

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS,  
1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E ESTRATÉGIAS  
PARA O MANEJO DA PRAGA**

**Gustavo Oliveira de Magalhães**

**Engenheiro agrônomo**

**2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS,  
1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E ESTRATÉGIAS  
PARA O MANEJO DA PRAGA**

**Gustavo Oliveira de Magalhães**

**Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola).

**2016**

M188a Magalhães, Gustavo Oliveira de  
Aspectos biológicos de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758)  
(Lepidoptera: Plutellidae) e estratégias para o manejo da praga /  
Gustavo Oliveira de Magalhães. -- Jaboticabal, 2016  
xi, 68 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientador: Sergio Antonio De Bortoli

Banca examinadora: Fernando Hercos Valicente, Roberto Marchi  
Goulart, Ricardo Antonio Polanczyk, Nilza Maria Martinelli

Bibliografia

1. Asopinae. 2. Traça das crucíferas. 3. Biologia de inseto. 4.  
Controle biológico. 5. Predador. 6. Bactéria entomopatogênica. I.  
Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.78:632.937

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E ESTRATÉGIAS PARA O MANEJO DA  
PRAGA

AUTOR: GUSTAVO OLIVEIRA DE MAGALHÃES

ORIENTADOR: SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA  
(ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal



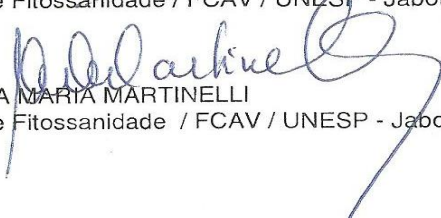
Prof. Dr. FERNANDO HERCOS VALICENTE  
Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / Sete  
Lagoas/MG



Prof. Dr. ROBERTO MARCHI GOULART  
SGS Gravena / Jaboticabal/SP



Prof. Dr. RICARDO ANTONIO POLANCZYK  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. NILZA MARIA MARTINELLI  
Departamento de Fitossanidade / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 30 de junho de 2016.

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**Gustavo Oliveira de Magalhães** – Nascido em Ribeirão Preto-SP, em 11 de setembro de 1981. Possui graduação em Engenharia Agrônômica pela UniPinhal de Espírito Santo do Pinhal, SP (2009). No período da graduação realizou estágios nos Laboratórios de Taxonomia do Instituto Agrônômico de Campinas, de Entomologia na UniPinhal e de Biologia e Criação de Insetos na FCAV/Unesp-Jaboticabal. Mestrado em Agronomia (entomologia agrícola) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho Jaboticabal, SP (2012), sendo bolsista de doutorado da Capes. Durante o período do mestrado e doutorado participou de eventos científicos com a apresentação de resumos simples e resumos expandidos. Ainda, durante o referido período publicou/enviou para publicação artigos em periódicos especializados. Tem experiência na área de Entomologia Agrícola, com ênfase em Fitossanidade, atuando principalmente nos seguintes temas: biologia de insetos, criação de insetos, controle biológico e manejo integrado de pragas.

“Nem tudo que se enfrenta pode ser modificado,  
mas nada pode ser modificado até que seja enfrentado”.

(Albert Einstein)

Aos meus queridos avôs Carlos Leite de Oliveira (*in memoriam*), Mary Andrade Leite de Oliveira (*in memoriam*) e Cicero Wey Magalhães (*in memoriam*). Grande parte do que sou hoje devo a vocês. Saudades...

## **Ofereço.**

A todos que contribuíram para a realização de minha formação acadêmica.

Aos meus queridos pais, Paulo Melillo de Magalhães e Maria Silvia Oliveira de Magalhães, pelo apoio, amor, carinho, confiança, conselhos, por sempre me ajudarem em todos os momentos de minha vida e por nunca deixarem faltar nada.

Aos meus irmãos André Oliveira de Magalhães, Rodrigo Oliveira de Magalhães, pela nossa união carinho e amizade.

Ao meu sobrinho Breno Soares Magalhães, que acaba de chegar, trazendo muitas alegrias e felicidades.

A minha avó Pérola Melillo de Magalhães e a toda minha família, em especial, Carlos Amadeu Leite de Oliveira e Maurício Leite de Oliveira pelo grande apoio e por acreditar.

## **Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me dar a oportunidade de viver com muita saúde e colocar sempre na minha vida as “pessoas certas nas horas certas”;

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos;

Ao meu querido orientador e amigo, Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli. Por todo carinho, preocupação, oportunidades, amizade, inúmeros conselhos, paciência e a sua esposa Mariângela De Bortoli. Obrigado por tudo!;

Aos Professores e pesquisadores, Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, Dr. Fernando Hercos Valicente e Dr. Roberto Marchi Goulart pelos ensinamentos e pela amizade;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da FCAV/Unesp, Dra. Nilza Maria Martinelli, Dr. Carlos Amadeu Leite de Oliveira, Dr. Antônio Carlos Busoli, Dr. Nelson Wanderley Periotto, Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior, Dr. Francisco Jorge Cividanes, Dr. Júlio Cesar Galli, Dr. Odair Aparecido Fernandes, Dr. Marcelo da Costa Ferreira, Dr. Jaime Maia dos Santos, Dr. Sergio Antonio De Bortoli, Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, Dr. Daniel Júnior de Andrade, Dr. Raphael de Campos Castilho, Dr. Guilherme Duarte Rossi e Dr. Sérgio de Freitas (*in memoriam*);

À minha grande amiga pós-doutoranda Alessandra Marieli Vacari pela sua sincera amizade, por sempre ter me apoiado e me ajudado em todos os momentos, pela sua enorme paciência e pela convivência diária. E também ao seu marido Vagner. MUITO OBRIGADO!;

A todos os funcionários da UNESP/FCAV, em especial aos do Departamento de Fitossanidade;

À minha amiga e companheira Thaís Vaz Farias, que sempre me ajudou;



A toda família LBCI (equipe do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos); Wanderlei Dibelli, Roberto Marchi Goulart, Valéria Lucas de Laurentis, Ana Carolina Pires Veiga, Haroldo Xavier Linhares Volpe, Caroline De Bortoli, Sérgio Leandro Placidi De Bortoli, Vanessa Fabíola Pereira de Carvalho, Natália Fernanda Vieira, Nathália Alves dos Santos, Amanda Fernandes Lemes, Thamiris Porto Sipriano, Warner Gasparini Cardoso, Rafael Ferreira dos Santos, Caio Truzi, Dagmara Gomes Ramalho, Rogério Teixeira Duarte, Aline Farhat Pomari, Jaqueline Maeda, pela inestimável ajuda em todos os momentos;

A todos os funcionários e professores do UniPinhal, em especial aos do Departamento de Fitossanidade, aos fitopatologistas, Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> Dr. Marco Antonio Galli e Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> M.Sc. André Luíz Paradela, aos mestres da entomologia, Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup> M. Sc. Maria Helena Calafiori e Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> M. Sc. Reymar Coutinho de Andrade, pela dedicação e esforço nas aulas;

Ao meu amigo e mestre na área de Entomologia e que contribuiu, e muito, na minha carreira, Dr. Édson Posidônio Teixeira, juntamente com os amigos de laboratório do Instituto Agronômico de Campinas;

Enfim, a todos os parentes e amigos, que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação profissional, meu muito obrigado.

## Sumário

RESUMO.....	ix
ABSTRACT .....	xi
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO GERAL .....	2
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
3.1. Família Brassicaceae .....	3
3.2. Traça-das-crucíferas, <i>Plutella xylostella</i> .....	4
3.2.1. Descrição e biologia .....	4
3.2.2. Danos e prejuízos .....	6
3.2.3. Táticas de controle .....	7
3.3. Predador <i>Podisus nigrispinus</i> .....	8
3.3.1. Descrição e biologia .....	8
3.4. Entomopatógeno, <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	11
3.4.1. Produto comercial Agree® e isolado HD1 .....	12
4. REFERÊNCIAS .....	13
CAPÍTULO 2 - BIOLOGIA DE POPULAÇÕES DE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE AO LONGO DE GERAÇÕES.....	23
RESUMO.....	23
ABSTRACT .....	24
1. INTRODUÇÃO.....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	27
2.1. Obtenção das plantas e dos insetos .....	27
2.2. Bioensaios com <i>Plutella xylostella</i> .....	28
2.3. Análise de dados.....	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
4. CONCLUSÃO .....	40
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	41

CAPÍTULO 3 - INTEGRAÇÃO DE BIOINSETICIDAS A BASE DE <i>Bacillus thuringiensis</i> E DO PREDADOR <i>Podisus nigrispinus</i> (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) PARA O CONTROLE DE <i>Plutella xylostella</i> (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM AMBIENTE PROTEGIDO.....	45
RESUMO.....	45
ABSTRACT .....	46
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	49
2.1. Plantas .....	49
2.2. Criação dos insetos.....	49
2.3. Bioinseticidas .....	49
2.4. Procedimentos experimentais.....	50
2.5. Análise dos dados.....	51
3. RESULTADOS .....	52
4. DISCUSSÃO.....	56
5. CONCLUSÃO .....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
CONSIDERAÇÕES FINAIS – IMPLICAÇÕES .....	67
REFERÊNCIAS.....	68

## ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E ESTRATÉGIAS PARA O MANEJO DA PRAGA

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi avaliar a biologia de linhagens de *P. xylostella* em criações para fins de pesquisa e verificar o efeito de *B. thuringiensis* sobre *P. nigripinus* em associação de métodos para o manejo da praga em ambiente protegido. As larvas de *P. xylostella* foram coletadas em *Brassica oleracea* var. *italica* - brócolis Piracicaba, e mantidas em *Brassica oleracea* var. *acephala* - couve Manteiga híbrida HS-20. A cada geração aspectos biológicos dos insetos foram avaliados em ensaios de laboratório. As características biológicas analisadas foram: período larval, viabilidade de larvas, período pupal, viabilidade de pupas, peso pupal, razão sexual, número de ovos por fêmea, fertilidade de ovos, longevidade de machos e longevidade de fêmeas. Também, com os dados obtidos foi construída a tabela de vida de fertilidade. Já com predador, *P. nigripinus*, foi avaliada a história de vida, o consumo de lagartas de *P. xylostella* em plantas de couve tratadas com bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* e também sua atividade de fitofagia nestas plantas, em casa de vegetação. Nas avaliações de *P. xylostella*, indivíduos coletados no campo apresentaram duração larval (8,2 dias) e pupal (3,8 dias) maiores, diminuindo ao longo de gerações. A viabilidade pupal (86,9%) e a fertilidade (93,0%) também foram maiores para essa população, com menor peso de pupa (4,7 mg). Além disso, apresentaram menor taxa líquida de aumento populacional ( $R_0$ ), com 39 fêmeas/fêmea/dia, enquanto que, na população de *P. xylostella* proveniente do laboratório foi de 47,8 fêmeas/fêmea/dia. As características biológicas dos predadores, de modo geral, não sofreram alterações quando consumiram presas diretamente em plantas de couve tratadas com os bioinseticidas. Além disso, a fitofagia foi semelhante indicando que os bioinseticidas utilizados, mesmo o produto formulado, não apresentam substâncias que são repelentes para os predadores. Em conclusão, os parâmetros biológicos de *P. xylostella* demonstraram que o baixo desempenho em algumas características nas primeiras gerações pode ser melhorado ao longo das gerações e que o isolado HD1 ou o produto comercial Agree<sup>®</sup> à base de *B. thuringiensis* podem ser utilizados em

associação com o predador *P. nigrispinus* em ambiente protegido visando o controle de *P. xylostella*.

**Palavras-chave:** Asopinae, traça das crucíferas, biologia de inseto, controle biológico, predador, bactéria entomopatogênica.

## **BIOLOGICAL ASPECTS OF *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) AND STRATEGIES FOR PEST MANAGEMENT**

**ABSTRACT** - This study aimed to evaluate the biology of *P. xylostella* strains in mass rearing for research and verify the effects of *B. thuringiensis* on *P. nigrispinus* in association methods for the management of this pest in protected environment. Larvae collected from *Brassica oleracea* var. *italica* - broccoli Piracicaba, were kept in *Brassica oleracea* var. *acephala* - kale Manteiga hibrida HS-20. The biological aspects of insect generations were evaluated in laboratory bioassays. The biological parameters evaluated were: larval period, larval viability, pupal period, pupal viability, pupal weight, sex ratio, number of eggs per female, eggs fertility, longevity of males and females. The data were used to construct a life table fertility. The predator consuming *P. xylostella* larvae in kale plants treated with bioinsecticides based on *Bacillus thuringiensis* and also their phytophagy activity in these plants, in green house was evaluated. The individuals collected in the field presented larval period (8.2 days) and pupal (3.8 days) longer, decreasing over generations. 86.9% of pupal viability and 93.0% of fertility were also high in this population, however prepupal weight was significantly low (4.7 mg). In addition, the lower net rate of population increase ( $R_0$ ) with 39 females / female / day, whereas in *P. xylostella* population from the laboratory was 47.8 females / female / day. In general, the biological characteristics of predators did not change when the predators consumed prey directly on kale plants treated with biopesticides. In addition, phytophagy was similar indicating that biopesticides used, even the formulated product did not have substances that were repellent to predators. In conclusion, the biological parameters of *P. xylostella* demonstrated that the poor performance in some biological in the first generation can be improved over the generations, and HD1 strain or commercial product Agree<sup>®</sup> based of *B. thuringiensis* can be used in combination with the predator *P. nigrispinus* in a protected environment to control *P. xylostella*.

**Key words:** Asopinae, diamondback moth, biological insects, biological control, predator, entomopathogenic bacteria.

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é um microlepidóptero de coloração parda, adultos com hábito crepuscular, onde a fase jovem causa severos danos as principais culturas da família Brassicaceae, sendo ela considerada praga chave, por ser um inseto cosmopolita, com ciclo de vida relativamente curto, em média 12 dias, ocorrer várias gerações ao ano, ter alta capacidade reprodutiva, provocar danos econômicos altamente significativos, além de ter a sua disposição plantas hospedeiras durante todo o ano (VACARI et al., 2008; IRAC-BR, 2016).

Em laboratório, quando alimentadas em couve *P. xylostella* se desenvolve muito bem, aonde vem sendo criada com o objetivo de fornecer insetos, principalmente, para a utilização em estudos voltados ao manejo integrado de pragas, uma vez que o controle praticado nas lavouras é, rotineiramente, o químico (SILVA-TORRES et al., 2010).

Atualmente, as crescentes preocupações em mitigar os efeitos danosos provenientes do controle químico, principal tática para reduzir populações das pragas (CASTELO BRANCO et al., 2003; DE BORTOLI et al., 2013), surgem como alternativa o uso de bioinseticidas, mais seletivos, menos danosos ao ambiente, e eficientes no controle de *P. xylostella* (MAGALHÃES et al., 2014).

Nesse sentido, a bactéria entomopatogênica, *Bacillus thuringiensis* Berliner, bastante estudada e com ação inseticida sobre diversos insetos, atuando especialmente sobre insetos da ordem Lepidoptera (FERRÉ; VAN RIE; MACINTOSH, 2008), tem sido alvo de trabalho de inúmeros pesquisadores em boa parte do mundo.

Mas, como os bioinseticidas a base de *B. thuringiensis* também vem sendo sistematicamente utilizados, populações de *P. xylostella* resistentes estão sendo selecionadas, havendo relatos sobre a ocorrência da evolução da resistência a esses

compostos (TABASHNIK et al., 1997; FERRÉ; VAN RIE, 2002; HERNANDEZ-MARTINÉZ et al., 2010; ZAGO et al., 2014).

Como alternativa para diminuir essa pressão de seleção sobre os bioinseticidas, uma maneira viável seria a adoção de outro método de controle, que possa atuar em conjunto, como por exemplo, liberações de inimigos naturais (MAGALHÃES et al., 2014). Dentro desse grupo se destacam os predadores que necessitam de um grande número de presas para se desenvolverem e, nesse sentido, *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) é um voraz percevejo predador de larvas e pupas de *P. xylostella*, ocorrendo naturalmente no Brasil (DE BORTOLI et al., 2011; VACARI; DE BORTOLI; TORRES, 2012), e vem se mostrando um eficiente agente de controle em campo e em casa de vegetação (NASCIMENTO et al., 1998; MAGALHÃES et al., 2015)

Esses predadores zoofitófagos são dependentes da alimentação de presas para seu desenvolvimento, sendo também influenciados pelas plantas hospedeiras, onde na ausência de presas buscam recursos na planta para permanecer no agroecossistema, porém, sem causar danos (ZANUNCIO et al., 1994; VALICENTE; O'NEIL, 1993).

Estudos comprovam que toxinas de *B. thuringiensis* podem atuar sobre o terceiro nível trófico (NASCIMENTO et al., 1998; TORRES; RUBERSON, 2008), devido ao consumo de presas infectadas e/ou pela ingestão de plantas pulverizadas, ou geneticamente modificadas, ou ainda ingerindo alguma forma de suspensão contendo o entomopatógeno (VAN FRANKENHUYZEN, 2013).

A associação de métodos de controle biológico, como a utilização de entomopatógenos mais predadores, é uma alternativa viável para contornar problemas com resistência diminuindo a pressão de seleção que seria maior com a utilização de um único agente. Para essa associação são necessários conhecimentos sobre a biologia da praga de ocorrência na região, o que pode ser feito com a espécie criada em laboratório e o estudo de impacto do bioinseticida sobre o predador.

## **2. OBJETIVO GERAL**



Conhecimento sobre a biologia de populações de *P. xylostella* em criações para fins de pesquisa e verificar o efeito de *B. thuringiensis* sobre *P. nigrispinus* em associação de métodos para o manejo da praga em ambiente protegido.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Família Brassicaceae

A família Brassicaceae é originária da costa do mediterrâneo, datada do século XVII, que se espalhou pelo mundo, chegando ao Brasil junto com os primeiros imigrantes (CEASA, 2015). Devido a alta capacidade adaptativa às variações climáticas podem ser cultivadas em todos continentes (HONG et al., 2008), contudo, geralmente são produzidas em regiões de clima ameno, com temperaturas entre 14 e 21°C, dependendo da espécie e da variedade (THORUP-KRISTENSEN, 2008).

As brassicáceas são compostas por espécies economicamente importantes como hortaliças, forragens, produtoras de óleo bem como plantas ornamentais e medicinais (SANTOS, 2006), Dentre elas destacam-se: couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.), repolho (*B. oleracea* L. var. *capitata* L.), couve-flor (*B. oleracea* L. var. *botrytis* L.), brócolis (*B. oleracea* L. var. *italica* Plenck) e couve-chinesa (*B. pekinensis* L.). Além destas, existem na família várias outras espécies hortícolas e/ou oleaginosas tais como: rúcula (*Eruca sativa* Mill.), pak-choi (*B. campestris* L. var. *chinensis* Makino), couve-rabano (*B. oleracea* var. *gongylodes* L.), nabo-comprido (*B. rapa* L. var. *rapa* (L.) Hartm.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e mostarda-de-folha (*B. juncea* L.) (FILGUEIRA, 2008).

As principais características nutricionais das brassicáceas mostram baixo teor de gordura e proteína, e alto teor de vitaminas, fibras, minerais, fenois, flavonoides, ácido hidroxicinâmico, açúcares solúveis, ácidos graxos e carotenoides. Possuem elevadas quantidades de compostos secundários fenólicos, chamados glucosinolatos, como sinigrina, glucoiberina, glucobrassicina, entre outros (DIXON, 2007; CARTEA et al., 2011).

### 3.2. Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*

*Plutella xylostella* é um dos principais fatores limitantes do cultivo de brassicáceas no mundo, isto devido aos sérios danos que causa às plantas, depreciando o produto e ocasionando grandes perdas nos campos de produção (CASTELO BRANCO; FRANÇA, 2001). Os custos com o controle de *P. xylostella* situam-se entre US \$ 1,3 bilhão e US \$ 2,3 bilhões anuais (ZALUCKI et al., 2012).

Sua origem biogeográfica ainda é incerta, no entanto pesquisadores suspeitam que essa praga possa ter sido originada na África do Sul, Europa ou Leste da Ásia (IRAC-BR, 2016) sendo considerada cosmopolita (CHENG et al., 2008). Sua rápida dispersão deve-se a algumas características da espécie, tais como o elevado potencial de dispersão, tanto ativo quanto passivo, e sua capacidade reprodutiva (IRAC-BR, 2016).

O controle químico é o mais utilizado no controle de *P. xylostella*, devido ao elevado dano econômico (DE BORTOLI et al., 2013), já existindo relatos de resistência a mais de 80 ingredientes ativos (IRAC-BR, 2016).

O uso de inseticidas traz riscos de intoxicação aos homens, animais e, especialmente, aos inimigos naturais, além da contaminação do ambiente (MONNERAT et al., 2004), diante dos problemas ocasionados pelo controle químico, uma alternativa eficaz e racional para evitar os danos causados por *P. xylostella* é o controle biológico com organismos entomopatogênicos (BRAR et al., 2006). Dentre eles, a bactéria *B. thuringiensis* é a mais utilizada e estudada para a maioria das pragas agrícolas, entre elas *P. xylostella* (CASTELO BRANCO et al., 2003; MEDEIROS et al., 2005).

#### 3.2.1. Descrição e biologia

Os ovos de *P. xylostella* são de coloração amarela, medindo menos de 1 mm de diâmetro e a postura é realizada em grande parte na face abaxial das folhas, próximas as nervuras, em grupos de três a cinco ovos ou isolados. Cada fêmea oviposita em

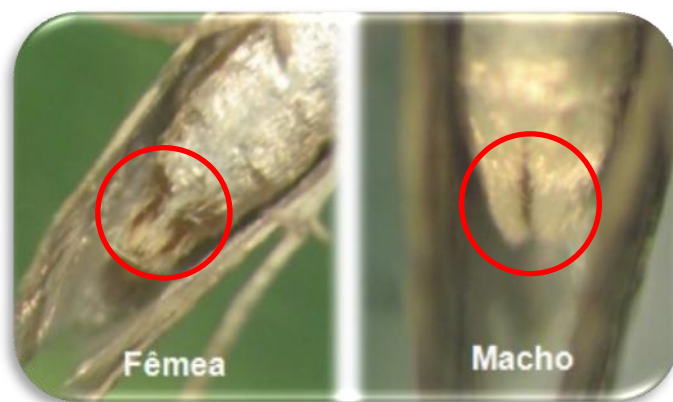
média 200 ovos até o 15º dia, com o número de ovos por fêmea e a viabilidade diminuindo significativamente após o 3º dia (THULER, 2009; VEIGA et al., 2010).

O período de incubação dos ovos é de três a quatro dias, quando eclodem as larvas, que penetram nas folhas fazendo galerias e estão protegidas neste período. Ao atingirem o segundo e durante o terceiro ínstar, abandonam as minas e passam a se alimentar principalmente da epiderme inferior das folhas, que no quarto ínstar consomem totalmente a folha (MEDEIROS, 2004).

As larvas são verdes, podendo apresentar coloração amarela, que chegam a medir 1 cm de comprimento no máximo desenvolvimento, que ocorre de 7 a 10 dias, quando se inicia a formação do casulo e posteriormente da pupa (GALLO et al., 2002; DE BORTOLI; VIANA, 2009).

As pupas são formadas por toda a planta, mas preferencialmente em locais escondidos, buscando proteção contra inimigos naturais e fatores climáticos. A pupa é do tipo obtecta, com coloração verde nos primeiros dias e marrom, quando próximas à emergência dos adultos (CASTELO BRANCO; FRANÇA, 2001; THULER, 2009).

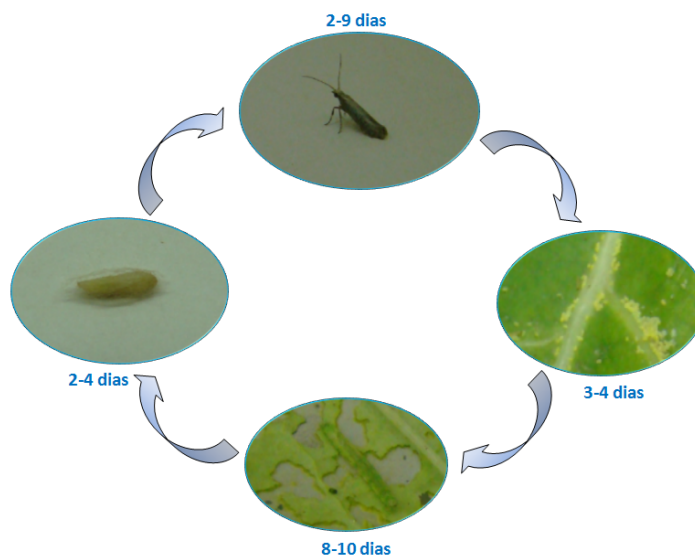
Os adultos são microlepidópteros de coloração parda, com aproximadamente 1 cm de comprimento, com hábito crepuscular, permanecendo escondido nas folhas durante o dia e saindo ao entardecer, para se reproduzir e, eventualmente, alimentar-se. É possível distinguir o macho da fêmea quando se observa a parte ventral do inseto, no final do abdome os machos apresentam uma “fenda”, enquanto as fêmeas duas manchas circulares de coloração escura (VACARI, 2009) (Figura 1).



**Figura 1.** Dimorfismo sexual de adultos de *Plutella xylostella*.

Fêmeas - duas manchas circulares; Machos - uma “fenda” (VACARI, 2009).

Segundo Vacari (2009), estudos de biologia dessa praga revelam que suas características biológicas variam de acordo com o cultivar e as condições climáticas em que o inseto se desenvolveu. Desta forma, tem-se um ciclo de vida variável (Figura 2).



**Figura 2.** Ciclo de vida de *Plutella xylostella*: adulto; ovos; lagarta; pupa (VACARI, 2009).

### 3.2.2. Danos e prejuízos

Os danos provocados pelo ataque de *P.xylostella* podem reduzir consideravelmente o valor comercial dos produtos e a produção, chegando a taxas superiores a 60% em repolho (BIOCONTROLE, 2013). Em repolho, observa-se o ataque da praga desde a formação da cabeça até a colheita, com nível de dano econômico próximo a 20% de plantas infestadas (MAU; KESSING, 2007; VACARI et al., 2008). Na cultura da couve os danos podem chegar a 95%, dependendo da região e da época de plantio (CZEPAK et al., 2005).

### 3.2.3. Táticas de controle

O tratamento químico foi considerado, desde o início do século XX, o principal método de controle para reduzir os danos causados por *P. xylostella*. Inicialmente as aplicações eram semanais ou quinzenais, mas com passar do tempo, foram selecionadas populações resistentes, aumentando, em consequência disso, a frequência e a dosagem dos inseticidas (CASTELO BRANCO; VILLAS BÔAS, 1997), chegando a fazer até 3 aplicações de inseticidas semanalmente, sem obter controle satisfatório (CASTELO BRANCO; FRANÇA, 2001).

O uso de inseticidas em larga escala causa além do problema da resistência, o acúmulo de resíduos nocivos ao meio ambiente e ao homem, levando a problemas toxicológicos e de desequilíbrio ecológico (TIBA, 2008).

*P. xylostella* foi o primeiro inseto a desenvolver resistência ao DDT, registrado apenas 3 anos após o início da sua utilização (ANKERSMIT, 1953). Tornou-se, posteriormente, resistente a mais de 80 ingredientes ativos em todo o mundo (IRAC-BR, 2016). Atualmente, esta praga apresenta resistência a quase todos os grupos de inseticidas utilizados (RIDLAND; ENDERSBY, 2011), incluindo novos compostos, como a classe química das diamidas antranílicas (WANG; WU, 2012). Além disso, é considerado como o primeiro inseto a apresentar resistência a toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner no campo (TABASHINIK et al., 1990).

O uso intensivo de inseticidas, além de contribuir para a evolução de resistência dessa praga, promove a eliminação de inimigos naturais (DE BORTOLI et al., 2013). Dentro deste contexto, fica explícita a necessidade de se adotar técnicas e táticas menos prejudiciais e mais eficientes para o controle sustentável desta praga.

No Brasil ocorrem inimigos naturais de *P. Xylostella* que são muito promissores para manter o equilíbrio das populações dessa praga, embora sejam pouco utilizados (ZANUNCIO et al., 1994). O percevejo predador *P. nigrispinus* têm grande destaque e pode ser utilizado como alternativa, pois, sua produção em laboratório é relativamente fácil e acessível (DE BORTOLI et al., 2011).

Outra alternativa é a utilização de entomopatógenos no controle de pragas. Uma alternativa viável, pois causa menor impacto aos inimigos naturais e organismos não-

alvo (POLANCZYK; GARCIA; ALVES, 2003). Dentre esses microrganismos, a bactéria *B. thuringiensis* é a mais estudada e utilizada para a maioria das pragas agrícolas, inclusive *P. xylostella* (CASTELO BRANCO et al., 2003; MEDEIROS et al., 2005; POLANCZYK, 2015).

### **3.3. Predador *Podisus nigrispinus***

As espécies que pertencem à subfamília Asopinae (Hemiptera: Pentatomidae) diferencia-se dos demais pentatomídeos por seu hábito alimentar predador (VACARI, 2009). Foram relatadas 58 espécies de Asopinae na América do Sul e deste total, 44 foram encontrados no Brasil (TORRES; ZANUNCIO; MOURA, 2006). O percevejo predador mais estudado e comum no Brasil é *P. Nigrispinus*, devido a sua ocorrência natural, agressividade e voracidade (DE BORTOLI et al., 2011).

Percevejos zoofitófagos como *P. nigrispinus* se alimentam por meio da digestão extra-oral e possuem mecanismos de adaptação no aparelho bucal e no complexo enzimático digestivo que os tornam aptos a exercerem, ocasionalmente a fitofagia (OLIVEIRA et al., 2006).

Geralmente, a infestação de *P. nigrispinus* está relacionada à disponibilidade de presas e a sua qualidade (OLIVEIRA et al., 2002a). A escassez de presas é uma situação que pode ocorrer, levando o percevejo a procurar mais vezes alimento nas plantas, mas sem causar danos econômicos (MAGALHÃES, 2012). Entretanto, a alimentação exclusiva em plantas não é suficiente para o desenvolvimento do predador (XAVIER et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2015).

#### **3.3.1. Descrição e biologia**

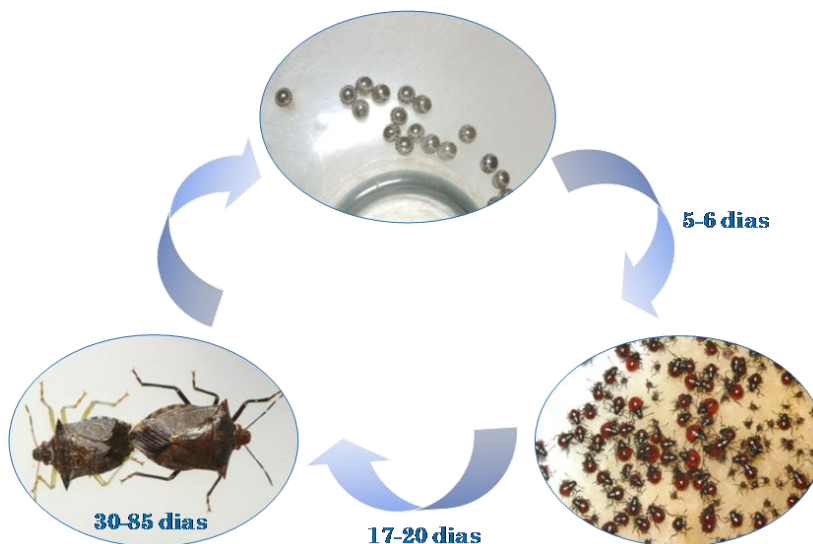
Os aspectos biológicos de *P. nigrispinus* sofrem variações decorrentes da qualidade da alimentação e da temperatura favorável ao desenvolvimento (TORRES; ZANUNCIO; MOURA, 2006), sendo a faixa ideal entre 25 e 28°C (MEDEIROS et al., 2003).

Com relação ao hábito alimentar, *P. nigrispinus* são generalistas, consumindo diferentes espécies de larvas e pupas. O consumo pode variar em função do tamanho

da presa, da densidade, do ínstar do predador, da temperatura (OLIVEIRA et al., 2001), e também do consumo em diferentes espécies de plantas que favoreçam ou não o seu desenvolvimento e reprodução (XAVIER et al., 2010).

O tempo de desenvolvimento de *P. nigrispinus* para que se tenha o ciclo é de 35 dias em média, sendo o período de incubação de aproximadamente 5 dias, o desenvolvimento das ninfas 20 dias e a longevidade dos adultos variam de 30 a 80 dias (MEDEIROS et al., 2003; VACARI, 2009; MAGALHÃES, 2012).

A fase de ninfa compreende 5 estádios, que duram em média 2 dias para 1º ínstar; 3 dias para 2º ínstar; 4 dias para 3º ínstar; 5 dias para 4º ínstar e 6 dias para 5º ínstar (MAGALHÃES, 2012; MAGALHÃES et al., 2015) (Figura 3).



**Figura 3.** Ciclo de vida de *Podisus nigrispinus*: ovos; ninfas e adultos (VACARI, 2009).

Características morfológicas nas fases de Ovo, ninfa e adulto de *P. nigrispinus* segundo Grazia; Vecchio e Hildebrand (1985) e Vacari (2009).

Os ovos medem cerca de 1 mm, com coloração prata, levemente dourados devido a presença de pequenas cerdas marrons distribuídas sobre a superfície do corion, que auxiliam na fixação dos mesmos. Possuem também uma coroa de longas cerdas na extremidade superior, que são típicas da subfamília Asopinae.

Após a eclosão, as ninfas de 1º ínstar apresentam forma ovalada, com cabeça, tórax, pernas e antenas de coloração castanho-escuras, com o abdome e olhos vermelhos; medindo 1,4 mm de comprimento e 1,0 mm de largura do abdome.

As ninfas de 2º ínstar apresentam forma subovalada, com cabeça, tórax, pernas e antenas de coloração quase negras, com o abdome vermelho; medindo 2,5 mm de comprimento e 1,7 mm de largura.

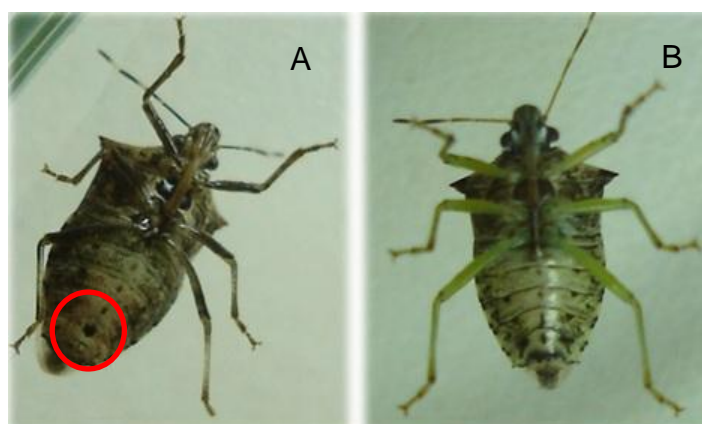
No 3º ínstar o comprimento chega a 3,4 mm e a largura 2,3 mm.

Durante o 4º ínstar voltam a apresentar forma ovalada, com o abdome um pouco mais largo que o pronoto, com manchas amareladas dorso lateralmente e medem 4,8 mm de comprimento e 3,2 mm de largura.

No 5º ínstar já é possível observar a teca alar e as manchas ocelares. Comprimento médio de 7,2 mm e largura do abdome 4,8 mm.

Os adultos possuem características variadas entre sexos. As fêmeas são maiores, com 10 a 14 mm e com coloração negra. Os machos medem de 7,5 a 10,0 mm e são pardo-esverdeados (VIVAN; TORRES; VEIGA, 2003).

O macho e a fêmea são facilmente distinguidos, quando se observa a parte ventral do inseto, ao final do abdome das fêmeas está o orifício de oviposição (Figura 4).



**Figura 4.** Orifício de oviposição da fêmea (A) e o macho (B) de *Podisus nigrispinus* (GOULART, 2010).



Após a muda para a fase adulta, as fêmeas são copuladas por mais de uma vez e colocam em média 200 ovos, em posturas com aproximadamente 9 ovos/dia (MAGALHÃES et al., 2015).

A longevidade dos adultos varia consideravelmente, dependendo das condições ambientais; da qualidade e da disponibilidade de presas (MAGALHÃES, 2012).

### **3.4. Entomopatígeno, *Bacillus thuringiensis***

A bactéria *B. thuringiensis* (*Bt*) é o agente de controle biológico mais estudado e utilizado no mundo. Isso devido à mortalidade que causa nos insetos e são inofensivos aos homens e animais. É encontrada naturalmente no solo, em insetos, na superfície e interior de plantas, produtos armazenados, além de outros (GLARE; O' CALLAGHAM, 2000). Os produtos à base de *Bt* representam 90% dos biopesticidas e são usados especialmente em países como os EUA. Na América Latina, Cuba e México lideram a utilização para controle de pragas nas culturas de algodão, banana, batata, citros, hortaliças, fumo, milho e pastagens (POLANCZYK; GARCIA; ALVES, 2003; POLANCZYK, 2015).

No Brasil, estes bioinseticidas são utilizados em grande escala para controle de pragas de importância agrícola. Essa bactéria entomopatogênica é capaz de controlar insetos-praga de várias ordens como Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. As principais limitações são: especificidade, a concorrência com produtos químicos, o domínio das multinacionais e a falta de investimentos dos setores públicos e privados no desenvolvimento e formulações desses produtos (POLANCZYK; ALVES, 2003).

A bactéria em forma de bastonete *Bt* é gram-positiva; flagelada e pertencente à família Bacillaceae. É aeróbica e facultativamente anaeróbica. Desenvolve-se em meios aeróbicos artificiais bastante simples e, na ausência de certos nutrientes ou acúmulo de metabólitos indesejáveis, entra em processo de esporulação durante a sua fase estacionária (BRAVO et al., 2011).

Durante a esporulação sintetizam uma inclusão proteica cristalina, composta por subunidades denominadas cristais, com atividade inseticida. Os cristais são

constituídos por  $\delta$ -endotoxinas, ou proteínas Cry, que ficam acumuladas na célula bacteriana (GLARE; O' CALLAGHAM, 2000).

As proteínas Cry individualmente apresentam espectro de ação inseticida normalmente restrito a uma ordem de insetos em particular (DE MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001), porém existem algumas exceções como a Cry1A que é ativa para Lepidoptera e Diptera; Cry1B para Coleoptera, Diptera e Lepidoptera; Cry2A para Diptera, Hemiptera e Lepidoptera; Cry3A para Coleoptera, Hemiptera e Hymenoptera (VAN FRANKENHUYZEN, 2009).

Um inseto suscetível deve ingerir cristais que são solubilizados em pH alcalino, originando as protoxinas que na presença de enzimas digestivas (proteínases) são convertidas em quatro ou mais polipeptídeos tóxicos ( $\delta$ -endotoxinas). As toxinas hidrolizadas cruzam a membrana peritrófica e se ligam a receptores específicos localizados na membrana apical das células colunares do intestino médio, interferindo no gradiente iônico e no balanço osmótico da membrana apical, formando poros que aumentam a permeabilidade da membrana. O aumento na absorção de água causa lise celular e eventual ruptura e desintegração das células do intestino médio. O inseto também pode morrer por inanição, uma vez que pouco tempo após a infecção cessa a alimentação (BRAVO et al., 2011).

#### **3.4.1. Produto comercial Agree<sup>®</sup> e isolado HD1**

As toxinas com ações específicas para lepidópteros são as mais encontradas nos bioinseticidas disponíveis no mercado. A maioria é formulada com a linhagem HD1, da subespécie *kurstaki*, como o bioinseticida Dipel<sup>®</sup>, com grande destaque no mercado mundial por ter alta toxicidade e amplo espectro de ação sobre lepidópteros (GLARE; O' CALLAGHAM, 2000).

O bioinseticida Agree<sup>®</sup> é uma formulação com a linhagem *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, e *B. thuringiensis* subsp. *aizawai*, que sintetizam as proteínas Cry1Ac, Cry1C, Cry1D e Cry2 (LIU et al., 2004).

#### 4. REFERÊNCIAS

ANKERSMIT, G. W. DDT resistance in *Plutella maculipennis* (Curt.) Lepidoptera in Java. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 44, n. 3, p. 421-425, 1953.

BIOCONTROLE. Pragas: ***Plutella xylostella***. Disponível em: <<http://www.biocontrole.com.br/?area=pragas&id=16>>. Acesso em: 03 abr. 2013.

BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R. Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based bioinsecticides. **Process Biochemistry**, London, v. 41, n. 2, p. 323-342, 2006.

BRAVO, A.; LIKITVIVATANAVONG, S.; Gill, S. S.; SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A history of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**. v. 41, p. 423-431, 2011.

CARTEA, M. E.; LEMA, M.; FRANCISCO, M.; VELASCO, P. M. Basic information on vegetable *Brassica* crops. In: SADOWSKI, J.; KOLE, C. (Eds.). **Genetics, genomics and breeding of vegetable brassicas**. Enfield: Science Publishers, 2011. p. 1-33.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H. Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Eds.). **Histórico e impacto das introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 85-89.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; PONTES, L. A.; AMARAL, P. S. T. Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.

CASTELO BRANCO, M.; VILLAS BÔAS, G. L. Traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* – Artrópodes de importância econômica. **Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças**, Brasília, n. 4, p. 1-3, 1997.

CEASA (Centrais de Abastecimento de Campinas). **Couve-flor**. Disponível em: <[http://www.ceasacampinas.com.br/novo/Serv\\_padro\\_Couve\\_Flor.asp](http://www.ceasacampinas.com.br/novo/Serv_padro_Couve_Flor.asp)>. Acesso em: 04 mar. 2015.

CHENG, L.; YU, G.; CHEN, Z.; LI, Z. Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to nereistoxin insecticides. **Agricultural Sciences in China**, Oxford, v. 7, n. 7, p. 847-852, 2008.

CZEPAK, C; FERNANDES, P. M.; SANTANA, H. G. TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, C. L. Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 129-131, 2005.

DE BORTOLI, S. A.; OTUKA, A. K.; VACARI, A. M.; MARTINS, M. I. E. G.; VOLPE, H. X. L. Comparative biology and production costs of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) when fed different types of prey. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 58, n. 2, p. 127-132, 2011.

DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; DUARTE, R. T. *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. (Eds.). **Weed and pest control** - conventional and new challenges. Rijeka: InTech, p. 31-51, 2013.

DE BORTOLI, S. A.; VIANA, C. L. T. P. A Base. In: DE BORTOLI, S. A. (Ed.). **Criação de insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal: Edição própria, 2009. p. 12-56.

DE MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in Genetics**, Amsterdam, v. 17, n. 4, p. 193-199, 2001.

DIXON, G. R. **Vegetable brassicas and related crucifers**. Oxfordshire: CABI Publishing, 2007. 327 p.

FERRÉ, J. M.; VAN RIE, J. Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 501-533, 2002.

FERRÉ, J. M.; VAN RIE, J.; MACINTOSH, S. C. Insecticidal genetically modified crops and insect resistance management (IRM). In: ROMEIS, J.; SHELTON, A. M.; KENNEDY, G. G. (Eds.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs**, Springer, 2008. p. 41-85.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2008. 421 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, S. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 920p, 2002.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAM, M. ***Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley and Sons, 350 p, 2000.

GOULART, R. M. Ação de *Bacillus thuringiensis* Berliner nas características biológicas de outros inimigos naturais. 2010. 108 f. (Tese de Doutorado em

Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2010.

GRAZIA, J.; VECCHIO, M. C.; HILDEBRAND, R. Estudos das ninfas de heterópteros predadores: *Podisus connexivus* Bergroth, 1891 (Pentatomidae, Asopinae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v. 14, n. 2, p. 303-313, 1985.

HERNÁNDEZ-MARTINEZ, P.; NAVARRO-CERRILLO, G.; CACCIA, S.; DE MAAGD, A. R.; MOAR, W. J.; FERRÉ, J.; ESCRICHE, B.; HERRERO, S. Constitutive activation of the midgut response to *Bacillus thuringiensis* in Bt-resistant *Spodoptera exigua*. **Plos One**, San Francisco, v. 5, n. 9, p. e12795, 2010.

HONG, C. P.; KWON, S. J.; KIM, J. S.; YANG, T. J.; PARK, B. S.; LIM, Y. P. Progress in understanding and sequencing the genome of *Brassica rapa*. **International Journal of Plant Genomics**, New York, v. 2008, p. 1-9, 2008.

IRAC-BR. Comitê Brasileiro de Ação à resistência a inseticidas. 2016. Available from: <http://www.illac-br.org/#!Traçadascrucíferas-consegue-detectar-a-presença-de-inseticidas-na-planta/csfb/56e9a0390cf2d686649c7abd> [acessado em 16 de abril de 2016]

LIU, K.; ZHENG, B.; HONG, H.; JIANG, C.; PENG, R.; PENG, J.; YU, Z.; ZHENG, J.; YANG, H. Characterization of cultured insect cells selected by *Bacillus thuringiensis* crystal toxin. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Animal**, New York, v. 40, n. 10, p. 312–317, 2004.

MAGALHÃES, G. O. **Efeito de produtos a base de *Bacillus thuringiensis* Berliner, na fisiologia e fitofagia de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae)**. 2012. 68f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.

MAGALHÃES, G. O.; VACARI, A. M.; LAURENTIS, V. L.; DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A. Interactions of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides and the predatory stink bug *Podisus nigrispinus* to control *Plutella xylostella*. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 139, n. 1-2, p. 123-133, 2014.

MAGALHÃES, G. O.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; POMARI, A. F.; DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A. Interactions between Bt-bioinsecticides and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), a predator of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 44, n. 5, p. 521-527, 2015.

MAU, R. F. L.; KESSING, J. L. M. *Plutella xylostella* (Linnaeus). **Crop Knowledge Master**, 2007. Disponível em: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/plutella.htm>. Acesso em: 12 jun. 2015.

MEDEIROS, C. A. M. **Efeito inseticida de extratos vegetais aquosos sobre *Ascia monuste orseis* (Latreille) em couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.)**. Jaboticabal, 2004. 83f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. 2004.

MEDEIROS, P. T.; FERREIRA, M. N.; MARTINS, E. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1145-1148, 2005.

MEDEIROS, R. S.; RAMALHO, F. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Temperature influence on the reproduction of *Podisus nigrispinus*, a predator of the noctuid larvae of *Alabama argillacea*. **BioControl**, Dordrecht, v. 48, n. 6, p. 695-704, 2003.

MONNERAT, R. G.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; BERTIOLI, D. J.; BUTT, T. M.; BORDAT, D. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por suscetibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 607-609, 2004.

NASCIMENTO, M. L.; CAPALBO, D. F.; MORAES, G. J.; DE NARDO, E. A.; MAIA, A. H. N.; OLIVEIRA, R. C. A. L. Effect of a formulation of *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki* on *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 72, n. 2, p. 178-180, 1998.

OLIVEIRA, J. A.; OLIVEIRA, M. G. A.; GUEDES, R. N. C.; SOARES, M. J. Morphology and preliminary enzyme characterization of the salivary glands from the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 96, n. 3, p. 251-258, 2006.

OLIVEIRA, J. E. M.; TORRES, J. B.; CARRANO-MOREIRA, A. M.; BARROS, R. Efeitos das plantas de algodoeiro e do tomateiro, como suplemento alimentar, no desenvolvimento e na reprodução do predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 101-108, 2002a.

OLIVEIRA, J. E. M.; TORRES, J. B.; MOREIRA, A. F. C.; ZANUNCIO, J. C. Efeito da densidade de presas e do acasalamento na taxa de predação de fêmeas de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) em condições de laboratório e campo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 647-654, 2001.

POLANCZYK, R. A. Interação entre *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) visando ao controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebiidae), *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). 2015.



97 f. Tese de Livre-Docência – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis* - Uma Breve Revisão. **Agrociência**, Montevideo, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2003.

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. O.; ALVES, S. B. Potencial de *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 6, p. 813-816, 2003.

RIDLAND, P. M.; ENDERSBY, N. M. Some australian populations of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) show reduced susceptibility to fipronil. SIXTH INTERNATIONAL WORKSHOP ON MANAGEMENT OF THE DIAMONDBACK MOTH AND OTHER CRUCIFER INSECT PESTS. Nakhon Pathom, Thailand, 21-25 March 2011. Disponível em: [http://203.64.245.61/fulltext\\_pdf/EB/2011-2015/eb0170.pdf](http://203.64.245.61/fulltext_pdf/EB/2011-2015/eb0170.pdf). Acesso em: 22 abr. 2016.

SANTOS, M. A. T. Efeito do cozimento sobre alguns fatores antinutricionais em folhas de brócoli, couve-flor e couve. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 294-301, 2006.

SILVA-TORRES, C. S. A.; PONTES, I. V. A. F.; TORRES, J. B.; BARROS, R. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 5, p. 835-838, 2010.

TABASHNIK, B. E.; CUSHING, N. L.; FINSON, N.; JOHNSON, M. W. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 83, n. 5, p. 1671-1676, 1990.

TABASHNIK, B. E.; LIU, Y. B.; FINSON, N.; MASSON, L.; HECKEL, D. G. One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 94, n. 5, p. 1640-1644, 1997.

THORUP-KRISTENSEN, K. Brassicas in sustainable production and organic farming. In: **5<sup>th</sup> ISHS International Symposium on Brassicas and the 16<sup>th</sup> Crucifer Genetics Workshop, 9.**, 2008, Lillehammer. Anais eletrônicos... Lillehammer: Brassica, 2008. Disponível em: <[http://www.brassica2008.no/paper/Book\\_of\\_abstract.pdf](http://www.brassica2008.no/paper/Book_of_abstract.pdf)>. Acesso em: 15 mar. 2015.

THULER, R. T. Criação de *Plutella xylostella*. In: DE BORTOLI, S. A. (Ed.). **Criação de insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal: Edição própria, 2009. p. 58-68.

TIBA, L. M. **Efeito de alguns inseticidas sobre a mariposa *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera, Plutellidae) por meio de iscas esterilizantes**. 2008. 58 f. Dissertação (Mestrado Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. **Transgenic Research**, London, v. 17, n. 3, p. 345-354, 2008.

TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and use for lepidoptera larvae control in *Eucalyptus* forests in Brazil. **CAB Reviews: perspectives in Agricultural, Veterinary Science, Nutrition Resources**, Wallingford, v. 1, n. 15, p. 1-18, 2006.

VACARI, A. M. **Caracterização biológico-comportamental de *Podisus nigrispinus* (DALLAS, 1851) predando *Plutella xylostella* (L., 1758)**. 2009. 102f. Tese (Doutorado

em Entomologia Agrícola) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2009.

VACARI, A. M.; VOLPE, H. X. L.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P.; BENVENGA, S. R.; CARVALHO, J. S.; THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A. Integração de métodos de controle de pragas em hortaliças: experiência prévia para uma aplicação segura. In: ARAUJO, E. S.; VACARI, A. M.; CARVALHO, J. S.; GOULART, R. M.; CAMPOS, A. P.; VOLPE, H. X. L. (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, p. 84-99, 2008.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; TORRES, J. B. Relationship between predation by *Podisus nigrispinus* and developmental phase and density of its prey, *Plutella xylostella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 30-37, 2012.

VALICENTE, F. H.; O'NEIL, R. J. . Effects of two host plants on selected life history characteristics of *Podisus maculiventris* (Say) Heteroptera: Pentatomidae. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v. 22, n.3, p. 513-519, 1993.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 101, n. 1, p. 1-16, 2009.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Cross-order and cross-phylum activity of *Bacillus thuringiensis* pesticidal proteins. **Journal of invertebrate pathology**, San Diego, v. 114, n. 1 p. 76-85, 2013.

VEIGA, A. C. P.; VIANA, C. L. T. P.; PEDROSO, E. C.; OTUKA, A. K.; VIANA, M. A.; LAURENTIS, V. L.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A. Biologia comparada de duas populações de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom), p. 773-778, 2010.

VIVAN, L. M.; TORRES, J. B.; VEIGA, A. F. S. L. Development and reproduction of a predatory, *Podisus nigrispinus*, in relation to two different prey types and environmental conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 48, n. 2, p. 155-168, 2003.

WANG, X.; WU, Y. High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 105, n. 3, p. 1019-1023, 2012.

XAVIER, M. R.; VACARI, A. M.; MAGALHÃES, G. O.; DE BORTOLI, S. A. Características biológicas de *Podisus nigrispinus* alimentado com *Plutella xylostella* e folha de couve. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 751-758, 2010.

ZAGO, H. B.; SIQUEIRA, H. Á.; PEREIRA, E. J.; PIKANÇO, M. C.; BARROS, R. Resistance and behavioral response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. **Pest management science**, Sussex, v. 70, n. 3, p. 488-495, 2014.

ZALUCKI, M. P.; SHABBIR, A.; SILVA, R.; ADAMSON, D.; SHU-SHENG, L.; FURLONG, M. J. Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera:Plutellidae): just how long is a piece of string? **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 3, p. 1115-1129, 2012.

ZANUNCIO, J. C.; ALVES, J. B.; ZANUNCIO, T. V.; GARCIA, J. F. Hemipterous predators of eucalypt defoliator caterpillars. **For. Ecol. Manage.** v. 65, p. 65-73, 1994.

**CAPÍTULO 2 - BIOLOGIA DE POPULAÇÕES DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758)  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE AO LONGO DE GERAÇÕES**

BIOLOGY OF *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)  
POPULATIONS IN KALE OVER GENERATIONS

**RESUMO** - Plantas da família Brassicaceae fazem parte da alimentação básica mundial. A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*, é um dos principais fatores limitantes deste cultivo no mundo, devido aos sérios danos que causa às plantas, depreciando o produto e ocasionando grandes perdas nos campos de produção. Assim, conhecimentos sobre o desenvolvimento deste inseto são importantes para que se possam estimar as mudanças nas características biológicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar mudanças na biologia de insetos selvagens quando criados em laboratório ao longo de cinco gerações e comparados com aqueles mantidos a mais de 190 gerações em laboratório. As larvas foram coletadas em *Brassica oleracea* var. *italica* - brócolis Piracicaba, e mantidas em *Brassica oleracea* var. *acephala* - couve Manteiga híbrida HS-20. A cada geração aspectos biológicos dos insetos foram avaliados em bioensaios de laboratório. As características biológicas analisadas foram: período larval, viabilidade de larvas, período pupal, viabilidade de pupas, peso pupal, razão sexual, número de ovos por fêmea, fertilidade de ovos, longevidade de machos e longevidade de fêmeas. Com os dados obtidos foi construída a tabela de vida de fertilidade. Indivíduos coletados no campo apresentaram duração larval (8,2 dias) e pupal (3,8 dias), diminuindo ao longo de gerações. A viabilidade pupal (86,9%) e a fertilidade (93,0%) também foram maiores para essa população, com menor peso de pupa (4,7 mg). Além disso, apresentaram menor taxa líquida de aumento populacional ( $R_0$ ), com 39 fêmeas/fêmea/dia,

enquanto que, na população de *P. xylostella* proveniente do laboratório foi de 47,8 fêmeas/fêmea/dia. Os parâmetros biológicos de *P. xylostella* demonstraram que o baixo desempenho em algumas características nas primeiras gerações pode ser melhorado ao longo das gerações, indicando rápida adaptação do inseto em condições de laboratório.

**Palavras-chave:** Parâmetros biológicos. Criação massal. Traça-das-crucíferas. Tabela de vida de fertilidade.

**ABSTRACT** – Plants of the Brassicaceae family are part of food chain around the world. The diamondback moth, *Plutella xylostella*, is one of the main limiting factors of this crop in the world, due to the serious damage that causes to plants, damaging the product and causing serious reductions in the field production. Therefore, the knowledge of the development of this insect is important so that changes in biological characteristics can be estimate. The aim of this study was to evaluate changes in the biology of wild insects when reared in laboratory over five generations, and compared to those maintained in over 190 generations in laboratory. Larvae collected from *Brassica oleracea* var. *italica* - broccoli Piracicaba, were kept in *Brassica oleracea* var. *acephala* - kale Manteiga híbrida HS-20, and compared to a population already established in this host for many generations of under laboratory conditions. The biological aspects of wild insect generations were evaluated in laboratory trials. The biological parameters evaluated were: larval period, larval viability, pupal period, pupal viability, pupal weight, sex ratio, number of eggs per female, eggs fertility, longevity of males and females. The data were used to construction of life table fertility. The individuals collected in the field showed 8.2 days of larval period and 3.8 days of pupal period, decreasing over generations. The pupal viability of 86.9% and 93.0% of fertility were also high in this population, with low pupal weight 4.7 mg. In

addition, the low net rate of population increase ( $R_0$ ) with 39 females / female / day, whereas in *P. xylostella* population from the laboratory it was 47.8 females / female / day. The biological parameters of *P. xylostella* showed that the poor performance in the first generations can be improved over the generations, indicating rapid adaptation of insect in laboratory conditions.

**Key words:** Biological parameters. Mass rearing. Diamondback moth. Fertility life table.

## 1. INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é uma praga amplamente distribuída nas áreas de cultivo de Brassicaceae causando graves perdas às culturas. Os custos anuais envolvendo o manejo para esta praga em crucíferas foram entre US \$ 1,3 bilhão e US \$ 2,3 bilhões. No entanto, se as perdas causadas pela praga forem incluídas, as estimativas de custos podem chegar entre US \$ 4 bilhões a US \$ 5 bilhões (ZALUCKI *et al.*, 2012). O método de controle químico é a principal tática para reduzir populações da praga em crucíferas (CASTELO BRANCO *et al.*, 2003; DE BORTOLI *et al.*, 2013).

No entanto, o uso indiscriminado de inseticidas, a ocorrência de múltiplas gerações de *P. xylostella* por ano, e a disponibilidade de plantas hospedeiras durante todo o ano tem contribuído para a evolução de resistência dessa praga à maior parte dos inseticidas comercialmente disponíveis (CASTELO BRANCO; MEDEIROS, 2001; DE BORTOLI *et al.*, 2013; LIN *et al.*, 2013), incluindo novos compostos, como a classe química das diamidas antranílicas (WANG; WU, 2012).

Dentro deste contexto, fica explícita a necessidade de se adotar técnicas e táticas mais eficientes para o controle desta praga. Assim, para a condução de novas pesquisas, que possam

melhorar, por exemplo, o manejo da praga em campo, criações de *P. xylostella* são necessárias em laboratório, visando à obtenção de indivíduos para bioensaios.

O desenvolvimento do inseto está de uma maneira ou de outra, inserido no contexto nutricional (SCRIBER; SLANSKY JUNIOR, 1981). A qualidade do alimento influi principalmente no ciclo biológico do inseto, devido a sua composição em carboidratos, proteínas e vitaminas, principalmente podendo interferir na longevidade, velocidade de desenvolvimento e fecundidade dos insetos (SILVEIRA NETO *et al.*, 1976).

Segundo Gullan & Cranston (2008), populações de insetos mantidas por longos períodos em condições de laboratório passam com frequência por aclimação às condições constantes ou mesmo por mudanças genéticas, em resposta ao ambiente alterado. Assim, Veiga *et al.* (2010) relatam que os insetos que estão a várias gerações em laboratório podem ter a biologia afetada em comparação a indivíduos da mesma espécie em populações "selvagens" (de campo).

Nesse sentido, a introdução periódica de indivíduos do campo é importante para obtenção de insetos de boa qualidade, evitando assim problemas com a deriva genética, ocasionado pelo contínuo cruzamento entre parentes, não comprometendo a criação massal em laboratório (SILVEIRA NETO *et al.*, 1976).

O conhecimento da biologia de populações de *P. xylostella* em diferentes hospedeiros é importante para que se possam determinar aqueles menos propícios para o desenvolvimento e reprodução do inseto (THULER; DE BORTOLI; HOFFMANN-CAMPO, 2007; BADENES-PEREZ; REICHEL; HECKEL, 2010).

O desenvolvimento e reprodução de *P. xylostella* em relação a diferentes brassicáceas apresentou diferenças significativas após uma geração (DE BORTOLI *et al.*, 2011), sendo necessários estudos com a praga após várias gerações, com o objetivo de analisar se o substrato



de alimentação realmente influencia a biologia do inseto. Estudos anteriores mostraram que *P. xylostella* criada com folhas de couve em laboratório por várias gerações, quando submetida por uma geração em folhas de outra variedade de brassicácea, como repolho, apresentou reduções significativas em suas características biológicas (DE BORTOLI *et al.*, 2011; DE BORTOLI *et al.*, 2013).

Porém, não existem estudos que confirmem se há alterações ou não nas características biológicas de indivíduos de *P. xylostella* coletados em campo em um hospedeiro (brócolis), quando levadas para o laboratório e criadas em outro hospedeiro (couve), ao longo de gerações.

Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar mudanças na biologia de insetos selvagens quando criados em laboratório ao longo de cinco gerações, em comparação com insetos mantidos por mais de 190 gerações em laboratório.

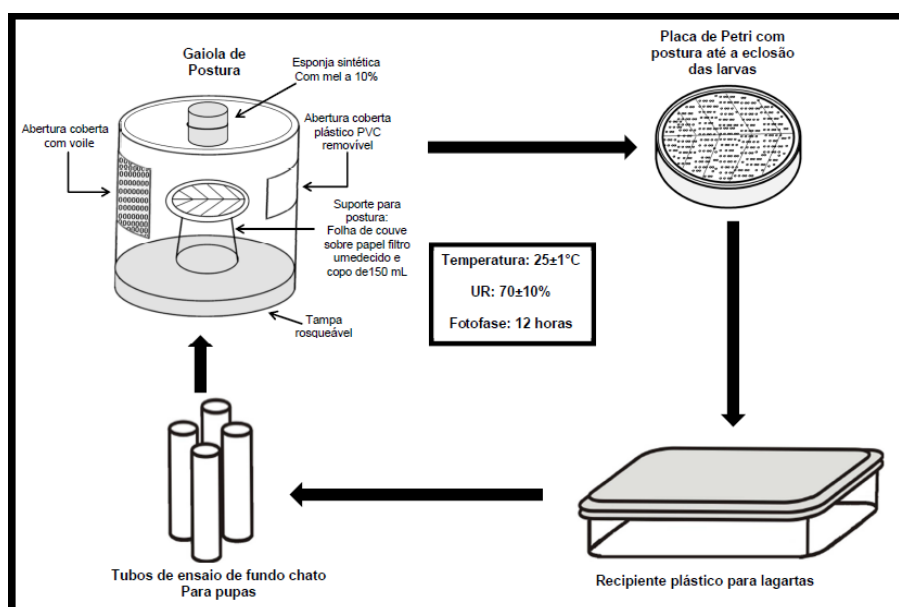
## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Obtenção das plantas e dos insetos

A produção das brassicáceas foi conduzida em área experimental e em casas de vegetação e os bioensaios no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Fitossanidade, UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP.

Para manutenção da população de *P. xylostella* no LBCI utilizou-se *Brassica oleracea* var. *acephala* - couve Manteiga híbrida HS-20, produzida em área experimental da FCAV/UNESP, devidamente corrigida em pH e fertilidade, com os tratos culturais convencionais e irrigada por gotejamento.

As linhagens de *P. xylostella* foram conduzidas em sala climatizada (temperatura  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotofase 12 horas e UR de  $70 \pm 10\%$ ), seguindo a metodologia adaptada de Thuler (2009) (Figura 1). A criação dos insetos obtidos em campo foi iniciada com cerca de 1500 pupas acondicionadas em tubos de ensaios de fundo chato de 8 cm x 2 cm, cada um contendo 40 pupas. Essas pupas foram coletadas nos dias 03, 04 e 05/01/2015, em plantios de brócolis (~ 90 dias de idade), infestados naturalmente, localizados na fazenda Santo Antônio, no município de Vista Alegre do Alto, estado de São Paulo, Brasil (S =  $21^\circ09'618''$  e WO =  $48^\circ36'845''$ , com altitude de 590 m).



**Figura 1.** Esquema da criação *Plutella xylostella* (adaptado de THULER, 2009).

## 2.2. Bioensaios com *Plutella xylostella*

Os bioensaios consistiram na avaliação de características biológicas de duas linhagens de *P. xylostella*, uma proveniente do campo, com histórico de ocorrência da praga durante dez anos em plantios sucessivos de brócolis e mantida por cinco gerações em couve, e outra proveniente da

criação de laboratório, avaliada por uma geração, mas que são mantidas com folhas de couve a mais de 190 gerações.

Deste modo, a realização do experimento foi com larvas de *P. xylostella* de primeiro ínstar, provenientes da linhagem de laboratório, ou provenientes da linhagem de campo.

Os bioensaios foram conduzidos a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $80 \pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

As duas populações de *P. xylostella* passaram a ser conduzidas utilizando-se folhas de couve como alimento para as larvas e substrato de oviposição para os adultos. Os substratos de alimentação e de postura foram padronizados conforme classificação de Moreira (2011), sendo utilizadas folhas maduras.

Nos bioensaios, a linhagem coletada no campo foi avaliada até a quinta geração, com exceção da quarta por não se ter indivíduos suficientes, enquanto que a linhagem padronizada mantida em laboratório, apenas por uma geração, sendo avaliadas as características biológicas das fases de ovo, larva, pupa e adulto.

Para avaliação do período larval das duas populações foram utilizadas vinte repetições, representadas por placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo um disco de folha de couve de 8 cm de diâmetro, sobre papel filtro levemente umedecido com água destilada. Sobre os discos foram colocadas dez larvas de 1º ínstar, recém-eclodidas. As placas foram fechadas e vedadas com filme plástico (PVC), para manter a umidade e evitar a fuga dos insetos. Cada placa de Petri foi considerada uma repetição. As avaliações iniciaram-se com a observação das larvas até a fase de pupa. A manutenção foi realizada diariamente com a substituição do disco foliar e o acompanhamento do desenvolvimento das larvas até a formação das pupas. Nesta etapa foram avaliados a viabilidade larval e o período larval.

Posteriormente, as pupas foram pesadas e individualizadas nas células de placas ELISA<sup>®</sup>, poço com fundo redondo, que também foram vedadas com filme plástico (PVC) contendo vários furos de estilete para melhorar a aeração interna, sendo observadas até a emergência dos adultos. Nesta etapa determinou-se o peso das pupas, viabilidade de pupas, período pupal e razão sexual.

Os adultos recém-emergidos foram retirados dos poços por meio de um sugador de insetos, separados por sexo e transferidos para gaiolas de plástico transparente de 13 cm de diâmetro e 15 cm de altura. No interior da gaiola foi colocado um copo plástico transparente (100 mL) fixado com a abertura para baixo, servindo de apoio para o disco foliar (substrato de oviposição). Foi utilizado disco de folha de couve de 8 cm de diâmetro, colocado sobre um disco de papel filtro do mesmo tamanho, levemente umedecido com água destilada.

A tampa da gaiola foi provida de uma pequena abertura de 8 mm de diâmetro para fixação de uma esponja com solução aquosa de mel a 10% para alimentação dos adultos e outra abertura de 5 cm de diâmetro, coberta com tecido voile, para melhorar a aeração no interior da gaiola. Foram observadas cinco repetições (gaiolas), por linhagem, em cada geração, contendo 2 casais por gaiola.

As avaliações foram realizadas a cada 24 h, sendo repostas a solução de mel, substituídos os discos foliares, contados os ovos e determinada a longevidade dos adultos. Nos primeiros dias foram retirados 100 ovos de cada tratamento para avaliação da viabilidade. Com o auxílio de um pincel, os ovos foram individualizados e colados com água em cartelas quadriculadas com células de 8 mm. As cartelas com os ovos foram colocadas sobre papel filtro levemente umedecido com água destilada, no interior de placas de Petri de 14,5 cm de diâmetro, vedadas com filme plástico (PVC) para manter a umidade e evitar a fuga dos insetos. No 3º e 4º dia foi realizada a contagem

das larvas eclodidas. Nesta etapa foi registrado o número de ovos por fêmea, longevidade de machos e fêmeas e fertilidade dos ovos (viabilidade).

A observação da fertilidade foi realizada com ovos obtidos até o terceiro dia de oviposição, devido ao número de ovos por fêmea e a viabilidade diminuírem significativamente após o 3º dia (VEIGA *et al.*, 2010).

Os dados biológicos encontrados permitiram determinar os parâmetros necessários para a construção da tabela de vida de fertilidade, segundo Birch (1948), Silveira Neto *et al.* (1976), Southwood (1978) e Price (1984), onde:  $x$  = ponto médio de cada idade das fêmeas parentais, idade essa considerada desde a fase de ovo;  $lx$  = expectativa de vida até a idade  $x$  (fração de uma fêmea);  $mx$  = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade  $x$  e que originarão fêmeas;  $lx.mx$  = número total de fêmeas nascidas na idade  $x$ . Com os parâmetros de crescimento populacional resultantes da tabela de vida, foram calculados os valores de  $R_0$  = taxa líquida, ou seja, a taxa de aumento populacional, considerando fêmeas de uma geração para outra, ou ainda, o número de fêmeas geradas por fêmea parental por geração;  $T$  = tempo médio de geração ou duração média de uma geração;  $r_m$  = capacidade inata de aumentar em número ou taxa intrínseca de aumento;  $\lambda$  = razão finita de aumento (número de vezes que a população multiplica em uma unidade de tempo). Determinou-se também TD (tempo necessário para a população duplicar em número), segundo Krebs (1994).

### **2.3. Análise de dados**

Os dados das características biológicas de *P. xylostella* das diferentes linhagens e gerações foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett para verificar a normalidade e homogeneidade da variância, respectivamente, sendo posteriormente realizada a análise de

variância (ANOVA). Quando verificada diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando o software SAS versão 9.0 (SAS INSTITUTE, 2002).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa entre a duração larval da linhagem de laboratório com a primeira e a quinta geração da linhagem de campo, sendo 7,7; 8,2 e 7,6 dias, respectivamente. Porém, na linhagem de campo houve diferença significativa entre gerações, sendo maior a duração larval na segunda e na terceira, respectivamente 8,7 e 8,7 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Duração e sobrevivência larval das linhagens de campo e laboratório de *Plutella xylostella* ao longo de gerações.

Linhagens	Duração larval (dias)	Sobrevivência larval (%)
Laboratório	7,7 ± 0,14 b <sup>1</sup>	51,0 ± 4,16 a
Campo/1ª geração	8,2 ± 0,15 ab	51,7 ± 5,54 a
Campo/2ª geração	8,7 ± 0,16 a	52,9 ± 5,73 a
Campo/3ª geração	8,7 ± 0,23 a	28,5 ± 3,92 b
Campo/5ª geração	7,6 ± 0,14 b	45,8 ± 5,25 ab

<sup>1</sup> Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P < 0,05).

A linhagem de *P. xylostella* coletada em brócolis, em campo, e mantida em couve, em laboratório, apresentou maior duração do período larval na segunda e na terceira geração, podendo ter ocorrido devido à necessidade de adaptação da população parental. Dibelli (2014)

constatou que, na média de 18 gerações, o período larval de *P. xylostella* em diferentes cultivares (couve, brócolis e repolho), variou com a geração do herbívoro e o seu hospedeiro, apresentando o inseto melhores desempenhos em couve.

A sobrevivência das larvas não diferiu significativamente entre as linhagens de laboratório e campo, com 51,0 e 51,7% de viabilidade. A linhagem do campo apresentou menor viabilidade larval na terceira geração, com 28,5%. Na primeira, segunda e quinta gerações não ocorreram diferenças significativas (Tabela 1).

Em relação à viabilidade larval, Dibelli (2014) observou que a viabilidade média das larvas não diferiu entre as cultivares testadas (couve, brócolis e repolho), assim como no presente trabalho onde não se verificou diferença entre as linhagens estudadas. Relatou também aquele autor que na 6ª geração no repolho e na couve ocorreram as maiores viabilidades de larvas, sendo que, provavelmente em brócolis, a viabilidade larval tenha sido afetada pela adaptação da linhagem parental criada em laboratório por várias gerações em um substrato diferente. Este fato pode justificar o ocorrido na presente pesquisa com a linhagem de campo, que foi coletada em brócolis, e mantida em couve, onde a viabilidade foi prejudicada na terceira geração.

No que diz respeito às características biológicas das pupas (Tabela 2), a duração pupal diferiu significativamente na primeira geração, sendo 3,2 dias para a linhagem de laboratório e 3,8 dias para a linhagem de campo. Para a linhagem de campo, a duração pupal foi maior na segunda geração, sendo 4,5 dias, seguida da primeira e terceira com durações médias de 3,8 e 3,9 dias, respectivamente, com menor período pupal na quinta geração (3,0 dias), não diferindo da linhagem de laboratório.

Tabela 2. Parâmetros biológicos da fase pupal das linhagens de laboratório e de campo de *Plutella xylostella* ao longo de gerações.

Linhagens	Duração pupal (dias)	Sobrevivência pupal (%)	Peso de pupas (mg)
Laboratório	3,2 ± 0,10 c <sup>1</sup>	73,5 ± 5,37 b	5,3 ± 0,17 a
Campo/1 <sup>a</sup> geração	3,8 ± 0,10 b	86,9 ± 3,74 a	4,7 ± 0,14 b
Campo/2 <sup>a</sup> geração	4,5 ± 0,08 a	86,0 ± 3,41 a	4,5 ± 0,12 b
Campo/3 <sup>a</sup> geração	3,9 ± 0,13 b	79,7 ± 5,07 a	4,3 ± 0,17 b
Campo/5 <sup>a</sup> geração	3,0 ± 0,07 c	77,1 ± 4,80 a	5,3 ± 0,18 a

<sup>1</sup> Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P < 0,05).

A viabilidade pupal foi menor na linhagem de laboratório (73,5%), enquanto que na de campo foi de 86,9% na primeira geração. A linhagem de campo não apresentou diferença significativa na viabilidade pupal ao longo das gerações (Tabela 2).

As pupas da linhagem do laboratório tiveram média de peso de 5,3 mg, diferenciando da de campo, com 4,7; 4,5 e 4,3 mg, na primeira, segunda e terceira gerações, respectivamente. As pupas da quinta geração da linhagem de campo foram mais pesadas com 5,3 mg (Tabela 2).

A duração da fase de pupa foi menor na linhagem de laboratório em relação à do campo na primeira geração. Machado *et al.* (2014) verificaram que a duração da fase de pupa dos insetos sofrem influência do alimento oferecido e, obviamente, ingerido pelo inseto, fato este que evidencia a possibilidade de que a troca de hospedeiros possa causar efeitos negativos nos parâmetros biológicos. Isso foi observado neste trabalho, onde as primeiras gerações de *P. xylostella* são afetadas, sendo a terceira a mais influenciada, o que não foi observado na quinta geração.



A viabilidade pupal média mostrou diferença significativa entre os tratamentos, destacando-se a linhagem de *P. xylostella* proveniente do campo com a maior taxa de sobrevivência (Tabela 2). Resultados diferentes foram relatados por Veiga *et al.* (2010), onde a viabilidade pupal e o peso das pupas não diferiram entre linhagens de *P. xylostella*. A baixa viabilidade pupal na linhagem de laboratório pode ser especulada em função dos cruzamentos cosanguíneos que, segundo De Bortoli & Ferreira (2008) pode até inviabilizar uma produção massal de insetos.

Quanto ao período pupal e ao peso das pupas, existe correlação entre o menor peso e o maior período pupal. Resultados semelhantes foram encontrados por Chagas Filho, Boiça Júnior e Alonso (2010) que observaram que pupas de *P. xylostella* com os menores pesos resultaram em maiores períodos pupais em criações com cultivares de couve-flor, em duas gerações sucessivas.

O peso médio das pupas da linhagem de *P. xylostella* proveniente do campo foi menor na primeira geração, aumentando na quinta (Tabela 2); estes resultados podem ser consequência do tempo para condicionamento a um novo hospedeiro e condições abióticas do laboratório, como relatado por Veiga *et al.* (2010).

A longevidade das fêmeas e o número de ovos por fêmea não apresentaram diferença significativa entre as linhagens e as gerações (Tabela 3). Porém a longevidade dos machos e a fertilidade dos ovos diferiram significativamente, sendo maior a longevidade na terceira geração da linhagem de campo (26,0 dias) e menor na geração proveniente do laboratório (14,4 dias) (Tabela 3), que também apresentou menor fertilidade, 77%, contra 93%, da linhagem de campo.

Tabela 3. Longevidade e número de ovos por fêmea de duas linhagens de *Plutella xylostella*.

Linhagens	Longevidade fêmeas (dias)	Longevidade machos (dias)	Ovos/fêmea
Laboratório	11,9 ± 0,73 a <sup>1</sup>	14,4 ± 1,23 b	205,0 ± 9,28 a
Campo/1ª geração	17,0 ± 2,91 a	18,6 ± 4,28 ab	212,6 ± 15,36 a
Campo/2ª geração	15,0 ± 1,04 a	21,7 ± 0,81 ab	222,7 ± 8,24 a
Campo/3ª geração	14,9 ± 3,81 a	26,0 ± 2,08 a	153,0 ± 35,54 a
Campo/5ª geração	12,5 ± 0,82 a	17,1 ± 1,54 ab	210,9 ± 21,32 a

<sup>1</sup> Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P < 0,05).

As linhagens de *P. xylostella* provenientes do campo ou do laboratório, mantidas em couve por gerações, não interferiram na longevidade das fêmeas e na fecundidade dos ovos (Tabela 3), resultados que corroboram os obtidos por Dibelli (2014) em *P. xylostella* em diferentes hospedeiros (couve, brócolis e repolho), com longevidade média das fêmeas e número médio de ovos por fêmea em 18 gerações que não apresentaram diferença, apresentando apenas diferenças pontuais nas gerações. Resultados semelhantes são citados por Veiga *et al.* (2010) com duas linhagens de *P. xylostella*, uma de campo e outra de laboratório, por três gerações sucessivas em couve, bem como por Chagas Filho, Boiça Júnior e Alonso (2010) em duas gerações sucessivas de *P. xylostella* com cultivares de couve-flor.

Em linhas gerais, a couve foi o hospedeiro adequado para o desenvolvimento de *P. xylostella*, apesar da variação de alguns parâmetros biológicos. Neste sentido, a linhagem de laboratório teve melhor desempenho em couve, mas apresentaram menor fertilidade dos ovos e menor sobrevivência de pupas na primeira geração. Provavelmente a causa dessas diferenças

sejam relacionadas à problemas gerados pela consanguinidade, que segundo Veiga *et al.* (2010), pode ser um fator limitante nas criações massais, comprometendo a qualidade da colônia.

A comparação do desempenho das duas linhagens de *P. xylostella*, mediante a análise pela tabela de vida de fertilidade, ao longo das gerações, mostrou alguns resultados diferentes, sendo as médias dos parâmetros estimados apresentados na Tabela 4.

A linhagem de laboratório apresentou maior valor para a taxa líquida de aumento populacional ( $R_0$ ), onde indivíduos da linhagem de laboratório produziram 47,8 descendentes fêmeas por fêmea, diferindo da de campo, com 43,8 descendentes fêmeas na segunda geração; 39,6 na primeira; 33,7 na quinta. A terceira geração apresentou o pior desempenho para a taxa líquida de aumento populacional ( $R_0$ ), com 15,7 descendentes fêmeas por fêmea na primeira geração.

A taxa intrínseca de crescimento populacional ( $r_m$ ) que é, segundo Birch (1948), o parâmetro mais importante para estimar o sucesso de uma espécie submetida a um determinado ambiente, mostrou que as linhagens não apresentaram diferenças significativas neste parâmetro para a primeira geração da linhagem de campo e a de laboratório, 0,311 e 0,305, respectivamente. No entanto, para a segunda e quinta gerações ocorreram quedas na taxa intrínseca de crescimento na linhagem proveniente do campo, com 0,265 e 0,268 fêmeas/fêmea/dia, respectivamente, sendo o menor valor encontrado na terceira (0,195 fêmeas/fêmea/dia).

A razão finita de aumento ( $\lambda$ ), ou seja, a razão de crescimento real do inseto representada pelo número de fêmeas produzidas por fêmea por dia, foi semelhante na geração de laboratório e primeira de campo, tendo razões de crescimento real de 1,365 e 1,356 fêmeas/fêmea/dia, respectivamente. A segunda e a quinta gerações dos insetos de campo os valores para esse parâmetro foram semelhantes, sendo, 1,304 e 1,307 fêmeas/fêmea/dia, respectivamente. A menor

razão de crescimento real ocorreu na linhagem de campo, terceira geração, com 1,215 fêmeas/fêmea/dia.

No parâmetro tempo de uma geração (T), que indica o intervalo de tempo entre cada geração as linhagens de laboratório e primeira de campo não apresentam diferença significativa, sendo 12,1 e 12,4 dias, respectivamente. Na linhagem de campo, a segunda e a terceira gerações apresentaram os maiores valores de (T), sendo 14,2 dias para ambas, diferindo da quinta geração, com duração de 13,1 dias.

Quanto ao tempo para a população duplicar em número ( $T_d$ ), os resultados demonstram que os insetos provenientes da primeira geração da linhagem do campo e a do laboratório apresentaram os menores valores, sendo 2,2 e 2,3 dias. Nos insetos do campo, a segunda e a quinta gerações mostraram valores intermediários, 2,6 dias para ambas, enquanto que na terceira esse período foi de 3,5 dias.

Nesse sentido, os insetos levam um determinado tempo para adaptarem-se a uma nova dieta e, segundo Parra (2001), pode demorar até cinco gerações para que ocorra adaptação total. No presente estudo, onde a linhagem de campo foi coletada em plantas de brócolis, sendo posteriormente criada por cinco gerações em couve, em condições ambientais controladas de laboratório, pode justificar as alterações em alguns parâmetros ao longo das gerações.

A linhagem de *P. xylostella* proveniente do campo, coletada em brócolis e mantida em couve, apresentou menor taxa líquida de aumento populacional em comparação com a linhagem de laboratório mantida ao longo de muitas gerações em couve, podendo essa diferença ser explicada pelo período necessário à adaptação a nova dieta e também pela variação nutricional recorrente da mudança de hospedeiro.

Tabela 4. Parâmetros de tabela de vida de fertilidade de linhagem de laboratório e de campo de *Plutella xylostella* em diferentes gerações do inseto.

Parâmetros	Linhagens e gerações				
	Laboratório	Campo/1ª geração	Campo/2ª geração	Campo/3ª geração	Campo/5ª geração
$R_0$	$47,8 \pm 3,35$ a <sup>1</sup> (44,47 – 51,18)	$39,6 \pm 1,78$ c (37,78 – 41,34)	$43,8 \pm 1,36$ b (42,45 – 45,17)	$15,7 \pm 6,35$ e (9,32 – 22,01)	$33,7 \pm 5,57$ d (28,15 – 39,28)
$r_m$	$0,311 \pm 0,0104$ a (0,3008 – 0,3217)	$0,305 \pm 0,0136$ a (0,2912 – 0,3184)	$0,265 \pm 0,0040$ b (0,2612 – 0,2692)	$0,195 \pm 0,0238$ c (0,171 – 0,1948)	$0,268 \pm 0,0212$ b (0,2464 – 0,2888)
$\Lambda$	$1,365 \pm 0,0143$ a (1,3509 – 1,3794)	$1,356 \pm 0,0184$ a (1,3379 – 1,3747)	$1,304 \pm 0,0052$ b (1,2984 – 1,3088)	$1,215 \pm 0,0289$ c (1,1861 – 1,2150)	$1,307 \pm 0,0277$ b (1,2791 – 1,3345)
T	$12,4 \pm 0,29$ c (12,13 – 12,72)	$12,1 \pm 0,57$ c (11,49 – 12,63)	$14,2 \pm 0,19$ a (14,07 – 14,44)	$14,2 \pm 0,67$ a (13,54 – 14,88)	$13,1 \pm 0,66$ b (12,48 – 13,80)
TD	$2,2 \pm 0,07$ c (2,15 – 2,30)	$2,3 \pm 0,10$ c (2,17 – 2,37)	$2,6 \pm 0,04$ b (2,57 – 2,65)	$3,5 \pm 0,43$ a (3,11 – 3,98)	$2,6 \pm 0,20$ b (2,38 – 2,79)

<sup>1</sup>Médias  $\pm$  IC seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo método de Jackknife de comparação aos pares ( $P > 0,05$ );  $R_0 = \sum(l_x \cdot m_x)$  número de descendentes por fêmea por geração, quando  $l_x$  = proporção de fêmeas acasaladas na idade  $x$  e  $m_x$  = ovos produzidos pela fêmea na idade  $x$  pela razão sexual (razão sexual do tratamento laboratório = 0,44; campo/1ª geração = 0,47; campo/2ª geração = 0,55; campo/3ª geração = 0,36 e campo/5ª geração = 0,37);  $T = \sum(x \cdot l_x \cdot m_x) / \sum(l_x \cdot m_x)$ ;  $r_m = \ln.R_0/T$ ;  $\lambda = e^{r_m}$ .

Estudos realizados por Ramalho *et al.* (2014) evidenciam que linhagens de *P. xylostella* mantidas em brócolis ao longo de 18 gerações apresentaram maior taxa de crescimento populacional em comparação com couve e repolho. Nakayama (2013), comparando a quantidade de proteína contida nas hortaliças, constatou que brócolis é mais rico do que couve, sendo a quantidade de proteínas de 3,3 g e 1,4g, respectivamente para brócolis e couve. Zucoloto (2000) afirmou que a concentração de proteínas pode trazer vantagens em relação ao desenvolvimento dos insetos adultos, principalmente influenciando os aspectos reprodutivos. Nesse sentido, essas observações podem justificar as diferenças encontradas para as duas linhagens (laboratório e campo) e nas diferentes gerações.

Os parâmetros: taxa intrínseca de crescimento populacional ( $r_m$ ); razão finita de aumento ( $\lambda$ ); intervalo de tempo entre cada geração (T) e tempo para a população duplicar em número ( $T_d$ ) não diferiram entre as linhagens de *P. xylostella* provenientes do campo ou do laboratório na

primeira geração, mas diferiram na segunda, terceira e quinta gerações na linhagem do campo, comprovando a necessidade de se adaptar ao novo hospedeiro, sendo necessárias pelo menos cinco gerações para que ocorra uma adaptação, como citado por Parra (2001).

Assim, o presente estudo, que observou a possibilidade ou não da adaptação de uma linhagem "selvagem" de *P. xylostella* criada em brócolis passar a ser mantida em couve e se adaptar a esse novo hospedeiro, visando contribuir no entendimento do comportamento de *P. xylostella*, haja vista que este é um estudo que considera seu comportamento ao longo de algumas gerações, mostrando ser ele variável, necessitando ainda de pesquisas para que se possam compreender definitivamente essas diferenças.

Apesar das diferenças entre os parâmetros biológicos serem insuficientes para mostrar algum tipo de condicionamento, a adaptação pode ter ocorrido com a mudança de hospedeiro com a necessidade de futuros trabalhos com testes de preferência alimentar e de oviposição para melhor compreensão do comportamento da praga.

#### 4. CONCLUSÃO

Os parâmetros biológicos de *P. xylostella* demonstraram que o baixo desempenho em algumas características nas primeiras gerações pode ser melhorado ao longo das gerações, indicando rápida adaptação do inseto em condições de laboratório.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BADENES-PEREZ, F. R.; REICHEL, M.; HECKEL, D. G. Can sulfur fertilization improve the effectiveness of trap crops for diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management Science**, Sussex, v. 66, n. 8, p. 832-838, 2010.
- BIRCH, L. C. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 17, n. 1, p. 15-26, 1948.
- CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; PONTES, L. A.; AMARAL, P. S. T. Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.
- CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. Impact of insecticides on diamondback moth parasitoids on cabbage fields in the Federal District of Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, p. 7-13, 2001.
- CHAGAS FILHO, N. R.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; ALONSO, T. F. Biologia de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em cultivares de couve-flor. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 253-259, 2010.
- DE BORTOLI, S. A.; FERREIRA, R. J. Consumo e ganho de peso de larvas de *Chrysoperla externa* (HAGEN, 1861) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) de diferentes populações e gerações. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, Madrid, v. 34, p. 167-176, 2008.
- DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; DUARTE, R. T. *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: SOLONESKI, S., LARRAMENDY, M. (Eds.). **Weed and pest control** - conventional and new challenges. Rijeka: InTech, p. 31-51, 2013.

DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; GOULART, R. M.; SANTOS, R. F.; VOLPE, H. X. L.; FERRAUDO, A. S. Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas para diferentes brassicáceas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 187-192, 2011.

DIBELLI, W. **Desenvolvimento de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em Brassicaceae ao longo de gerações**. 2014. 81 f. Dissertação (Mestrado Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. Desenvolvimento e ciclo de vida dos insetos. **Os insetos: um resumo de entomologia**. São Paulo: Rocca, p. 124-149, 2008.

KREBS, C. J. **Ecology: The experimental analysis of distribution and abundance**. New York: Harper & Row, 1994. 801p.

LIN, Q.; JIN, F.; HU, Z.; CHEN, H.; YIN, F.; LI, Z.; DONG, X.; ZHANG, D.; REN, S.; FENG, X. Transcriptome analysis of chlorontraniliprole resistance development in the diamondback moth *Plutella xylostella*. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 8, p. e 72314, 2013.

MACHADO, K. K. G.; LEMOS, R. N. S.; MEDEIROS, F. R. Biologia comparada de populações da lagarta do cartucho em folhas de milho e mandioca. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 4, p. 234-239, 2014.

MOREIRA, L. F. **Preferência e performance de *Plutella Xylostella* em relação às características bromatológicas e idade foliar de brassicáceas**. 2011. 61 f. Tese de Doutorado (Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

NAKAYAMA, V. L. T. A importância das hortaliças na alimentação humana. In: BEVILACQUA, H. E. C. R. (Ed.). Classificação das hortaliças. **Manual Horta**. Prefeitura do Estado de São Paulo. 2013. Disponível em: <http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias>



/upload/02manualhorta\_1253891788.pdf. Acesso em: 12 jan 2016.

PARRA, J. R. P. Técnicas de criações de insetos para programas de controle biológico. Piracicaba: Fealq, 2001. 134p.

PRICE, P. W. **Insect ecology**. New York: John Willey, 1984. 607p.

RAMALHO, D. G. **Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), para diferentes brassicáceas ao longo de gerações**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras – USP, Ribeirão Preto, 2014.

SAS INSTITUTE, 2002. **SAS/STAT User`s Guide, version 9.00 TS level 2MO**. SAS Institute Inc., Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

SCRIBER, J. M.; SLANKY JUNIOR, F. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 26, p. 183-211, 1981.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILANOVA, N. A. **Manual de Ecologia de Insetos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 419p. 1976.

SOUTHWOOD, T. R. E. **Ecological methods**. London: Chapman and Hall, 1978. 524p.

THULER, R. T. Criação de *Plutella xylostella*. In: DE BORTOLI, S. A. (Ed.). **Criação de insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal: Edição própria, p. 58-68, 2009.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 467-474, 2007.

VEIGA, A. C. P.; VIANA, C. L. T. P.; PEDROSO, E. C.; OTUKA, A. K.; VIANA, M. A.; LAURENTIS, V. L.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A. Biologia comparada de duas

populações de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom), p. 773-778, 2010.

WANG, X; WU, Y. High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 3, p. 1019-1023, 2012.

ZALUCKI, M. P.; SHABBIR, A.; SILVA, R.; ADAMSON, D.; SHU-SHENG, L.; FURLONG, M. J. Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera:Plutellidae): just how long is a piece of string? **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 3, p. 1115–1129, 2012.

ZUCOLOTO, F. S. Alimentação e nutrição de Mosca-das-frutas. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 67-80, 2000.

**CAPÍTULO 3 - INTEGRAÇÃO DE BIOINSETICIDAS A BASE DE *Bacillus thuringiensis*  
E DO PREDADOR *Podisus nigrispinus* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) PARA O  
CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM AMBIENTE  
PROTEGIDO**

INTEGRATION OF *Bacillus thuringiensis* BASED BIOPESTICIDES AND THE PREDATOR  
*Podisus nigrispinus* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) FOR CONTROL *Plutella xylostella*  
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) IN A PROTECTED ENVIRONMENT

**RESUMO** – O objetivo deste trabalho foi avaliar se bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (isolado HD1 e o produto comercial Agree<sup>®</sup>) aplicados em plantas de couve para o controle de *Plutella xylostella* podem de alguma forma afetar o predador não-alvo *Podisus nigrispinus* em ambiente protegido. Assim, foi avaliada a história de vida do predador consumindo lagartas de *P. xylostella* em plantas de couve tratadas e também sua atividade de fitofagia nestas plantas, em casa-de-vegetação. As características biológicas dos predadores, de modo geral, não sofreram alterações quando os predadores consumiram presas diretamente em plantas de couve tratadas com os bioinseticidas. Além disso, a fitofagia foi semelhante indicando que os bioinseticidas utilizados, mesmo o produto formulado, não apresentam substâncias que são repelentes para os predadores. Os resultados permitiram concluir que o isolado HD1 ou do produto comercial Agree<sup>®</sup> a base de *B. thuringiensis* podem ser utilizados em associação com o predador *P. nigrispinus* em ambiente protegido visando o controle de *P. xylostella*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Asopinae. Predador. Controle biológico. Biologia de inseto. Controle microbiano. Bactéria entomopatogênica.

**ABSTRACT** – The aim this research was to assess whether the biopesticides of *Bacillus thuringiensis* (isolated HD1 and commercial product Agree®) applied in kale plants to control of *Plutella xylostella* can somehow affect the nontarget predator *Podisus nigrispinus* in a protected environment. Thus, the life history and the phythophagy activity of the predator consuming *P. xylostella* larvae in treated kale plants was, in green house evaluated. The biological characteristics of predators generally did not change when the predators consumed prey directly on kale plants treated with biopesticides. Furthermore, phythophagy was similar indicating that when biopesticides were used, even did not show have substances which were repellent to predators. The results showed that the HD1 strain or the commercial product Agree® based on *B. thuringiensis* can be used in combination with the predator *P. nigrispinus* in a protected environment to control of *P. xylostella*.

**Key words:** Asopinae, predator, biological insects, biological control, microbial control, entomopathogenic bacteria.

## 1. INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada praga-chave em algumas espécies da família Brassicaceae (CASTELO BRANCO; GATEHOUSE, 2001). Originária do continente europeu é uma espécie considerada cosmopolita (MONNERAT; BRAVO, 2000). Pode causar sérios danos a estas plantas por ser minadora no primeiro ínstar e desfolhadora nos demais (MELO *et al.*, 1994; ZALUCKI; FURLONG, 2011).

O uso sucessivo e indiscriminado de inseticidas para controle de *P. xylostella* tem contribuído para a evolução da resistência à maior parte dos inseticidas comercialmente

disponíveis (CASTELO BRANCO; GATEHOUSE, 2001; DE BORTOLI *et al.*, 2013; LIN *et al.*, 2013), incluindo novos compostos, como aqueles da classe química das diamidas antranílicas (WANG; WU, 2012). Hoje já existem relatos de resistência a mais de 80 ingredientes ativos de inseticidas ou bioinseticidas comercializados (IRAC-BR, 2016).

O alto potencial biótico e o curto ciclo de vida de *P. xylostella*, cuja população pode aumentar até 60 vezes de uma geração para outra (CASTELO BRANCO; MEDEIROS, 2001; VACARI *et al.*, 2008), evidencia a necessidade de se adotar técnicas e táticas mais eficientes para o seu controle.

Os entomopatógenos apresentam grande vantagem em relação aos inseticidas químicos de largo espectro, e especificidade, cujo conceito é básico na filosofia do manejo integrado de pragas (MIP) (ALVES *et al.*, 1998). Existem produtos formulados com cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner que possuem ação inseticida sobre lepidópteros, dípteros e coleópteros. Esses produtos são registrados e são comercializados em vários países (ALVES *et al.*, 1998; BRAR *et al.*, 2006).

No Brasil existem vários estudos com a utilização de *B. thuringiensis* para o controle de *P. xylostella* (DIAS *et al.*, 2002; MONNERAT *et al.*, 2004; MEDEIROS *et al.*, 2004; VIANA, 2007), e alguns autores relatam a evolução da resistência a produtos formulados contendo *B. thuringiensis* ou proteínas Cry para muitas espécies de insetos, a maioria da ordem Lepidoptera (FERRÉ *et al.*, 2008). Há registros de populações de *P. xylostella* resistentes a formulações de *B. thuringiensis*, tanto no Brasil como em outros países (TABASHNIK *et al.*, 1997; HERRERO *et al.*, 2001; HERNANDEZ-MARTINÉZ *et al.*, 2010; ZAGO *et al.*, 2014). Uma boa estratégia de controle, que favoreceria o MIP, seria o uso do bioinseticida em conjunto com outra tática, como por exemplo, liberações inundativas de insetos entomófagos (MAGALHÃES *et al.*, 2014).

No Brasil, *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae), é a espécie de predador mais estudada dentre os Asopinae, devido principalmente a sua ocorrência natural, agressividade e voracidade (DE BORTOLI *et al.*, 2011), sendo um predador natural de larvas e pupas de *P. xylostella* (VACARI *et al.*, 2012). Esses predadores são zoofitófagos, por serem dependentes da alimentação de presas para seu desenvolvimento, e também de plantas hospedeiras, onde na ausência de presas *P. nigrispinus* buscam recursos para se manter no agroecossistema, porém, sem causar danos às plantas (TORRES; BOYD, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2014).

Toxinas de *B. thuringiensis* podem afetar insetos-não alvo quando adquiridas por predadores ou parasitoides no terceiro nível trófico por meio da presa/hospedeiro, alimentando-se diretamente na planta ou ingerindo alguma forma de suspensão (GONZÁLEZ-ZAMORA *et al.*, 2007). *Podisus* podem se contaminar com a toxina dessas duas formas. Existem questionamentos sobre a interação da toxina de *B. thuringiensis* e os inimigos naturais, pois a toxina se move ao longo dos níveis tróficos (TORRES; RUBERSON, 2008).

Trabalho de Nascimento *et al.* (1998) mostrou efeitos adversos de uma formulação comercial de *B. thuringiensis* na biologia do predador *P. nigrispinus*, sendo o mesmo realizado com uma formulação utilizada já há algum tempo e elaborada com o isolado HD1. Porém, não existem pesquisas sobre os possíveis efeitos de formulações recentes de *B. thuringiensis* sobre o predador *P. nigrispinus*, que são registradas para o controle de *P. xylostella* em condições de campo.

O objetivo desse trabalho, então, foi avaliar se bioinseticidas a base de *B. thuringiensis* (isolado HD1 e produto comercial Agree<sup>®</sup>) aplicados em plantas de couve para o controle de *P. xylostella* podem, de alguma forma, afetar o predador não-alvo *P. nigrispinus* em condições de

casa-de-vegetação. Para tanto, foi avaliada a história de vida do predador consumindo lagartas de *P. xylostella* em plantas de couve tratadas, bem como sua atividade fitofágica nestas plantas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Plantas

Mudas de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. HS – 20) com 20 dias de idade foram adquiridas de empresa comercializadora e plantadas em vasos de 5L em casa-de-vegetação. Após 60 dias nos vasos, as plantas foram utilizadas nos experimentos. As plantas cresceram em substrato devidamente adequado nutricionalmente para couve, com irrigação diária, sendo mantidas livres de pragas sem aplicação de inseticidas.

### 2.2. Criação dos insetos

*P. nigrispinus* e *P. xylostella* foram criados sob condições controladas em sala climatizada no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), Departamento de Fitossanidade, FCAV/Unesp, ajustada a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70 \pm 10\%$  e fotofase de 12 h. As criações foram conduzidas de acordo com a descrição de Carvalho *et al.* (2012).

### 2.3. Bioinseticidas

O bioinseticida formulado utilizado nesta pesquisa foi selecionado devido ao seu uso comum em plantios de Brassicacea no Brasil para o controle de *P. xylostella*. Para condução dos experimentos foi utilizado o bioinseticida a base de *B. thuringiensis* Agree<sup>®</sup> (*B. thuringiensis* var. *aizawai* GC-91) e o isolado HD1 (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*). O isolado HD1 foi fornecido pelo Dr. Fernando Valicente da Embrapa Milho e Sorgo de Sete Lagoas, Minas Gerais, e a suspensão para utilização nos experimentos foi preparada de acordo com Magalhães *et al.* (2014).

## 2.4. Procedimentos experimentais

As condições climáticas para os bioensaios sofreram as variações pertinentes ao cultivo protegido durante o período de 14 de agosto a 05 de novembro de 2015.

Gaiolas foram montadas com recipientes de plástico transparente de 500 mL, com tampa, onde uma tira de espuma foi colada em toda a extremidade da tampa e também na abertura do recipiente, para evitar danificar as folhas de couve, que ficaram entrepostas. As gaiolas foram fechadas com auxílio de dois palitos de bambu com 25 cm de comprimento, dispostos em cima da tampa e embaixo do recipiente, com elásticos em suas extremidades, evitando a fuga de insetos. No fundo do recipiente foi aberto um orifício, fechado com tecido tipo voile para permitir a aeração.

As gaiolas foram montadas nas folhas dos vasos de couve previamente imersas por 3 segundos em suspensão de *B. thuringiensis* (isolado HD1 ou produto formulado Agree<sup>®</sup>) ou água destilada (tratamento controle).

A cada dois dias as gaiolas e os insetos foram retirados da folha em que estavam e colocados em outras folhas intactas e tratadas de acordo com os tratamentos. As folhas onde estavam os predadores foram coletadas e submetidas ao teste de coloração por imersão em solução de fucsina ácida a 1%, por 12 horas, segundo a metodologia adaptada de Bowling (1979), para posterior contagem de bainhas alimentares com o auxílio do estereomicroscópio.

Ninfas de 2<sup>o</sup> ínstar de *P. nigrispinus* foram acondicionadas nas gaiolas que foram presas em folhas da planta de couve. Cada gaiola foi presa em apenas uma folha de cada planta. Foram observadas seis repetições para cada tratamento, sendo cada gaiola uma repetição contendo 10 ninfas. Durante toda a fase ninfal as avaliações foram realizadas a cada 24 h e foi registrada a



duração de cada ínstar, sobrevivência de ninfas, consumo de presas, peso das ninfas de quinto ínstar e número de bainhas alimentares efetuadas nas folhas pelos predadores.

Na fase adulta foram observadas treze gaiolas por tratamento, sendo acondicionado um casal por gaiola. Durante toda a fase adulta as avaliações foram realizadas a cada 24 h e foi registrado o consumo de presas, peso de machos e fêmeas, longevidade de machos e fêmeas, número de bainhas alimentares efetuadas nas folhas pelos predadores, número de ovos por fêmea e número de posturas por fêmea. Os ovos foram levados ao laboratório para avaliação do período de incubação e da viabilidade.

O experimento foi composto por seis tratamentos, sendo eles: 1) folhas tratadas com água destilada e fornecimento de presas aos predadores; 2) folhas tratadas com Agree<sup>®</sup> e fornecimento de presas; 3) folhas tratadas com o isolado HD1 e fornecimento de presas; 4) folhas tratadas com água e ausência de presas; 5) folhas tratadas com Agree<sup>®</sup> e ausência de presas; 6) folhas tratadas com o isolado HD1 e ausência de presas. Larvas de quarto ínstar de *P. xylostella* foram utilizadas como presas. As lagartas foram repostas diariamente de acordo com o consumo dos predadores.

A calda do bioinseticida Agree<sup>®</sup> foi utilizada na concentração recomendada pelo fabricante (0,5g/333mL) e o isolado HD1 foi empregado na concentração de  $3 \times 10^8$  esporos/mL.

## **2.5. Análise dos dados**

Os dados foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett, para verificação da normalidade e homogeneidade de variância, respectivamente. Os dados foram então analisados pelo PROC ANOVA do SAS Institute (2002), e as médias, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

### 3. RESULTADOS

Ninfas de *P. nigrispinus* confinadas apenas em plantas de couve, sem disponibilidade de presas, não atingiram o terceiro ínstar. Assim, as características biológicas não foram obtidas. Nestes tratamentos, a mortalidade de ninfas de segundo ínstar foi de 100%. Dessa maneira, a alimentação exclusiva em plantas de couve não foi suficiente para o desenvolvimento do inseto.

As ninfas do predador que foram confinadas nas plantas e que também tiveram disponibilidade de presas conseguiram completar a fase ninfal, chegando até a adulta, independentemente do tratamento das folhas. A sobrevivência ninfal foi 26,6% maior quando as folhas foram tratadas com o isolado HD1 do que com o bioinseticida formulado Agree® (Figura 1).

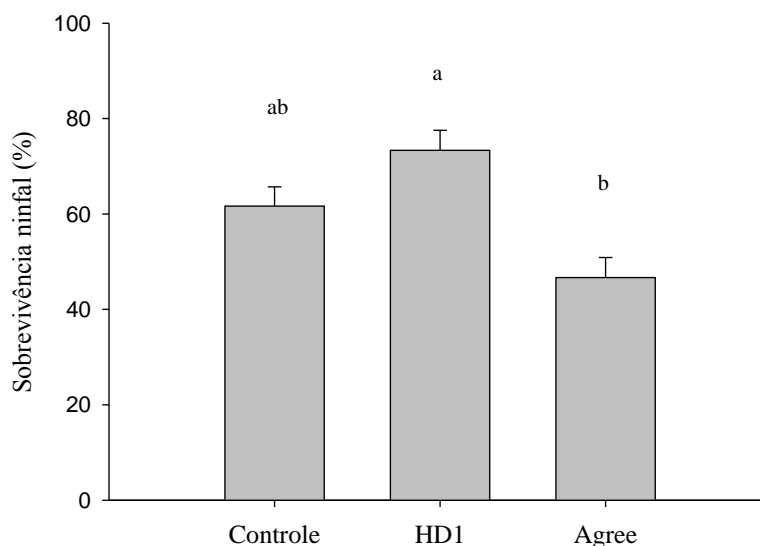


Figura 1. Sobrevivência ninfal de *Podisus nigrispinus* consumindo larvas de *Plutella xylostella* em folhas tratadas e não tratadas com *Bacillus thuringiensis*.

A duração de cada ínstar ninfal foi semelhante entre os tratamentos no segundo, terceiro e quinto ínstares do predador. A duração do quarto ínstar foi 1,5 dias menor quando as folhas foram tratadas com o isolado HD1, em relação ao tratamento controle. A duração ninfal como um todo foi 3,7 dias menor para o tratamento controle, quando comparado com o Agree (Tabela 1).

Tabela 1. Duração de cada ínstar e da fase ninfal de *Podisus nigrispinus* consumindo larvas de *Plutella xylostella* em folhas tratadas e não tratadas com *Bacillus thuringiensis*.

Duração (dias)	Controle	HD1	Agree
2° ínstar	5,7 ± 0,65 a <sup>1</sup>	5,2 ± 0,14 a	5,9 ± 0,40 a
3° ínstar	5,4 ± 0,38 a	5,3 ± 0,18 a	5,6 ± 0,61 a
4° ínstar	7,0 ± 0,24 a	5,5 ± 0,35 b	8,2 ± 0,53 a
5° ínstar	9,7 ± 0,79 a	12,5 ± 0,56 a	11,9 ± 0,01 a
Fase ninfal	29,9 ± 1,14 b	30,6 ± 0,29 ab	33,6 ± 1,09 a

<sup>1</sup>Médias ± EP seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

Ninfas de *P. nigrispinus* consumiram maior número de presas quando a planta foi tratada com o bioinseticida Agree<sup>®</sup> (37,2 presas/inseto), sendo o consumo cerca de 30% menor nas plantas tratadas com o isolado HD1 e 47% menor no controle. O consumo de presas durante a fase adulta foi semelhante entre os tratamentos variando de 117,0 a 125,9 presas consumidas por adulto (Figura 2).

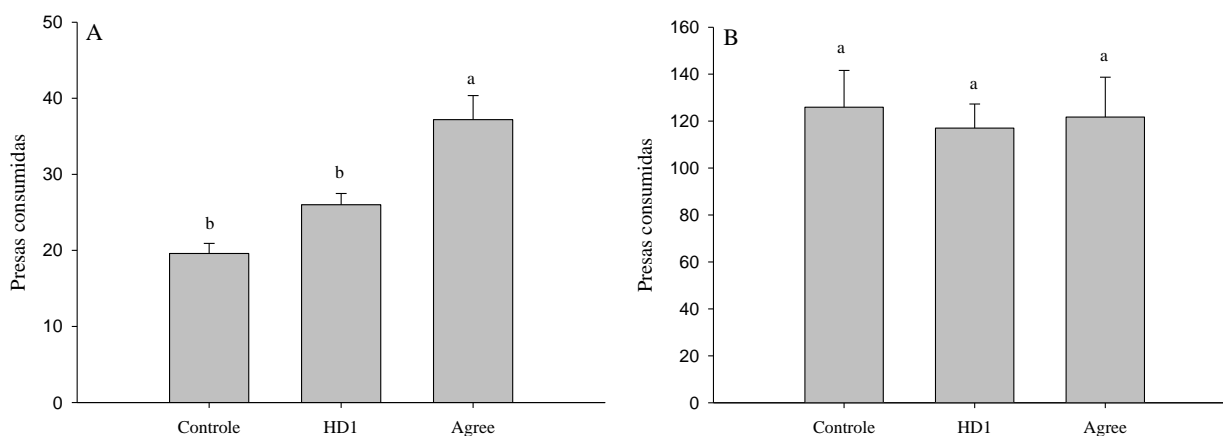


Figura 2. Consumo de larvas de *Plutella xylostella* durante o período ninfal (A) e fase adulta (B) de *Podisus nigrispinus* em folhas de couve tratadas e não tratadas com *Bacillus thuringiensis*.

O número de bainhas de alimentação encontrado nas folhas de couve tratadas ou não com *B. thuringiensis* foi semelhante, tanto para fase ninfal quanto adulta do predador. No entanto, o número de bainhas foi menor quando ninfas de *P. nigrispinus* foram confinadas nas plantas sem disponibilidade de presas, variando entre 16,7 a 20,4 bainhas por ninfa. Ninfas que consumiram presas buscaram recursos alimentares na planta com maior frequência, sendo encontradas de 41,4 a 55,1 bainhas por ninfa. O número de bainhas alimentares contabilizadas em folhas de couve durante a fase adulta variou de 257,5 a 355,1 por adulto (Figura 3).

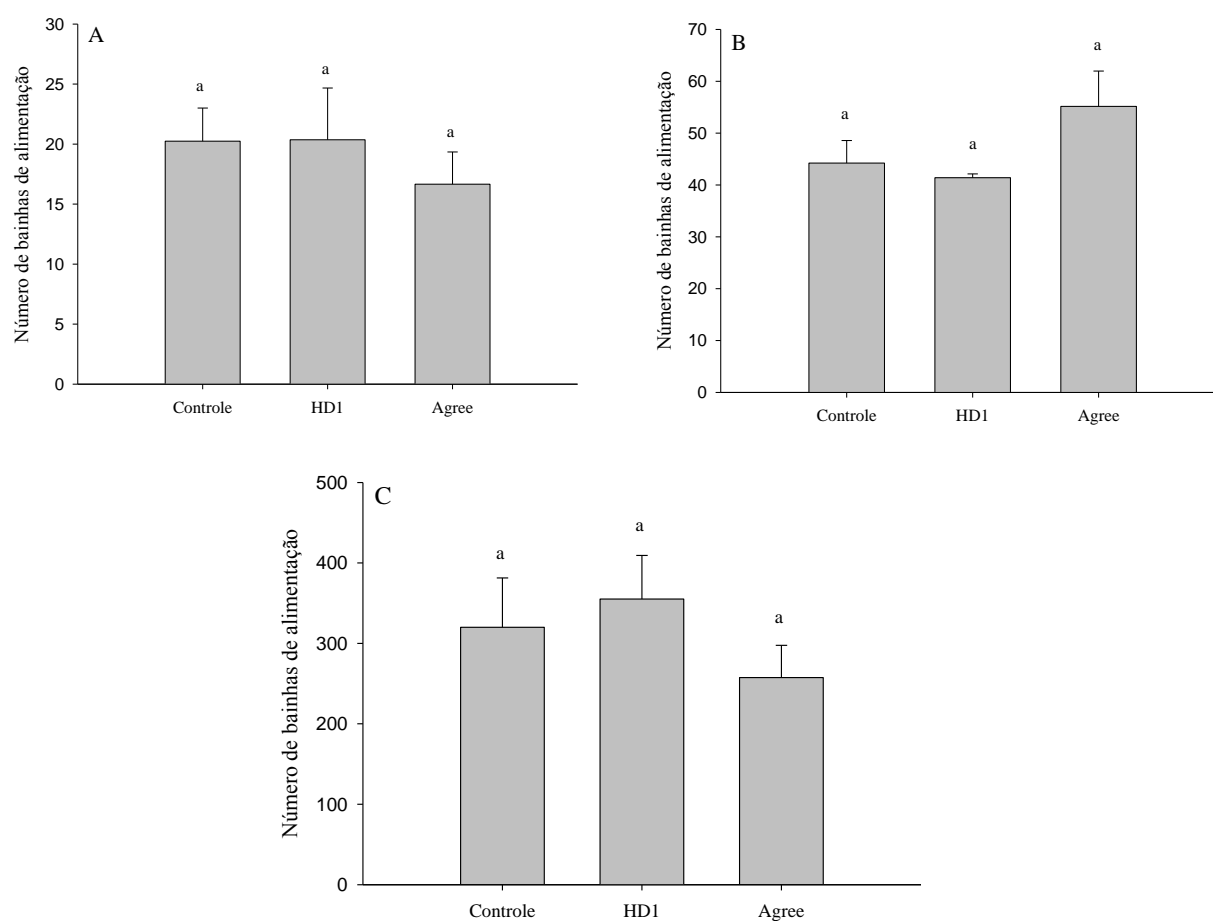


Figura 3. Número de bainhas de alimentação em folhas de couve tratadas e não tratadas com *Bacillus thuringiensis* por ninfas, com a ausência de presas (A) e com disponibilidade de presas para ninfas (B) e por adultos (C) de *Podisus nigrispinus*.

As ninfas confinadas em plantas tratadas com o isolado HD1 apresentaram peso médio 59,3% menor que as ninfas do tratamento controle. Machos e fêmeas de *P. nigrispinus* apresentaram peso semelhante (Tabela 2).

Tabela 2. Peso de ninfas e adultos de *Podisus nigrispinus* consumindo larvas de *Plutella xylostella* em folhas tratadas e não tratadas com *Bacillus thuringiensis*.

Peso (mg)	Controle	HD1	Agree
Ninfas	25,8 ± 0,89 a <sup>1</sup>	15,3 ± 0,68 b	26,4 ± 0,96 a
Machos	25,3 ± 1,25 a	23,5 ± 1,87 a	23,6 ± 2,02 a
Fêmeas	29,7 ± 2,22 a	32,8 ± 2,27 a	30,5 ± 1,85 a

<sup>1</sup>Médias ± EP seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

O tratamento de plantas de couve com o isolado HD1 ou com o bioinseticida Agree não influenciou o número de posturas por fêmea, o número de ovos por fêmea, a viabilidade dos ovos e a longevidade de machos e fêmeas de *P. nigrispinus*. No entanto, o período de incubação dos ovos foi 0,8 dias maior quando exposto ao isolado HD1, em relação ao controle (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros biológicos de adultos e produção de descendentes de *Podisus nigrispinus* consumindo larvas de *Plutella xylostella* em plantas de couve tratadas e não tratadas com *Bacillus thuringiensis*.

Parâmetros	Controle	HD1	Agree
Posturas/fêmea	3,8 ± 0,89 a <sup>1</sup>	4,0 ± 0,61 a	4,4 ± 0,56 a
Ovos/fêmea	70,4 ± 17,65 a	48,6 ± 7,62 a	59,8 ± 12,05 a
Período incubação ovos (dias)	5,1 ± 0,12 b	5,9 ± 0,17 a	5,2 ± 0,08 b
Viabilidade de ovos (%)	53,6 ± 4,43 a	53,9 ± 5,46 a	58,9 ± 5,20 a
Longevidade de machos (dias)	26,0 ± 3,68 a	25,4 ± 4,94 a	23,0 ± 4,47 a
Longevidade de fêmeas (dias)	18,8 ± 2,89 a	21,5 ± 2,80 a	19,6 ± 2,97 a

<sup>1</sup>Médias ± EP seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

#### 4. DISCUSSÃO

Sendo o objetivo, avaliar se bioinseticidas a base de *B. thuringiensis* (isolado HD1 e produto comercial Agree<sup>®</sup>) aplicados em plantas de couve para o controle de *P. xylostella* podem, de alguma forma, afetar o predador não-alvo *P. nigrispinus*. Este foi um estudo pioneiro que avaliou a história de vida de *P. nigrispinus* consumindo lagartas de *P. xylostella* em plantas de couve tratadas com bioinseticidas, bem como a atividade fitofágica do predador nessas plantas, em condições de casa-de-vegetação.

Ninfas de *P. nigrispinus* confinadas apenas em plantas de couve, sem disponibilidade de presas, não atingiram o terceiro ínstar, independente do tratamento. Magalhães *et al.* (2014) verificaram que as folhas de couve retiradas da planta e oferecidas aos predadores em condição de laboratório, não foram suficientes para suprir às necessidades nutricionais de *P. nigrispinus* apenas com alimentação em folhas, o que impediu os insetos de completar seu ciclo de vida. Dibelli *et al.* (2013) estudaram o efeito do comportamento fitofágico em folhas de couve por *P. nigrispinus*, e observaram que as ninfas sem presas também morreram antes do terceiro ínstar, em condições de laboratório. Nesse sentido, Evangelista Júnior *et al.* (2004) constataram que as plantas daninhas *Bidens pilosa*, *Ageratum conyzoides*, *Desmodium tortuosum*, *Euphorbia heterophylla*, *Amaranthus hybridus* e *Ricinus communis*, não foram nutricionalmente adequadas para o desenvolvimento das ninfas do predador *P. nigrispinus*, quando as presas estavam completamente ausentes. A alta mortalidade de ninfas quando não ocorre consumo de presas pelo predador, impedindo o desenvolvimento ninfal, independente do tratamento com *B. thuringiensis*.

Ainda, segundo Torres e Boyd (2009) e Torres *et al.* (2010), *P. nigrispinus* é reconhecido como consumidor de material de planta, mas apenas como suplemento na dieta, não provocando

dano algum. Assim, a principal fonte alimentar desses predadores continua sendo o consumo de presas, mesmo estando a planta tratada com bioinseticidas a base de *B. thuringiensis*.

As ninfas que consumiram presas completaram normalmente seu desenvolvimento. No entanto, a sobrevivência ninfal foi maior quando as folhas foram tratadas com o isolado HD1 do que o bioinseticida formulado Agree<sup>®</sup>. Formulações de bioinseticidas podem ser compostas, além de cristais e esporos de *B. thuringiensis*, por espalhante (farinha de milho ou amido, Tween-80, Triton X-100 ou glicerol), conservantes (ácido sórbico ou benzoato de sódio), além de adjuvantes multifuncionais (BRAR *et al.*, 2004; ALFAZAIRY *et al.*, 2014). A formulação comercial utilizada neste estudo contém adjuvantes e inertes, podendo assim esses componentes terem afetado aos predadores.

As características biológicas dos predadores, de modo geral, não sofreram alterações quando eles consumiram presas diretamente em plantas de couve tratadas com os bioinseticidas (isolado HD1 e o produto formulado Agree<sup>®</sup>). Apenas a duração do período ninfal e o período de incubação dos ovos foram menores para o tratamento controle. A não suscetibilidade do predador ao bioinseticida pode ser explicada pela ausência de receptores nas microvilosidades do intestino médio de *P. nigrispinus*. Nesse sentido, estudos realizados com *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae) mostraram que esse predador não apresenta sítios específicos nas microvilosidades do intestino médio para as proteínas Cry1Ab e Cry1Ac de *B. thuringiensis* (RODRIGO-SIMÓN *et al.*, 2006). Além disso, outras pesquisas evidenciam que proteínas de *B. thuringiensis* podem passar para os predadores por meio de suas presas (TORRES *et al.*, 2006), mas que o consumo de presas contaminadas com a proteína Cry1Ac não causou efeito negativo na história de vida (características biológicas) de *Podisus maculiventris* (Say, 1832) (Hemiptera: Pentatomidae) (TORRES; RUBERSON, 2008).

Ninfas de *P. nigrispinus* consumiram maior número de presas quando as plantas haviam sido tratadas com a formulação comercial de *B. thuringiensis*. Tal resultado pode ter ocorrido devido à baixa qualidade nutricional das presas, sendo que nesse caso os predadores precisariam consumir maior número de lagartas para suprir suas necessidades fisiológicas. Pesquisa anterior mostrou que a concentração recomendada para o produto comercial Agree<sup>®</sup> matou 100% das lagartas de *P. xylostella* após sete dias (MAGALHÃES *et al.*, 2014). Dessa forma, é muito provável que a fisiologia das lagartas sofra alterações provocadas pela ação das toxinas no intestino médio, o que pode diminuir a qualidade das presas, fazendo com que os predadores consumam maior quantidade.

A fitofagia foi semelhante nos tratamentos, indicando que os bioinseticidas utilizados, mesmo o produto formulado, não devam apresentar substâncias repelentes para os predadores. Assim, os insetos buscaram recursos alimentarem nas plantas normalmente, mesmo naquelas tratadas, o que ajuda os predadores a se manterem no ambiente em situações de escassez de presas (TORRES *et al.*, 2010), mesmo em áreas tratadas.

Pesquisas prévias, realizadas em condições de laboratório, mostraram que bioinseticidas a base de *B. thuringiensis* não afetaram as características biológicas de *P. nigrispinus* (CARVALHO *et al.*, 2012; MAGALHÃES *et al.*, 2015), sendo que o presente trabalho, realizado em ambiente protegido, produziu resultados que apontam que o predador *P. nigrispinus* pode ser utilizado juntamente com bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* no controle de *P. xylostella*. Além de não serem prejudiciais, os inimigos naturais buscam recursos alimentares normalmente nas plantas tratadas, o que favorece sua permanência no ambiente em situações de escassez de presas (TORRES *et al.*, 2010).



Atualmente, *P. xylostella* é controlada em plantios de Brassicaceae quase que exclusivamente utilizando inseticidas químicos sintéticos, não só no Brasil, mas também em outros países (CASTELO BRANCO; GATEHOUSE, 2001; SILVA *et al.*, 2012; STEINBACH *et al.*, 2015). Essa tática de controle de pragas, quando muito utilizada em brassicáceas, traz uma série de problemas, como contaminação do ambiente, seleção de populações da traça-das-crucíferas resistente aos inseticidas e resíduos nos produtos que são consumidos frequentemente *in natura* (SARFRAZ; KEDDIE, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2011; WANG; WU, 2012). Assim, os resultados desta pesquisa irão contribuir para que o cultivo de brassicáceas seja conduzido de forma mais sustentável e para que os consumidores possam adquirir alimentos saudáveis e mais seguros.

## 5. CONCLUSÃO

No manejo integrado de *P. xylostella* em couve em ambiente protegido é viável a utilização do isolado HD1 ou do produto comercial Agree<sup>®</sup> em associação com *P. nigrispinus*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFAZAIRY, A. A.; ALFY, H.; KARAM, H. H.; ZARIF, G. Biopreparations – based on economic mass propagation of certain entomopathogens. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, Cairo, v. 24, n. 1, p. 113-120, 2014.
- ALVES, S. B.; MOINO, A.; ALMEIDA, J. E. M. Desenvolvimento potencial de uso e comercialização de produtos microbianos. In: ALVES, S. B. (ed.). **Controle Microbiano de Insetos**. 2ª ed., Piracicaba: FEALQ, p. 145-158, 1998.
- BOWLING, C.C. The stylet sheath as an indicator of feeding activity of the rice stink bug. **Journal Economic Entomology**, Lanham, n. 72, v. 2, p. 259-260, 1979.
- BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALERIO, J. R.; SURAMPALLI, R. Y.; BENERJI, S. K. Development of sludge based stable aqueous *Bacillus thuringiensis* formulations. **Water Science & Technology**, London, v. 50, n. 9, p. 229-236, 2004.
- BRAR, S. K.; VERMA, M.; TYAGI, R. D.; VALÉRO, J. R. Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based bioinsecticides. **Process Biochemistry**, London, v. 41, n. 2, p. 323-342, 2006.
- CARVALHO, V. F. P.; VACARI, A. M.; POMARI, A. F.; DE BORTOLI, C. P.; RAMALHO, D. G.; DE BORTOLI, S. A. Interaction between the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) and the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis*. **Environmental Entomology**, New York, v. 41, n. 6, p. 1454-1461, 2012.
- CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in the Federal District, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 327-332, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. Impacto de inseticidas sobre parasitoides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 7-13, 2001.

DE BORTOLI, S. A.; OTUKA, A. K.; VACARI, A. M.; MARTINS, M. I. E. G.; VOLPE, H. X. L. Comparative biology and production costs of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) when fed different types of prey. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 58, n. 2, p. 127-132, 2011.

DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; DUARTE, R. T. *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: SOLONESKI, S., LARRAMENDY, M. (Eds.). **Weed and pest control** - conventional and new challenges. Rijeka: InTech, p. 31-51, 2013.

DIAS, D. G. S.; SOARES, C. M. S.; MONNERAT, R. G. Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve flor no Distrito Federal. **Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças**, Brasília, n. 74, p. 1-4, 2002.

DIBELLI, W.; DE BORTOLI, S. A.; VOLPE, H. X. L.; VACARI, A. M.; MAGALHÃES, G. O., DUARTE, R. T.; POLANCZYK, R. A. Effect of *Bacillus thuringiensis* on the biological parameters and phytophagy of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Entomologia Generalis**, Stuttgart, v. 34, n. 4, p. 313-321, 2013.

EVANGELISTA JÚNIOR, W. S.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C.; TORRES, J. B.; MARQUES, E. J. Fitofagia de *Podisus nigrispinus* em algodoeiro e plantas daninhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 5, p. 413-420, 2004.

FERRÉ, J. M.; VAN RIE, J.; MACINTOSH, S. C. Insecticidal genetically modified crops and insect resistance management (IRM). In: ROMEIS, J.; SHELTON, A.M.; KENNEDY, G.G.

(Eds.). **Integration of insect-resistant genetically modified crops within IPM programs.** Springer, p. 41-85, 2008.

GONZÁLEZ-ZAMORA, J. E.; CAMÚÑEZ, S.; AVILLA, C. Effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on developmental and reproductive characteristics of the predator *Orius albidipennis* (Hemiptera: Anthocoridae) under laboratory conditions. **Environmental Entomology**. New York, v. 36, n. 5, p. 1246-1253, 2007.

HERNÁNDEZ-MARTINEZ, P., NAVARRO-CERRILLO, G., CACCIA, S., DE MAAGD, A. R., MOAR, W. J., FERRÉ, J., ESCRICHE, B., HERRERO, S. Constitutive activation of the midgut response to *Bacillus thuringiensis* in Bt-resistant *Spodoptera exigua*. **Plos One**, San Francisco, v. 5, n. 9, p. e12795, 2010.

HERRERO, S. S.; FERRÉ, J.; ESCRICHE, B. Mannose phosphate isomerase isoenzymes in *Plutella xylostella* support common genetic bases of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in Lepidoptera species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 2, p. 979-981, 2001.

IRAC-BR. Comitê Brasileiro de Ação à resistência a inseticidas. 2016. Available from: <http://www.irac-br.org/#!Traçadascrucíferas-consegue-detectar-a-presença-de-inseticidas-na-planta/csfb/56e9a0390cf2d686649c7abd> [acessado em 16 de abril de 2016].

LIN, Q.; JIN, F.; HU, Z.; CHEN, H.; YIN, F.; LI, Z.; DONG, X.; ZHANG, D.; REN, S.; FENG, X. Transcriptome analysis of chlorantraniliprole resistance development in the diamondback moth *Plutella xylostella*. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 8, n. 8, p. e 72314, 2013.

MAGALHÃES, G. O.; VACARI, A. M.; LAURENTIS, V. L.; DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A. Interactions of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides and the predatory

stink bug *Podisus nigrispinus* to control *Plutella xylostella*. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 139, n. 1-2, p. 123-133, 2014.

MAGALHÃES, G. O.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, C. P.; POMARI, A. F.; DE BORTOLI, S. A.; POLANCZYK, R. A. Interactions between Bt-bioinsecticides and *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae), a predator of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 44, n. 5, p. 521-527, 2015.

MEDEIROS, P. T.; DIAS, J. M. C. S.; BARRETO, E. G.; SILVEIRA, C. M. S.; MONNERAT, R. G. Susceptibilidade da traça-das-crucíferas à produtos formulados a base de *Bacillus thuringiensis* na cultura do repolho no Distrito Federal. **Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças**, Brasília, n. 109, p. 1-11, 2004.

MELO, P. E.; CASTELO BRANCO, M.; MADEIRA, N. R. Avaliação de genótipos de repolho para resistência à traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 19-24, 1994.

MONNERAT, R. S.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, v. 3, p. 163-200, 2000.

MONNERAT, R. G.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; BERTIOLI, D. J.; BUTT, T. M.; BORDAT, D. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por suscetibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 607-609, 2004.

NASCIMENTO, M. L.; CAPALBO, D. F.; MORAES, G. J.; DE NARDO, E. A.; MAIA, A. H. N.; OLIVEIRA, R. C. A. L. Effect of a formulation of *Bacillus thuringiensis* Berliner var.

*kurstaki* on *Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 72, n. 2, p. 178-180, 1998.

OLIVEIRA, A. C.; SIQUEIRA, H. A. A.; OLIVEIRA, J. V.; SILVA, J. E.; MICHEREFF FILHO, M. Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. **Scientia Agricola**, Piaracicaba, v. 68, n. 2, p. 154-159, 2011.

RODRIGO-SIMÓN, A.; MAAGD, R. A.; AVILLA, C.; BAKKER, P. L.; MOLTHOFF, J.; GONZALEZ-ZAMORA, J. E.; FERRÉ, J. Lack of detrimental effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins on the insect predator *Chrysoperla carnea*: a toxicological, histopathological, and biochemical analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 2, p. 1595-1603, 2006.

SARFRAZ, M.; KEDDIE, A. B. Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 129, n. 3, p. 149-157, 2005.

SAS INSTITUTE, 2002. **SAS/STAT User`s Guide, version 9.00 TS level 2MO**. SAS Institute Inc., Cary, NC: SAS Institute Inc., 2002.

SILVA, J. E.; SIQUEIRA, H. A. A.; SILVA, T. B. M.; CAMPOS, M. R.; BARROS, R. Baseline susceptibility to chlorantraniliprole of Brazilian populations of *Plutella xylostella*. **Crop Protection**, Guildford, v. 35, p. 97-101, 2012.

STEINBACH, D.; GUTBROD, O.; LÜMMEN, P.; MATTHIESEN, S.; SCHORN, C.; NAUEN, R. Geographic spread, genetics and functional characteristics of ryanodine receptor based target-site resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Kidlington, v. 63, p. 14-22, 2015.

TABASHNIK, B. E.; LIU, Y. B.; FINSON, N.; MASSON, L.; HECKEL, D. G. One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 94, n. 5, p. 1640-1644, 1997.

TORRES, J. B.; BARROS, E. M.; COELHO, R. R.; PIMENTEL, R. M. Zoophytophagous pentatomids feeding on plants and implications for biological control. **Arthropod-plants interactions**, Dordrecht, v. 4, n. 4, p. 219-227, 2010.

TORRES, J. B.; BOYD, D. W. Zoophytophagy in predatory Hemiptera. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 5, p. 1199-1208, 2009.

TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R.; ADANG, M. J. Expression of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protein in cotton plants, acquisition by pests and predators: a tritrophic analysis. **Agricultural and Forest Entomology**, Midlothian, v. 8, n. 3, p. 191-202, 2006.

TORRES, J. B.; RUBERSON, J. R. Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. **Transgenic Research**, London, v. 17, n. 3, p. 345-354, 2008.

VACARI, A. M.; VOLPE, H. X. L.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P.; BENVENGA, S. R.; CARVALHO, J. S.; THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A. Integração de métodos de controle de pragas em hortaliças: experiência prévia para uma aplicação segura. In: ARAUJO, E. S.; VACARI, A. M.; CARVALHO, J. S.; GOULART, R. M.; CAMPOS, A. P.; VOLPE, H. X. L. (Eds.). **Tópicos em Entomologia Agrícola**. Ribeirão Preto: Maxicolor Gráfica e Editora, p. 84-99, 2008.

- VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; TORRES, J. B. Relationship between predation by *Podisus nigrispinus* and developmental phase and density of its prey, *Plutella xylostella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 30-37, 2012.
- VIANA, C. L. T. P. **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner efetivos em lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.
- WANG, X.; WU, Y. High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 105, n. 3, p. 1019-1023, 2012.
- ZAGO, H. B.; SIQUEIRA, H. Á.; PEREIRA, E. J.; PICANÇO, M. C.; BARROS, R. Resistance and behavioral response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. **Pest Management Science**, Sussex, v.70, n.3, p. 488-495, 2014.
- ZALUCKI, M. P.; FURLONG, M. J. Predicting outbreaks of a migratory pest: an analysis of DBM distribution and abundance revisited. In: SRINIVASAN, R.; SHELTON, A.M.; COLLINS, H.L. (Eds.). **Sixth International Workshop on Management of Diamondback Moth & Other Crucifer Pests**. NakhonPathom, Thailand, p. 8-14, 2011.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS – IMPLICAÇÕES

Atualmente os movimentos ecológicos tomaram força por todo mundo. Os consumidores estão exigindo cada vez mais alimentos de qualidade e a agricultura orgânica está em franca expansão. Dentro deste contexto, o controle biológico surge como um dos pilares de sustentação dessa nova e promissora realidade, onde as empresas antes voltadas quase que exclusivamente à produção de agrotóxicos, passaram a investir em tecnologias de controle biológico, criando setores específicos para este fim.

Os métodos biológicos com organismos entomopatogênicos ainda são pouco empregados, sendo o uso de produtos a base da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner o mais utilizado. Glare e Callaghan (2000) citam que são produtos de fácil acesso aos produtores e salientam ainda a importância de estudos sobre o impacto destes produtos nos inimigos naturais.

A diversidade de inimigos naturais é crucial para a defesa dos cultivos: quanto mais diversas as plantas, animais e organismos do solo que ocuparem um sistema agrícola maior será o equilíbrio neste ambiente (NICHOLLS; ALTIERI; PONTI, 2007).

O predador *P. nigrispinus* ocorre naturalmente em campos de produção na América do Sul e são eficientes agentes de controle biológico, alimentando-se de larvas e pupas de muitas espécies que causam danos às culturas. Além disso, podem ser facilmente criados pelos usuários, com baixo custo de produção (DE BORTOLI *et al.*, 2011).

Os predadores como *P. nigrispinus* consomem os insetos herbívoros, enquanto que os entomopatógenos como *B. thuringiensis* causam doenças e impedem que as pragas se alimentem ou reproduzam. Sendo assim, o controle biológico inundativo torna-se bastante eficiente e evitam que as pragas causem danos econômicos.

Este trabalho, especificamente, corroborou com outros estudos de interação entre *B. thuringiensis* e *P. nigrispinus*, dois importantes agentes de controle biológico, que potencialmente estão sendo usados em escala crescente na agricultura brasileira e mundial.

Neste contexto recomenda-se a utilização de *B. thuringiensis* associado ao predador porque ambos exercem suas funções sem que sejam prejudicadas suas principais características.

## REFERÊNCIAS

DE BORTOLI, S. A.; OTUKA, A. K.; VACARI, A. M.; MARTINS, M. I. E. G.; VOLPE, H. X. L. Comparative biology and production costs of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) when fed different types of prey. **Biological Control**, Orlando, v.58, p.127-132, 2011.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAM, M. **Bacillus thuringiensis: biology, ecology and safety**. Chichester: John Wiley and Sons, 2000. 350 p.

NICHOLLS, C. I.; ALTIERI, M. A.; PONTI, L. **Controle biológico de pragas através do manejo de agroecossistemas**. Brasília: MDA, 2007. 33 p.