

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERNANCIA DE HOSPEDEIROS DE CRIAÇÃO E EFEITO
DE BIOINSECTICIDAS NO PARASITISMO DE
Trichogramma pretiosum EM OVOS DE *Plutella xylostella***

Claudio Antonio Salas Figueroa

Engenheiro Agrônomo

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERNANCIA DE HOSPEDEIROS DE CRIAÇÃO E EFEITO
DE BIOINSECTICIDAS NO PARASITISMO DE
Trichogramma pretiosum EM OVOS DE *Plutella xylostella***

Claudio Antonio Salas Figueroa

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Coorientador: Prof. Dr. Nelson Wanderley Perieto

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).

Novembro de 2015

Figuroa, Claudio Antonio Salas

F475a Alternância de hospedeiros de criação e efeito de bioinsecticidas no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Plutella xylostella* / Claudio Antonio Salas Figuroa. -- Jaboticabal, 2015
xix, 68 p. : IIII. ; 28 cm

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015

Orientador: Sergio Antonio Bortoli

Banca examinadora: Odair Aparecido Fernandes, Guilherme Duarte Rossi, Rogéria Inês Rosa Lara, Carlos Ladislao Quiroz Escobar

Bibliografia

1. Adequação hospedeira. 2. Parasitoide de ovos. 3. Controle biológico. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 595.79:632.937



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE JABOTICABAL

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “ALTERNÂNCIA DE HOSPEDEIROS DE CRIAÇÃO E EFEITO DE BIOINSETICIDAS NO PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* EM OVOS DE *Plutella xylostella*”

AUTOR: CLAUDIO ANTONIO SALAS FIGUEROA

ORIENTADOR: Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. NELSON WANDERLEY PERIOTO

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 / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. ODAIR APARECIDO FERNANDES

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. GUILHERME DUARTE ROSSI

Departamento de Fitossanidade / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Profa. Dra. ROGÉRIA INÊS ROSA LARA

Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Ribeirão Preto/SP

Prof. Dr. CARLOS LADISLAO QUIROZ ESCOBAR

Instituto de Investigaciones Agropecuarias / La Serena/Chile

Data da realização: 24 de novembro de 2015.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

CLAUDIO ANTONIO SALAS FIGUEROA - nascido na cidade de Santiago, Chile, em sete de março de 1977. Aos 15 anos de idade ingressou, como colaborador, na Seção de Entomologia do Museu Nacional de História Natural (MNHN), em Santiago, onde participou ativamente durante sete anos como ajudante de renomados entomólogos. Durante esta etapa, se destaca sua participação na manutenção da coleção nacional das ordens Neuroptera e Diptera; na montagem de exposições permanentes e itinerantes de Entomologia e sua participação em projetos de pesquisa. Em 2004, o postulante graduou-se com distinção máxima como Engenheiro Agrônomo pela Universidade Ibero-americana de Ciências e Tecnologia, destacando-se durante sua formação profissional em numerosos projetos de pesquisa. Concluído seus estudos de Agronomia, começou a trabalhar no Departamento de Meio Ambiente do Instituto de Pesquisas Agropecuárias (INIA), Centro Regional La Platina, em Santiago. Em 2005 foi transferido para a Região de Coquimbo, após ser admitido em concurso público para Pesquisador da Área de Entomologia do Centro Regional Intihuasi, na cidade de La Serena, Chile, onde iniciou estudos relacionados com o manejo integrado de pragas agrícolas. As contribuições do postulante para a Entomologia Chilena tiveram o reconhecimento de seus pares ao ser proposto e eleito Presidente da Sociedade Chilena de Entomologia para o período 2011-2012, cargo para o qual foi reeleito, por aclamação, para o período de 2012-2013. Em fevereiro de 2012 o postulante se desvinculou do Instituto de Pesquisas Agropecuárias (INIA), depois de sete anos de um desempenho completo de grandes êxitos profissionais, para realizar seus estudos de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na Universidade Estadual Paulista, sob a orientação do Professor Dr. Sergio Antonio De Bortoli. Em abril de 2015 foi reintegrado ao cargo de pesquisador no Departamento de Fitossanidade do INIA em Intihuasi, onde desempenha suas funções até a presente data.

Basicamente, os cientistas temos sorte: podemos jogar ao que queremos para toda a vida (Lee Smolin).

Dedicatória

Dedico esta tese a minha amada esposa Vianka Rojas e a nossos filhos Francisca e Ariel, obras máximas da natureza, que me acompanharam e entregaram todo o seu apoio durante nossa permanência no Brasil. Ainda quando passamos momentos muito difíceis, nossa união como família nos fortaleceu para sair airosos.

AGRADECIMENTOS

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP pela bolsa fornecida ao autor (Processo 2012/13749-7).

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela orientação, incentivo e por todos seus ensinamentos.

Aos meus amigos e colegas do programa de Entomologia Agrícola Dr. Daniell Rodrigo Rodriguez Fernandes, M. Sc. Dagmara Gomes Ramalho, M. Sc. Kelly Cristina Gonçalves, Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe, Dr. Alexandre Carlos Menezes-Netto, M. Sc. Ezequias Teofilo Correia, Dr. Francisco José Sosa Duque, Dr. Rogério Teixeira Duarte, Dr. Nelson Wanderley Periotto e Dra. Rogéria Inês Rosa Lara pela sincera amizade, carinho e consideração.

Aos meus Professores e amigos do Programa de Entomologia Agrícola da UNESP/ Jaboticabal, Dra. Nilza Maria Martinelli, Dr. Odair Aparecido Fernandes, Dr. Ricardo Antonio Polanczyk, Dr. Antonio Carlos Busoli e Dr. Daniel Júnior de Andrade pela amizade e por todos seus ensinamentos.

A Vanessa Sayuri e Carlos Santa Capita, da Estação Agroclimatologica da UNESP/Jaboticabal, pelos maravilhosos cafés da manhã que compartilhamos como família.

A meus amigos Mayra e Wilson pela ajuda entregue em todo o processo.

Aos meus colegas e amigos do INIA, M. Sc. Patricia Larraín, Dr. Carlos Quiroz e Eng. Agr. Cornelio Contreras pelo apoio na etapa final deste projeto.

Agradeço também aos meus dois grandes Mestres da Entomologia o Professor Luis Salas e o Dr. Ariel Camousseight (*in memoriam*). Obrigado pela orientação, incentivo e por todos seus ensinamentos.

À Elcira Figueroa e Luis Salas, meus pais, pelo apoio constante em todos os momentos da minha vida. À Juana Hinojosa e Waldo Rojas, meus sogros por nos receber em sua casa ao nosso retorno ao Chile.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
2.1 Geral.....	2
2.2 Específicos.....	2
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3.1 Biologia e desenvolvimento de <i>Plutella xylostella</i>	3
3.2 Inimigos naturais de <i>Plutella xylostella</i>	4
3.3. Controle biológico de <i>Plutella xylostella</i> com <i>Trichogrammapretiosum</i>	5
3.4 Busca, aceitação e preferência hospedeira por <i>Trichogramma</i>	7
3.5 Interação <i>Trichogramma pretiosum</i> - <i>Bacillus thuringiensis</i> para o controle de <i>Plutella xylostella</i>	11
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1 Métodos gerais.....	12
4.2 Testes para avaliar a influência da manipulação de ovos hospedeiros na aceitação e preferência por <i>Trichogramma pretiosum</i>	14
4.2.1 Metodologia com remoção de ovos.....	14
4.2.2 Metodologia sem remoção de ovos.....	15
4.3 Testes após alternância de hospedeiros.....	18
4.3.1 Testes com alternância de hospedeiros ao longo das gerações.....	18
4.3.2 Testes de preferência de <i>Trichogramma pretiosum</i> com avanço das gerações.....	19
4.3.2.1 Teste com chance de escolha.....	19
4.3.2.2 Testes sem chance de escolha.....	20
4.3.3 Testes de desempenho de <i>Trichogramma pretiosum</i> no controle de <i>Plutella xylostella</i> em casa de vegetação após o avanço das gerações.....	21

4.3.4 Testes de parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i> após aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i>	23
4.3.4.1 Testes de parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i> após aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i> em condições de laboratório.....	23
4.3.4.2 Testes de parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i> após aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i> em casa de vegetação.....	24
4.4 Análise estatística.....	25
5. RESULTADOS.....	26
5.1 Influência da manipulação de ovos hospedeiros na aceitação e preferência por <i>Trichogramma pretiosum</i>	26
5.1.1 Influência da alternância de hospedeiros ao longo das gerações no desempenho de <i>Trichogramma pretiosum</i> Tp8.....	26
5.2 Preferência de <i>Trichogramma pretiosum</i> após a alternância de hospedeiros.....	28
5.2.1 Teste com chance de escolha.....	28
5.2.2 Teste sem chance de escolha.....	30
5.3 Preferência de <i>Trichogramma pretiosum</i> após a alternância de hospedeiros.....	31
5.4 Desempenho de <i>Trichogramma pretiosum</i> após aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i>	32
5.4.1 Parasitismo e emergência de <i>Trichogramma pretiosum</i> após aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i> em laboratório.....	32
5.4.2 Desempenho de <i>Trichogramma pretiosum</i> após aplicação de <i>Bacillus thuringiensis</i> em casa de vegetação.....	33
5.5 Protocolo de criação massal de <i>Trichogramma pretiosum</i> para o controle de <i>Plutella xylostella</i>	34
6. DISCUSSÃO.....	35
6.1 Influência da manipulação de ovos hospedeiros na aceitação e preferência por <i>Trichogramma pretiosum</i>	35
6.2 Influência da alternância de hospedeiros na preferência hospedeira de <i>Trichogramma pretiosum</i>	37
6.3 Interação entre <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Bacillus thuringiensis</i>	42

7. CONCLUSÕES.....	43
8. REFERÊNCIAS.....	45

**ALTERNANCIA DE HOSPEDEIROS DE CRIAÇÃO E EFEITO DE
BIOINSECTICIDAS NO PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* EM OVOS
DE *Plutella xylostella***

RESUMO - Espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são utilizadas para o controle de lepidópteros-praga em várias culturas de importância econômica. Contudo, pouco se conhece sobre seus hospedeiros preferenciais, o que pode ser fator limitante para a busca e localização da praga-alvo em condições de campo. Este estudo teve por objetivos a criação de *Trichogramma pretiosum* Riley linhagem TP8 no hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e no hospedeiro alvo *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae), para avaliar a influência da alternância de hospedeiros na aceitação e preferência pelo parasitoide. *T. pretiosum* linhagem Tp8 foi criado em *C. cephalonica* por gerações sucessivas e, posteriormente em *P. xylostella*. Em cada geração foi avaliado o número de ovos parasitados e a porcentagem de emergência em cada hospedeiro; a preferência para ambos os hospedeiros, utilizando-se arenas experimentais com e sem chance de escolha e, o número de gerações necessárias para o parasitoide aumentar sua aceitação pelo hospedeiro natural *P. xylostella*. Também foi objetivo estabelecer bases para a melhoria dos sistemas de criação massal de *T. pretiosum* e avaliar o efeito de produtos formulados com *Bacillus thuringiensis* Berliner no desempenho do parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *P. xylostella*. Verificou-se que a linhagem Tp8 de *T. pretiosum*, tanto nos testes de preferência com alternância de hospedeiros quanto nos de livre escolha, teve preferência por *C. cephalonica*. Quando foram oferecidos ovos de *P. xylostella* sem chance de escolha, os níveis de parasitismo e emergência obtidos foram de 66% e 64%, respectivamente, demonstrando que o condicionamento sobre o hospedeiro parental pode ser alterado em favor da aceitação e parasitismo da espécie-alvo a controlar. Fêmeas de *T. pretiosum* criadas por uma geração sobre *P. xylostella* aumentaram sua afinidade por este hospedeiro. Em condições de semicampo, o parasitismo de *P. xylostella* foi menor do que aqueles obtidos em condições de laboratório; contudo foi possível estabelecer que é necessário criar *T. pretiosum* por duas gerações em ovos de *P. xylostella* para que exista reconhecimento, aceitação e parasitismo deste hospedeiro. O efeito da interação de bioinseticidas comerciais formulados com *B. thuringiensis* e *T. pretiosum* Tp8 não foram totalmente esclarecidos. Em condições de semi campo, os resultados indicaram que é possível utilizar formulados comerciais de *B. thuringiensis* conjuntamente com liberações inundativas de *T. pretiosum*, linhagem Tp8, o que não ocorreu em condições de laboratório. Os resultados obtidos nos permitem propor um novo protocolo de criação de *T. pretiosum* com uma nova metodologia para a manipulação dos ovos hospedeiros, de forma a romper o condicionamento associativo desta espécie a seus hospedeiros e melhorar sua eficiência de controle em campo. A priori, espera-se que essa metodologia de criação possa ser replicável a outras espécies de parasitoides, para isso, novos estudos se fazem necessários.

Palavras-chave: Adequação hospedeira, parasitoide de ovos, controle biológico

ALTERNATING THE BREEDING HOST AND EFFECT OF BIOINSECTICIDES ON PARASITISM OF *Trichogramma pretiosum* IN *Plutella xylostella* EGGS

ABSTRACT - Species of the *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) genus are used to control Lepidoptera pests in many crops of economic importance, however, little is known about their parental or breeding hosts; this may be a limiting factor in the search and localization of the target pest in field conditions. In this perspective, the purpose of the present study was to breed the parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alternating the breeding hosts *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) and target, *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae), so as to assess the influence of hosts alternation in the acceptance and preference. To this end *T. pretiosum* was bred for successive generations in the alternate host *C. cephalonica* and later on in the natural host, *P. xylostella*. The number of parasited eggs and the emergence percentage per host was assessed in each generation. The preference towards both hosts was also determined in each generation, using experimental sands, with and without choice possibilities. In this way it was possible to determine the number of generations required for the parasitoid to increase its acceptance of the natural host *P. xylostella*, an unpredictable factor for the success of biological control of this important pest; thus setting the basis to carry out improvements in the mass breeding systems of these parasitoids. The effect of products based on *Bacillus thuringiensis* Berliner on the parasitic performance of *T. pretiosum* upon *P. xylostella* eggs was also studied. The evaluated *T. pretiosum* Tp8 strain was recorded in the preference tests with host's alternation and in the free choice tests, showing a preference towards the *C. cephalonica* host. However, when *P. xylostella* was offered singly with no choice possibilities, the parasitism and emergence levels obtained were ,66% and 64% respectively, thus showing that the conditioning towards the breeding host can be altered in favor of acceptance and parasitism of the target pest to be controlled. When *T. pretiosum* females were bred for one generation in *P. xylostella* they increased their affinity to this host. In semi-field conditions, *P. xylostella* parasitism was low, as compared to the results obtained in laboratory conditions. However, it was possible to establish that it is necessary to breed *T. pretiosum* for two generations in *P. xylostella* for recognition, acceptance and parasitism towards this host to exist. The effect of the interaction of commercial bioinsecticides formulated with Bt and TP8 were not entirely clarified. In semi-field conditions, the results indicated that it is possible to use commercial Bt formulated together with inundative releases TP8, which did not occur in laboratory conditions. The results allow us to propose a new protocol rearing *Trichogramma pretiosum* with a new methodology host handling eggs, in order to break the associative conditioning of this kind to their hosts and improve its control efficiency in the field. A priori it is expected that this method of breeding can be replicated to other species of parasitoids, to this new studies are needed.

Keywords:Preference, conditioning, *Trichogramma*, breeding, hosts

1. INTRODUÇÃO

No mundo ocorrem muitas espécies-praga em brassicáceas que causam perdas significativas na produção. Ahuja, Rohloff e Bones (2010) citaram 26 espécies de insetos associadas à brassicáceas cultivadas no mundo, dentre as quais se destaca as pertencentes à ordem Lepidoptera. Existe consenso de que a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae), é a praga mais importante no mundo, tendo custos associados a perdas diretas e controle de quatro a cinco bilhões de dólares por ano (ZALUCHI et al., 2012).

O método de controle mais utilizado para a redução populacional de *P. xylostella* é o químico (CASTELO-BRANCO; MELO, 2002; DIAS; SOARES; MONNERAT, 2004). Com relação a este método de controle, Dias, Soares e Monnerat (2004) citaram a realização de até dezesseis aplicações por cultivo. O uso abusivo de inseticidas sintéticos por parte dos agricultores, o alto nível de seleção e a alta fecundidade da *P. xylostella* ocasionaram a ocorrência de resistência a 91 compostos inseticidas (MICHIGAN STATE UNIVERSITY, 2014), incluindo toxinas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (YOU et al., 2013).

Em resposta ao surgimento de populações resistentes a inseticidas, uma opção é a incorporação de outras táticas nos sistemas de manejo, como o controle biológico, baseado na utilização combinada de dois ou mais agentes de controle (IDRIS; GRAFIUS, 1998; VANDEMBERG et al., 1998; BARROS; VENDRAMIM, 1999). O emprego combinado dos agentes de controle biológico *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis*, surge como alternativa para o controle desta praga (MEDEIROS et al., 2006).

No entanto, a atual metodologia de criação massal de trichogramatídeos, baseada na produção por sucessivas gerações em hospedeiros diferentes daqueles que são alvos de controle em campo, pode favorecer a preferência ou afinidade pelo hospedeiro de criação. Tal fato prejudica a eficiência desses inimigos naturais, por

perder ou ter dificultada a sua capacidade de busca e localização da praga-alvo, o que pode resultar em problemas na eficiência de controle da praga em campo.

É de vital importância fazer estudos para entender o condicionamento ou aprendizagem associativo, com ênfase em se estabelecer metodologias que permitam aumentar a aceitação dos hospedeiros alvo em campo, assim como também seu desempenho em aplicações conjuntas com bioinseticidas com base em toxinas de *B. thuringiensis*.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a biologia, parasitismo e comportamento de seleção hospedeira de *T. pretiosum* criado por sucessivas gerações em ovos do hospedeiro alternativo *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) e do hospedeiro natural *P. xylostella*, além de verificar seu desempenho no controle de *P. xylostella* com exposição a *B. thuringiensis*.

2.2 Específicos

- Determinar a preferência de *T. pretiosum* criado alternando-se a espécie do hospedeiro ao longo das gerações.
- Avaliar o desempenho de *T. pretiosum* parasitando ovos de *P. xylostella* em plantas de repolho após aplicação de *B. thuringiensis*, em condições de laboratório e semicampo.
- Estabelecer um protocolo para criações massais de *T. pretiosum* para controle da *P. xylostella* em campo.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Biologia e desenvolvimento de *Plutella xylostella*

Plutella xylostella é considerada praga secundária de brassicáceas e teve seu “status” elevado para praga-primária devido, principalmente, ao uso indiscriminado de inseticidas sintéticos de amplo espectro (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013). Este fato colocou a espécie em segundo lugar na lista dos artrópodes com maior número de registros de resistência a agrotóxicos (91 registros), lista liderada pelo ácaro fitófago *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae), com 92 registros (MICHIGAN STATE UNIVERSITY, 2014).

Plutella xylostella é considerada um fitófago especialista pois requer para sua alimentação e oviposição estímulos químicos específicos procedentes, por exemplo, de glucosinolatos ou isotiocianatos presentes apenas em brassicáceas, com as quais tem coevoluído (YOU et al., 2012; FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013). Esta especialização levou a Renwick (2002) a denominar *P. xylostella* e outros lepidópteros associados a espécies de *Brassica* como crucívoros.

As fêmeas são muito férteis e podem depositar até 350 ovos durante o seu ciclo de vida; o período de desenvolvimento ovo-adulto depende da temperatura ambiente: a 15°C o ciclo dura 34 dias e, a 35°C, 12 dias (CASTELO BRANCO et al., 1997).

Plutella xylostella passa por quatro instares larvais, com duração dependente da temperatura. Durante o primeiro ínstar, as lagartas recém-emergidas começam a se alimentar do parênquima foliar formando galerias.

Atingido o segundo ínstar, as larvas abandonam as galerias e o hábito minador, passando a se alimentar, até o terceiro, do tecido folhar, com exceção da epiderme superior, formando “janelas” nas folhas, cobertas por uma película transparente; as lagartas de quarto ínstar se alimentam de ambos os lados das folhas (DE BORTOLI et al., 2013). Completado o quarto ínstar, a larva tece um casulo que permanece fixado à folha, onde passa para a fase de pupa.

Em áreas tropicais e subtropicais, onde ocorrem temperaturas adequadas e plantas hospedeiras ao longo de todo o ano, o ciclo completo de *P. xylostella* pode se dar em 14 dias, podendo-se registrar até 25 gerações, ou mais, durante o ano (GRZYWACZ et al., 2010).

3.2 Inimigos naturais de *Plutella xylostella*

Uma ampla gama de inimigos naturais, que inclui vírus, microsporídios, fungos entomopatogênicos, bactérias, artrópodes predadores e parasitoides é associada aos diferentes estágios de desenvolvimento de *P. xylostella* (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

No mundo há relatos de 130 espécies de parasitoides associadas a diferentes estágios de desenvolvimento de *P. xylostella* (SAFRAZ; KEDDIE; DOSDALL, 2005).

No entanto, nem todos são eficazes na redução populacional da praga. Os principais parasitoides pertencem aos gêneros *Diadegma* Förster (Hymenoptera, Ichneumonidae) (9 espécies); *Microplitis* Foerster (Hymenoptera, Braconidae) (2 espécies); *Cotesia* Cameron (Hymenoptera, Braconidae) (1 espécie); *Oomyzus* Rondani (Hymenoptera, Eulophidae) (1 espécie); *Diadromus* Wesmael (Hymenoptera, Ichneumonidae) (2 espécies) (SAFRAZ; KEDDIE; DOSDALL, 2005).

Muitas espécies de *Trichogramma* Westwood e *Trichogrammatoidea* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram relatadas parasitando naturalmente ovos de *P. xylostella* em diferentes regiões do mundo (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

3.3 Controle biológico de *Plutella xylostella* com *Trichogramma pretiosum*

Trichogrammatidae é uma das 23 famílias atualmente agrupadas na superfamília Chalcidoidea. É representada por 89 gêneros e mais de 800 espécies distribuídas no mundo (QUERINO; ZUCCHI; PINTO, 2010). As espécies de *Trichogramma* são endoparasitoides solitários ou gregários, oófagos, idiobiontes e sinovigênicos (PINTO, 1997; QUERINO; ZUCCHI; PINTO, 2010; BOIVIN, 2010). Algumas espécies de *Trichogramma* tem um grupo restrito de hospedeiros, outros são polípagos, com hospedeiros em diversas ordens como Hemiptera, Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Neuroptera (PINTO, 1997; QUERINO; ZUCCHI; PINTO, 2010). Pinto (2006) relatou a existência de 210 espécies de *Trichogramma* no mundo, distribuídas em seis regiões biogeográficas, dentre as quais 60 espécies na América do Norte, 22 na América Central e 41 na América do Sul.

Até 1995 registraram-se vários estudos associados ao desenvolvimento pré-imaginal desse parasitoide, contudo, eram contraditórios a respeito do número de instares larvais, sendo citados um, três, quatro e até cinco (PAK; OATMAN, 1982; VOLKOFF et al., 1995; CÔNSOLI; PARRA, 1999).

Volkoff et al. (1995) estudaram o período embrionário e determinaram que *T. cacoeciae* Marchal apresenta apenas um instar larval. Cônsoli e Parra (1999) estudaram *T. pretiosum* e *T. galloi* Zucchi e corroboraram a informação de Volkoff et al. (1995).

Em relação ao tempo de desenvolvimento (período de ovo até pupa) de *T. galloi* e *T. pretiosum*, Cônsoli e Parra (1999) determinaram a duração de 10,5 e 10,4 dias, respectivamente.

A importância econômica de Trichogrammatidae se deve quase inteiramente ao gênero *Trichogramma* (QUERINO; ZUCCHI; PINTO, 2010), que inclui espécies parasitoides de ovos de lepidópteros, algumas das quais com importância econômica para a agricultura. Espécies de *Trichogramma* são usadas em programas de controle biológico em mais de 30 países para o combate de 20 espécies-praga (PARRA, 2010).

Antecedentes sobre a utilização de espécies de *Trichogramma* em programas de controle biológico aplicado, em termos mundiais, variam de acordo com diversos autores (cite algumas referências); contudo se estima que tais parasitoides são liberados em, ao menos, 32 milhões de hectares de culturas agrícolas e florestais (LI, 1994).

No Brasil, a utilização de espécies de *Trichogramma* para o controle de pragas agrícolas encontra-se em constante aumento devido ao incremento na oferta destes parasitoides por parte de laboratórios especializados, assim como por sua maior aceitação. Em 2012, *T. galloi* e *T. pretiosum* foram liberados em cerca de 548 mil hectares, dos quais cerca de 515 mil hectares correspondem à cana-de-açúcar onde *T. galloi* foi utilizado para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) (referência).

Na cultura do milho, *T. pretiosum* foi liberado em cerca de 20 mil hectares para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e *D. saccharalis*, a última também de ocorrência comum em milho (referência). *T. pretiosum* é empregado em cerca de três mil hectares de plantio de tomate para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) (referência). *Trichogramma pretiosum* também é utilizado em aproximadamente 10 mil hectares de lavouras de soja para o controle de ovos de noctuideos desfoliadores (PARRA, 2010; VASCONCELOS, 2012).

A utilização de parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* pode ser uma alternativa no controle *P. xylostella* pelo fato de aqueles parasitoides terem ampla distribuição geográfica, ocupando os mesmos habitats da praga-alvo (PARRA; ZUCCHI, 2004), além existir registro de parasitismo natural em campo (WÜHRER; HASSAN, 1993; VASQUEZ et al., 1997; KRNJAJIC et al., 1997; TABONE et al., 1999).

Várias espécies de *Trichogramma* foram mencionadas como eficientes em relação ao seu potencial uso no controle de *P. xylostella* em diversos países, tais como: *T. ostriniae* Pang et Chen, *T. chilonis* Ishii e *T. pintoi* Voegelé na Alemanha (WÜHRER; HASSAN, 1993); *T. pretiosum* e *T. minutum* Riley, nos EUA (VASQUEZ et al., 1997); *T. evanescens* Westwood na Jugoslavia (KRNJAJIC et al., 1997); *T.*

voegelei Pintureau, *T. oleae* Voegelé & Pointel, *T. dendrolimi* Matsumura, *T. exiguum* Pinto & Platner, *T. chilonis*, *T. buesi* Voegelé, *T. ostrinae* e *T. pretiosum* na França (TABONE et al., 1999).

Dentre as espécies de *Trichogramma*, *T. pretiosum* é a mais amplamente distribuída e polífaga (PINTO, 1997). Li-Ying (1994) relata o parasitismo natural de ovos de *Alabama argillacea* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Diatraea* Guilding (Lepidoptera: Crambidae), *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Keiferia lycopersicella* (Walshingham) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), dentre outras.

Oatman e Platner (1969) registraram pela primeira vez *T. pretiosum* como parasitoide de ovos de *P. xylostella* na Califórnia, EUA. Na América do Sul, o Brasil é o único país com registro de *T. pretiosum* parasitando naturalmente ovos de *P. xylostella* (ZUCCHI; MONTEIRO, 1997).

Pratissoli et al. (2004) constataram que *T. pretiosum* se adaptou melhor à traça-das-crucíferas com temperaturas entre 25 e 30 °C, faixa térmica onde demonstrou maior nível de parasitismo, com potencial para utilização em programas de controle biológico de *P. xylostella* em localidades com essa condição climática.

Contudo, deve-se salientar que variações intraespecíficas podem gerar modificações na aceitação de *P. xylostella* entre as distintas linhagens de *T. pretiosum*, muito embora esta espécie seja citada como parasitoide de *P. xylostella*.

Estudos sobre os mecanismos associados à seleção hospedeira devem ser feitos com as espécies/linhagens de *T. pretiosum* para evitar insucessos no controle biológico aplicado.

3.4 Busca, aceitação e preferência hospedeira por *Trichogramma*

Por serem parasitoides polípagos, espécies de *Trichogramma* reconhecem uma grande variedade de sinais procedentes de seu amplo grupo de hospedeiros. Esta adaptação compensa sua limitada capacidade de dispersão em campo e

favorece maior eficiência no processo de busca, devido ao curto tempo em que os ovos hospedeiros estão disponíveis e com a qualidade necessária para o bom desenvolvimento de seus descendentes (COLAZZA et al., 2010).

O processo de seleção hospedeira, segundo Fatouros et al. (2004), é dividido em três etapas: 1) localização do habitat do hospedeiro; 2) localização do hospedeiro e, 3) aceitação do hospedeiro. Durante este complexo processo o inseto é guiado por uma cadeia de sinais que incluem fatores físicos e químicos derivados do primeiro e do segundo nível trófico que promovem a elicitación no curto e no longo alcance (KAISER; PHAM-DELEGUE; MASSON, 1989).

Dentre os fatores físicos utilizados pelas fêmeas como fatores de seleção hospedeira podem ser citados o tamanho, estrutura, espessura e cor do córion do ovo hospedeiro (SCHMIDT, SMITH, 1985a; LOBDELL; YONG; HOFFMANN, 2005; PLUKE; LEIBEE, 2006; VINSON, 2010).

Em relação ao tamanho dos ovos hospedeiros tem sido demonstrado que a qualidade das fêmeas de *Trichogramma* depende da correta disposição de nutrientes nas etapas pré-imaginais (SCHMIDT; SMITH, 1985a), existindo forte correlação entre o tamanho do ovo hospedeiro e a emergência de fêmeas com bom desempenho para o parasitismo. Isto tem maior relevância pelo fato de que *Trichogramma* é um parasitoide com desenvolvimento solitário ou gregário, com mais de um indivíduo se desenvolvendo num mesmo ovo hospedeiro neste último caso (PINTO, 1997).

Desta forma, não surpreende o fato de que as fêmeas de *Trichogramma* tenham a capacidade de selecionar seus hospedeiros através da avaliação do tamanho ou volume dos ovos, ainda que existam outros fatores envolvidos na decisão da fêmea em ovipositar.

A esse respeito, Schmidt (1994) afirmou que o tamanho do hospedeiro é um fator crítico no processo de aceitação hospedeira e inferiu que, em geral, a maioria das espécies de *Trichogramma* tem tendência a preferir ovos hospedeiros de tamanho médio a grande, citando como valores de referência 0,8 a 1,8 mm.

Outro fator físico envolvido no processo de seleção ou aceitação hospedeira de *Trichogramma* tem relação com a estrutura do córion. O córion tem como função primária a proteção do embrião contra adversidades das condições ambientais, a

saber: umidade, mudanças na temperatura e também contra condições biológicas adversas, como infecção por bactérias, fungos, predadores e parasitoides (VINSON, 2010 *apud* MARGARITIS, 1985).

Com relação à estrutura do córion, estudos desenvolvidos por Pak et al. (1990) com *Trichogramma brassicae* Bezdenko, utilizando como hospedeiros *Mamestra brassicae* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Pieris brassicae* (L.) (Lepidoptera: Pieridae), comprovaram a existência de diferenças estruturais entre os ovos das duas espécies de Lepidoptera, e também na resistência à dessecação. Assim, os autores concluíram que a estrutura do ovo hospedeiro teve influência direta no reduzido sucesso de *T. brassicae* desenvolvido em *P. brassicae*, cujo córion mostrou-se mais susceptível à dessecação.

A espessura do córion do hospedeiro é fator estreitamente inter-relacionado com o processo de oviposição de *Trichogramma*: muitas espécies têm dificuldade na penetração do córion quando este apresenta espessura de cerca de 20 µm (SCHMIDT, 1994 *apud* QUEDNAU, 1955). Fêmeas de *Trichogramma* podem determinar a espessura dos ovos hospedeiros através das sensílias campaniformes presentes no ovipositor (SCHMIDT, 1994), o que as permitem rejeitar ovos com espessuras que comprometem sua habilidade de penetração.

Lobdell; Yong e Hoffmann (2005) estudaram a importância da cor do ovo hospedeiro para *T. ostrinae* (Peng & Chen) com modelos de ovos confeccionados com argilas de diferentes cores e observaram a seguinte sequência de preferência de cores: amarelo > branco > verde > preto. Segundo tais autores, a maior preferência pelos modelos de cores amarela e branco se correlaciona perfeitamente com as cores dos ovos de seu hospedeiro preferido, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae). Os autores também afirmaram que fêmeas de *T. ostrinae* possivelmente associam a cor preta a ovos já parasitados; ou seja, *Trichogramma* pode, potencialmente, utilizar a cor dos ovos para obter informação relevante do hospedeiro.

Com relação aos fatores químicos podem ser citadas as presenças de feromônios e aleloquímicos (sinomônios e cairomônios) (VINSON, 2010). Hoedjes et al. (2010) demonstraram que tanto a descoberta quanto a preferência dos hospedeiros *Pieris rapae* Linnaeus e *P. brassicae* Linnaeus (Lepidoptera: Pieridae)

por *T. brassicae* Bezdenko e *T. evanescens* Westwood estão associados ao complexo processo de reconhecimento dos feromônios liberados pelas fêmeas pós-cópula. Tais autores demonstraram que tanto *T. brassicae* quanto *T. evanescens* têm a capacidade de aprender a reconhecer tais feromônios através do armazenamento da informação, o que evidencia que estes parasitoides podem memorizar certos processos e componentes químicos (HUIGENS et al., 2009; KRUIDOF et al., 2012).

Nos sistemas tri-tróficos (planta-herbívoros-parasitoides), geralmente os estudos estão relacionados com os voláteis induzidos pela herbivoria causando atratividade dos parasitoides. Contudo, as plantas também respondem à oviposição dos herbívoros ativando estratégias de defesa anti-herbivoria (FATOUROS et al., 2004).

Colazza et al. (2010) relataram que a deposição dos ovos em Lepidoptera pode determinar mudanças na emissão de voláteis pela planta, e conseqüentemente induzindo sinomônios-hospedeiros para os parasitoides de ovos, geralmente associados a secreções da glândula acessória das fêmeas. Fatouros et al. (2004) afirmaram que *P. brassicae* induz mudanças na superfície química de plantas de couve-de-bruxelas quando do processo de deposição de ovos e que tais substâncias atuam como atraentes de fêmeas de *T. brassicae* após três dias da oviposição de *P. brassicae*. Outros infoquímicos de grande importância são os caimônios voláteis, que provocam respostas comportamentais positivas em *Trichogramma*. Nesse sentido, Ananthakrishnan, Senrayan e Annadurai (1991) concluíram que compostos do tipo caimônios provenientes de escamas das asas dos hospedeiros *H. armigera* e *C. cephalonica* aumentaram o nível de parasitismo exercido por *T. chilonis* (Ishii). Tais autores identificaram os hidrocarbonetos pentacosano, heptadecano, docosano e nonacosano como os compostos ativos presentes nas asas das espécies de Lepidoptera citadas, como os responsáveis pelas mudanças no comportamento de parasitismo de *T. chilonis*. Estudos similares foram desenvolvidos com os hidrocarbonetos saturados pentacosano e haxacosano, os quais também atuaram como caimônios em *T. brasiliensis* (Ashmead) e *T. exiguum* (PAUL; SINGH; SINGH, 2002).

É importante considerar também que, além dos fatores físicos e químicos que interferem no processo de busca e aceitação hospedeira, as espécies/linhagens de *Trichogramma* apresentam variações no reconhecimento e aceitação do hospedeiro

(PINTO et al., 1986;KAISER; PHAM-DELEGUE; MASSON, 1989), no comportamento de busca (localização do habitat e localização hospedeira) e na tolerância às condições ambientais (HASSAN; GUO, 1991; WÜHRER; HASSAN, 1993). Tais espécies/linhagens dependem ainda da qualidade do hospedeiro para o seu desenvolvimento, sendo que seu ciclo de vida pode ser alterado em função do tipo de hospedeiro (SCHMIDT; SMITH, 1985b).

3.5 Interação *Trichogramma pretiosum* - *Bacillus thuringiensis* para o controle de *Plutella xylostella*

Bacillus thuringiensis foi durante aproximadamente 20 anos, a única alternativa biológica disponível no mercado em substituição aos inseticidas sintéticos para o controle de *P. xylostella* e muitas populações no mundo desenvolveram resistência às toxinas inseticidas deste entomopatógeno (SCHROER; SULISTYANTO; EHLERS, 2005). Segundo Ballester et al. (1999), *P. xylostella* foi o primeiro inseto a expressar resistência a *B. thuringiensis*.

Os mecanismos de resistência envolvidos em *P. xylostella* foram estudados durante os últimos anos por numerosos grupos de pesquisadores no mundo e são hoje relativamente bem conhecidos, particularmente devido a ajuda da engenharia genética (YAMAZAKI et al., 2011). Tais avanços permitiram que, junto com a descoberta de novas cepas de *B. thuringiensis* com alta toxicidade a *P. xylostella*, esta bactéria seja uma alternativa importante para o controle biológico desta praga no Brasil e no restante do mundo.

Thaphan, Keawsompong e Chanpaisaeng (2011) encontraram isolados com alta toxicidade para *P. xylostella*, além de apresentar tolerância a raios UV. Isto permitiu contar com material de maior persistência no campo e de alta efetividade no controle de *P. xylostella*.

De Bortoli et al. (2012) afirmaram que o controle de *P. xylostella* deve ser feito por meio de um programa de manejo integrado, onde o controle biológico, tanto natural quanto aplicado, por meio de liberações de inimigos naturais e agentes

entomopatogênicos, representa uma das estratégias empregadas. As interações de dois ou mais agentes de controle biológico aumentam a probabilidade de reduzir as populações de insetos-praga, mantendo o equilíbrio dos agroecossistemas. Assim, há a necessidade de estudar tais interações de forma a determinar as condições para que os agentes biológicos sejam complementares e não apresentem interações negativas, visando aumentar a probabilidade de controle da praga-alvo.

A traça-das-crucíferas é uma praga de ciclo curto e alto potencial biótico (DE BORTOLI et al., 2011) e é muito comum se encontrar concomitantemente em campo fases diferentes de desenvolvimento do inseto. Neste contexto, a utilização conjunta de *T. pretiosum* e *B. thuringiensis* irá possibilitar o controle tanto de ovos quanto de lagartas da praga.

A utilização de *B. thuringiensis* é comum em programas de manejo integrado de pragas como, por exemplo, na cultura de tomate no México, Colômbia e Brasil (PRATISSOLI et al., 2006). Embora os possíveis efeitos prejudiciais dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* sobre os inimigos naturais devam ser, necessariamente, estudados (PRATISSOLI et al., 2006).

Os conhecimentos sobre a interação entre *T. pretiosum*-*B. thuringiensis* e *P. xylostella* ainda são incipientes no Brasil. Estudos percussores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes de controle biológico em programas de manejo integrado de pragas, porém avaliações detalhadas dessa interação não foram registradas (SANTOS et al., 2011).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Métodos gerais

Para o desenvolvimento dos estudos biológicos foram utilizados *T. pretiosum* linhagem Tp-8, que se caracteriza por apresentar reprodução partenogenética telítoca. Os insetos foram mantidos no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos

(LBCI) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, em Jaboticabal, SP, por cinquenta gerações em sala de criação com controle de temperatura e umidade (25 ± 1 °C, $70\pm 10\%$ U.R. e 16L: 8E de fotoperíodo (Figura 1). A população de *T. pretiosum* linhagem Tp8 é oriunda do Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Espírito Santo (LE-CCA/UFES) e foi obtida a partir de ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de tomate, no município de Conceição do Castelo, ES, Brasil.



Figura 1. Tubos de criação de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, em Jaboticabal, SP.

Para os testes foram utilizados os hospedeiros *Corcyra cephalonica* Station como hospedeiro alternativo e *Plutella xylostella* Linnaeus como hospedeiro preferido. Ambas espécies formam parte da coleção viva de insetos do Laboratório de Biologia e Criação de insetos (LBCI) na Universidade Estadual Paulista “Julho de Mesquita Filho”.

Os ovos foram fotografados por câmera digital acoplada ao estereocópio. As fotos foram transferidas para o computador e as medidas efetuadas com o auxílio do software Moticam 2.0 (Figura 2).

O volume dos ovos foi calculado através da fórmula $V = 4/3\pi r^3$, onde “V” é o volume estimado e “r” o raio que corresponde à metade do diâmetro.

Os ovos de *C. cephalonica* tiveram o volume estimado de $0,031 \text{ mm}^3$, enquanto os ovos de *P. xylostella* tiveram um volume de $0,018 \text{ mm}^3$.

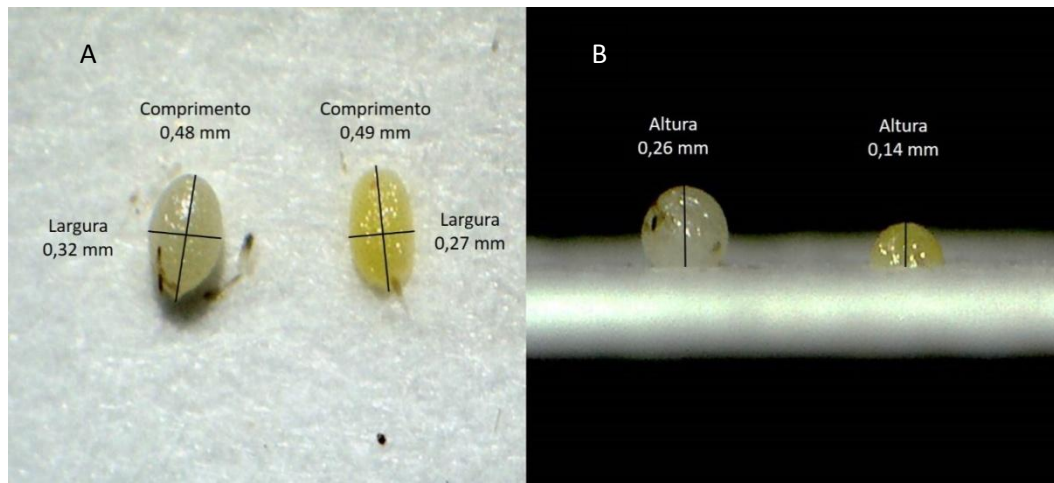


Figura 2. Medição de ovos hospedeiros, (A) vista superior; (B) vista lateral

4.2 Testes para avaliar a influência da manipulação de ovos hospedeiros na aceitação e preferência por *Trichogrammapretiosum*

Duas metodologias foram testadas, uma com a remoção dos ovos do substrato de deposição proposta por Thuler et al. (2008) e uma nova metodologia sem a remoção de ovos do substrato aqui proposta.

4.2.1 Metodologia com remoção de ovos

Para a criação de *P. xylostella* foi utilizada a metodologia proposta por Barros (1998) (Figura 3). Ovos de *P. xylostella* foram obtidos pela liberação de 30 casais

recém-emergidos em recipientes de criação com dimensões de 15 cm de altura e 13 cm de diâmetro. No interior do recipiente foi disposto um disco folhar de couve de 8 cm de diâmetro como substrato para oviposição. O disco folhar foi disposto sobre um disco de papel filtro de 9 cm, umedecido colocado sobre o fundo de um copo plástico de 250 ml, posicionado com a abertura para baixo, sobre a tampa rosqueável do recipiente de criação, pois o mesmo também foi posicionado com o fundo para cima. No fundo do recipiente (mantido para cima), foi aberto um orifício com o diâmetro de um tubo de ensaio de fundo chato (cerca de 2 cm) para a liberação dos casais, sendo o mesmo mantido fechado por um pedaço de espuma. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, embebida numa esponja presa na parte superior da gaiola.

Após de 24 h de liberados os casais, e seguindo a metodologia proposta por Thuler et al. (2008), os ovos de *P. xylostella* foram coletados de os discos foliares com o auxílio de um pincel levemente umedecidos, e colados com goma arábica a 35%, em cartelas de cartolina azul celeste de 0,4 x 2,0 cm.



Figura 3. Recipiente para cópula e oviposição de *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae).

4.2.2 Metodologia sem remoção de ovos

Vinte adultos de *P. xylostella*(10 machos e 10 fêmeas) foram dispostas em tubos de vidro de 2 cm de diâmetro e 8 cm de altura, recobertos internamente por

papel filtro; em uma das extremidades do papel foi disposta uma gotícula de mel a 10% para alimentação dos adultos (Figura 4).

Após 24 h desde a emergência e cópula dos adultos, o papel filtro com as posturas foi removido e cortado de forma a deixar 30 ovos por cartela.

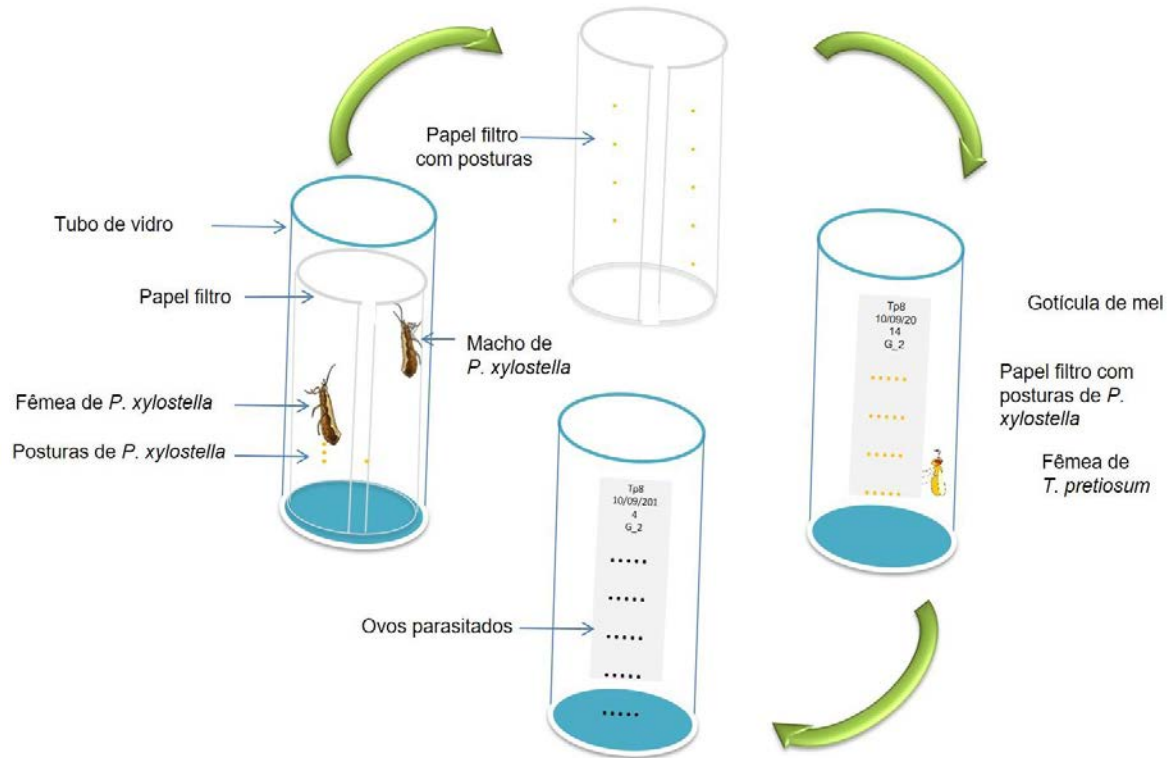


Figura 4. Metodologia para obtenção de ovos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) sem remoção do substrato de deposição.

Os ovos obtidos nas metodologias acima citadas foram utilizados em testes de dupla chance de escolha para determinar a influência da manipulação dos ovos no parasitismo por *T. pretiosum*. Para isto foi utilizada uma adaptação da metodologia proposta por Wührer e Hassan (1993) para estudos de aceitação/parasitismo, com as seguintes modificações. Os ovos de *P. xylostella* oferecidos na arena experimental não foram colados com goma arábica, sendo só utilizados ovos dispostos no mesmo substrato de deposição. As arenas experimentais utilizadas foram em placas de Petri, sendo que Wührer e Hassan (1993) que utilizaram tubos de vidro.

A arena experimental foi constituída por uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro coberto o fundo internamente com papel filtro. Quatro cartelas contendo 30 ovos de *P. xylostella* obtidos nas metodologias com e sem remoção do substrato de deposição foram distribuídas de forma alternada na arena (Figura 5).

Em cada arena experimental foi liberada uma fêmea de *T. pretiosum* de 24 h de idade, expondo os ovos ao parasitismo por um período de 24 horas, após o que a fêmea foi retirada e as cartelas transferidas de forma isolada a tubos de vidro para avaliar a porcentagem de parasitismo (calculado através da fórmula [número de ovos pretos/número total de ovos]*100) e emergência (calculado através da fórmula [número de ovos pretos com orifícios de emergência de *Trichogramma*/número total de ovos]*100).

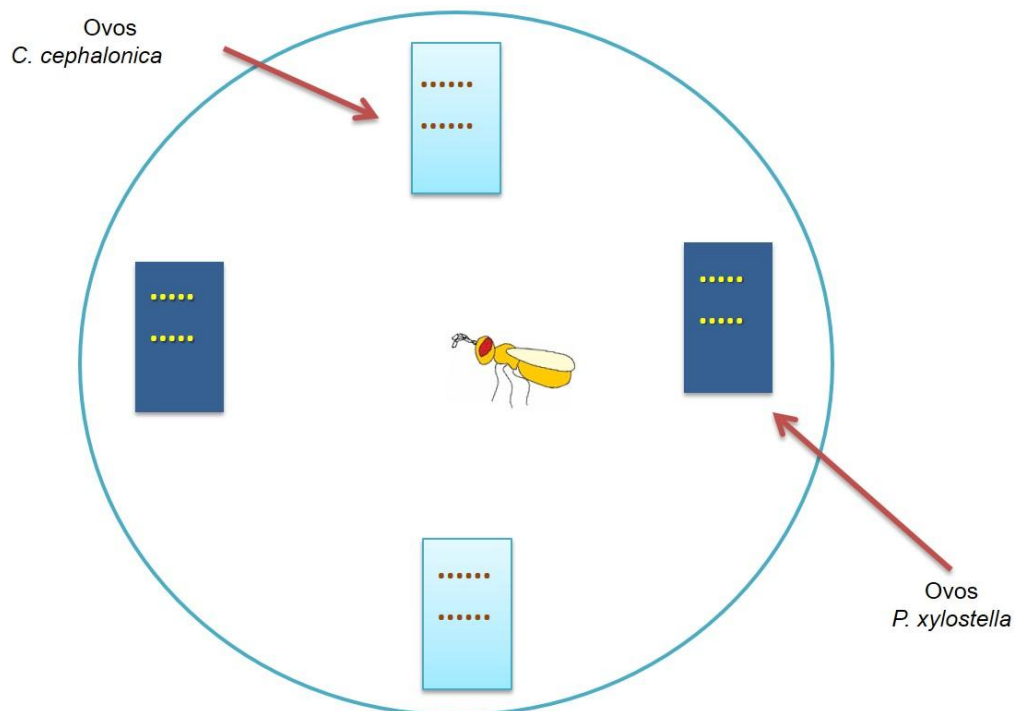


Figura 5. Testes de dupla chance de escolha para avaliar o efeito da manipulação dos ovos hospedeiros no parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

O bioensaio foi executado em condições ambientais controladas a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de UR, e desenvolvido em delineamento experimental inteiramente casualizado com dez repetições sendo cada areia experimental uma repetição.

4.3 Testes após alternância de hospedeiros

Para a avaliação das taxas de parasitismo e emergência de *T. pretiosum*, após a alternância de hospedeiros, foram avaliados os testes expostos a seguir.

4.3.1 Testes com alternância de hospedeiros ao longo das gerações

Foram testados dois tratamentos para avaliar porcentagem de parasitismo e emergência de *T. pretiosum* sobre ovos de *P. xylostella* após serem criadas por 1 até 5 gerações nos hospedeiros *P. xylostella* (tratamento 1) e *C. cephalonica* (tratamento 2). As fêmeas de *T. pretiosum* utilizadas em ambos tratamentos foram obtidas da criação massal do LBCI e criadas por 50 gerações consecutivas no hospedeiro *C. cephalonica*.

Para a criação do parasitoide em *P. xylostella* 10 fêmeas e 10 machos foram introduzidas no interior de tubos de vidro de fundo chato de 8 cm de altura × 2 cm de diâmetro recoberto internamente por papel filtro onde se adicionou uma gotícula de mel a 10% para alimentação dos adultos. Passadas 24 h do acasalamento dos adultos do hospedeiro, o papel filtro com as posturas foi removido e cortado com tesoura de forma a conter 30 ovos.

A cartela de papel filtro contendo ovos de *P. xylostella* foi introduzida em tubos vidros de fundo chato de 8 cm de altura × 2 cm de diâmetro. Em seu interior se adicionou uma gotícula de mel a 10% para alimentação e se introduziu uma fêmea de *T. pretiosum* que permaneceu em seu interior por 24 horas, após o que foi retirada do tubo.

Para a criação do parasitoide em *C. cephalonica*, 30 ovos do hospedeiro foram colados em cartelas de cartolina azul celeste de 0,4 cm × 2,0 cm com solução de goma arábica a 35% de concentração (v/v) com a ajuda de pincel fino. As cartelas foram introduzidas no interior de tubos de vidro de fundo chato de 8 cm de altura × 2 cm de diâmetro onde se adicionou uma gotícula de mel a 10% para alimentação dos adultos. Em cada tubo foi introduzida uma fêmea de *T. pretiosum*.

Os tubos de vidro foram fechados com filme plástico de PVC. Transcorridas 24 h a fêmea foi retirada do tubo.

Neste bioensaio foi empregando o delineamento experimental inteiramente casualizado, com vinte repetições.

O bioensaio foi desenvolvido em condições ambientais controladas a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de UR e, nove dias após, foram avaliadas a porcentagem de parasitismo através da fórmula $[(\text{número de ovos pretos/número de ovos totales}) \cdot 100]$ e a emergência através da fórmula $[(\text{número de ovos com orifícios de emergência de } T. \textit{pretiosum}/\text{número de ovos totales}) \cdot 100]$

4.3.2 Testes de preferência de *Trichogramma pretiosum* com o avanço das gerações

Os testes foram realizados uma vez que as fêmeas de cada tratamento passo por 1 até 5 gerações em cada um dos hospedeiros em estudo, com o objetivo de determinar possíveis mudanças na preferência hospedeira de *T. pretiosum* após experiência prévia com o hospedeiro parental.

Os bioensaios foram desenvolvidos em condições ambientais controladas a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de UR. Para sua realização foram utilizados os testes com e sem chance de escolha descritos a seguir.

4.3.2.1 Testes com chance de escolha

A arena experimental foi constituída por placa de Petri de 15 cm de diâmetro cujo fundo foi recoberto por círculo de papel filtro nº 1. Sobre o papel foram dispostas nas extremidades da arena, duas cartelas contendo 30 ovos em cada uma, de 24 h de idade previamente inviabilizados em lâmpada germicida por 45 minutos segundo protocolo de Stein e Parra (1987). Os ovos de *C. cephalonica* foram colados em cartelas de cartolina azul celeste de 0,4 cm × 2,0 cm com solução de

goma arábica a 35% de concentração (v/v) com a ajuda de pincel fino. Os ovos de *P. xylostella* foram obtidos por meio da oviposição direta em papel filtro, segundo metodologia descrita no item 4.2.2.

Nas arenas, quatro cartelas foram distribuídas de forma alternada, de modo que cartelas com ovos de um mesmo hospedeiro não ficassem lado a lado.

Em cada arena experimental foi liberada uma fêmea de *T. pretiosum* linhagem Tp8 de 24 h de idade. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24 horas após o que a fêmea foi retirada e as cartelas transferidas e individualizadas em tubos de vidro de fundo chato de 8 cm de altura × 2 cm de diâmetro para avaliação de parasitismo e emergência.

Após a introdução do parasitoide, as arenas foram monitoradas a cada cinco minutos por um período de 60 minutos. Foi observada a posição da fêmea de *T. pretiosum* - ovo de *P. xylostella*; ovo de *C. cephalonica*; papel filtro; vidro ou mel - com a finalidade de quantificar o número de contatos com os ovos hospedeiros.

4.3.2.2 Testes sem chance de escolha

Para cada uma das espécies hospedeiras, *C. cephalonica* e *P. xylostella*, foram montadas vinte arenas experimentais. Cada arena foi constituída de uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro cujo fundo foi recoberto por um círculo de papel filtro nº 1 sobre o qual eram dispostas quatro cartelas com 30 ovos de 24 h, previamente inviabilizados por radiação UV.

Os ovos de *C. cephalonica* foram colados em cartelas de cartolina azul celeste de 0,4 cm × 2,0 cm com solução de goma arábica a 35% de concentração (v/v) com a ajuda de pincel fino. Os ovos de *P. xylostella* foram obtidos por meio da oviposição direta em papel filtro, segundo metodologia descrita no item 4.2.2.

Os bioensaios foram desenvolvidos em condições ambientais controladas a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e $65 \pm 5\%$ de UR.

Os ovos de *P. xylostella* oferecidos na arena experimental não foram colados com goma arábica, sendo só utilizados ovos dispostos no mesmo substrato de deposição.

Em cada arena experimental foi liberada uma fêmea de *T. pretiosum* da linhagem Tp8, de 24 h de idade. Os ovos foram expostos ao parasitismo por 24 h após o que a fêmea foi retirada e as cartelas transferidas uma a uma isoladamente para tubos vidros de fundo chato de 8 cm de altura × 2 cm de diâmetro para avaliação de parasitismo e emergência.

O bioensaio foi desenvolvido empregando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado.

4.3.3 Testes de desempenho de *Trichogramma pretiosum* no controle de *Plutella xylostella* em casa de vegetação após ao avanço das gerações

Foram testados dois tratamentos para avaliar a porcentagem de parasitismo e emergência de *T. pretiosum* tp8 sobre ovos de *P. xylostella* em condições de casa-de-vegetação, após serem criadas por 1 até 5 gerações nos hospedeiros *P. xylostella* (tratamento 1) e *C. cephalonica* (tratamento 2). Cada tratamento foi replicado 10 vezes, através de delineamento experimental inteiramente casualizado. Cada unidade experimental foi constituída por uma planta de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata – cv. Chato de Quintal) com 60 dias pós plantio das mudas, cultivada em vaso plástico de 10 cm × 10 cm × 10 cm contendo mistura de uma parte de areia, duas de solo e uma de substrato vegetal para hortaliças. Cada planta foi coberta por gaiola de tecido tipo *voil* de 1 m × 1 m × 1 m, sustentada por armação de ferro (Figura 6).

Em cada tratamento foram liberados quatro casais de *P. xylostella* por planta, dentro de uma gaiola de reclusão feita com plástico e tecido *voil*, colocada em uma de suas folhas (Figura 6), por um período de 24 h para que as fêmeas realizassem as posturas. Após esse período foram retiradas as gaiolas contendo os casais de *P. xylostella* para proceder à liberação de uma fêmea de *T. pretiosum* linhagem Tp-8

recém-emergida (menos de 24 h de idade), sendo mantida por um período de 24 h. Após esse período as folhas com as posturas foram removidas e levadas ao laboratório onde os ovos de *P. xylostella* foram incubados em câmara climatizada (temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ de UR e fotofase de 12 horas). Após a emergência dos adultos de *T. pretiosum* foram avaliadas as porcentagens de parasitismo (calculado através da fórmula $[\text{número de ovos pretos/número total de ovos}] * 100$) e emergência (calculado através da fórmula $[\text{número de ovos pretos com orifícios de emergência de Trichogramma/número total de ovos}] * 100$).

As fêmeas de *T. pretiosum* utilizadas nas avaliações foram criadas por meio da metodologia de oviposição direta no hospedeiro natural (item 4.2.2.) para a obtenção de descendentes.



Figura 6. Unidades experimentais em casa de vegetação e Gaiolas de reclusão com adultos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) para posturas dirigidas.

4.3.4 Testes de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* após aplicação de *Bacillus thuringiensis*

Foram desenvolvidos dois testes para avaliar a influência de bioinseticidas comerciais à base de *B. thuringiensis* no desempenho de *T. pretiosum*, em condições de laboratório e casa-de-vegetação.

4.3.4.1 Testes de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* após aplicação de *Bacillus thuringiensis* em condições de laboratório

Para o ensaio foram disponibilizados 30 ovos de *P. xylostella*, com até 24 h de idade, para cada fêmea do parasitoide.

Os ovos foram colados em cartelas de cartolina azul celeste de 8,0 cm × 2,0 cm com auxílio de pincel umedecido em água destilada. Após a secagem, os ovos foram mergulhados por 5 segundos nos produtos Bac-Control WP (*Bacillus thuringiensis* subesp. *aizawai*) e Dipel WG (*Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki*), nas doses recomendadas pelos fabricantes (0,15 g/250 ml de água e 0,28 g/250 ml de água, respectivamente) (Figura 8). No tratamento controle as cartelas com ovos foram mergulhadas em água destilada.

Foram individualizadas fêmeas recém-emergidas de *T. pretiosum* linhagem Tp-8 com menos de 24 h de idade, procedentes da criação em *C. cephalonica* foram individualizadas. O parasitismo em ovos de *P. xylostella* foi permitido por 24 h após o que as cartelas foram retiradas, colocadas em tubos de ensaio de 8,5 cm × 2,5 cm fechados com filme plástico PVC e acondicionados em sala climatizada a 24 ± 2 °C, $65 \pm 5\%$ UR e fotofase de 12 h.



Figura 8. Imersão de cartelas contendo ovos de *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae) em solução de bioinseticidas comerciais à base de *Bacillus thuringiensis*.

Após a emergência dos adultos de *T. pretiosum* foram avaliadas as porcentagens de parasitismo (calculado através da fórmula [número de ovos pretos/número total de ovos]*100]) e emergência (calculado através da fórmula [número de ovos pretos com orifícios de emergência de *Trichogramma*/número total de ovos]*100]). O experimento foi constituído de três tratamentos com 10 repetições, empregando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado.

4.3.2 Testes de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* após aplicação de *Bacillus thuringiensis* em casa de vegetação

Foram avaliados três tratamentos com 10 repetições em delineamento experimental inteiramente casualizado. Cada unidade experimental (Figura 5) foi produzida segundo metodologia descrita no item 4.3.3 e, os tratamentos consistiram dos produtos descritos no item 4.3.4.1.

Em cada gaiola foram liberados quatro casais de *P. xylostella* mantidos em contato com a planta através de gaiolas de reclusão por 24 h para que as fêmeas realizassem posturas (Figura 6), após o que os casais foram retirados e cada planta

foi pulverizada com os produtos, de acordo com os tratamentos em avaliação. A aplicação dos inseticidas foi realizada com pulverizador costal manual.

Após a aplicação, uma fêmea de *T. pretiosum* linhagem Tp-8 de menos de 24 h de idade, obtidas através da metodologia de oviposição direta no hospedeiro natural descrita no item 4.2.2 foi liberada em cada gaiola. Após 24 h da liberação das fêmeas, as posturas de *P. xylostella* foram retiradas de cada repetição e levadas ao laboratório onde foram colocadas em cartelas, acondicionadas em tubos de vidro de fundo chato de 8 cm de altura × 2 cm de diâmetro, fechados com filme plástico e mantidas em sala climatizada a $24 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ UR e fotofase de 12 horas).

Após a emergência dos adultos foram avaliados o número de ovos parasitados e a porcentagem de emergência dos parasitoides através das formulas [número de ovos pretos/número total de ovos]*100] y [número de ovos pretos com orifícios de emergência de *Trichogramma*/número total de ovos]*100] respectivamente.

4.4 Análise estatística

Os bioensaios foram desenvolvidos empregando-se delineamento experimental inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Kolmogorov e Bartlett quanto à normalidade e homogeneidade de variância, respectivamente.

Dados de porcentagem de parasitismo e emergência foram transformados em $(x + 0,5)^{1/2}$ para atender aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Posteriormente, os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p= 0,05$), quando significativas pela ANOVA. Para todos os testes foi utilizado o software SAS(SAS, 2002) através da metodologia PROC ANOVA.

O resultado do número de contatos de *T. pretiosum* com os hospedeiros foi submetido à análise descritiva e, portanto, foi um estudo de comportamento complementar aos testes de aceitação/preferência desenvolvidos.

5. RESULTADOS

5.1 Influência da manipulação de ovos hospedeiros na aceitação e preferência por *Trichogrammapretiosum*

Ao oferecer de forma simultânea através de testes de dupla chance de escolha ovos de *P. xylostella* removidos do substrato de deposição e ovos depositados diretamente em cartelas de papel filtro a preferência de *T. pretiosum* pelos ovos não manipulados de *Plutella xylostella* foi significativa (Tabela 1), evidenciando que a metodologia proposta foi eficiente ao não danificar os ovos.

Tabela 1. Parasitismo e emergência (%) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, após manipulação de ovos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) ($p > 0,05$).

Metodologias	Parasitismo (%)	Emergência (%)
Com remoção de ovos	10,13±0.22 b	14,53±0.31 b
Sem remoção de ovos	43,42±0.11 a	66,06±0,17 a
CV(%)	64	62

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparações horizontais e letras maiúsculas para comparações verticais. CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

5.1.1 Influência da alternância de hospedeiros ao longo das gerações no desempenho de *Trichogramma pretiosum* Tp8

Os dados obtidos são apresentados na Tabela 2. Através deles é possível observar que houve aceitação do hospedeiro *P. xylostella* pelo parasitoide ao longo das gerações. Houve diferença estatística entre a primeira experiência de oviposição em *P. xylostella* e as gerações seguintes do parasitoide criadas neste hospedeiro, evidenciando que *T. pretiosum* linhagem Tp8 necessita de uma geração para se adaptar ao novo hospedeiro de criação.

Em todas as gerações o parasitismo obtido em ovos de *C. cephalonica* foi maior ao obtido em ovos de *P. xylostella*, apresentando diferenças estatísticas.

Tabela 2. Parasitismo (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum*Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae) e *Corcyra cephalonica*(Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) ao longo das gerações.

Hospedeiro	1° geração	2° geração	3° geração	4° geração	5° geração
<i>C. cephalonica</i>	83±0,13 aB	84±0,10 aB	89±0,55 aA	84±0,13 aB	83±0,87 aB
<i>P. xylostella</i>	43±0,10 bC	63±0,45 bA	60±0,45 bB	63±0,51 bA	62±0,47 bAB
CV(%)	19,13	11,13	6,77	14,22	9,69

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas para compara Letras minúsculas para comparação na horizontal e letras maiúsculas para comparação na vertical. CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

As taxas de emergência (Tabela 3) foram maiores quando *T. pretiosum* foi criado em *C. cephalonica* confirmando que a linhagem *T. pretiosum* Tp8 tem maior capacidade de desenvolvimento neste hospedeiro

Tabela 3.Emergência (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum*Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) e *Corcyra cephalonica*(Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) ao longo das gerações.

Hospedeiro	1° geração	2° geração	3° geração	4° geração	5° geração
<i>C. cephalonica</i>	90±0,17 aAB	93±0,10 aA	87±0,10 aB	92±0,10 aA	93±0,14 aA
<i>P. xylostella</i>	66±0,13 bB	68±0,60 bAB	71±0,20 bA	69±0,12 bAB	72±0,73 bA
CV(%)	11,73	15,91	17,83	8,66	8,01

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas para compara Letras minúsculas para comparação na horizontal e letras maiúsculas para comparação na vertical. CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

5.2 Preferência de *Trichogramma pretiosum* após a alternância de hospedeiros

5.2.1 Teste com chance de escolha

Quando as fêmeas de *T. pretiosum* procedentes dos bioensaios de alternância de hospedeiros foram colocadas em contato de forma simultânea com os ovos dos hospedeiros em estudo, os níveis de parasitismo e emergência foram estatisticamente superiores para *C. cephalonica* em relação aos obtidos no hospedeiro alvo *P. xylostella*, mesmo em fêmeas com experiência de oviposição neste hospedeiro (Tabelas 4 e 5).

A taxa de parasitismo em ovos de *C. cephalonica* variou entre 71 e 76% enquanto que a taxa de emergência de adultos apresentou pequena variação, entre 77 e 79%. A taxa de parasitismo em ovos de *P. xylostella* variou entre 16 e 21% e a taxa de emergência de adultos, entre 55 e 67% (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4. Parasitismo (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) e *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) confrontados em teste de dupla chance de escolha.

Hospedeiro	1° geração	2° geração	3° geração	4° geração	5° geração
<i>C. cephalonica</i>	71±0,15aA	73±0,11aAB	76±0,16aB	74±0,71aAB	73±0,45aAB
<i>P. xylostella</i>	16±0,90 bB	19±0,10 bAB	21±0,07bA	17±0,6bB	18±0,21bAB
CV(%)	12,81	10,69	12,31	16,74	17,26

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparações horizontais e letras maiúsculas para comparações verticais. CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

Tabela 5. Emergência (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum*Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae) e *Corcyra cephalonica*(Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) confrontados em teste de dupla chance de escolha.

Hospedeiro	1° geração	2° geração	3° geração	4° geração	5° geração
<i>C. cephalonica</i>	78±0,21 aA	77±0,58 aA	79±0,15 aA	77±0,58 aA	78±0,97 aA
<i>P. xylostella</i>	67±0,18 bA	61±0,33 bAB	55±0,32 bB	66±0,17 bA	61±,014 bAB
CV(%)	11,73	15,91	17,83	18,66	18,01

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas para compara Letras minúsculas para comparação na horizontal e letras maiúsculas para comparação na vertical.CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

Após o aprendizado da fêmea pelos estímulos de *P. xylostella* parasitoide manteve comportamento de preferência por seu hospedeiro alternativo *C. cephalonica*. Esta observação foi ratificada com o estudo de contatos desenvolvido com as fêmeas procedentes do teste com alternância hospedeira ao longo das gerações. Assim, num período de 1 h, a média geral da proporção de contatos com os ovos de *P. xylostella* foi de 6% contra 24% contatos para os ovos de *C. cephalonica* (Figura 9).

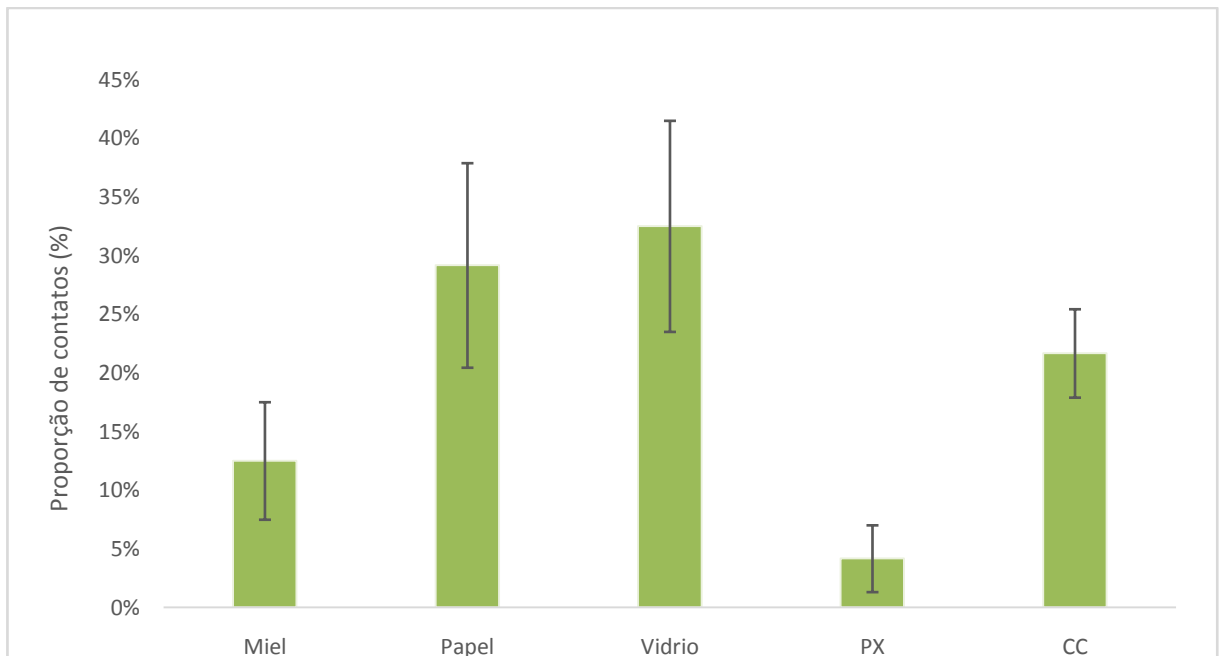


Figura 9. Proporção de contatos (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum*Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, aos ovos hospedeiros de *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae) (PX) e *Corcyra cephalonica*(Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) (CC).

5.2.2 Teste sem chance de escolha

Visando ratificar as evidências de preferência de *T. pretiosum* linhagem Tp8 pelo hospedeiro parental *C. cephalonica* foi desenvolvido um teste sem chance de escolha, com fêmeas do parasitoide criadas por cinco gerações em *P. xylostella*, portanto com experiência no reconhecimento deste hospedeiro. Os resultados são expostos na Tabela 6.

O nível de parasitismo obtido foi superior a 65% para as duas espécies de hospedeiros, sem diferenças estatísticas entre eles. Os resultados indicaram que as fêmeas de *T. pretiosum* que aprenderam a reconhecer os estímulos dos novos hospedeiros podem se desenvolver indistintamente em um ou outro hospedeiro, caso não tenham possibilidade de escolha. Contudo, observou-se diferenças estatísticas entre as emergências dos adultos que podem estar relacionadas a qualidade nutricional dos ovos de *P. xylostella* que interferem no desenvolvimento embrionário e podem provocar reduções na taxa de emergência.

Tabela 6. Parasitismo (%) e emergência (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) e *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) confrontados em teste sem chance de escolha.

Tratamento/Hospedeiro	Parasitismo	Emergência
<i>P. xylostella</i>	66±0,12 a	64±0,14 b
<i>C. cephalonica</i>	71±0,17 a	76±0,08 a
CV (%)	8,51	6,43
P>f	0,268	<0,001

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

5.3 Desempenho de *Trichogramma pretiosum* no controle de *Plutella xylostella* em casa de vegetação após alternância de hospedeiros de criação

As fêmeas de *T. pretiosum* criadas por uma geração em *P. xylostella* e cinco gerações em *C. cephalonica* não parasitaram ovos de *P. xylostella* em casa de vegetação. O contrário foi observado em fêmeas criadas por duas até cinco gerações em *P. xylostella* que apresentaram níveis de parasitismo entre 22% e 29%, sem diferenças estatísticas entre eles (Tabela 7).

Ao comparar as taxas de parasitismo obtidas no laboratório e em casa de vegetação, observou-se que as porcentagens obtidas em laboratório (Tabela 2) foram maiores que as da casa de vegetação (Tabela 7).

As taxas de emergência variaram entre 62% e 68%, sem diferenças estatísticas entre elas e tiveram o mesmo padrão observado para o parasitismo (Tabela 7), sendo os valores semelhantes aos observados em laboratório.

Tabela 7. Parasitismo (%) e emergência (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em casa de vegetação.

Procedência das Fêmeas	Parasitismo	Emergência
1 geração em <i>P. xylostella</i>	0±0,00 b	0±0,00 b
2 gerações em <i>P. xylostella</i>	29±0,22 a	68±0,15 a
3 gerações em <i>P. xylostella</i>	27±0,16 a	68±0,26 a
4 gerações em <i>P. xylostella</i>	22±0,22 a	62±0,32 a
5 gerações em <i>P. xylostella</i>	25±0,13 a	65±0,28 a
5 gerações em <i>C. cephalonica</i>	0±0,00 b	0±0,00 b
CV (%)	31,97	22,71

Valores com a mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

5.4 Desempenho de *Trichogramma pretiosum* após aplicação de *Bacillus thuringiensis*

5.4.1 Parasitismo e emergência de *Trichogramma pretiosum* após aplicação de *Bacillus thuringiensis* em laboratório

As taxas de parasitismo e emergência de *T. pretiosum* em ovos de *P. xylostella* sob o efeito do bioinseticida Bac-control foram de 13% e 29%, respectivamente, cerca de 50% dos valores observados no tratamento controle (25% e 59%) (Tabela 8); essa redução significativa na porcentagem de parasitismo e emergência do parasitoide nos permite inferir que a linhagem Tp8 de *T. pretiosum* é suscetível ao produto comercial Bac-control.

Por outro lado, as taxas de parasitismo e emergência do parasitoide em ovos de *P. xylostella* sob o efeito de Dipel não mostraram diferenças significativas em relação ao controle (Tabela 8).

Tabela 8. Parasitismo (%) e emergência (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) submetidos a inseticidas a base de *Bacillus thuringiensis*.

Tratamento	Parasitismo (%)	Emergência (%)
<i>T. pretiosum</i> Tp8 + Dipel	15%±0,12 ab	40%±0,44 ab
<i>T. pretiosum</i> Tp8 + Bac-Control	13%±0,22 b	29%±0,39 b
<i>T. pretiosum</i> Tp8 + Controle	25%±0,15 a	59%±0,38 a
CV (%)	11,06	19,39

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p=0,05$). CV (%) Coeficiente de variação expressado em porcentagem.

A longevidade dos adultos de *T. pretiosum* procedentes de ovos de *P. xylostella* tratados em *B. thuringiensis* não diferiu do tratamento controle (Figura 10). Destaca-se a mortalidade de 100% dos parasitoides obtidos de ovos que receberam

o bioinseticida Bac-Control no terceiro dia após a emergência dos adultos, enquanto que a longevidade dos parasitoides oriundos de ovos tratados com Dipel foi semelhante aos do tratamento controle.

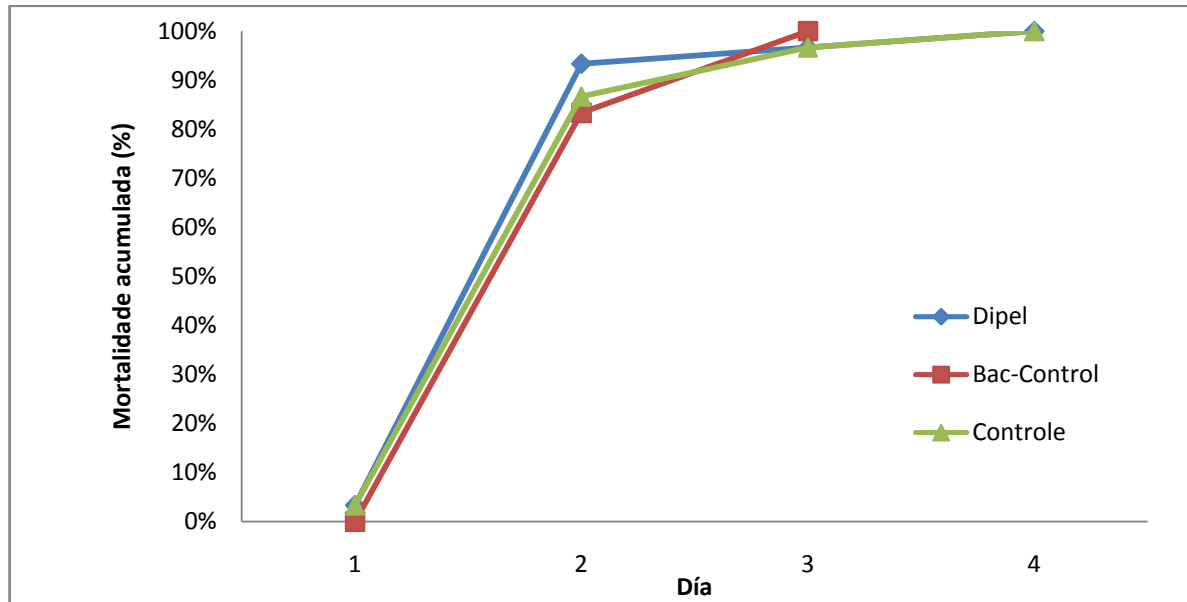


Figura 10. Mortalidade acumulada (%) de *Trichogramma pretiosum*Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, de ovos de *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae) tratados com bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis*.

5.4.2 Desempenho de *Trichogramma pretiosum* após aplicação de *Bacillus thuringiensis* em casa de vegetação

Diferente dos resultados obtidos nos testes desenvolvidos em laboratório, em casa-de-vegetação os tratamentos contendo *B. thuringiensis* não apresentaram efeito do tratamento, com taxas de parasitismo que oscilaram entre 19 e 25% (Tabela 9). Quanto à emergência, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 9).

Tabela 9. Parasitismo (%) e emergência (%) (Média±EP) de *Trichogramma pretiosum*Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae), linhagem Tp8, em ovos de hospedeiros *Plutella xylostella*L. (Lepidoptera: Plutellidae) tratados com bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis*.

Tratamento	Parasitismo (%)	Emergência (%)
<i>T. pretiosum</i> Tp8 + Dipel	21±0,23 a	67±0,11 a
<i>T. pretiosum</i> Tp8 + Bac-Control	19±0,02 a	65±0,09 a
<i>T. pretiosum</i> Tp8 + Controle	25±0,29 a	71±0,01 a
CV (%)	11,41	6,33
Pr>F	0,05	0,28

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p=0,05$). Dados transformados em $(x + 0.5)^{1/2}$.

5.5 Protocolo de criação massal de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Plutella xylostella*

A partir dos resultados obtidos foi possível elaborar um protocolo de criação de *T. pretiosum* (Figura 11) com o objetivo de melhorar o nível de aceitação e parasitismo de ovos de *P. xylostella* em condições de campo, de forma a romper o condicionamento do parasitoide no hospederio parental.

A metodologia proposta neste estudo espera-se possa ser utilizada com outras espécies, contudo são necessários pré-testes.

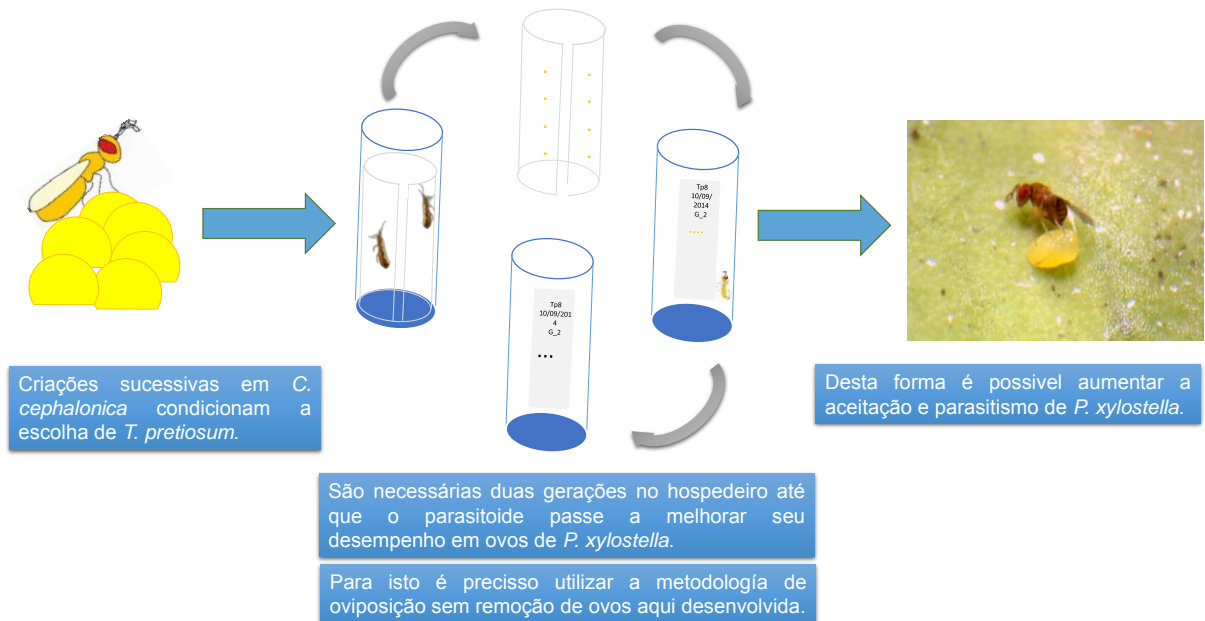


Figura 11. Protocolo para criação e liberação de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em condições de campo.

O protocolo ressalta a necessidade de se criar *T. pretiosum* por duas gerações na praga alvo, no caso *P. xylostella*, antes de sua liberação em campo. A metodologia de criação no hospedeiro alvo deve ser feita com a técnica de oviposição direta, sem manipulação de ovos, dado que os resultados desta pesquisa demonstraram que a manipulação de ovos interfere na aceitação e parasitismo.

6. DISCUSSÃO

6.1 Influência da manipulação de ovos hospedeiros na aceitação e preferência por *Trichogramma pretiosum*

Durante o processo de ovogênese ocorre a deposição de camadas de distintas espessuras na conformação do ovo. A mais externa dessas recebe o nome de córion, cuja estrutura permite, entre outras funções, a troca gasosa através de poros

especializados como os aerópilos os quais espalham o oxigênio no ovo (TRIPLEHORN; JOHNSON, 2011). O córion também tem a função de proteção do embrião de condições ambientais adversas e ataques biológicos tais como os exercidos por parasitoides de ovos (MARGARITIS; MAZZINI, 1998). Contudo, muitas espécies de parasitoides, incluindo *Trichogramma*, utilizam semioquímicos presentes na superfície coriônica dos ovos para seu reconhecimento e aceitação, condição que tem sido amplamente documentada (PEÑAFLORES et al., 2011; VINSON, 1998; VINSON, 2010).

Durante o complexo processo de seleção hospedeira, as fêmeas de *Trichogramma* e de outros parasitoides de ovos, podem rejeitar ovos hospedeiros devido a alterações dos componentes que constituem os semioquímicos que guiam às fêmeas no processo de forrageamento (SHU; JONES, 1989). Os estudos supracitados nos permitem inferir que a manipulação dos ovos hospedeiros durante os testes de preferência em condições de laboratório desenvolvidas podem gerar alterações na aceitação hospedeira ao remover e/ou alterar os infoquímicos presentes na superfície coriônica dos ovos. Além disso, excessivas manipulações podem danificar as aerópilas reduzindo o transporte de oxigênio ao interior do ovo e por consequência alterar a qualidade nutricional do oócito, condição que pode ser reconhecida pelas fêmeas de *Trichogramma* durante o processo de aceitação hospedeira quando da inserção do ovipositor (VINSON, 2010).

Desta forma os baixos níveis de parasitismo e de emergência obtidos no tratamento onde os ovos de *P. xylostella* foram removidos do substrato de deposição, podem estar relacionados com os fatores acima mencionados, devido a danos físicos involuntários causados aos ovos no momento da remoção, provocando dano mecânico, alterações dos infoquímicos presentes na superfície dos ovos, especialmente de kairomônios voláteis provenientes de escamas alares de *P. xylostella*; tais compostos são responsáveis por eliciar respostas comportamentais positivas em *Trichogramma* spp. que facilitam a busca e aceitação (BOO; YANG, 2000; PAUL et al., 2002).

Outro fator importante a considerar na manipulação dos ovos durante os testes de aceitação/preferência, é que pode haver perda de vitelo como resultado de danos na superfície coriônica, o que favorece a dessecação. Neste propósito,

estudos desenvolvidos por Pak et al. (1990) com *Trichogramma brassicae*, utilizando como hospedeiros os lepidópteros *Mamestra brassicae* (L.) (Noctuidae) e *Pieris brassicae* (L.) (Pieridae) demonstraram que a estrutura do ovo de *P. brassicae*, com córion mais susceptível à dessecação, influenciou diretamente no reduzido êxito de parasitismo por *T. brassicae*.

A metodologia sem remoção de ovos aqui proposta (Figura 4) e desenvolvida para ser utilizada em testes de aceitação e preferência hospedeira, mostrou ser eficiente para a obtenção de ovos de *P. xylostella* (Tabela 1, possivelmente por não interferir nos sinais presentes na superfície dos ovos e tampouco provocar danos físicos ao ovo que poderiam causar rejeição por parte das fêmeas de *Trichogramma*.

6.2 Influência da alternância de hospedeiros na preferência hospedeira de *Trichogramma pretiosum*

A metodologia de criação artificial de *Trichogramma* foi desenvolvida por Flanders em 1926, que utilizou pela primeira vez ovos do hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella* Oliver (Lepidoptera: Gelechiidae) para a produção massal desses parasitoides (LI, 1994). Desde então o avanço conseguido por Flanders é considerado relevante para o controle biológico com esses parasitoides.

A justificativa para esta afirmação é baseada em aspectos práticos e econômicos. Do ponto de vista prático, há uma grande facilidade para a criação massal de *Trichogramma* em hospedeiros alternativos. Do ponto de vista econômico, os custos de produção são drasticamente reduzidos ao usar esse tipo de hospedeiro em condições de laboratório, pelo fato de serem criados em dietas artificiais preparadas a partir de compostos de baixo custo (PARRA, 1997).

Em contrapartida, os hospedeiros naturais requerem para suas produções em laboratório dietas naturais (hospedeiros vegetais) ou dietas artificiais, sendo estas últimas elaboradas com componentes de alto valor comercial, aumentando assim o custo de produção final dos parasitoides (PARRA, 2010).

Do ponto de vista prático e econômico o sistema de produção de hospedeiros se justifica, pelo fato de facilitar a produção de grande número de parasitoides com baixo custo, enquanto que do ponto de vista biológico e ecológico o sistema de produção tem falhas com a criação destes inimigos naturais em ovos de hospedeiros alternativos, e mais tarde serem liberados em condições de campo ou semicampo para exercer controle de hospedeiros diferentes daqueles em que eles foram criados, com resultados variáveis, inconsistentes e muitas vezes insatisfatórios (BIGLER; MEYER; BOSSHART, 1987; HASSAN; GUO, 1991; THOMSOM; HOFFMANN, 2002).

Justamente, pelo fato de ter sido criado por sucessivas gerações em hospedeiros alternativos existem respostas adaptativas que levam ao condicionamento ou preferência das fêmeas por estes hospedeiros parentais, fazendo com que em condições de campo e frente às pragas-alvo, as fêmeas liberadas não executam um controle efetivo ao não detectar e não aceitá-los como hospedeiros para sua progênie (ZABORSKI; TEAL; LAING, 1987; KAISER; PHAM-DELEGUE; MASSON, 1989; van BERGEIJK et al., 1989; HOMMAY et al., 2002; KÖLLIKER-OTT; BIGLER; HOFFMANN, 2003).

Em nossos estudos, tanto nos testes de preferência com alternância de hospedeiros ao longo das gerações quanto nos de livre escolha, a linhagem *T. pretiosum* Tp8 evidenciou preferência e maior aceitabilidade por *C. cephalonica* (Tabelas 2, 3, 4 e 5).

Os sistemas de criação massal por gerações sucessivas neste hospedeiro favoreceram o condicionamento clássico ao longo das gerações, devido a que as fêmeas de *T. pretiosum* Tp8 aprenderam a associar (aprendizagem associativa) sinais presentes em ovos da *C. cephalonica* com uma recompensa, neste caso a própria oviposição, favorecendo desta forma a preferência ou afinidade para esse hospedeiro parental e obtendo-se também maior número de contatos como o hospedeiro parental *C. cephalonica* (Tabelas 2, 3, 4 e 5, Figura 8). Estes fatos corroboram os estudos de Kruidof et al. 2012 que relataram que a consolidação da memória de *T. evanescens* é promovida pelo próprio qualidade do hospedeiro para o desenvolvimento de suas crias.

O processo de aprendizagem em insetos, explicado em sua forma mais simples como a modificação de comportamento através da experiência (PAPAJ; PROKOPY, 1989) é fundamental para muitas espécies (DUKAS, 2013). Para o caso dos insetos parasitoides aprender a reconhecer estímulos dos seus hospedeiros é de grande ajuda, pois a busca dos hospedeiros corresponde a uma tarefa complexa, principalmente porque eles tal como é citado por Hoedjes et al. (2010), estão sob forte seleção para permanecer de forma críptica.

Neste estudo foi possível observar que fêmeas de *T. pretiosum* aprenderam a reconhecer os sinais de *P. xylostella* através da criação neste hospedeiro por uma geração e, posteriormente aumentaram sua afinidade por este hospedeiro o que possibilitou localizar e aceitá-lo.

A hipótese do legado químico estabelece que a aprendizagem nos insetos ocorre durante e também imediatamente após a emergência dos adultos (CORBET 1985). No entanto, em nosso estudo não foi possível determinar em que fase do desenvolvimento ocorreu a aprendizagem associativa para o novo hospedeiro *P. xylostella*, sendo apenas possível confirmar a existência desse fenômeno.

A aprendizagem associativa ou condicionamento é de grande importância para o processo de forrageamento de *Trichogramma*, pois redireciona e amplia a resposta das fêmeas, permitindo-lhes responder às mudanças ambientais, bem como a novos hospedeiros. Além de compensar sua limitada capacidade de dispersão no campo e proporcionar maior eficiência no processo de seleção hospedeira, compensando o curto tempo em que os ovos do hospedeiro estão disponíveis e com a qualidade necessária para o bom desenvolvimento de sua progênie (VINSON, 1998; COLAZZA et al., 2010).

Com relação a isto, estudos realizados com *Trichogramma brassicae* Bezdenko e *T. evanescens* Westwood, concluíram que estes parasitoides possuem uma eficiente capacidade de aprendizagem e memória; foi demonstrado que aprenderam a reconhecer e memorizar feromônios anafrodisíacos liberados pós-copula por *Pieris rapae* (Linnaeus) e *Pieris brassicae* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae), como sinais eficientes para a localização dos ovos dos hospedeiros depois de serem expostos a um método de condicionamento com reforço positivo ou

recompensa (FATOUROS et al., 2005; HUIGENS et al., 2009; HOEDJES et al., 2010; KRUIDOF et al., 2012).

Esses mesmos estudos permitiram mostrar que fêmeas inexperientes de ambas as espécies, procuraram seus hospedeiros aleatoriamente, respondendo só a estímulos inatos, enquanto as fêmeas submetidas a condicionamento a feromônios anti-afrodisíacos, mudaram sua preferência inata por estes sinais químicos de maior eficiência para a localização hospedeira (FATOUROS et al., 2005a, b; HUIGENS et al., 2009; HOEDJES et al., 2010).

Em relação aos resultados obtidos em condições de casa-de-vegetação, não foi registrado parasitismo nos tratamentos com fêmeas criadas no hospedeiro parental *C. cephalonica* e em *P. xylostella* por uma geração. O parasitismo exercido por *T. pretiosum* nesta última espécie, somente foi observado após serem criadas por duas gerações em *P. xylostella*, corroborando a existência de aprendizagem associativa nos sistemas de produção massal.

Os níveis de parasitismo e de emergência de *T. pretiosum* obtidos em semicampo foram baixos quando comparados aos obtidos em laboratório. Contudo, esses resultados eram esperados pois, em laboratório, as fêmeas estavam associadas a uma teia alimentar de dois níveis tróficos (2° e 3° nível) com estímulos só dos hospedeiros enquanto que, em semicampo, há maior complexidade trófica, com sinais oriundos do primeiro nível trófico aos quais *T. pretiosum* não tinha sido exposto. Provavelmente, um maior tempo de contato com o primeiro e segundo nível tróficos favoreça os níveis de parasitismo de *Trichogramma*, o que não foi avaliado no presente estudo.

Em relação ao anteriormente citado, Vet et al. (1995) relataram que a aprendizagem associativa não está apenas relacionada aos estímulos específicos do hospedeiro, também pode ocorrer uma associação com compostos voláteis emitidos pelas plantas onde este se alimenta, ou com os produtos secretados ou descartados por ele. Isso é de vital importância porque os sinais derivados dos ovos hospedeiros de *Trichogramma*, apesar de altamente confiáveis, são pouco detectáveis a longas distâncias. Por outro lado, a informação procedente dos compostos voláteis emitidos pelas plantas hospedeiras da praga, embora pouco

confiável, são altamente detectáveis, sendo assim de grande importância na etapa de localização hospedeira (VET et al., 1995; VINSON, 1998).

Ainda quando a afinidade por *P. xylostella* aumentou significativamente com a criação das fêmeas neste hospedeiro ao longo das gerações, a taxa de parasitismo foi inferior à obtida no hospedeiro parental *C. cephalonica* nos testes de escolha (Tabela 4). É provável que fatores como o tamanho do ovo tenham influenciado na aceitação/preferência nos resultados obtidos. A esse respeito, Schmidt (1994) afirmou que o tamanho hospedeiro é um fator crítico no processo de aceitação hospedeira e inferiu que, em geral, a maioria das espécies de *Trichogramma* tem tendência a preferir ovos hospedeiros de tamanho médio a grande, citando como valores de referência 0,8 a 1,8 mm. Desta forma, não é de surpreender que as fêmeas de *T. pretiosum* tenham preferido ovos de *C. cephalonica* por sobre os de *P. xylostella* por serem esses últimos de menor tamanho e volume (Figura 2).

Os antecedentes apresentados em nossos estudos, são a prova de que *Trichogramma pretiosum* possui a capacidade de aprender a reconhecer certos estímulos, como estratégia para tornar mais eficiente o processo de forrageamento. Isto corrobora os trabalhos de Wäckers; Bonifay; Lewis, 2002; Olson et al., 2003; Rains; Utley; Lewis, 2006; Lucchetta et al., 2008, dentre outros que mostram a possibilidade de condicionar espécies em laboratório por meio de aprendizagem associativo.

Este estudo permite inferir que a base biológica da criação massal de trichogramatídeos tem que levar em consideração que fêmeas podem aprender e memorizar certos processos e compostos que lhes permitam uma maior eficiência na localização de seus hospedeiros, o que corrobora os estudos de Dukas, 2008 e Hoedjes et al., 2010.

6.3 Interação entre *Trichogramma pretiosum* e *Bacillus thuringiensis*

Os graves prejuízos econômicos causados por *P. xylostella* em cultivos comerciais de brasicáceas e as dificuldades de controle com o uso de inseticidas organo-sintéticos, devido a resistência gerada por esta espécie para inúmeras moléculas inseticidas, levaram à busca de alternativas de controle baseado no manejo integrado de pragas. Assim, a utilização conjunta de agentes de controle biológico, como por exemplo, *Trichogramma* spp. e *Bacillus thuringiensis* parece altamente viável, devido a que exercem controle complementar ao atuar sobre ovos e lagartas da praga alvo.

Estudos desenvolvidos por Polanczyk et al. (2006) onde suspensões de 6 isolados de *B. thuringiensis* e *B. thuringiensis* subespécie *kurstaki* foram misturadas com mel (1:1), como fonte de alimento, e cartelas com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) foram fornecidas para o parasitismo, indicaram que o uso desse bioinseticida não é prejudicial para as espécies *T. pratisolii* Querino & Zucchi e *T. pretiosum*. Esses resultados são também coincidentes com os obtidos por Azizoglu et al. (2015) onde foi avaliada o efeito potencial de *Bacillus thuringiensis* subespécie *kurstaki* no desempenho parasítico de fêmeas de *Trichogramma evanescens* Westwood sobre ovos de *Ephesia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae).

Em contrapartida os trabalhos de Vaez, Iranipour e Hejazi (2013) afirmaram que a aplicação de *B. thuringiensis* em ovos de *H. armigera* afetou negativamente a taxa de parasitismo de *T. brassicae*, o que coincide com os nossos resultados onde a dose comercial de Bac-Control (*B. thuringiensis* subsp. *aizawai*), em condições de laboratório, interferiu negativamente nas taxas de parasitismo e na emergência de *T. pretiosum* (Tabela 8). Por sua vez, em condições de semicampo (casa de vegetação) tal condição foi revertida, não houve diferenças estatísticas com os tratamentos Dipel e controle, contudo foi observado efeito negativo dos produtos comerciais Bac-Control e Dipel na taxa de emergência de *T. pretiosum* (Tabelas 9).

A ação de Bac Control em *T. pretiosum* não pode ser associada à ação direta de *B. thuringiensis*, uma vez que não houve consumo de resíduos de *B.*

thuringiensis por *T. pretiosum*. Além disso, se isso tivesse acontecido *T. pretiosum* não tem os receptores necessários para a ligação das toxinas Cry com as células epiteliais do intestino médio, porque tanto Dipel como Bac-Control atuam sobre Lepidoptera e especificamente sobre os seus estágios imaturos. Assim, propomos que a ação de Bac-Control se associa com alterações químicas dos semioquímicos presentes na superfície coriônica provocando a rejeição dos ovos hospedeiros.

Provavelmente durante a imersão dos ovos ocorreram mudanças nos caíromônios ou em suas concentrações, o que levou às fêmeas de *T. pretiosum* a rejeitá-los porque não tinha informação confiável para aceitá-los como suporte para a sua progênie. Há também a possibilidade de que *T. pretiosum* tenha a capacidade de detectar as toxinas de *B. thuringiensis* atuando esses como repelentes. Estudos do tempo de aceitação/parasitismo de *T. brassicae* em ovos de *H. armigera* tratados com *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* demonstraram que o tempo em que as fêmeas de *T. brassicae* dedicaram ao tratamento com ovos sem *B. thuringiensis* foi 1,5 vezes maior, demonstrando possível influência desse bioinseticida em agentes não alvo (VAEZ; IRANIPOUR; HEJAZI, 2013).

No que diz respeito à variação observada entre as formulações de *B. thuringiensis* utilizadas em nossos experimentos, elas podem estar associadas ao número de toxinas e/ou formulação dos produtos. No entanto, este ponto não foi totalmente resolvido.

7. CONCLUSÕES

A manipulação de ovos hospedeiros pode causar alterações físicas e químicas que podem influenciar a preferência e aceitação por *Trichogramma pretiosum* linhagem Tp8.

A metodologia de obtenção de ovos desenvolvida para *P. xylostella* mostrou-se eficiente, não interferindo no comportamento parasítico de *T. pretiosum*.

A criação de *T. pretiosum*, linhagem Tp8 por sucessivas gerações no hospedeiro parental *C. cephalonica* provocou condicionamento para este hospedeiro e baixos níveis de parasitismo ao novo hospedeiro *P. xylostella*.

A criação de *T. pretiosum*, linhagem Tp8 por uma geração no novo hospedeiro *P. xylostella* foi suficiente para alterar a preferência em favor do novo hospedeiro, já que as fêmeas de *T. pretiosum*, linhagem Tp8 tem capacidade de aprender e memorizar sinais associados com a recompensa de um ovo para a oviposição e/ou alimentação (host-feeding).

Em condições de casa de vegetação ou semi campo, foi necessária a criação de *T. pretiosum*, linhagem Tp8, por duas gerações em *P. xylostella* para o parasitoide detectar, aceitar e parasitar este hospedeiro.

Os efeitos de Dipel e Bac Control sobre *T. pretiosum*, linhagem Tp8 não foram totalmente esclarecidos, dado que existiram diferenças entre os resultados obtidos em condições de laboratório e semicampo.

Em condições de semicampo, por serem esses mais próximos da realidade agrícola, os resultados indicaram que é possível utilizar formulados comerciais de *B. thuringiensis* conjuntamente com liberações inundativas de *T. pretiosum*, linhagem Tp8, o que não ocorreu em condições de laboratório.

Em condições de laboratório novas pesquisas são necessárias para avaliar a utilização combinada de *B. thuringiensis* e espécies de *Trichogramma* de forma a estabelecerse *B. thuringiensis* exerce efeitos negativos sobre as espécies ou linhagem de *Trichogramma*. É também necessário realizar testes para visar a tolerância das espécies/ linhagem de *Trichogramma* a doses e formulações de *B. thuringiensis*.

8. REFERÊNCIAS

AHUJA, I.; ROHLOFF, J.; and BONES, A. Defence mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Houten, v.30, n.2, p. 311-348, 2010.

ANANTHAKRISHNAN, T.N.; SENRAYAN, R.; MURUGESAN, S.; and ANNADURAI, R.S. Kairomones of *Heliothis armigera* and *Corcyra cephalonica* and their influence on the parasitic potential of *Trichogramma chilonis* (Trichogrammatidae: Hymenoptera). **Journal of Bioscience**, Madras, v.16, n.3, p. 111–119, 1991.

AZIZOGLUA, U.; YILMAZB, S.; AYVAZ, A.; KARABÖRKLÜ, S. Effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD1 spore-crystal mixture on the adults of egg parasitoid *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, [S.I.], v. 29, n. 4, 653-658, 2015.

BALLESTER, V.; GRANERO, F.; TABASHNIK, B.E.; MALVAR, T.; and FERRÉ, J. Integrative model for binding of *Bacillus thuringiensis* toxins in susceptible and resistant larvae of the diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington DC, v.65, n.4, p. 1413–1419, 1999.

BARROS, R. **Efeito de cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) na biologia da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) e do parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879**. 1998. 98 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Universidade de São Paulo ESALQ/USP, Piracicaba, 1998.

BARROS, R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.28, n.3, p. 469-476, 1999.

BIGLER, F.; MEYER, A.; BOSSHART, S. Quality assessment in *Trichogramma maidis* Pintureau et Voegeli reared from eggs of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* Zell. and *Sitotroga cerealella* (Olivier). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.104, n.1-5, p. 340-353, 1987.

BOIVIN, G. Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. **Neotropical Entomology**, Piracicaba, v.39, n.4, p. 457-463, 2010.

BOO, K.S; YANG, J.P. Kairomones used by *Trichogramma chilonis* to find *Helicoverpa assulta* eggs. **Journal of Chemical Ecology**, Tampa, v.26, n.2, p. 359-375, 2000.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BOAS, G. L. **Traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997.

CASTELO BRANCO, M.; MELO, C. A. Resistência a abamectin e cartap em populações de traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília DF, v.20, n.4, p. 541-543, 2002.

COLAZZA, S.; PERI, E.; SALERNO, G.; CONTI, E. Host searching by eggs parasitoids: eplotation of host chemical cues. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.) **Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer. 2010. p. 267-292.

CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P. In vitro rearing of parasitoids: constraints and perspectives. **Trends in Entomology**, Kerala, v.2, p. 19-32, 1999.

CORBET, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, [S.l.], v. 10, p.143–153, 1985.

DE BORTOLI, S.A.; VACARI, A.M.; POMARI, A.F.; VEIGA, A.C.P.; VOLPE, H.X.L.; MAGALHÃES, G.O; MAEDA, J.M. Produção de insetos: da base à biofábrica. In: BUSOLI, A.C.; FRAGA, D.F.; SANTOS, L.; ALENCAR, J.R.C.C.; GRIGOLLI, J.F.J.; JANINI, J.C.; SOUZA, L.A.; VIANA, M.A.; FUNICHELLO, M. (Eds.). **Tópicos em entomologia agrícola IV**. Jaboticabal: Multipress: 2011. p. 95-116.

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: SOLENOSKI, 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 de traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 387-390, 2004.

DUKAS, R. Evolutionary biology of insect learning. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.53, p. 145–160, 2008.

FATOUROS, N.E.; BUKOVINSZKINE, G.; KALKERS, L.; SOLER, R.; DICKE, M. and HILKER, M. Oviposition-induced plant cues: do they arrest *Trichogramma* wasps during host location? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Groningen, v.115, n.1, p. 207–215, 2004.

FURLONG, M.; WRIGHT, D.; DOSDALL, L. Diamondback moth ecology and management: problems, progress and prospects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, USA, v.58, p. 517-541, 2013.

GRZYWACZ, D.; ROSSBACH, A.; RAUF, A.; RUSSELL, D.; SRINIVASAN, R.; SHELTON, A. Current control methods for diamondback moth and other brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. **Crop Protection**, [S.I.], v.29, n.1, p. 68-79, 2010.

HASSAN, S.A. and GUO, M.F. Selection of effective strains of egg parasites of the genus *Trichogramma* (Hym., Trichogrammatidae) to control the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lep., Pyralidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.111, n.1-5, p. 335-341, 1991.

HOEDJES, K.; KRUIDHOF, H.; HUIGENS, M.; DICKE, M.; VET, L.; SMID, H. Natural variation in learning rate and memory dynamics in parasitoid wasps: opportunities for converging ecology and neuroscience. **Proceedings of the Royal Society B**, [S.I.], v.278, n.1707, p. 889-897, 2010.

HOMMAY, G.; GERTZ, C.; KIENLEN, J.C.; PIZZOL, J.; and CHAVIGNY, P. Comparison between the control efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and two *Trichogramma cacoeciae* Marchal strains against grapevine moth (*Lobesia botrana* Den. & Schiff.), depending on their release density. **Biocontrol Science and Technology**, Manchester, v.12, n.5, p. 569-581, 2002.

HUIGENS, M.; PASHALIDOU, F.; QIAN, M.H.; BUKOVINSZKY, T.; SMID, H. Van LOON, J.; DICKE, M.; FATOUROS, N. Hitch-hiking parasitic wasp learns to exploit butterfly antiaphrodisiac. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S.I.], v.106, n.3, p. 820-825, 2009.

IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. Diurnal flight activity of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in the field. **Environmental Entomology**, Annanopolis., v.27, n.2, p. 406-414, 1998.

KAISER, L.; PHAM-DELEGUE, M.H.; and MASSON, C. Behavioural study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym.: Trichogrammatidae). **Physiological Entomology**, Londres, v.14, n.1, p. 53-60, 1989.

KÖLLIKER-OTT, U. M., BIGLER, F.; HOFFMANN A. A. Does mass rearing of field collected *Trichogramma brassicae* wasps influence acceptance of european corn borer eggs? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 109, n.3, p. 197–203, 2003.

KRNJAJIC, S.; DIMIC, N.; PERIC, P.; VURSA, M.; CVETKOVIC, M. Biological control of cabbage pests. **Acta Horticulturae**, Bruselas, v.462, n.1, p. 119-124, 1997.

KRUIDHOF, H.M.; PASHALIDOU, F.G.; FATOUROS, N.E.; FIGUEROA, I.A.; VET, L.E.M.; SMID, H.M.; HUIGENS, M.E. Reward value determines memory consolidation in parasitic wasps. **PLoS ONE**, [S.I.], v.7, n.8, p. 1-10, 2012.

LI-YING, L. Worldwide use of *Trichogramma* for biological control on different crops: a survey. In: WANJBERG, E.; HASSAN, S. A. (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 37-53.

LOBDELL, C. E.; YONG, T. H.; HOFFMANN, M. P. Host color preferences and short-range searching behavior of the egg parasitoid *Trichogramma ostrinae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.116, n.2, p. 127-134, 2005.

LUCCHETTA, P.; BERNSTEIN, C.; THÉRY M.; LAZZARI, C.; DESOUHANT, E. Foraging and associative learning of visual signals in a parasitic wasp. **Animal Cognition**, Hanover, v. 11, p. 525–533, 2008.

MARGARITIS, L. H., MAZZINI, M. Structure of the egg. In: HARRISON F. E.; LOCKE, M. (Eds.). **Microscopic Anatomy of Invertebrates Insecta**. New York: Wiley-Liss, 1998. p. 995-1037.

MEDEIROS, P.; SONE, E.; SOARES, C.M.; DIAS, J. M.; MONNERAT, R. Avaliação de produtos á base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília DF, v.24, n.2, p. 245-248, 2006.

MICHIGAN STATE UNIVERSITY. **Arthropod pesticide resistance database**. Michigan Sate University, United State of America, 2014. Disponível em: <<http://www.pesticideresistance.com>>. Acesso em: 04 ago. 2014.

OATMAN, E.; PLATNER, G. An ecological study of insect populations on cabbage in southern California. **Hilgardia**, California, v.40, n.1, p. 1-40, 1969.

OLSON, D.M.; RAINS, G.C.; MEINERS, T.; TAKASU, K.; TERTULIANO, M.; TUMLINSON, J.H.; WÄCKERS, F.L.; LEWIS, W.J. Parasitic Wasps Learn and Report Diverse Chemicals with Unique Conditionable Behaviors. **Chemical Senses**, Oxford. v. 28, p. 545–549, 2003

PAK, G.; OATMAN, E. Biology of *Trichogramma brevicapillum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.32, n.1, p. 61-67, 1982.

PAK, G. A.; VAN DALEN, A.; KAASHOEK, N.; DIJKMAN, H. Host egg chorion structure influencing host suitability for the egg parasitoid *Trichogramma* Westwood. **Journal of Insect Physiology**, Texas, v.36, n.11, p. 869-875, 1990.

PAPAJ, D. R.; PROKOPY, R. J. Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.34, p. 315-350, 1989.

PARRA, J.R.P. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 83-206.

PARRA, J. R. P. Mass rearing of egg parasitoids for biological control programs. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on Trichogramma**. New York: Springer, 2010. p. 267-292.

PAUL, A. V. N.; SINGH, S.; SINGH, A. K. Kairomonal effect of some saturated hydrocarbons on the egg parasitoids, *Trichogramma brasiliensis* (Ashmead) and *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner (Hym., Trichogrammatidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.126, n.7-8, p. 409-416, 2002.

PEÑAFLORES, M. F. G. V.; ERB, M., MIRANDA, L. A.; WERNEBURG, A. G.; BENTO, J. M. S. Herbivore induced plant volatiles can serve as host location cues for a generalist and a specialist egg parasitoid. **Journal of Chemical Ecology**, Tampa, v.37, n.12, p. 1304-1313, 2011.

PLUKE, R. W. H.; LEIBEE, G. L. Host preferences of *Trichogramma pretiosum* and the influence of prior ovipositional experience on the parasitism of *Plutella xylostella* and *Pseudoplusia includens* eggs. **BioControl**, Dordrecht, v.51, n.5, p. 569-583, 2006.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, G.; OLIVEIRA, R. C. Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.2, p. 369-377, 2006.

PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A. M.; GONÇALVES, J. R.; OLIVEIRA, R. C.; VIANNA, U. R. Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum*, criadas em ovos de *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p. 562-565, 2004.

PINTO, J. D. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 13-40.

PINTO, J.D. A review of the new world genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research**, Washington D.C., v.15, nº1 p. 38-163, 2006.

PINTO, J. D.; OATMAN, E. R.; PLATNER, G. R. *Trichogramma pretiosum* and a new cryptic species occurring sympatrically in southwestern North America (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Annals of the Entomological Society of America**, Annanopolis, v.79, n.6, p. 1019-1028, 1986.

POLANCZYK, R.A.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U.R.; OLIVEIRA R.G.S.; ANDRADE, G.S. Interaction between natural enemies *Trichogramma* and *Bacillus thuringiensis* in pest control. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.2, p. 233-239, 2006.

QUERINO, R., ZUCCHI, R. A., PINTO, J. D. Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a focus on the genera attacking Lepidoptera. In:

CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on *Trichogramma***. New York: Springer, 2010. p. 191-218.

RAINS, G. C., UTLEY, S. L., LEWIS, W. J. Behavioral monitoring of trained insects for chemical detection. **Biotechnology Progress**, Hanover, v. 22, p. 2-8, 2006.

RENWICK, J. The chemical world of crucivores: lures, treats and traps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.104, n.1, p. 35-42, 2002.

SANTOS, J.; HUGO, J.; MARQUES, E.; PRATISSOLI, D.; KLOSS, T.; MACHADO, L.; ANDRADE, G. Efeito de *Bacillus thuringiensis* (Bacillaceae) sobre parâmetros biológicos do parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae). **Natureza on line**, Santa Teresa, v.9, n.1, p. 1-6, 2011.

SARFRAZ, M.; KEDDIE, B. A.; DOSDALL, L. M. Biological control of the diamondback moth, *Plutella xylostella*: a review. **Biocontrol Science and Technology**, Manchester, v.15, n.8, p. 763-789, 2005.

SAS INSTITUTE. **SAS/Stat User's Guide**. Carolina del Norte:Cary, 2002.

SCHMIDT, J. Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In: WANJBERG, E.; HASSAN, S. A.; (Eds.). **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 113-135.

SCHMIDT, J. M.; SMITH, J. J. Host volume measurement by the parasitoid wasp *Trichogramma minutum*: the roles of curvature and surface area. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.39, n.3, p. 213-221, 1985a.

SCHMIDT, J. M.; SMITH, J. J. The mechanism by which the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* responds to host clusters. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.39, n.3, p. 287-294, 1985b.

SCHROER, S.; SULISTYANTO, D.; EHLERS, R. U. Control of *Plutella xylostella* using polymer-formulated *Steinernema carpocapsae* and *Bacillus thuringiensis* in cabbage fields. **Journal of Entomology and Nematology**, Nairobi, v.129, n.4, p. 198-204, 2005.

SHU, S.; JONES, R. L. Kinetic effects of a kairomone in moth scales of the european corn borer on *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera:

Trichogrammatidae). **Journal of Insect Behavior**, Amsterdam, v.2, n.1, p. 123-131, 1989.

STEIN, C. P.; PARRA, J. R. P. Aspectos biológico de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) criada em dois sustratos alimentares. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina, v.16, p. 173-185, 1987.

TABONE, E.; PINTUREAU, B.; PIZZOL, J.; MICHEL, F.; BARNAY, O.; TABONE, E. Aptitude de 17 souches de Trichogrammes a parasiter lateigne dès cruciferes *Plutella xylostella* L. em laboratoire (Lep: Yponomeutidae). **Annales de la Société Entomologique de France**, Paris, v.35, n.1, p. 427- 433, 1999.

THAPHAN, P.; KEAWSOMPONG, S.; CHANPAISAENG, J. Characterization of *Bacillus thuringiensis* JCPT121 as promising biopesticide against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.). **Thai Journal of Agricultural Science**, Bangkok, v.44, n.1, p. 61-70, 2011.

THOMSON, L. J.; HOFFMANN, A. A. Laboratory fecundity as predictor of field success in *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology**, Annanopolis. v.95, n.5, p. 912-917, 2002.

THULER, R.T.; DE BORTOLI, S.A.; GOULART, R.M.; VIANA, C.L.T.; PRATISSOLI, D. Interação tritrófica e influência de produtos químicos e vegetais no complexo: brássicas x traça-das-crucíferas x parasitoides de ovos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1154-1160, 2008.

TRIPLEHORN, CH.A.; JOHNSON, N. 2011. ESTUDO DOS INSETOS – Tradução da 7ª edição de Borror and Delong's Introduction to the Study of Insects. . Editora Cengage Learning, EE.UU. 2011. P. 40-44.

VAEZ, N.; IRANIPOUR, S.; HEJAZI, M. Effect of treating eggs of cotton bollworm with *Bacillus thuringiensis* Berliner on functional response of *Trichogramma brassicae* Bezdenko. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Oxfordshire, v.46, n.20, p. 2501-2511, 2013.

VANDEMBERG, J. D.; SHELTON, A. M.; WILSEY, W. T.; RAMOS, M. Assessment of *Beauveria bassiana* sprays for control the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on crucifers. **Journal of Economic Entomology**, Annanopolis, v.91, n.3, p. 624-630, 1998.

van BERGEIJK, K. E.; BIGLER, F.; KAASHOEK, N. K.; PAK, G. A. Changes in host acceptance and host suitability as an effect of rearing *Trichogramma maidis* on a factitious host. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v.52, n.3, p. 229-238, 1989.

VASCONCELOS, Y. Inseto contra inseto. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo, n. 194, p. 68-73, 2012.

VASQUEZ, L.A.; SHELTON, A.M.; HOFFMANN, M.P.; ROUSH, R.T. Laboratory evaluation of commercial Trichogrammatid products for potential use against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Biological Control**, San Diego, v.9, n.1, p. 143 -148, 1997.

VET, L. E. M.; LEWIS, W. J.; CARDE, R. T. Parasitoid foraging and learning. In: CARDE, R. T.; BELL, W. J. (Eds.). **Chemical Ecology of Insects**. New York: Chapman and Hall, 1995. p. 65-101.

VINSON, S. B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, San Diego, v.11, n.2, p. 79-96, 1998.

VINSON, S. Nutritional Ecology of Insect Egg Parasitoids. In: CÔNSOLI, F. L.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). **Egg parasitoids in agrosystems with emphasis on Trichogramma**. New York: Springer, 2010. p. 25-45.

VOLKOFF, A. N.; DAUMAL, J.; BARRY, P.; FRANÇOIS, M. C.; HAWLITZKY, R. M. Development of *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae): timetable and evidence for a single larval instar. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v.24, n.4, p. 459-466, 1995.

WÄCKERS, F. L.; BONIFAY, C.; LEWIS, W. J. Conditioning of appetitive behavior in the Hymenopteran parasitoid *Microplitis croceipes*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 103, p. 135–138, 2002

WÜHRER, B. G.; HASSAN, S. A. Selection of effective species/strains of *Trichogramma* (Hym.; Trichogrammatidae) to control the diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lep., Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.116, n.1-5, p. 80-89, 1993.

YAMAZAKI, T.; ISHIKAWA, T.; PANDIAN, G.; OKAZAKI, K.; HAGINOYA, K.; TACHIKAWA, Y.; MITSUI, T.; MIYAMOTO, K.; CHANAN ANGUSTHANASOMBAT, C.; HORI, H. Midgut juice of *Plutella xylostella* highly resistant to *Bacillus*

thuringiensis Cry1Ac contains a three times larger amount of glucosinolate sulfatase which binds to Cry1Ac compared to that of susceptible strain. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 101, p. 125-131, 2011.

YOU, M.; YUE, Z.; HE, W.; YANG, X.; YANG, G.; XIE, M.; ZHAN, D.; BAXTER, S.; VASSEUR, L.; GURR, G.; DOUGLAS, C.; BAI, J.; WANG, P.; CUI, K.; HUANG, S.; LI, X.; ZHOU, Q.; WU, Z.; CHEN, Q.; LIU, C.; WANG, B.; LI, X.; XU, X.; LU, C.; HU, M.; DAVEY, J.; SMITH, S.; CHEN, M.; XIA, X.; TANG, W.; KE, F.; ZHENG, D.; HU, Y.; SONG, F.; YOU, Y.; MA, X.; PENG, L.; ZHENG, Y.; LIANG, Y.; CHEN, Y.; YU, L.; ZHANG, Y.; LIU, Y.; LI, G.; FANG, L.; LI, J.; ZHOU, X.; LUO, Y.; GOU, C.; WANG, J.; WANG, J.; YANG, H.; WANG, J.; JUN, W. J. A. Heterozygous moth genome provides insights into herbivory and detoxification. **Nature Genetics**, New York, v. 45, p. 220-225, 2013.

ZABORSKI, E.; TEAL, P.E.; LAING, J.E. Kairomone-mediated host finding by spruce budworm egg parasite, *Trichogramma minutum*. **Journal of Chemical Ecology**, New York., v.13, n.1, p. 113-122, 1987.

ZALUCKI, M.; SHABBIR, A.; SILVA, R.; ADAMSON, D.; SHU-SHENG, L.; FURLONG, M. Estimating the economic cost of one of the world's major insect pest, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? **Journal of Economic Entomology**, Annanopolis, v.105, n.4, p. 1115-1129, 2012.

ZUCCHI, R.A.; MONTEIRO, R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. In: PARRA, J.R.P.& ZUCCHI, R.A. (Eds.). *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.41-66.