milho *Bt*, não influenciam a distribuição espacial de *C. sanguinea*..

Resultados de Guerreiro et al. (2005) relatam a distribuição espacial de adultos e ninfas de *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae), como agregada e dependente da distribuição espacial da presa *S. frugiperda*.

Outros fatores associados ao comportamento de *C. sanguinea* como a paisagem local e a preferência por presas como pulgões e conchonilhas (Elliott et al. 1999, Garcia et al. 2004), sendo estas presas não-alvo do milho-*Bt* utilizado no presente experimento (Lumbierres et al. 2004) e presentes em ambas cultivares, podem estar relacionados com a distribuição horizontal ao acaso. Portanto, a ausência de *S. frugiperda* dos campos de milho-*Bt*, não influenciou a distribuição espacial de adultos de *C. sanguinea*, ou seja, para ambas as cultivares de milho a dispersão deste predador são similares

Agradecimentos

Ao CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil pela bolsa de doutorado concedida ao primeiro autor.

Referências

- Barbosa, J. C., O. A. Fernandes, A. C. B. Correia, and S. A. De Bortoli. 1992.** Amostragem seqüencial. Manejo integrado de pragas e nematóides. Jaboticabal, FUNEP, 253p.[Links]: 205-211.
- Brookes, G., and P. Barfoot. 2007.** Global Impact of Biotech Crops: Socio-Economic and Environmental Effects in the First Ten Years of Commercial Use. *AgBioForum* 9: 13.
- Bruck, D. J., and L. C. Lewis. 1998.** Influence of Adjacent Cornfield Habitat, Trap Location, and Trap Height on Capture Numbers of Predators and a Parasitoid of the European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) in Central Iowa. *Environmental Entomology* 27: 1557-1562.
- Dutra, C. C., R. L. Koch, E. C. Burkness, M. Meissle, J. Romeis, W. D. Hutchison, and M. G. Fernandes. 2012b.** *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) Exhibits No Preference between *Bt* and Non-*Bt* Maize Fed *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *PLoS ONE* 7: e44867.
- Dutton, A., H. Klein, J. Romeis, and F. Bigler. 2002.** Uptake of *Bt*-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology* 27: 441-447.
- Elliott, J. M. 1977.** Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates, Freshwater Biological Association.
- Elliott, N. C., R. W. Kieckhefer, J.-H. Lee, and B. W. French. 1999.** Influence of within-field and landscape factors on aphid predator populations in wheat. *Landscape Ecology* 14: 239-252.

- Fernandes, M. G., A. C. Busoli, and J. C. Barbosa. 2003.** Spatial distribution of *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton crop. *Neotropical Entomology* 32: 107-115.
- Funichello, M., L. Costa, O. Gil, and A. Busoli. 2012.** Biological aspects of *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on aphids reared on transgenic cotton Bollgard I (R). *Revista Colombiana De Entomologia* 38: 156-161.
- Garcia, F. R. M., N. Nardi, M. K. M. da Costa, and A. D. Brescovit. 2004.** Ocorrência de Artrópodes em Lavoura de Milho *Zea mays* no município de Arvoredo, SC. *Bioikos* 18: 8.
- Guerreiro, J. C., F. R. Veronezzi, L. L. Andrade, A. C. Busoli, J. C. Barbosa, and E. Berti Filho. 2005.** Distribuição Espacial do Predador *Doru luteipes* (Scudder, 1876) (Dermaptera: Forficulidae) na Cultura do Milho. *Revista Científica eletrônica de Agronomia* 4: 11.
- Hagen, K. S. 1962.** Biology and Ecology of Predaceous Coccinellidae. *Annual Review of Entomology* 7: 289-326.
- James, C. 2011.** Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2011, *ISAAA Brief*, Ithaca, NY.
- Kuno, E. 1991.** Sampling and Analysis of Insect Populations. *Annual Review of Entomology* 36: 285-304.
- Lumbierres, B., R. Albajes, and X. Pons. 2004.** Transgenic *Bt* maize and *Rhopalosiphum padi* (Hom., Aphididae) performance. *Ecological Entomology* 29: 309-317.
- Lumbierres, B., P. Stary, and X. Pons. 2011.** Effect of *Bt* maize on the plant-aphid-parasitoid tritrophic relationships. *Biocontrol* 56: 133-143.
- Martins, G. L. M., M. R. Vieira, J. C. Barbosa, T. A. Dini, A. M. Manzano, B. Alves, and R. M. Silva. 2010.** Spatial distribution of *Tenuipalpus heveae* Baker (Acari: Tenuipalpidae) on rubber tree plantations. *Neotropical Entomology* 39: 703-708.
- Maruyama, W. I., J. C. Barbosa, M. G. Fernandes, and P. T. Yamamoto. 2002.** Distribuição espacial de *Dilobopterus costalimai* young (Hemiptera: Cicadellidae) em citros na região de Taquaritinga, SP. *Neotropical Entomology* 31: 35-40.
- Mendes, S. M., K. G. B. Boregas, M. E. Lopes, M. S. Waquil, J. M. Waquil, and S. L. Embrapa Milho e Sorgo. 2011.** Fall armyworm responses to genetically modified maize expressing the toxin Cry 1A(b). *Pesq. agropec. bras.* 46: 239-244.
- Mota, T. A., M. G. Fernandes, M. F. d. Souza, P. B. d. F. Rogério, J. C. d. Quadros, and S. O. Kassab. 2012.** Tritrophic interactions between *Bt* cotton plants, the aphid *Aphis gossypii* Glover, 1827 (Hemiptera: Aphididae), and the predator, *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861)(Neuroptera: Chrysopidae). *African Journal of Agricultural Research* 7: 5919-5924.
- Poole, R. W. 1974.** An introduction to quantitative ecology, McGraw-Hill.
- Rabinovich, J. E. 1980.** Introducción a la ecología de poblaciones animales, Compañía Editorial Continental, Mexico.
- Rodrigues, T. R., M. G. Fernandes, and H. R. d. Santos. 2010.** Distribuição espacial de *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera, Aphididae) e *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera, Aleyrodidae) em algodoeiro *Bt* e não-*Bt*. *Revista Brasileira de Entomologia* 54: 136-143.

- Sanvido, O., J. Romeis, and F. Bigler. 2009.** An approach for post-market monitoring of potential environmental effects of *Bt*-maize expressing Cry1Ab on natural enemies. *Journal of Applied Entomology* 133: 236-248.
- Silveira Neto, S., O. Nakano, D. Bardin, and N. A. V. Nova. 1976.** Manual de ecologia dos insetos, Editora Agronômica Ceres.
- Soares, A. O., D. Coderre, and H. Schanderl. 2004.** Dietary self-selection behaviour by the adults of the aphidophagous ladybeetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of Animal Ecology* 73: 478-486.
- Southwood, R. 1966.** Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations, Methuen.
- Stephens, E. J., J. E. Losey, L. L. Allee, A. DiTommaso, C. Bodner, and A. Breyre. 2012.** The impact of Cry3Bb *Bt*-maize on two guilds of beneficial beetles. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 156: 72-81.
- Young, L. J., and J. Young. 1998.** *Statistical Ecology: A Population Perspective*, Kluwer Academic, Boston.
- Zwahlen, C., W. Nentwig, F. Bigler, and A. Hilbeck. 2000.** Tritrophic Interactions of Transgenic *Bacillus thuringiensis* Corn, *Anaphothrips obscurus* (Thysanoptera: Thripidae), and the Predator *Orius majusculus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environmental Entomology* 29: 846-850.

Tabela I. Estatísticas {média (\bar{m}) e variância (S^2)} para adultos de *Cycloneda sanguinea* e índices de dispersão {variância/média (I); Morisita ($I\delta$) expoente K (K)} e qui-quadrado calculado (χ^2) em milho.

Campo	Índice	Amostragens					
		7 D.A.E	14 D.A.E	21 D.A.E	28 D.A.E	35 D.A.E	42 D.A.E
DKB 390 Pro(Bt)	\bar{m}	0,31	0,53	0,49	0,63	0,72	0,43
	S^2	0,418	0,615	0,515	0,842	0,729	0,672
	I	1,349	1,161	1,051	1,336	1,012	1,562
	$I\delta$	2,151	1,306	1,105	1,536	1,017	2,326
	k	0,889ag	3,295ag	9,585al	1,876ag	58,32al	0,765ag
	χ^2	133516*	114,924	104,061	132238*	100,222	154674*
		\bar{m}	0,39	0,62	0,8	1,12	0,6
DKB 177 (não-Bt)	S^2	0,48	0,62	0,93	1,48	0,67	0,26
	I	1,238	1,003	1,162	1,322	1,111	0,962
	$I\delta$	1,619	1,005	1,203	1,287	1,186	0,855
	k	1,64ag	211,42al	4,95ag	3,481ag	5,4ag	-7,076un
	χ^2	122,538	99,290	115	130857*	110	95,22

* = significativo a 5% para o teste de qui-quadrado; ag = agregado; al = aleatório; un = uniforme

Tabela 2 Teste de qui-quadrado (χ^2) para adultos de *Cycloneda sanguinea* (Poisson, Binomial Negativa) em milho

Área	Amostragens	Poisson		Binomial Negativa	
		χ^2	GL(nc-2)	χ^2	GL(nc-3)
DKB 390 Pro (Bt)	7 D.A.E	6,076*	1	2,589ns	1
	14 D.A.E	0,707ns	2	1,136ns	1
	21 D.A.E	7,461*	2	7,068**	1
	28 D.A.E	1,630ns	2	0,374ns	2
	35 D.A.E	3,840ns	2	3,981*	1
	42 D.A.E	2,325ns	1	6,979*	1
DKB 177 (não-Bt)	7 D.A.E	1,448ns	1	2,187ns	1
	14 D.A.E	1,154ns	2	1,1479ns	1
	21 D.A.E	1,189ns	2	2,731ns	3
	28 D.A.E	3,734ns	2	8,41*	3
	35 D.A.E	1,402ns	2	2,774ns	1
	42 D.A.E	0,010ns	1	0,027	-

ns - Não significativo, ** - significativo ao nível de 1%, χ^2 - valor do qui-quadrado calculado, GL - graus de liberdade, nc - número de classes observadas no campo.

Anexos

Ficha de campo para amostragem sequencial da Lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* em milho.

Número de unidades amostrais	Limite Inferior (Não Controlar)	Total amostrado	Limite Superior (Controlar)
1	-		6
2	-		8
3	-		9
4	1		10
5	3		12
6	4		13
7	5		15
8	7		16
9	8		18
10	10		19
11	11		20
12	13		22
13	14		23
14	16		25
15	17		26
16	18		28
17	20		29
18	21		31
19	23		32
20	24		33
21	26		35
22	27		36
23	28		38
24	30		39
25	31		41
26	33		42
27	34		43
28	36		45
29	37		46
30	39		48
31	40		49
32	41		51
33	43		52
34	44		54
35	46		55
36	47		56
37	49		58
38	50		59
39	51		61
40	53		62

Ficha de campo para amostragem sequencial do Percevejo Barriga Verde, *Dichelops melacanthus* em milho.

Número de unidades amostrais	Limite Inferior (Não Controlar)	Total amostrado	Limite Superior (Controlar)
1	-		12
2	-		14
3	-		15
4	-		17
5	-		18
6	-		20
7	-		21
8	-		22
9	2		24
10	3		25
11	4		27
12	6		28
13	7		29
14	9		31
15	10		32
16	11		34
17	13		35
18	14		36
19	16		38
20	17		39
21	18		41
22	20		42
23	21		43
24	23		45
25	24		46
26	25		48
27	27		49
28	28		50
29	30		52
30	31		53
31	32		55
32	34		56
33	35		57
34	37		59
35	38		60
36	39		62
37	41		63
38	42		64
39	44		66
40	45		67