

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

**PERFORMANCE DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879
e *T. exiguum* Pinto & Platner, 1978 (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE POPULAÇÕES DE
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) SOB AÇÃO DE *Bacillus thuringiensis*
BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)**

Marina Aparecida Viana

Engenheira Agrônoma

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

2012

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

**PERFORMANCE DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879
e *T. exiguum* Pinto & Platner, 1978 (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE POPULAÇÕES DE
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) SOB AÇÃO DE *Bacillus thuringiensis*
BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)**

Marina Aparecida Viana

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

Co orientador: Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Fevereiro de 2012

V614p	<p>Viana, Marina Aparecida</p> <p>Performance de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 e <i>T. exiguum</i> Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: trichogrammatidae) em ovos de populações de <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) sob ação de <i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae)/Marina Aparecida Viana.-Jaboticabal 2012</p> <p>v, 85 f. ; il. ; 28 cm</p> <p>Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012</p> <p>Orientador: Sergio Antonio De Bortoli</p> <p>Co-orientador: Ricardo Antonio Polanczyk</p> <p>Banca examinadora: Fernando Hercos Valicente, Arlindo Leal Boiça Júnior</p> <p>Bibliografia</p> <p>1. Capacidade de parasitismo. 2. Interação. 3. Resposta funcional. 4. Tabela de vida. 5. Teste de preferência. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.</p> <p>CDU 595.79</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento de Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MARINA APARECIDA VIANA – Nascida em 02 de Maio de 1986, em Alegre - Espírito Santo. Engenheira Agrônoma pelo Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), título obtido em fevereiro de 2010. Estagiou no Laboratório de Entomologia no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico de Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças e iniciação científica com bolsa do CNPq durante a graduação. Mestranda em Agronomia / Entomologia Agrícola pela Unesp - Campus de Jaboticabal, com início em março de 2010 e término em fevereiro de 2012. Aprovada na mesma área e instituição para Doutorado com início em março de 2012.

*“Por que os meus pensamentos não são os vossos pensamentos,
nem os vossos caminhos os meus caminhos, diz o Senhor.
Porque, assim como os céus são mais altos do que a terra,
assim são os meus caminhos mais altos do que os vossos caminhos,
e os meus pensamentos mais altos do que os vossos pensamentos.”*

Isaías 55, 8-9.

Aos meus pais Rita e Luiz, que apesar da distância sempre me apoiaram, se entristeceram com as dificuldades impostas a mim, se alegraram com minhas conquistas, e por várias vezes renunciaram de suas vontades para que as minhas fossem atendidas.

Ao meu noivo João Rafael, que sempre esteve ao meu lado, nos melhores e piores momentos, me apoiando e me dando força para seguir em frente, e que me ajudou em todas as etapas desse projeto, tornando-o possível.

Dedico

Ao meu irmão Francisco, que sempre me apoiou e fez o que podia para que eu me tornasse a profissional que sou hoje.

Aos meus cunhados Isabel e Gabriel, sogros Regina e Célio, que hoje também são parte da minha família, e que também sempre me apoiaram e incentivaram.

A Cácia, pela profissional, que me ajudou com os ensinamentos básicos, para desenvolvimento do trabalho, e por ter colaborado com o início do projeto que permitiu a existência deste.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus que colocou todas as oportunidades em meu caminho e me deu forças para vencer e superar todas as dificuldades.

À Unesp de Jaboticabal pela infra-estrutura e oportunidade concedida.

Aos profissionais do Programa de Pós Graduação, em especial de Agronomia (Entomologia Agrícola), e do Departamento de Fitossanidade, funcionários e professores, que são indispensáveis para a ocorrência de todas as fases de execução dos trabalhos propostos, mesmo antes de seu início, com os ensinamentos dos professores e a organização dos funcionários.

Aos Profs. Drs. Sergio Antonio De Bortoli e Ricardo Antonio Polanczyk pela orientação e co orientação, respectivamente.

Ao Prof. Dr. Dirceu Pratisoli, pela orientação na graduação que me trouxe até aqui, e também por ceder os parasitoides utilizados na presente dissertação.

Ao Prof. Dr. Manoel Victor Franco Lemos, por ceder e autorizar o uso dos isolados produzidos em seu laboratório LGBBA (Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada).

À equipe do LBCI (Laboratório de Biologia e Criação de Insetos), que possibilitou a realização do projeto.

A Dr^a. Alessandra Marieli Vacari pela ajuda nas análises estatísticas e revisões do artigo e dissertação.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento pela concessão de bolsa de estudos.

Às Dr.^{as} Cácia Leila Tigre Pereira Viana, Najara da Silva, Juliana Rossi e Ana Maria Guidelli Thuler por todos os ensinamentos, principalmente sobre bactéria, sendo imprescindíveis para minha compreensão e conhecimento do assunto.

Ao meu noivo João Rafael De Conte Carvalho de Alencar pelo profissional, que me ajudou em todas as fases desse trabalho.

Aos meus amigos: Alessandra Otuka, Elizabeth Pedroso, Jaqueline Maeda, Natalia Vieira, Thiago Agostini, Lucas Agostini, Diego Fraga, Diego Olympio, Leandro de Souza, Laís Santos, Tatiana Ramos, Vanessa Paes, Andrea Varella, Juliana Nais, José Fernando Grigolli, Marina Funicello, Nirelcio Pereira, Míriam Kubota, Jacob Netto, Oniel Aguirre e Iara Macedo. Que por muitas vezes me ajudaram profissionalmente e/ou com uma palavra de apoio e carinho, agradeço a vocês, pois pequenas atitudes de verdadeiros amigos influenciam em toda uma vida e dão forças para realização de nosso trabalho.

Agradeço a todos que de alguma maneira, mesmo que na menor fração de segundo contribuíram para a realização dessa dissertação.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
SUMMARY.....	v
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – ESCOLHA DAS LINHAGENS.....	2
3 – OBJETIVO.....	3
4 – REVISÃO DE LITERATURA.....	3
4.1 – <i>Plutella xylostella</i>	3
4.2 – <i>Trichogramma</i>	5
4.3 – <i>Bacillus thuringiensis</i>	8
5 – REFERÊNCIAS.....	10
CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE PARASITISMO DE <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY, 1879 E <i>Trichogramma exiguum</i> PINTO & PLATNER, 1978 EM DIFERENTES DENSIDADES DE OVOS DE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) SOB AÇÃO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE).....	22
RESUMO.....	22
1 – INTRODUÇÃO.....	23

2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.1 – Criação e manutenção de <i>Plutella xylostella</i>	26
2.2 – Criação e manutenção de <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>T. exiguum</i>	27
2.3 – Manutenção de <i>Bacillus thuringiensis</i>	28
2.4 – Bioensaios.....	30
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4 – CONCLUSÃO.....	41
5 – REFERÊNCIAS.....	42
CAPÍTULO 3 – CAPACIDADE DE PARASITISMO E AUMENTO POPULACIONAL DE <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY, 1879 E <i>Trichogramma exiguum</i> PINTO & PLATNER, 1978 EM OVOS DE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) SOB AÇÃO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE).....	49
RESUMO.....	49
1 – INTRODUÇÃO.....	50
2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4 – CONCLUSÃO.....	62
5 – REFERÊNCIAS.....	62

CAPÍTULO 4 – PREFERÊNCIA DE <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY, 1879 E <i>Trichogramma exiguum</i> PINTO & PLATNER, 1978 A OVOS DE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) SOB AÇÃO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE).....	69
RESUMO.....	69
1 – INTRODUÇÃO.....	70
2 – MATERIAL E MÉTODOS.....	72
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4 – CONCLUSÃO.....	78
5 – REFERÊNCIAS.....	79
CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
REFERÊNCIAS.....	85

PERFORMANCE DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 e *T. exiguum* PINTO & PLATNER, 1978 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) EM OVOS DE POPULAÇÕES DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) SOB AÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)

RESUMO

O objetivo do trabalho foi estudar a performance de *Trichogramma exiguum* e *Trichogramma pretiosum*, em ovos de populações de *Plutella xylostella* sob ação de a *Bacillus thuringiensis*. O experimento constou de quatro tratamentos por parasitoide, sendo: ovos da população suscetível (Ps) a Bt com mais de 100 gerações em laboratório (Testemunha); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 por mais de 40 gerações (Res); ovos da Ps pulverizados com HD-1 e ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024. As fêmeas foram individualizadas e alimentadas com uma gotícula de mel. Os testes realizados foram avaliados: a resposta funcional, capacidade de parasitismo, tabela de vida e teste de preferência. Para análise de resposta funcional foram testadas as densidades de 2, 4, 8, 16, 32 e 64 ovos, e a melhor densidade utilizada para os demais testes, utilizando as densidades de 32 e 8 para *T. pretiosum* e *T. exiguum* respectivamente. Os parâmetros avaliados foram: parasitismo, viabilidade, razão sexual, longevidade e período ovo-adulto. *B. thuringiensis* afeta os ovos de *P. xylostella* influenciando o parasitismo de *Trichogramma* sp., de maneira positiva ou negativa dependendo do isolado utilizado. A interação *Trichogramma*-Bt pode sofrer alterações de acordo com a espécie do parasitoide utilizada e do isolado de Bt, sendo necessário estudo das interações específicas antes de seu uso em conjunto.

Palavras-chave: Capacidade de parasitismo, interação, resposta funcional, tabela de vida, teste de preferência

PERFORMANCE of *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 and *T. exiguum* PINTO & PLATNER, 1978 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) IN EGGS OF POPULATIONS OF *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) UNDER THE ACTION OF *Bacillus thuringiensis* BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)

SUMMARY

This research aimed the study of the performance of *Trichogramma exiguum* and *Trichogramma pretiosum* in eggs of *Plutella xylostella* populations under the action of *Bacillus thuringiensis* (Bt). The experiments consisted of four treatments for each parasitoid, as follows: eggs of the susceptible population (Ps) to Bt with more than 100 generations in the laboratory (Witness), eggs of the population subjected to selection pressure to isolate HD-1 for more than 40 generations (Res); Ps eggs sprayed with HD-1 and eggs of Ps sprayed with isolate T08.024. The females were individualized and fed with a drop of honey. Some parameters were evaluated: the functional response, parasitism capacity, life table and preference test. For analysis of functional response the densities of 2, 4, 8, 16, 32 and 64 eggs were tested, and the best densities were used for other tests, that were, 32 and 8 eggs for *T. pretiosum* and *T. exiguum* respectively. The parameters evaluated were: parasitism, viability, sex ratio, longevity and egg-adult period. *Bacillus thuringiensis* affected the eggs of *Plutella xylostella* influencing parasitism of *Trichogramma* sp., positively or negatively, depending on the isolate used. The interaction *Trichogramma-Bacillus thuringiensis* may change according to the species of parasitoid and the Bt strain used, it is necessary to study the specific interactions prior to use their two agents together.

Key words: Parasitism capacity, interaction, functional response, life table, preference test.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

O controle biológico é uma alternativa ao controle químico, sendo, em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), utilizados em conjunto. Parasitoides, predadores e microorganismos entomopatogênicos são agentes de controle biológico usados no mundo todo.

O uso do bioinseticida à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae), em combinação com outras táticas de manejo, pode resultar numa ótima estratégia para contornar o problema da resistência de pragas, como por exemplo, o uso de áreas de refúgio, rotação de culturas e inimigos naturais (VAN RIE & FERRÉ, 2000; MEDEIROS, 2004).

A atuação conjunta de inimigos naturais é considerada excelente alternativa no manejo de insetos-praga em diversos agroecossistemas, sendo que este tipo de interação pode ocorrer naturalmente ou por meio da manipulação do homem, de forma inoculativa ou inundativa, mediante a liberação de parasitoides e predadores ou da aplicação de entomopatógenos. Em diversos agroecossistemas são comuns os relatos referentes à interação de inimigos naturais, sendo considerada uma das principais formas de incrementar o controle biológico. Porém, como qualquer tipo de interação, os efeitos podem ser favoráveis ou não, podendo ser considerado de ação sinérgica, aditiva ou antagônica (ALVES, 1998).

Trichogramma spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) apresentam potencial de integração com outros métodos de controle (OATMAN et al., 1983; CAMPBELL et al., 1991; MERTZ et al., 1995, SOARES et al., 2007), assim como com outros agentes em programas de Manejo Integrado de Pragas. Dentre esses agentes, os microorganismos entomopatogênicos tem apresentado crescente utilização nesses programas, principalmente *B. thuringiensis* (Bt).

Os conhecimentos das interações envolvidas entre parasitoides do gênero *Trichogramma*, da bactéria *B. thuringiensis* e insetos-alvo ainda são incipientes no Brasil. Trabalhos precursores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de pragas (MARQUES & ALVES, 1995; MORANDI FILHO et al., 2006; POLANCZYK et al., 2006).

2 ESCOLHA DAS LINHAGENS

A escolha das linhagens utilizadas no trabalho, tanto para os parasitoides quanto para a bactéria, foram direcionadas devido a outros trabalhos.

Para as espécies do parasitoide a escolha foi baseada em trabalhos que demonstram ambas as espécies como promissoras para o controle de *P. xylostella*, sendo escolhidas *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (GUO et al., 1989; MEIRA et al., 2011) e *T. exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (TABONE et al., 1999; THULER et al., 2008).

Para a escolha dos isolados de bactérias, optou-se pelo isolado HD-1 subespécie *kurstaki* por ser utilizado em formulados para a produção de bioinseticidas comerciais (ex. Dipel®), que tem alta toxicidade e amplo espectro de ação, e grande destaque no mercado mundial, com eficiência para 170 lepidópteros-praga (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000) e pelo isolado T08.024 por ter apresentado bons resultados em trabalhos realizados por VIANA et al., 2007, demonstrando o isolado como promissor para o controle de *P. xylostella*; foi identificado a presença de alguns genes *cry* nos isolados testados, sendo para HD-1 os genes *cry1Aa*, *cry1Ab* e *cry1Ae* e para T08.024 o gene *cry1Ac* (VIANA, 2007)

3 OBJETIVO

Um dos fatores que pode ser responsável pelo sucesso ou fracasso da utilização de parasitoides do gênero *Trichogramma* no controle de lepidópteros-praga é o conhecimento de seus parâmetros biológicos quando associados a determinado hospedeiro-alvo, tais como: capacidade e viabilidade do parasitismo, duração do ciclo de desenvolvimento, razão sexual e longevidade (FUENTES, 1994).

O objetivo do trabalho foi estudar a performance de *Trichogramma exiguum* e *Trichogramma pretiosum*, em ovos de populações de *P. xylostella* sob ação dos isolados HD-1 e T08.024 de *Bacillus thuringiensis*, observando-se também a diferença entre as espécies de parasitoide. Para isto foram avaliados: a resposta funcional, capacidade de parasitismo, tabela de vida e teste de preferência.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 *Plutella xylostella*

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada a praga mais importante das plantas da família Brassicaceae, no Brasil e no mundo (DIAS et al., 2004), devido aos sérios danos causados às plantas, ocasionando grandes perdas nos campos de produção (CASTELO BRANCO & FRANÇA, 2001).

É originária provavelmente da Europa, mas hoje se encontra em toda a América, Europa, Sudeste Asiático, Austrália e Nova Zelândia. Foi observada pela primeira vez no Norte da América, em 1854, em Illinois, mas se espalhou para a Flórida e Montanhas Rochosas até 1883, e foi relatada na Colômbia por British a partir de 1905. É a principal praga das brássicas na Ásia e na América. No Brasil,

o primeiro registro de *P. xylostella* foi feito na Bahia (BONDAR, 1928), sendo que nesta época a praga inutilizava os cultivos de repolho da região.

É um inseto de ciclo curto (Figura 1), em que a temperatura é fator determinante, pois em condições mais quentes o ciclo pode ser de 12 dias. O número de gerações varia de 5 a 10 por ano, dependendo das condições climáticas e da disponibilidade de alimento, pois as populações dessa praga variam muito de um ano a outro (CASTELO BRANCO & VILLAS BÔAS, 1997; DIAS et al., 2004). As fêmeas ovipositam na face abaxial das folhas. Após a eclosão, as lagartas de primeiro ínstar “minam” as folhas, alimentando-se do parênquima por dois ou três dias. Em seguida, abandonam as “minas” e passam a alimentar-se da epiderme, perfurando as folhas e inutilizando-as para o consumo. Quando completam o desenvolvimento larval, empupam no interior de um pequeno casulo de seda na face abaxial das folhas (IMENES et al., 2002).



Figura 1: Ciclo de vida de *Plutella xylostella*.

No Brasil, sua ocorrência tem sido observada durante todo o ano (MELO et al., 1994; LOGES, 1996). A praga está diretamente relacionada à redução de

produção de brássicas nos plantios comerciais em todas as regiões de cultivo do mundo (DICKSON et al., 1990), sendo que os danos por ela causados acarretam a depreciação do produto, o atraso no crescimento da planta e até mesmo a morte (MONNERAT et al., 2004).

Para contornar os danos causados pela traça é frequentemente utilizado o controle químico, por ser considerado rápido e eficiente na redução populacional dessa praga (TALEKAR & SHELTON, 1993; CASTELO BRANCO & MELO, 2002; DIAS et al., 2004). No entanto, tal prática não tem apresentado bons resultados ao longo dos anos, uma vez que, em alguns casos, aplicações de inseticidas, em até três vezes semanais, não reduziram os danos da traça (CASTELO BRANCO et al., 2001). E atualmente visa-se a obtenção de medidas de controle tecnicamente mais adequadas, economicamente satisfatórias e ecologicamente corretas (THULER, 2006).

4.2 *Trichogramma*

Trichogrammatidae é uma das 20 famílias agrupadas na superfamília Chalcidoidea (PARRA & ZUCCHI, 1997), um grupo de insetos estritamente parasitoides e, conseqüentemente, de importância para o controle biológico. Trichogrammatidae são normalmente endoparasitoides primários solitários ou gregários de ovos, mas há relatos de hiperparasitoides facultativos e parasitismo larval em Cecydomyiidae (NOYES, 2003).

Embora a família seja uma das menores em Chalcidoidea (aproximadamente 650 espécies em 80 gêneros), sua importância para entomologia aplicada é considerável. Essa importância se deve quase exclusivamente ao gênero *Trichogramma*, o maior da família, que se desenvolve em inúmeras espécies de praga principalmente da ordem Lepidoptera. Devido a essa associação com as espécies de pragas, bem como a disponibilidade de técnicas de criação massal, esse gênero tornou-se um dos grupos de insetos

entomófagos mais comumente usado no controle biológico (PARRA & ZUCCHI, 1997).

Apresentam ciclo relativamente curto (Figura 2), geralmente de 10 dias, porém pode variar de acordo com a espécie e as condições climáticas (temperatura, fotoperíodo, umidade) (PRATISSOLI & PARRA, 2001; BESERRA & PARRA, 2004; MOLINA & PARRA, 2006; NAVA, 2007). De acordo com VOLKOFF et al. (1995) e DAHLAN & GORDH (1996) apresentam apenas um instar larval; a longevidade dos adultos pode variar de acordo com a alimentação e temperatura, sendo que fêmeas adultas alimentadas apenas com mel sobrevivem cerca de 3 dias, enquanto as que se alimentam de mel+ovo vivem em média 24 dias (KNUTSON, 1998).

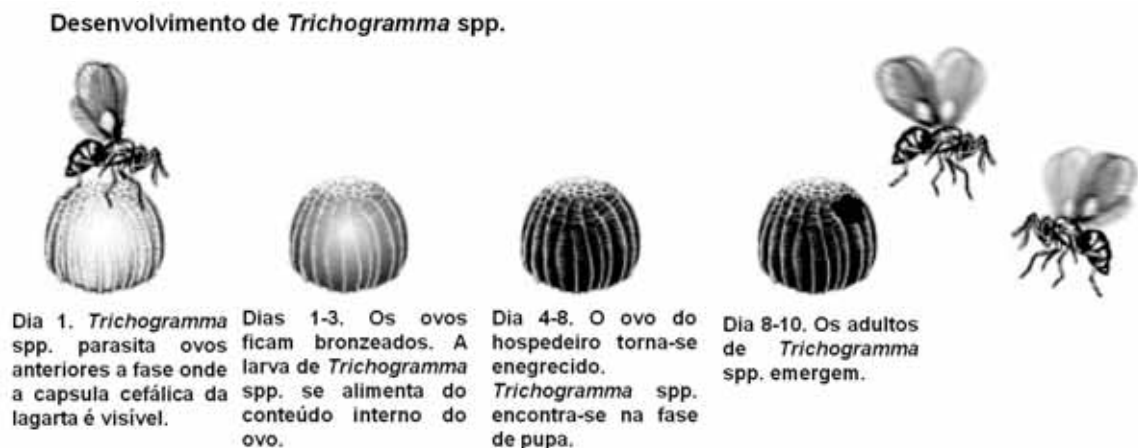


Figura 2: Ciclo de vida de *Trichogramma*. Adaptado de KNUTSON (1998).

Ocorre partenogênese telítica reversível ou não, genética ou induzida por *Wolbachia* spp. (Proteobacteria: Rickettsiales) (STOUTHAMER & WERREN, 1993). *Wolbachia* spp. são bactérias encontradas em tecidos reprodutivos (ovários e testículos) de uma vasta gama de artrópodes. Estas bactérias causam uma série de alterações reprodutivas em seus hospedeiros, incluindo

incompatibilidade citoplasmática entre as linhagens e espécies afins, a indução a partenogênese, e feminização de machos genéticos (WERREN, 1997)

Na reprodução normal em Hymenoptera, os ovos fecundados são diplóides e originam fêmeas, enquanto ovos não fecundados são haplóides e originam machos, ocorrendo partenogênese arrenótoca. Na partenogênese telítoca, os ovos não fecundados também são capazes de originar fêmeas diplóides. A reversibilidade é detectada no fato de que, se as fêmeas telítocas forem submetidas a tratamento com antibiótico, podem voltar a reproduzir normalmente com a fecundação dos machos, ou seja, não estão reprodutivamente isoladas do restante da população. A ocorrência deste fenômeno tem implicações tanto na separação de espécies (que já é suficientemente problemática, com a existência de espécies crípticas e variação intraespecífica) quanto no controle biológico (PINTO & STOUTHAMER, 1994).

O gênero *Trichogramma* é constituído de aproximadamente 180 espécies, é um importante agente de controle biológico, isto se deve a sua ampla distribuição geográfica, onde está associado eficientemente a um grande número de espécies pragas de cultura de interesse econômico como: soja, milho, algodão, tomate, hortaliças etc. (PARRA et al., 2002).

Os estudos a respeito de *Trichogramma* spp. indicam que o desenvolvimento da larva da vespa é condicionado a vários fatores, entre eles: a capacidade do córion do ovo hospedeiro de resistir à dessecação, quantidade de alimento disponível, temperatura, número de parasitoides se desenvolvendo no ovo, tamanho do ovo hospedeiro e até mesmo qual o hospedeiro, uma vez que ocorre polifagia. O desenvolvimento pode resultar em polimorfismo dos adultos. A fêmea marca com feromônios os ovos em que ovipositou, mas há registro tanto de superparasitismo quanto de multiparasitismo (HANSON & GAULD, 1995).

Trichogramma spp. podem se desenvolver em ovos de diversos insetos-praga (PHILIP & ORR, 2008). Eles destacam-se entre os agentes biológicos por parasitarem ovos de pragas agrícolas (PRATISSOLI et al., 2004) e florestais

(OLIVEIRA et al., 2000; 2003; SOARES et al., 2007), principalmente da ordem Lepidoptera.

4.3 *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis é uma bactéria em forma de bastonete, Gram-positiva, flagelada, pertencente à família Bacillaceae; é anaeróbica facultativa, podendo ser encontrada nos mais variados ecossistemas terrestres (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2000), e em substratos como solo, água, insetos mortos e algumas plantas (KRYWUNCZYK & FAST, 1980; MONNERAT & BRAVO, 2000; VALICENTE & BARRETO, 2003). Desenvolve-se em meios aeróbicos artificiais bastante simples e, na ausência de certos nutrientes ou acúmulo de metabólitos indesejáveis, entra em processo de esporulação na fase estacionária. Durante a esporulação sintetizam uma inclusão protéica cristalina, composta por subunidades denominadas cristais, com atividade inseticida. Os cristais são constituídos por δ -endotoxinas, que são as proteínas Cry e Cyt, que vão sendo acumuladas na célula bacteriana (HERRNSTADT et al., 1986; DIAS, 1992; GLARE & O' CALLAGHAM, 2000).

Esta bactéria tem efeito em espécies de diversas ordens de artrópodes, entre elas: Coleoptera, Collembola, Diptera, Blattaria, Hemiptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera, Neuroptera, Orthoptera, Siphonaptera, Thysanoptera (WASANO et al., 1998, 2001; VAN FRANKENHUYZEN, 2009). O uso para controle de insetos-praga se dá para as ordens Coleoptera, Diptera e Lepidoptera (MONNERAT & BRAVO, 2000; MEDEIROS et al., 2005), sendo que diversos trabalhos relatam seu uso para controle da traça-das-crucíferas (CASTELO BRANCO & AMARAL, 2002; MONNERAT et al., 2004; DIAS et al., 2004; SAYYED et al., 2004; KHAN et al., 2005), sendo que para *P. xylostella* tem-se confirmadas 28 toxinas Cry que possuem efeito patogênico: Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Ad, Cry1Ah, Cry1Ba, Cry1Bd, Cry1Be, Cry1Bf, Cry1Ca, Cry1Fa, Cry1Gb,

Cry1Gc, Cry1Ia, Cry1Ib, Cry1Id, Cry1Ie, Cry1If, Cry1Ja, Cry1Jb, Cry1Jc, Cry2Aa, Cry7Ba, Cry8Da, Cry9Aa, Cry9Ca, Cry9Ec, Cry22Ab, Cry32Aa (VAN FRANKENHUYZEN, 2009).

Os cristais de Bt, após serem ingeridos pelas larvas dos insetos suscetíveis, sofrem ação do pH intestinal e de proteases, que os solubilizam e ativam as toxinas (proteínas Cry). Essas toxinas se ligam a receptores localizados no tecido epitelial do intestino médio das larvas, formando poros que aumentam a permeabilidade da membrana e ocasionam a quebra do equilíbrio osmótico da célula, que intumescce e rompe, propiciando o extravasamento do conteúdo intestinal para a hemocele do inseto (Figura 3). Em consequência, a larva para de se alimentar, torna-se imóvel e morre por inanição ou septicemia (KNOWLES, 1994; COPPING & MENN, 2000; PRAÇA et al., 2004, BRAVO et al., 2007).

O mercado de bioinseticidas representa cerca de 2,5% do mercado mundial de inseticidas e produtos à base desta bactéria representam 53% dos bioinseticidas (CPL Business Consultants & CAB International Centre, 2010), já no Brasil utilizam-se produtos à base de Bt para o controle de cerca de 30 pragas de importância agrícola (SOUZA, 2001; POLANCZYK & ALVES, 2005). Apesar da eficiência do Bt ser comprovada para diversas pragas de diferentes ordens, tem sido relatada a seleção de populações resistentes a esta bactéria em todo o mundo, com destaque para *P. xylostella*, cuja resistência foi observada por ZHAO et al. (1993), TABASHNIK (1994), PEREZ & SHELTON (1997), WRIGHT et al. (1997) e CASTELO BRANCO et al. (2003) em populações dos EUA (Flórida, Hawaii e Nova York), América Central (Costa Rica, Guatemala, Honduras e Nicarágua), Ásia (Japão, Malásia) e Brasil, respectivamente.

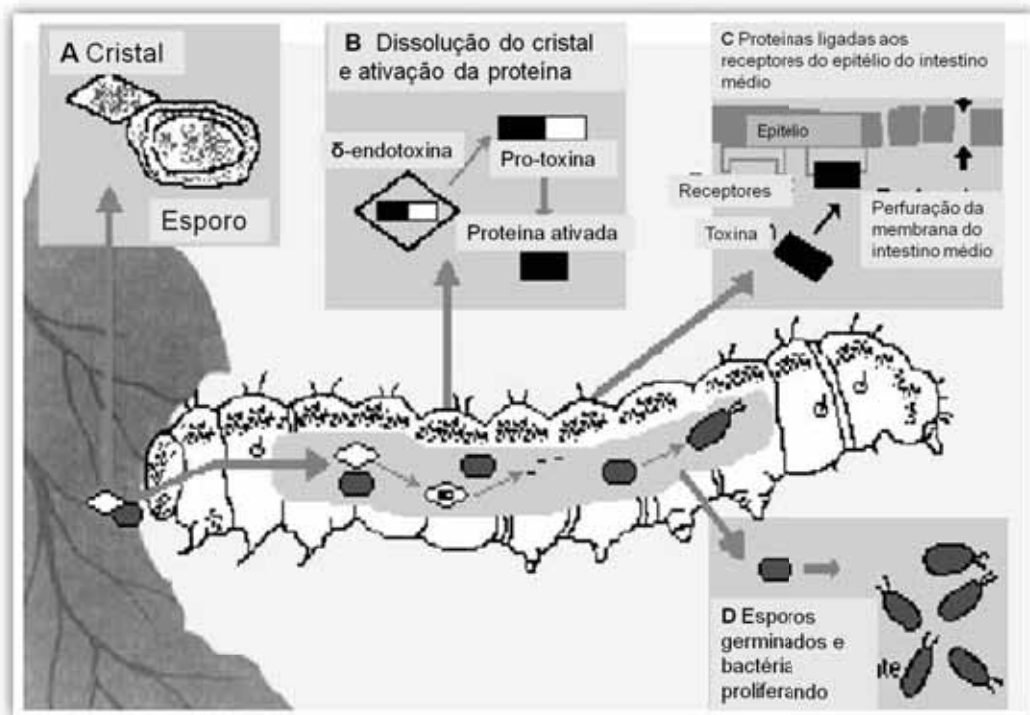


Figura 3: Processo de infecção de *Bacillus thuringiensis*. (Adaptado de: International Programme on Chemical Safety)

5 REFERÊNCIAS

ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 765-778.

BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 48, n. 1, p.119-126, 2004.

BONDAR, G. Aleyrodídeos do Brasil (2ª. Contribuição). **Laboratory Pathology Vegetal**, Salvador, v. 5, s/n, p. 1-37, 1928.

BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERON, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, Elmsford, v.49, n.4, p. 423–435, 2007.

CAMPBELL, C.D.; WALGENBACH, J.F.; KENNEDY, G.G. Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide-treated and untreated tomatoes in western North Carolina. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, n.6, p. 1662-1667, 1991.

CASTELO BRANCO, M.; AMARAL, P. S. T. Inseticidas para controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 410-415, 2002.

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

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

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 60-63, 2001.

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

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

COPPING, L. G.; MENN, J. J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, Hoboken, v. 56, n. 8, p. 651-676, 2000.

CPL BUSINESS CONSULTANTS; CAB INTERNATIONAL CENTRE. **The 2010 worldwid biopesticides market summary**. Walingford: CPL Business Consultants. 2010. 39p.

DAHLAN, A. N.; GORDH, G. Development of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Helicoverpa armigera* (Hübner) eggs (Lepidoptera: Noctuidae). **Australian Journal of Entomology**, Canberra, v. 35, n. 4 p. 337-344, 1996.

DIAS, J. M. C. S. Produção e utilização de bioinseticidas bacterianos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, s/n, p. 59-76, 1992.

DIAS, D. G. S.; SOARES, C. M S.; MONNERAT, R. Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 553-556, 2004.

DICKSON, M. H.; SHELTON, A. M.; EIGENBRODE, S. D.; VAMOSY, M. L.; MORA, M. Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage. **Hortscience**, Alexandria, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

FUENTES, S. F. Producción y uso de *Trichogramma* como regulador de plagas. **Red de acción em alternativas al uso de agroquímicos (RAAA)**, Lima, 1994. p.192.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. ***Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety***. Chichester: John Wiley, 2000. p. 350.

GUO, M.; Zhu, D.; Li, L. Selection of *Trichogramma* species for controlling the diamondback moth *Plutella xylostella* (L.). **Entomologia Sinica**, Shensi, v. 6, n. 2, p. 187-192, 1999.

HANSON, P. E.; GAULD, I. D.. The biology of hymenoptera. Natural history, p. 20-28. *In*: HANSON, P. E.; GAULD, I. D. (Eds.). **The Hymenoptera of Costa Rica**. New York: Oxford University Press, 1995. 893 p.

HERRNSTADT, C.; SOARES, G. G.; WILCOX, E. R.; ESWARDS, D. L. A. New strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran insects. **Biotech**, San Diego, v. 47, s/n, p. 305-308, 1986.

IMENES, S. D. L.; CAMPOS, T. B. de; RODRIGUES NETTO, S. M.; BERGMANN, E. C. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.1, p. 81-84, 2002.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY. *In*: ERLANDSON, M.; LITOWSKI, T. The Butterfly affected. http://www.odec.ca/projects/2005/erla5m0/public_html/how.html#links. Acessado em 22/12/2011.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia Celular e Molecular**. 7.ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2000. p. 339.

KHAN, M. F. R.; RIFFIN, P.; CARNER, G. R.; GORSUCH, C. S. Susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from collard fields in South Carolina to *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Agriculture Urban and Entomology**, Sidney, v. 22, n. 1, p. 19-26, 2005.

KNOWLES, B. H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal d-endotoxins. **Advances in Insect Physiology**, New York, v.24, n.8, p.275-308, 1994.

KNUTSON, A. **The Trichogramma Manual**. College Station: The Texas A & M University System, 42 p., 1998.

KRYWUNCZYK, J.; FAST, P. G. Sorological relationships of the crystals of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v.36, s/n, p.139-140, 1980.

LOGES, V. **Danos causados pela traça das crucíferas *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) em cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) e efeito sobre populações da praga e do parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912), em condições de campo**. 1996. 98f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Entomologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1996.

MARQUES, I. M. R.; ALVES, S. B. Influência de *Bacillus thuringiensis* no parasitismo de *Scrobipalpuloidea absoluta* (Lep. Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* R. (Hym: Trichogrammatidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.38, n. 1, p. 317-325, 1995.

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

MEDEIROS, P. T. **Estirpes brasileiras de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle biológico da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella***. 2004. 82f.

Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2004.

MEIRA, A. L.; PRATISSOLI, D.; SOUZA, L. P.; STURM, G. Seleção de espécies de *Trichogramma* sp. em ovos da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 2, p. 1-8, 2011.

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

MERTZ, B.P., FLEISCHER, S.J., CALVIN, D.D.; RIDGWAY, R.L. Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.88, n.6, 1616-1625, 1995.

MOLINA, R. M. S.; PARRA, J. R. P. Seleção de linhagens de *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) e determinação do número de parasitoides a ser liberado para o controle de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 50, n. 4, p. 534-539, 2006.

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

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

MORANDI FILHO, W. J., BOTTON, M., GRÜTZMACHER, A. D., GIOLO, F. P.; MANZONI, C. G. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n. 4, p.1072-1078, 2006.

NAVA, D. E.; TAKAHASHI, K. M.; PARRA; J. R. P. Linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea* para controle de *Stenomoma catenifer*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.1, p.9-16, 2007.

NOYES, J. S. Universal Chalcidoidea Database – Trichogrammatidae - The Natural History Museum. 2003. Disponível em <http://www.nhm.ac.uk/research-curation/research/projects/chalcidoids/index.html>. Acessado em 19/06/2011.

OATMAN, E.R.; WYMAN, J.A.; VAN STEENWYK, R.A.; JOHNSON, M.W. Integrated control of the tomato fruitworm (Lepidoptera: Noctuidae) and other lepidopterous pests on fresh-market tomatoes in southern California. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 76, n.6, p.1363-1369, 1983.

OLIVEIRA, H. N. de; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E. Influência da idade de ovos de *Oxydia vesulia* no parasitismo de *Trichogramma maxacalli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 4, p.231-236, 2003.

OLIVEIRA, H. N. de; ZANUNCIO, J. C.; PRATISSOLI, D.; CRUZ, I. Parasitism rate and viability of *Trichogramma maxacalli* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitoid of the *Eucalyptus* defoliator *Euselasia apisaon* (Lep.: Riodinidae), on eggs *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae). **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.130, n. 1, p.1-6, 2000.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle Biológico no Brasil: Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002, p.125-142.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997, 324 p.

PEREZ, C. J.; SHELTON, A. M. Resistance of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* Berliner in Central America. **Journal of Economic Entomology**, Auburn, v.90, n. 5, p.87-93, 1997.

PHILIP, M. M; ORR, D. B. Operational considerations for augmentation of *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of *Rhyacionia frustrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in *Pinus taeda* plantations. **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v.101, n. 2, p. 421-429, 2008.

PINTO, J. D.; STOUTHAMER, R. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological Control with Egg Parasitoids**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 1-36.

POLANCZYK, R. A., PRATISSOLI, D., VIANNA, U. R., OLIVEIRA, R. G. S.; ANDRADE, G. S. Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p.233-239, 2006.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociencia**, Chapingo, v.7, n.2, p.1-10, 2003.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecologia**, Turrialba, v. 74, s/n, p.24-33, 2005.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, E. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R. G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.1, p.11-16, 2004.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle das traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 277-282, 2001.

PRATISSOLI, D.; PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PARRA, J. R. P.; PEREIRA, C. L. T. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.4, p.754-757, 2004.

SAYYED, A. H.; RAYMOND, B.; IBIZA-PALACIOS, S.; ESCRICHE, B.; WRIGHT, D. J. Genetic and biochemical characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 12, p. 7010-7017, 2004.

SOARES, M. A.; LEITE, G. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, S. L.; DE SÁ, V. G. M.; SERRÃO, J. E. Flight capacity, parasitism and emergence of five *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species from forest areas in Brazil. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.35, n. 3, p. 314-318, 2007.

SOUZA, M. L. de. Utilização de microrganismos na agricultura. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, n.21, p.28-31, 2001.

STOUTHAMER; W. Microbes associated with parthenogenesis in wasps of the genus *Trichogramma*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 61, n. 1, p. 6-9, 1993.

TABASHNIK, B. E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.39, n. 1, p.47-79, 1994.

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

TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.38, n.1, p.275-301, 1993.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P.; 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.

THULER, R. T. ***Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae): táticas para o manejo integrado em brássicas**. 2006. 83f. Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

VALICENTE, F. H.; BARRETO, M. R. *Bacillus thuringiensis* survey in Brazil: geographical distribution and insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, vol.32, n.4, p. 639-644, 2003,

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

VAN RIE, J.; FERRÉ, J. Insect resistance to *Bacillus thuringiensis* crystal proteins, In: CHARLES, J. F.; DELECLUSE, A.; NIELSEN-LEROUX, C. (Eds.).

Entomopathogenic Bacteria. Hingham: Kluwer Academic Publications, 2000. p. 219-237.

VIANA, C.L.T.P. **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner efetivos em lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).** 2007. 90f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp, Jaboticabal.

VIANA, C. L. T. P.; DE BORTOLI, S. A.; THULER, R. T.; GOULART, R. M.; THULER, A. M. G.; LEMOS, M. V. F.; FERRAUDO, A. S. Efeito de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Científica**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 22-31, 2009.

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

WASANO, N.; OHBA, M. Assignment of d-endotoxin genes of the four Lepidoptera-specific *Bacillus thuringiensis* strains that produce spherical parasporal inclusions. **Current Microbiology**, New York, v. 37, n. 6, p.408–411, 1998.

WASANO, N.; OHBA, M.; MIYAMOTO, K. Two d-endotoxin genes, cry9Da and novel related gene, commonly occurring in Lepidoptera-specific *Bacillus thuringiensis* Japanese isolates that produce spherical parasporal inclusions. **Current Microbiology**, New York, v. 42, n. 2, p. 129–133. 2001.

WRIGHT, D. J.; IQBAL, M.; GRANERO, F.; FERRÉ, J. A change in a single midgut receptor in the diamondback moth (*Plutella xylostella*) is only part responsible for field resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and

Bacillus thuringiensis subsp. *aizawai*. **Applied and Environmental Microbiology**, Birmingham, v. 63, n. 5, p.1814-1819, 1997.

WERREN, J. H. Biology of *Wolbachia*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 42, p. 587-609. **1997**.

ZHAO, J. Z.; ZHU, G. R.; ZHU, Z. L.; WANG, W. Z. Resistance of diamondback moth to *Bacillus thuringiensis* in china. **Resistance Pest Management**, Lansing, v. 5, n. 1, p.11-12, 1993.

CAPÍTULO 2 – COMPORTAMENTO DE PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 E *Trichogramma exiguum* PINTO & PLATNER, 1978 EM DIFERENTES DENSIDADES DE OVOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) SOB AÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)

RESUMO

O objetivo foi avaliar a influência dos isolados HD-1 e T08.024 de *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* (Bt) no comportamento de *Trichogramma pretiosum* e *T. exiguum* em ovos de diferentes populações de *Plutella xylostella*, por pulverização direta da suspensão de Bt sobre os ovos da praga e em ovos de uma população submetida à pressão de seleção a Bt. O experimento constou de quatro tratamentos, sendo: ovos da população suscetível (Ps) a Bt com mais de 100 gerações (100^a-105^a) em laboratório (Testemunha); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 por mais de 40 gerações (40^a-45^a) (Res); ovos da Ps pulverizados com HD-1 e ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024. Os ovos, nas densidades de 2, 4, 8, 16, 32 e 64, foram oferecidos a fêmeas individualizadas dos parasitoides. Os parâmetros avaliados foram: parasitismo, viabilidade e razão sexual, todos submetidos à análise de variância e teste de Tukey, foram estimados a taxa de ataque e o tempo de manipulação. As espécies de parasitoides estudadas apresentaram comportamento distinto. A população de *P. xylostella* submetida à pressão de seleção, propiciou aumento de parasitismo de *T. pretiosum*, mas não no caso da espécie *T. exiguum*. Os isolados T08.024 e HD-1 propiciaram menor viabilidade de ambos os parasitoides. Os isolados também afetaram a razão sexual de *T.*

pretiosum, mas todas permaneceram dentro do recomendado (0,5). Para *T. pretiosum* a densidade de ovos mais adequada é a de 32 ovos, e *T. exiguum* não sofreu influência da densidade.

Palavras-chave: Bt, Controle microbiano, interação, parasitoide de ovos, traça-das-crucíferas

1 INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), está diretamente relacionada com a redução da produtividade de brassicáceas em plantios comerciais no mundo (DICKSON et al., 1990), sendo que os danos por ela causados acarretam a depreciação do produto, o atraso no crescimento da planta e até mesmo a inviabilização da produção (MONNERAT et al., 2004). Para contornar os danos causados pela traça, o método de controle mais empregado ainda é o químico, por ser considerado rápido e eficiente na redução populacional dessa praga (DIAS et al., 2004). No entanto, tal prática não tem apresentado bons resultados ao longo dos anos, uma vez que, em alguns casos, aplicações de inseticidas, até três vezes semanais, não reduziram os danos causados pelo inseto (CASTELO BRANCO et al., 2001).

Uma alternativa ao controle químico é o uso de agentes de controle biológico, como os parasitoides, predadores e microorganismos entomopatogênicos, que são usados em toda parte do mundo, e podem ser utilizados em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Bacillus thuringiensis Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae) é uma bactéria entomopatogênica que se destaca como alternativa para o controle mais eficaz e racional de *P. xylostella*. Isolados de *B. thuringiensis* (Bt) e/ou bioinseticidas a

base desta bactéria tem ação patogênica contra mais de 1.000 espécies de insetos, destacando-se os lepidópteros com 572 espécies suscetíveis (POLANCZYK & ALVES, 2003), inclusive para controle da traça-das-crucíferas, (DIAS et al., 2004) pelo fato da bactéria produzir proteínas Cry que são extremamente tóxicas (HÖFTE & WHITELEY, 1989).

O mercado de bioinseticidas representa cerca de 2,5% do mercado mundial de inseticidas e produtos à base desta bactéria representam 53% dos bioinseticidas (CPL Business Consultants & CAB International Centre, 2010), e são comercializados há mais de sessenta anos; no Brasil utilizam-se produtos a base de Bt para o controle de cerca de 30 pragas de importância agrícola (POLANCZYK & ALVES, 2005). Apesar da eficiência de Bt, tem sido relatada a seleção de populações resistentes a esta bactéria em várias partes do mundo, com destaque para *P. xylostella*, cuja resistência foi observada por ZHAO et al. (1993), TABASHNIK (1994), PEREZ & SHELTON (1997) e CASTELO BRANCO et al. (2003) em populações dos EUA (Flórida, Hawaii e New York), América Central (Costa Rica, Guatemala, Honduras e Nicarágua), Ásia (Japão, Malásia) e no Brasil, respectivamente. O uso do bioinseticida à base de Bt, em combinação com outras táticas de manejo, pode resultar numa ótima estratégia para contornar o problema da resistência, como por exemplo, o uso de áreas de refúgio, rotação de culturas e emprego de inimigos naturais (parasitoides, predadores) (MEDEIROS, 2004).

Dentre os parasitoides de ovos destacam-se os Trichogramatídeos (BLEICHER & PARRA, 1989), e espécies do gênero *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por se desenvolverem em ovos de diversos insetos-praga (PHILIP & ORR, 2008), principalmente da ordem Lepidoptera, sendo promissores agentes para o controle de *P. xylostella* (ZUCCHI & MONTEIRO, 1997).

Esses parasitoides apresentam potencial de integração com outros métodos de controle (OATMAN et al., 1983; CAMPBELL et al., 1991; MERTZ et

al., 1995; SOARES et al., 2007), assim como outros agentes em programas de MIP, como Bt.

O conhecimento das interações entre *Trichogramma* spp., Bt e insetos-alvo ainda são incipientes no Brasil. Trabalhos precursores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de pragas (POLANCZYK et al., 2006).

Generalizações a respeito da interação Bt x *Trichogramma* x insetos-alvo são difíceis de serem feitas devido ao grande número de isolados existentes (mais de 60.000), dessa forma cada caso deve ser analisado separadamente (GLARE & O'CALLAGHAN, 2000), avaliando-se o potencial desses agentes na interação.

O potencial de agentes para controle biológico pode ser avaliado de várias formas, dentre elas, a resposta funcional, que analisa o comportamento de parasitismo ou predação em função da densidade populacional da presa ou do hospedeiro, fornece parâmetros comportamentais envolvidos no processo de parasitismo, permitindo realizar comparações e estimativas, que podem indicar o potencial de sucesso do agente estudado (FARIA et al., 2000).

Perante essas premissas, o presente trabalho objetivou avaliar a influência dos isolados HD-1 e T08.024 de Bt no comportamento de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. exiguum* Pinto & Platner, 1978 sobre diferentes densidade de ovos de *P. xylostella* por pulverização direta de Bt sobre os ovos da praga e em ovos de uma população submetida à pressão de seleção a Bt, para isto utilizando a resposta funcional como ferramenta.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual

Paulista (FCAV/Unesp), campus de Jaboticabal, no ano de 2011, em delineamento experimental inteiramente casualizado. As matrizes dos parasitoides utilizados: *T. pretiosum* e *T. exiguum* foram provenientes da criação do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico de Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES); os isolados de Bt utilizados: HD-1 (presença dos genes: *cry1Aa*, *cry1Ab* e *cry1Ac*) e T08.024 (presença do gene *cry1Ac*) (VIANA, 2007) foram obtidos no Banco de Germoplasma de *Bacillus* entomopatogênicos pertencentes à coleção do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada(LGBBA) da FCAV/Unesp.

2.1 Criação e manutenção de *Plutella xylostella*

Os insetos foram criados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos do Departamento de Fitossanidade da FCAV/Unesp, Jaboticabal, SP, em sala climatizada ajustada à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14 horas e umidade relativa de $70\pm 10\%$. Após a emergência, os adultos foram liberados em gaiolas contendo um disco de folha de couve (var. manteiga Georgia) (8 cm de diâmetro) que foi colocado sobre um disco de papel filtro do mesmo tamanho, levemente umedecido. Este papel foi disposto sobre um copo plástico transparente com a abertura voltada para baixo, ficando a folha de couve elevada dentro da gaiola transparente onde ocorreu a oviposição. No ápice do recipiente tem uma abertura de 2,3 cm, utilizada para a alimentação dos adultos com solução aquosa de mel a 10%, que foi fornecida por embebição de uma esponja presa com uma pequena “trouxa” de tecido tipo voile nessa abertura. Em cada gaiola foi feita uma abertura lateral, quadrada, coberta com tecido tipo voile para permitir troca de ar com o ambiente. Os discos retirados das gaiolas foram colocados em placas de Petri até a eclosão das lagartas, quando foram transferidas para caixas plásticas com folhas de couve, repostas quando necessário, até que as larvas atingissem a fase

pupal. As pupas foram coletadas com o auxílio de pincel e acondicionadas em tubos de ensaio vedados com filme plástico (PVC) com pequenos furos feitos com um estilete, cuja finalidade foi promover aeração no interior dos tubos (Figura 1).

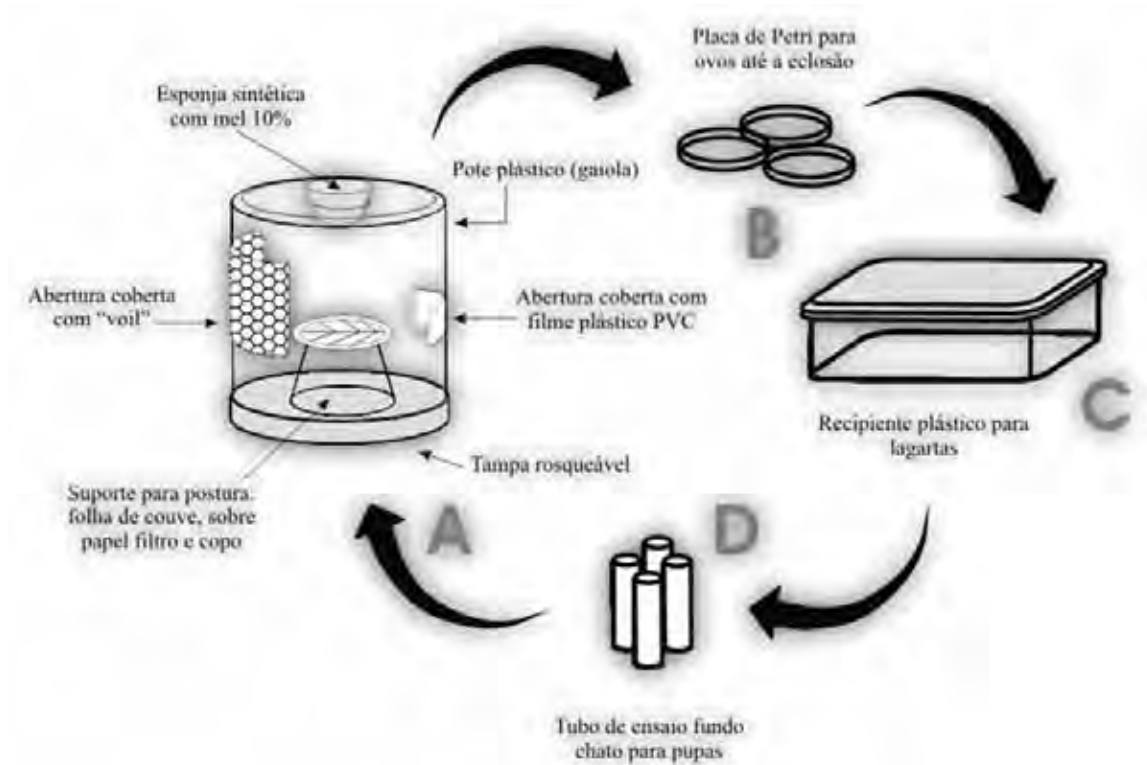


Figura 1: Esquema de criação de *Plutella xylostella* utilizado no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da UNESP, Jaboticabal. Fonte: THULER (2006).

2.2 Criação e manutenção de *Trichogramma pretiosum* e *T. exiguum*

Os parasitoides foram criados e multiplicados em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). Os ovos foram colados com goma arábica diluída em água (30%) em retângulos de cartolina azul celeste (8,0x 2,0cm) e inviabilizados pela exposição à lâmpada germicida por um período de 45 minutos (STEIN & PARRA, 1987). Em uma das

extremidades das cartelas foram anotados a data de parasitismo e o código de identificação da espécie, o que possibilitou o controle das espécies de *Trichogramma* mantidas para o estudo.

Após inviabilização, os ovos foram oferecidos aos parasitoides em tubos de vidro de 8,5x 2,5cm (comprimento x diâmetro), mantidos em câmara climatizada, regulada na temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 14 horas. As cartelas foram mantidas por 24 horas para parasitismo (tempo suficiente para realização do parasitismo, e para que não ocorra superparasitismo), e após foram transferidas para outro tubo limpo e fechado com PVC e mantido até nova emergência do parasitoide, continuando o ciclo.

2.3 Manutenção de *Bacillus thuringiensis*

Os isolados foram mantidos estocados em fitas de papel filtro, que foram impregnadas com suspensões de esporos e acondicionadas em tubos plásticos com capacidade para 1 mL, mantidas a 10°C em câmara climatizada. Para evitar contaminação do estoque em papel, a condução do experimento iniciou-se a partir de um estoque em água, ou seja, uma fita de papel impregnada com esporos foi submersa em água estéril e armazenada sob as condições anteriores.

As suspensões foram preparadas a partir da bactéria (isolado correspondente) cultivada em meio de cultura “Nutriente Agar” incubado a 30°C por 5 dias para completa esporulação e liberação dos cristais. Após este período, o conteúdo bacteriano foi retirado da placa com auxílio de uma alça de platina e colocado em tubo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada e 0,05% de espalhante adesivo (Tween[®] 80) e centrifugada por três vezes por 20 minutos cada, a 5000 RPM, para eliminação das exotoxinas (POLANCZYK & ALVES, 2005) constituindo assim a suspensão “mãe”; com esta suspensão foram realizadas outras duas suspensões seriadas, a 10^{-1} e a 10^{-2} (Figura 2), com a

finalidade de utilizar a última para quantificação de esporos por ml de suspensão, por meio de leitura em câmara de Neubauer.

Após preparo das suspensões na concentração de 3×10^8 esporos/ml, os ovos (já fixados em cartelas) foram pulverizados com uma pistola para pintura, tipo aerógrafo, acoplada a um compressor da marca Schulz Modelo MS 2.3 com pressão operacional de 25 lbf/pol^2 , em capela de exaustão. Foram aplicados $66 \mu\text{l}$ de suspensão por cartela, garantindo a deposição média de $1,75 \text{ mg.cm}^{-2}$ de esporo/cristal, de acordo com a recomendação da International Organization of Biological Control of Noxious Animals and Plants (IOBC) (HASSAN, 1985). Após a pulverização, as cartelas foram levadas para câmara de fluxo laminar para secagem e, somente em seguida, oferecidas aos parasitoides.

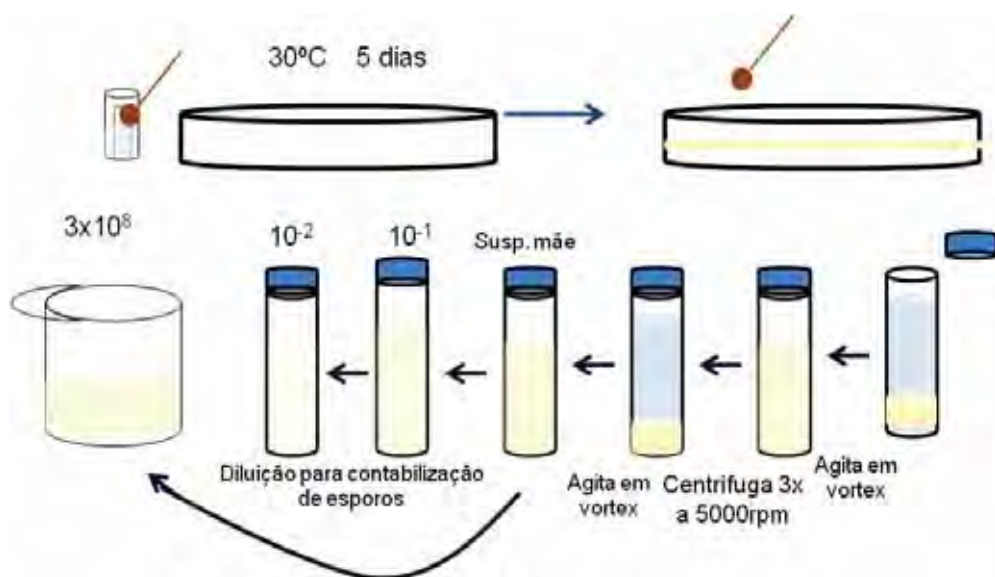


Figura 2: Esquema de multiplicação e preparo da suspensão esporo/cristal de *Bacillus thuringiensis*.

2.4 Bioensaios

O experimento foi realizado em sala climatizada a $25^{\circ}\text{C}\pm 1$, UR $70\%\pm 10$ e fotofase de 14 horas e constou de quatro tratamentos para cada espécie do parasitoide, sendo: ovos da população suscetível (Ps) a Bt (testemunha), população criada em laboratório por mais de 100 gerações ($100^{\text{a}}-105^{\text{a}}$); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 (Res) por mais de 40 gerações ($40^{\text{a}}-45^{\text{a}}$); ovos da Ps pulverizados com HD-1; ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024.

Em todos os tratamentos foram oferecidos aos parasitoides diferentes densidades de ovos de *P. xylostella* (0h-24h de idade): 2, 4, 8, 16, 32 e 64 (densidades escolhidas em progressão geométrica para facilitar o encontro dos pontos na curva a ser realizada). Foram individualizadas em tubos Duran (3,5 x 0,5cm) 10 fêmeas de *Trichogramma pretiosum* e 10 de *Trichogramma exiguum* (0h-24h de idade e alimentadas com mel) por tratamento para cada densidade (cada fêmea corresponde a uma repetição). As fêmeas foram individualizadas de acordo com características morfológicas da antena descritas por PINTO (1997), sendo elas de antena clavada e o macho de antena plumosa. Os ovos foram colados com goma arábica (30%) em cartelas de cartolina de cor azul celeste (3,5 x 0,4 cm) e acondicionadas em tubos de Duran (3,5 x 0,5cm). Para os ovos a serem tratados com os isolados HD-1 e T08.024, foram preparadas as suspensões de esporo/cristal dos respectivos isolados em concentrações de 3×10^8 esporos/ml. Permitiu-se o parasitismo por 24 horas, sendo as cartelas mantidas nas mesmas condições climáticas até sua avaliação.

A metodologia utilizada para obtenção da população submetida à pressão de seleção (Res) está descrita em VIANA (2011).

Os parâmetros avaliados foram: parasitismo, viabilidade, razão sexual, sendo os dados submetidos à análise de variância, e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey (5%), e o parasitismo utilizado para análises de resposta funcional.

Para determinar o tipo da resposta funcional realizou-se a análise logística de regressão, usando o modelo de regressão não linear para ajustar os dados para o modelo de resposta funcional selecionado (JULIANO, 2001), sendo os dados de cada densidade de ovos e de cada tratamento submetidos a análise de regressão logística por máxima probabilidade (PROC CATMOD; SAS Institute, 2002), segundo a equação:

$$\frac{N_a}{N_0} = \frac{\exp (P_0+P_1N_0+P_2N_0^2+P_3N_0^3)}{1+\exp (P_0+P_1N_0+P_2N_0^2+P_3N_0^3)}$$

Onde o N_0 é o número de ovos oferecidos, N_a é o número de ovos parasitados e P_0 , P_1 , P_2 , e P_3 são as constantes, linear, quadrática e cúbica, respectivamente, relacionadas com a inclinação da curva. A hipótese nula é que os parâmetros lineares não são significativamente diferentes de zero. A resposta funcional do tipo I é indicada por termos lineares não significativamente diferentes de zero, ou seja, inclinação zero; o tipo II por um valor negativo significativo de P_0 e tipo III pelos parâmetros P_0 positivo e P_1 negativo (CHONG & OETTING, 2007).

Após determinar o tipo adequado de resposta funcional, foram estimados os parâmetros de a' (taxa de ataque que é a quantidade de área explorada para encontrar o hospedeiro por unidade de tempo) e T_h (tempo de manipulação que é tempo gasto entre o encontro do ovo e o parasitismo) dessas equações, independente se a equação de resposta funcional assume modelo linear (tipo I) ou não linear (tipo II ou III), que foram calculados pelo ajuste do número de ovos parasitados pela densidade variável do hospedeiro para a resposta funcional adequada, determinada pela regressão logística usando o procedimento de regressão não-linear por mínimos quadrados (PROC NLIN; SAS Institute, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trichogramma pretiosum apresentou diferentes comportamentos de resposta funcional nos tratamentos, sendo para a maioria deles do tipo III, indicando que o parasitoide é beneficiado pelo aumento da densidade do hospedeiro, necessitando de densidades adequadas (32) para seu melhor desempenho, mas, densidades elevadas (64) não favorecem o comportamento do inseto, fazendo com que o parasitismo diminua, a partir de certa densidade de ovos. Com o isolado T08.024 apresentou resposta funcional do tipo II, diferenciando dos demais. Este tipo de resposta descreve a situação na qual o parasitismo aumenta proporcionalmente com o aumento da densidade de ovos (do hospedeiro), tendendo na sequência à estabilização, sendo considerado por HOLLING (1961), o tipo mais comum de resposta para parasitoides e predadores (Tabela 1). BERNARDES (2009), ao avaliar a interação de *T. pretiosum* com ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) imersos em suspensões de Bt (estirpes selvagens), observou maior taxa de parasitismo nas primeiras 24 horas com alguns dos isolados (997 e 633), não havendo diferença com 1054, demonstrando que diferentes isolados podem gerar respostas distintas. Com *T. exiguum* a resposta funcional para todos os tratamentos foi a do tipo II (Tabela 2). Há diferença no tipo de resposta funcional das espécies, pois, enquanto em *T. pretiosum* o tipo predominante foi III, em *T. exiguum* foi do tipo II. Estes resultados indicam que há diferença no comportamento entre as espécies, assim, como ação dos isolados de Bt nos parasitoides, visto que em *T. exiguum* os isolados utilizados não afetaram o tipo de resposta. Tal situação pode ser devido à composição genética de cada espécie, que apesar de obterem os mesmos estímulos podem desencadear comportamentos diferentes (VINSON, 1997).

Tabela 1. Estimativas pela regressão logística da proporção de ovos de *Plutella xylostella* parasitados por *Trichogramma pretiosum* sob ação de *Bacillus thuringiensis* em função das densidades de 2, 4, 8, 16, 32 e 64 ovos.

Tratamentos	Parâmetros	Estimativas (\pm EP)	GL	χ^2	P
Testemunha	Intercepto	-1,963 \pm 0,2707	1	52,64	<0,0001
	Linear	0,092 \pm 0,0168	1	30,15	<0,0001
	Quadrático	-0,001 \pm 0,0002	1	52,36	<0,0001
	Cúbico	-	-	-	-
HD-1	Intercepto	-1,030 \pm 0,234	1	19,27	<0,0001
	Linear	0,042 \pm 0,015	1	7,57	0,0059
	Quadrático	-0,001 \pm 0,0002	1	27,71	<0,0001
	Cúbico	-	-	-	-
T08.024	Intercepto	-0,725 \pm 0,416	1	3,03	0,0816
	Linear	-0,085 \pm 0,063	1	1,82	0,1776
	Quadrático	0,005 \pm 0,002	1	4,38	0,0365
	Cúbico	0,00006 \pm 0,00002	1	7,37	0,0066
Resistente	Intercepto	-0,797 \pm 0,393	1	4,10	0,0429
	Linear	0,339 \pm 0,064	1	28,28	<0,0001
	Quadrático	-0,014 \pm 0,002	1	36,07	<0,0001
	Cúbico	0,0001 \pm 0,00002	1	35,54	<0,0001

Tabela 2. Estimativas pela regressão logística da proporção de ovos de *Plutella xylostella* parasitados por *Trichogramma exiguum* sob ação de *Bacillus thuringiensis* em função das densidades de 2, 4, 8, 16, 32 e 64 ovos.

Tratamentos	Parâmetros	Estimativas (\pm EP)	GL	χ^2	P
Testemunha	Intercepto	0,2460 \pm 0,2	1	1,51	0,2186
	Linear	-0,1092 \pm 0,0111	1	96,21	<0,0001
	Quadrático	-	-	-	-
	Cúbico	-	-	-	-
HD-1	Intercepto	-0,46 \pm 0,2803	1	2,69	0,1008
	Linear	-0,1217 \pm 0,240	1	25,64	<0,0001
	Quadrático	0,00123 \pm 0,000331	1	13,68	0,0002
	Cúbico	-	-	-	-
T08.024	Intercepto	-2,6245 \pm 1,0530	1	6,21	0,0127
	Linear	-0,2555 \pm 0,1752	1	2,13	0,1448
	Quadrático	0,0130 \pm 0,00670	1	3,75	0,0529
	Cúbico	-0,00014 \pm 0,000066	1	4,76	0,0291
Resistente	Intercepto	-1,2851 \pm 0,2059	1	38,96	<0,0001
	Linear	-0,0490 \pm 0,00695	1	49,76	<0,0001
	Quadrático	-	-	-	-
	Cúbico	-	-	-	-

O comportamento de parasitismo de *T. pretiosum* foi influenciado positivamente pelo aumento na densidade de ovos, até a densidade de 32 ovos/fêmea do parasitoide, quando ocorreu o maior parasitismo, seguindo a partir

daí em uma curva decrescente em todos os tratamentos (Figura 3). O mesmo comportamento foi observado por PEREIRA et al. (2004), que avaliaram a influência da densidade de ovos de *P. xylostella* no parasitismo de *T. pretiosum*, encontrando maior parasitismo nas densidades de 15 e 30 ovos, e a partir daí seguido de um decréscimo. O maior grau de parasitismo verificado nessas densidades pode ser devido a uma maior concentração de químicos voláteis que estimulam a atividade do parasitoide, pois a presença deles representa um dos fatores que pode afetar o parasitismo, de acordo com PRATISSOLI et al. (2010).

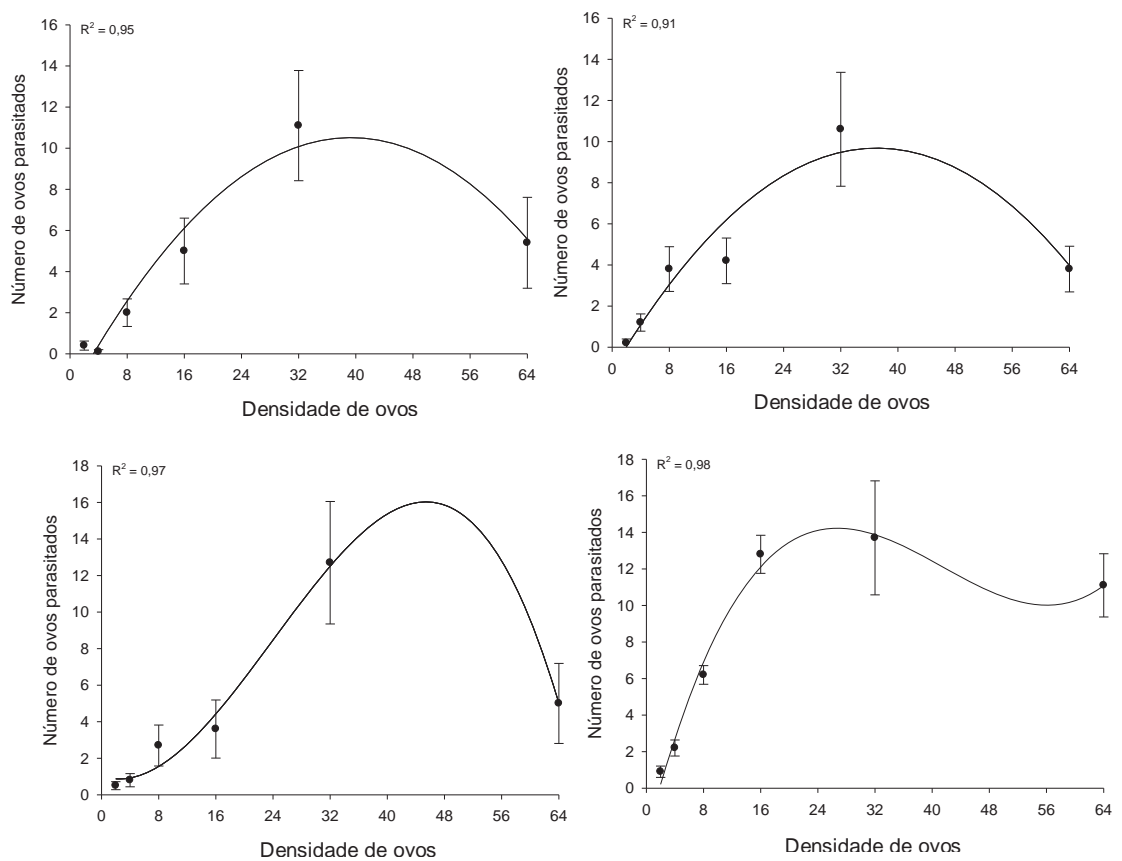


Figura 3: Número de ovos parasitados (média \pm EP) por *Trichogramma pretiosum* em diferentes densidades do hospedeiro *Plutella xylostella* sob ação de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*.

O decréscimo na taxa de parasitismo caracteriza a estabilização da resposta mesmo com aumento da disponibilidade de ovos. Este decréscimo evidencia a influência negativa do excesso de ovos do hospedeiro na oviposição do parasitoide (FARIA et al., 2000), fato esse já observado por PARON et al. (1998) com *T. atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae). Tal comportamento pode ter ocorrido pelo tempo de 24 horas não ter sido suficiente para que ocorresse maior parasitismo, devido à característica do parasitoide em realizar forrageamento para escolher os ovos com melhores características para oviposição, utilizando assim a maior parte do seu tempo na procura pelos melhores ovos devido a grande disponibilidade, mostrando que 24 horas não seriam suficientes para um maior parasitismo. Ou devido a características próprias da espécie/linhagem, como a intensidade do ataque, os estímulos aos quais responde e o comportamento da espécie, os quais são pré-determinados geneticamente.

De modo geral, *T. exiguum* não teve o parasitismo influenciado pelo aumento da densidade de ovos (Figura 4), não sendo observado parasitismo na densidade de ovos de 64 para testemunha e 2, 4 e 16 para T08.024, mesmo assim, não foi observada diferença, pois o número de ovos parasitados manteve-se em valores baixos (inferiores a 5, mesmo nas maiores densidades), demonstrando que ovos de *P. xylostella* não são muito atrativos para esta espécie. Este comportamento demonstra a não influência da densidade no parasitismo, também foi observado por PARON et al. (1998), que estudaram a influência da densidade de ovos de *H. zea* no parasitismo de *T. atopovirilia*, não encontrando diferença de parasitismo nas densidades estudadas.

Ao analisar os dados de taxas de parasitismo sem discriminar as densidades de ovos disponíveis e observando apenas a influência de Bt (Tabela 3), é possível verificar que para a espécie *T. pretiosum*, a população submetida a pressão de seleção (Res) apresentou porcentagem de parasitismo superior aos demais, o que pode ser atribuído a um provável aumento de atratividade dos ovos

ao parasitoide devido as consecutivas pulverizações de Bt na população, podendo ter influenciado a produção/concentração desses voláteis; ou ter gerado ovos com melhor qualidade nutricional, o mesmo não ocorreu com *T. exiguum*, o que pode ser devido ao parasitoide, em condições naturais (testemunha), apresentar baixo parasitismo, e mesmo com a influencia das pulverizações consecutivas não foi suficiente para aumentar o parasitismo, evidenciando novamente a diferença de performance entre as espécies.

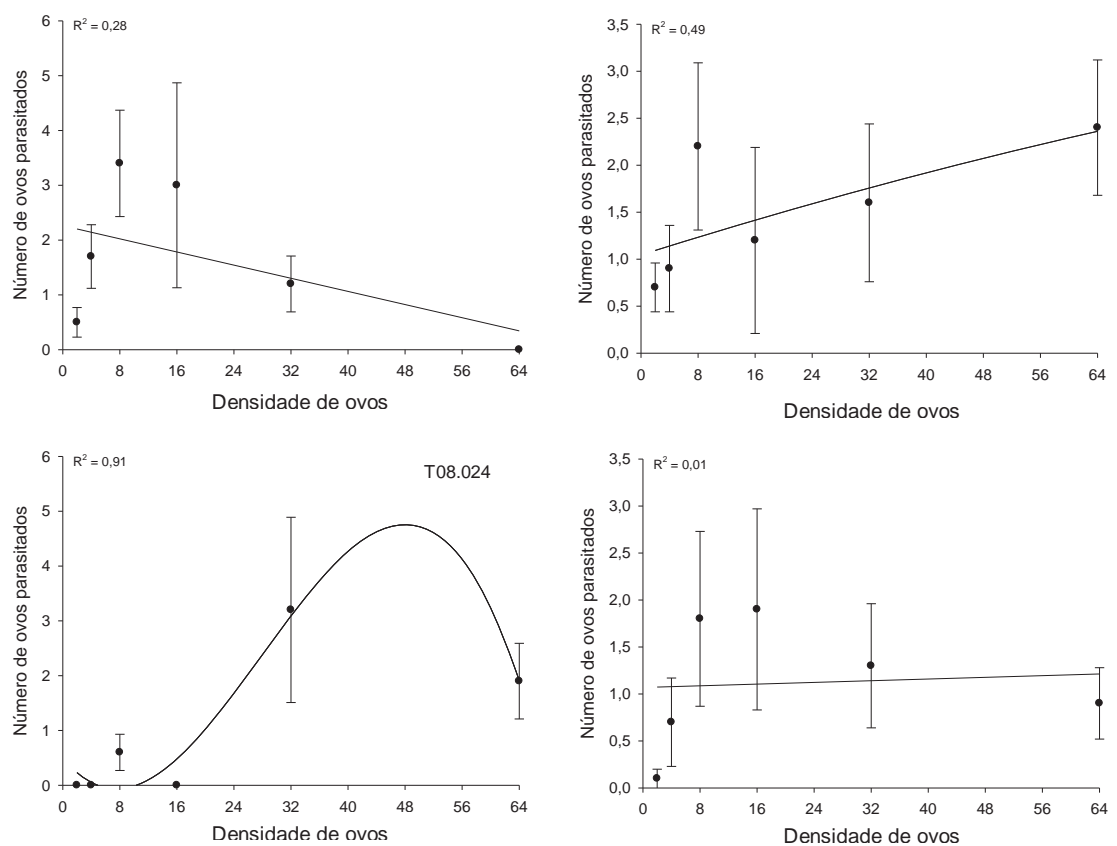


Figura 2: Número de ovos parasitados (média \pm EP) por *Trichogramma exiguum* em diferentes densidades do hospedeiro *Plutella xylostella* sob ação de *Bacillus thuringiensis*

Diferenças entre espécies em condições naturais de parasitismo podem ocorrer, como relatado por TABONE et al. (2010), que estudaram várias espécies

e linhagens de *Trichogramma* parasitando ovos de *P. xylostella* e observaram que tiveram comportamentos diferentes.

Os isolados que foram pulverizados sobre os ovos não afetaram o parasitismo de ambas as espécies. HWANG et al. (2010) estudaram combinações de *T. ostrinae* Pang & Chen, 1917 com Bt para controle de *P. xylostella*, e também constataram que não houve diferença de parasitismo nos casos estudados.

Tabela 3: Efeito de isolados de *Bacillus thuringiensis* nos parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* e *T. exiguum* de acordo com o tratamento.

Tratamento	<i>T. pretiosum</i>			<i>T. exiguum</i>	
	Parasitismo %	Viabilidade %	Razão sexual	Parasitismo %	Viabilidade %
Testemunha	12,50 B	60,22 A	0,76 A	5,10 A	62,26 AB
HD-1	12,39 B	36,96 B	0,53 B	2,94 A	51,74 B
T08.024	13,17 B	39,91 B	0,68 AB	2,96 A	34,67 B
Resistente	24,42 A	69,55 A	0,74 A	3,48 A	77,44 A

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Nas mesmas condições, *T. pretiosum* teve a viabilidade comprometida nos tratamentos com HD-1 e T08.024 (Tabela 3). PRATISSOLI et al. (2006) avaliaram o efeito de diferentes isolados de Bt em *T. pratissoli* Querino & Zucchi, 2003 em seu hospedeiro alternativo *A. kuehniella* e também observaram que alguns isolados tiveram efeito negativo na viabilidade. Nas diferentes densidades de ovos, a viabilidade teve diferentes variações, não seguindo um padrão (Tabela 4). MOURÃO et al. (2009) encontraram influencia da densidade de ovos na viabilidade de *Telenomus remus* Nixon, 1937 (Hymenoptera: Scelionidae) em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), encontrando

que a densidade de 60 ovos propiciou maior viabilidade de ovos, corroborando para os dados encontrados. Para *T. exiguum* não houve diferença na viabilidade entre os tratamentos e a testemunha (Tabela 3) e nem em relação as densidades como um todo (Tabela 4).

Tabela 4: Efeito da densidade nos parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* e *T. exiguum* de acordo com a densidade.

Densidade de ovos	<i>T. pretiosum</i>			<i>T. exiguum</i>	
	Parasitismo	Viabilidade	Razão sexual	Parasitismo	Viabilidade
2	1,56 C	65,38 ABC	0,95 A	1,01563 A	50,00 A
4	3,35 C	40,35 C	0,64 A	2,57813 A	48,33 A
8	11,48 BC	59,26 BC	0,63 A	5,30000 A	56,95 A
16	20,00 B	66,66 AB	0,74 A	4,76563 A	79,80 A
32	37,57 A	80,33 A	0,70 A	5,30313 A	61,53 A
64	19,76 B	14,57 D	0,58 A	2,79350 A	57,15 A

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey

A razão sexual de *T. pretiosum* foi afetada pelo tratamento HD-1 (Tabela 3), porém, apesar da diferença, pode-se dizer que todos os tratamentos obtiveram resultado satisfatório, pois a razão sexual acima de 0,5 é considerado um valor ideal (VAN LENTEREN, 1994) devido a geração igual ou maior de fêmeas em relação aos machos. Para *T. exiguum* não foi avaliada a razão sexual por se tratar de uma população telítoca, produzindo dessa maneira apenas fêmeas. A densidade de ovos não influenciou a razão sexual (Tabela 4).

Analisando-se os parâmetros taxa de ataque e tempo de manipulação, observou-se que o maior desempenho para *T. pretiosum* na população sob

pressão de seleção (Res) foi devido ao menor tempo de manipulação gasto pelo parasitoide, ou seja, os parasitoides em contato com os ovos dessa população demoraram menos para reconhecer o ovo e parasitá-lo, possibilitando maior quantidade de ovos parasitados em um mesmo espaço de tempo do que nos outros tratamentos, dessa maneira colaborando com a hipótese de que houve influência na atratividade ou qualidade dos ovos, ou ainda o parasitoide pode ter aumentado o ritmo de parasitismo devido à percepção de que existe algo diferente naqueles ovos e que precisa aumentar a prole para garantir a sobrevivência da espécie. BEZZERRIDES et al. (2004) observaram que um alcalóide, obtido quando as lagartas de *Utetheisia ornatrix* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Arctiidae) se alimentaram de plantas, está presente no inseto adulto e também nos ovos em que a fêmea oviposita. Este alcalóide serve de proteção contra o parasitismo de *T. ostrinae*. Porém, a fêmea do parasitoide ao perceber a presença do alcalóide aumenta a taxa de parasitismo para garantir a sobrevivência da prole, vencendo o mecanismo de defesa do inseto. A taxa de ataque não sofreu alteração, conforme o tratamento, confirmando que a capacidade de reconhecer o hospedeiro da espécie não foi afetada (Tabela 5).

T. exiguum não apresentou diferença entre os tratamentos para o tempo de manipulação, mas estes foram elevados, variando entre 8,71 a 16,63 horas, enquanto *T. pretiosum* não ultrapassou o tempo de 3,40 h.

Quanto à taxa de ataque, observou-se diferença para T08.024 que apresentou a menor taxa, propiciando menor tempo para o parasitoide encontrar os ovos, provável aumento de atratividade, apesar disso, não refletiu em um maior parasitismo, demonstrando que mesmo o parasitoide encontrando com mais facilidade os ovos, a não preferência ao hospedeiro pelo *T. exiguum* não permitiu um aumento de parasitismo (Tabela 5).

Tabela 5. Médias estimadas para a taxa de ataque ($a' \pm IC$), tempo de manipulação de presas ($Th \pm IC$) e parasitismo (Par.) para *Trichogramma pretiosum* parasitando ovos de *Plutella xylostella* sob ação de *Bacillus thuringiensis*.

Tratamentos	<i>T. pretiosum</i>		<i>T. exiguum</i>	
	a'	Th	a'	Th
Testemunha	0,003±0,0022a	2,857±0,5077a	0,004±0,0029a	12,358±5,5216a
HD-1	0,004±0,0036a	3,409±0,6018a	0,003±0,0028ab	12,436±3,2788a
T08.024	0,003±0,0026a	2,782±0,5707a	0,0003±0,0003b	8,719±3,3598a
Resistente	0,008±0,0038a	1,701±0,1679b	0,004±0,0028a	16,638±5,5611a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem mediante o IC a 95% de probabilidade. IC=Intervalo de confiança.

O controle eficaz usando um agente microbiano e um inimigo natural pode reduzir o uso de produtos químicos, inibem o desenvolvimento de resistência a pragas e é mais favorável em termos de seguro e estabilidade da produção de produtos agrícolas (HWANG et al., 2010).

Os resultados obtidos são importantes para o manejo da praga *P. xylostella*, pois demonstram que os isolados da bactéria podem ser utilizados em conjunto com os parasitoides, assim como em casos de populações resistentes a bactéria.

4 CONCLUSÕES

As espécies de parasitoides estudadas apresentaram comportamento distinto em relação aos isolados de Bt utilizados.

A pulverização consecutiva da suspensão esporo/cristal do isolado HD-1 na população de *P. xylostella* influenciou o parasitismo de *T. pretiosum*, gerando aumento do parasitismo.

Diferentes combinações de isolados de Bt e espécies de *Trichogramma* geram interações diferentes com o inseto-alvo.

Ovos tratados com o isolado T08.024 influenciou ambas espécies de parasitoides e juntamente com o isolado HD-1 propiciou menor viabilidade de *T. pretiosum*, e menor de *T. exiguum* em relação a população submetida a pressão de seleção.

Os diferentes isolados de Bt também afetaram a razão sexual de *T. pretiosum*, mas não a ponto de prejudica-la.

Para *T. pretiosum* a densidade de ovos mais adequada foi de 32, sendo que *T. exiguum* não sofreu influência da densidade, mas sendo indicada a de 8, pois mesmo nas maiores densidades o parasitismo não alcançou o número de oito ovos parasitados.

5 REFERÊNCIAS

BERNARDES, C. O. **Atividade de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) para o complexo *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae).** 2009, 73f. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre.

BEZZERIDES, A.; YONG, T. H., BEZZERIDES, J.; HUSSEINI, J.; LADAU, J.; EISNER, M.; EISNER, T. Plant-derived pyrrolizidine alkaloid protects eggs of a moth (*Utetheisa ornatrix*) against a parasitoid wasp (*Trichogramma ostrinia*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v.101, n. 24. p. 9029-9032, 2004.

BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*. Biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, n. 8, p.929-940, 1989.

CAMPBELL, C.D.; WALGENBACH, J.F.; KENNEDY, G.G. Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide-treated and untreated tomatoes in western North Carolina. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, n. 6, p. 1662-1667, 1991.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p.60-63, 2001.

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

CHONG, J. H.; OETTING, R. D. Functional response and progeny production of the Madeira mealybug parasitoid, *Anagyrus* sp. nov. nr. sinope: The effect of host stage preference. **Biological Control**, Orlando, v.41, n. 1, p. 78–85, 2007.

CPL BUSINESS CONSULTANTS; CAB INTERNATIONAL CENTRE. **The 2010 worldwid biopesticides market summary**. Walingford: CPL Business Consultants. 2010. 39p.

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, n. 3, p. 387-390, 2004.

DICKSON, M. H.; SHELTON, A. M.; EIGENBRODE, S. D.; VAMOSY, M. L.; MORA, M. Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage. **Hortscience**, Alexandria, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

FARIA, C. A.; TORRES, J. B.; FARIAS, A. M. I. Resposta funcional de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): efeito da idade do hospedeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 1, p.85-93, 2000.

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

HASSAN, S. A. Standard methods to test side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WRPS Working Group: pesticides and beneficial organisms. **EPPO Bulletin**, Paris, v.15, p. 214-255, 1985.

HÖFTE, H.; WHITELEY, H.R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews**, Washington DC, v.53, n. 2, p.242-255, 1989.

HOLLING, C. S. Principles of insect predation. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 6, n. 1, p. 163- 182, 1961.

HWANG, I. C.; PARK, C.; KANG, D. K.; JIN, N. Y.; JUNG, S. Y.; SEO, M. J.; KIM, J. E.; YOUN, Y. N.; YU, Y. M. Combined Application of *Trichogramma ostriniae* and *Bacillus thuringiensis* for Eco-friendly Control of *Plutella xylostella*. **Journal Korean Society Applied Biological Chemistry**, Seoul, v.53, n. 3, p.316-322, 2010.

JULIANO, S. A. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. In: SCHEINER, S. M.; GUREVITCH, J. (Ed.), **Design and Analysis of Ecological Experiments**. Oxford University Press: New York, 2001. p. 178–198.

MEDEIROS, P. T. **Estirpes brasileiras de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle biológico da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella***. 2004. 82f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá. 2004.

MERTZ, B.P., FLEISCHER, S.J., CALVIN, D.D.; RIDGWAY, R.L. Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.88, n. 6, 1616-1625, 1995.

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

MOURÃO, S. A.; CRUZ, I.; DUARTE, M. O. Resposta Funcional de *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) com Diferentes Densidades de Ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 4, n. 2, p. 2253-2257, 2009.

OATMAN, E.R.; WYMAN, J.A.; VAN STEENWYK, R.A.; JOHNSON, M.W. Integrated control of the tomato fruitworm (Lepidoptera: Noctuidae) and other lepidopterous pests on fresh-market tomatoes in southern California. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 76, n. 6, p.1363-1369, 1983.

PARON, M. J. F. O.; CIOCIOLA, A. I.; CRUZ, I. Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes

densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.27, n. 3, p. 427-433, 1998.

PEREIRA; F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D. Desempenho de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n. 6, p.1669-1678, 2004.

PEREZ, C. J.; SHELTON, A. M. Resistance of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* Berliner in Central America. **Journal of Economic Entomology**, Auburn, v.90, p.87-93, 1997.

PHILIP, M. M; ORR, D. B. Operational considerations for augmentation of *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of *Rhyacionia frustrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in *Pinus taeda* plantations. **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v.101, n. 2, p. 421-429, 2008.

PINTO, J. D. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. **Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.13-39.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociência**, Chapingo, v.7, n. 2, p.1-10, 2003

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo integrado de pragas y agroecologia**, Turrialba, v. 74, s/n, p.24-33, 2005.

POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; OLIVEIRA, R. G. S.; ANDRADE, G. S. Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus*

thuringiensis no controle biológico de pragas agrícolas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p.233-239, 2006.

PRATISSOLI, D.; DALVI, L. P.; POLANCZYK, R. A.; ANDRADE, G. S.; HOLTZ, A. M.; NICOLINE, H. O. Características biológicas de *Trichogramma exiguum* em ovos de *Anagasta kuehniella* e *Sitotroga cerealella*. **Idesia**, Arica, v.28, n. 1, p. 39-42. 2010.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, G. S.; OLIVEIRA, R. G. S. 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.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide, versão 8.2. SAS Institute, Cary, NC, USA. 2002.

SOARES, M. A.; LEITE, G. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, S. L.; DE SÁ, V. G. M.; SERRÃO, J. E. Flight Capacity, parasitism and emergence of five *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species from forest areas in Brazil. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.35, n. 3, p. 314-318, 2007.

STEIN, C. F.; PARRA, J. R. P. Aspectos biológicos de *Trichogramma* spp. em diferentes hospedeiros. **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.16, p.163-170, 1987.

TABASHNIK, B.E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.39, n. 1, p.47-79, 1994.

TABONE, E.; BARDON, C.; DESNEUX, N.; WAJNEBERG, E. Parasitism of different *Trichogramma* species and strains on *Plutella xylostella* L. on greenhouse cauliflower. **Journal of Pest Science**, Berlin, v.83, n. 3, p.251-256, 2010.

THULER, R. T. ***Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae): táticas para o manejo integrado em brássicas.** 2006. 80f. Tese (Doutorado em Agronomia – Entomologia Agrícola), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp, Jaboticabal, SP, 2006.

VAN LENTEREN, J.C. Designing and implementing quality control of beneficial insects: towards more reliable biological pest control. *Sting. Newsl. Biological Control*, Orlando, v.14, n. 1, p. 3-24, 1994.

VIANA, C.L.T.P. **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner efetivos em lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).** 2007. 90f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp, Jaboticabal. 2007.

VIANA, C.L.T.P. **Influência de gerações de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e de radiação no desempenho de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner.** 2011. 93f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp, Jaboticabal. 2011.

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.(Eds.). ***Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado.*** Piracicaba: FEALQ, 1997. p.67-119.

ZHAO, J. Z.; ZHU, G. R.; ZHU, Z. L.; WANG, W.Z. Resistance of diamondback moth to *Bacillus thuringiensis* in china. ***Resistance Pest Management***, Lansing, v.5, n. 1, p.11-12, 1993.

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 Aplicado.*** Piracicaba: FEALQ, 1997. p.41-66.

CAPÍTULO 3 – CAPACIDADE DE PARASITISMO E AUMENTO POPULACIONAL DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 E *Trichogramma exiguum* PINTO & PLATNER, 1978 EM OVOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) SOB AÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)

RESUMO

O objetivo foi avaliar a capacidade de parasitismo e o aumento populacional de *Trichogramma pretiosum* e *T. exiguum* parasitando ovos de *Plutella xylostella* sob ação de *Bacillus thuringiensis* (Bt). O experimento constou de quatro tratamentos para cada espécie do parasitoide, sendo: ovos da população suscetível (Ps) a Bt (testemunha), população criada em laboratório por mais de 100 gerações (103^a-108^a); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 (Res) por mais de 40 gerações (44^a e 47^a); ovos da Ps pulverizados com HD-1; ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024. Para cada fêmea individualizada (15/Trat.) e alimentada (mel) foram oferecidos 32 ovos de *P. xylostella* para *T. pretiosum*, e 8 para *T. exiguum*. As cartelas foram trocadas diariamente até a morte das fêmeas, e as parasitadas foram acondicionadas em tubos de fundo chato até emergência dos adultos para avaliação. O alimento foi repostado sempre que necessário. Os parâmetros avaliados foram: número de ovos parasitados, viabilidade, razão sexual, longevidade das fêmeas, parasitismo diário, parasitismo acumulado e calculados a Taxa líquida de reprodução (R_0); Tempo médio de geração (T); Taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m); Razão finita de crescimento (λ) e o Tempo necessário para a população duplicar em número (TD). Os resultados mostraram

que os tratamentos com *B. thuringiensis* influenciaram o comportamento de *T. pretiosum*, aumentando o parasitismo e melhorando as características de desenvolvimento. *T. exiguum* não apresenta boas características de parasitismo em *P. xylostella* mesmo quando em contato com Bt.

Palavras-chave: Brássicas, controle biológico, parasitoide de ovos

1 INTRODUÇÃO

Plutella xylostella (L.,1758) (Lepidoptera: Plutellidae), conhecida como traça-das-crucíferas, é um microlepidóptero frequentemente encontrado em cultivo de brássicas. É considerada uma praga cosmopolita, ocorrendo nas mais diversas regiões do globo (TALEKAR & SHELTON, 1993; CASTELO BRANCO et al., 2001; DIAS et al., 2004; IMENES et al., 2002), independente das condições climáticas. Os danos por ela causados acarretam a depreciação do produto, o atraso no crescimento da planta e até mesmo a inviabilização da produção (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 2001; MONNERAT et al., 2004). O controle químico tem sido muito utilizado, no entanto, aplicações de até três vezes semanais não tem reduzido os danos da praga (CASTELO BRANCO et al., 2001).

Uma alternativa ao controle químico é o controle biológico com parasitoides de ovos (PRATISSOLI et al., 2004; BIANCHI et al., 2008). Os Trichogramatídeos são parasitoides de ovos que constituem importante grupo de inimigos naturais com potencial para o controle biológico, pois eliminam a praga antes que qualquer dano seja causado à cultura (BLEICHER & PARRA, 1989).

Trichogramma spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) podem se desenvolver em ovos de diversos insetos-praga (ZUCCHI & MONTEIRO, 1997; PHILIP & ORR, 2008). Destacam-se por parasitarem ovos de pragas agrícolas (PRATISSOLI et al., 2004) e florestais (OLIVEIRA et al., 2000; 2003; SOARES et al., 2007), principalmente da ordem Lepidoptera, tem ampla distribuição geográfica, são altamente especializados, além de sua comprovada eficiência no controle de pragas (ZUCCHI & MONTEIRO, 1997), sendo promissores no controle de *P. xylostella*.

Esses parasitoides apresentam potencial de integração com outros métodos de controle (OATMAN et al., 1983; CAMPBELL et al., 1991; MERTZ et al., 1995, SOARES et al., 2007), assim como outros agentes em programas de MIP, como *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae).

A interação desses dois agentes de controle é comum em programas de Manejo Integrado de Pragas, como, por exemplo, na cultura do tomate no México, Colômbia e Brasil (TRUMBLE & ALVARADORODRIGUEZ, 1993; HAJI, 2002). Embora os efeitos prejudiciais dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis* (Bt) sobre os inimigos naturais sejam mínimos e/ou significativamente menores que os dos agrotóxicos (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000), esses não podem ser desprezados e estudos são necessários em regiões onde essas táticas são empregadas em conjunto ou que tenha potencial de uso (PRATISSOLI et al., 2006).

O emprego de *Trichogramma* como agente de controle biológico deve ser pautado em estudos que demonstrem o comportamento desses parasitoides de ovos, quando submetidos à influência de fatores bióticos e abióticos, tais como a praga alvo, diferentes condições climáticas (VINSON, 1997; PRATISSOLI & PARRA, 2000) e atuação conjunta com outro inimigo natural. Estudos de laboratório devem ser implementados para que seja passível compreender a dinâmica populacional das espécies e/ou linhagem de *Trichogramma*, visando a assegurar sua eficiência ao nível de campo (MONJE et al., 1999; HEGAZI et al., 2000).

Dentre esses estudos, a capacidade de parasitismo pode fornecer importantes subsídios sobre parâmetros comportamentais envolvidos no processo de parasitismo e considerados relevantes para que o potencial desse agente de controle biológico seja efetivamente alcançado em programas de manejo integrado de *P. xylostella* (PRATISSOLI et al., 2004). Assim como as tabelas de vida que disponibilizam dados essenciais de uma população com relação à taxa de mortalidade, à sobrevivência e à esperança de vida da espécie, que são informações de grande valia para a compreensão da dinâmica populacional de uma espécie (SILVEIRA NETO et al., 1976).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de parasitismo e o aumento populacional de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *T. exiguum* Pinto & Platner, 1978 parasitando ovos de *P. xylostella* sob ação de Bt.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), campus de Jaboticabal, no ano de 2011, em delineamento experimental inteiramente casualizado. As matrizes dos parasitoides utilizados: *T. pretiosum* e *T. exiguum* foram provenientes da criação do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico de Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES); os isolados de Bt utilizados: HD-1 (presença dos genes: *cry1Aa*, *cry1Ab* e *cry1Ac*) e T08.024 (presença do gene *cry1Ac*) (VIANA, 2007) foram obtidos no Banco de Germoplasma de *Bacillus* entomopatogênicos pertencentes à coleção do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada(LGBBA) da FCAV/Unesp.

O experimento foi realizado em sala climatizada a $25^{\circ}\text{C}\pm 1$, UR $70\%\pm 10$ e fotofase de 14 horas e constou de quatro tratamentos para cada espécie do parasitoide (*T. pretiosum* e *T. exiguum*), sendo: ovos da população suscetível (Ps) a Bt (testemunha), população criada em laboratório por mais de 100 gerações (103^{a} – 108^{a}); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 (Res) por mais de 40 gerações (44^{a} e 47^{a}); ovos da Ps pulverizados com HD-1; ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024.

As suspensões a serem utilizadas dos isolados foram preparadas a partir da bactéria cultivada em meio de cultura “Nutriente Agar” incubado a 30°C por 5 dias para completa esporulação e liberação dos cristais. Após este período, o conteúdo bacteriano foi retirado da placa com auxílio de uma alça de platina e colocado em tubo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada e 0,05% de espalhante adesivo (Tween[®] 80) e centrifugada por três vezes por 20 minutos cada, a 5000 RPM, para eliminação das exotoxinas (POLANCZYK & ALVES, 2005) constituindo assim a suspensão “mãe”; com esta suspensão foram realizadas outras duas suspensões seriadas, a 10^{-1} e a 10^{-2} , com a finalidade de utilizar a última para quantificação de esporos por ml de suspensão, por meio de leitura em câmara de Neubauer.

Após preparo das suspensões na concentração de 3×10^8 esporos/ml, os ovos (já fixados em cartelas) foram pulverizados com uma pistola para pintura, tipo aerógrafo, acoplada a um compressor da marca Schulz Modelo MS 2.3 com pressão operacional de 25 lbf/pol², em capela de exaustão. Foram aplicados 66 µl de suspensão por cartela, garantindo a deposição média de $1,75 \text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$ de esporo/cristal, de acordo com a recomendação da International Organization of Biological Control of Noxious Animals and Plants (IOBC) (HASSAN, 1985). Após a pulverização, as cartelas foram levadas para câmara de fluxo laminar para secagem e, somente em seguida, oferecidas aos parasitoides.

Foram oferecidos 32 ovos de *P. xylostella* de seus respectivos tratamentos para cada fêmea de *T. pretiosum* e 8 para *T. exiguum*, números obtidos de acordo com os testes de resposta funcional realizados (capítulo 2). Foram

individualizadas em tubos Duran (3,5 x 0,5cm) 15 fêmeas (0h-24h de idade e alimentadas com mel) por tratamento (cada fêmea corresponde a uma repetição). Os ovos foram colados com goma arábica (30%) em cartelas de cartolina de cor azul celeste (3,5 x 0,4 cm) e acondicionadas em tubos de Duran (3,5 x 0,5cm). As cartelas foram trocadas todos os dias no mesmo horário até a morte das fêmeas, e as já parasitadas acondicionadas em tubos de fundo chato até emergência dos adultos para avaliação. O alimento (mel) era repostado sempre que necessário, através de observação visual, sendo repostado quando observada ausência ou ressecamento do mesmo.

Os parâmetros avaliados foram: número de ovos parasitados, viabilidade, razão sexual, longevidade das fêmeas, parasitismo diário, parasitismo acumulado.

Por meio dos dados biológicos foram estimados os parâmetros de tabela de vida de fertilidade, de acordo com a metodologia de SILVEIRA NETO et al. (1976), sendo: a Taxa líquida de reprodução (R_0) que é a estimativa do número médio de fêmeas gerado por fêmea ao longo do período de oviposição e que chegarão na geração seguinte; Tempo médio de geração (T) que representa o tempo médio entre a postura de ovos de uma geração e a postura da geração seguinte; Taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) que é a capacidade da população em aumentar em número; Razão finita de crescimento (λ) que é o fator de multiplicação de crescimento diário da população e o Tempo necessário para a população duplicar em número (TD), obtendo desta maneira a capacidade de parasitismo e a tabela de vida de cada um dos tratamentos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O parasitismo diário para *T. pretiosum* em todos os tratamentos decresceu de acordo com o passar dos dias (Figura 1); os picos de parasitismo encontram-

se no primeiro dia para todos os tratamentos, porém não houve grande variação de parasitismo entre os dias, levando a um decréscimo do parasitismo de maneira gradativa, sendo observada a diferença de parasitismo diário nos extremos (primeiro e último dias de parasitismo). PRATISSOLI et al. (2004) analisando a capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *P. xylostella* também observaram que há maior concentração de parasitismo nos primeiros dias seguindo de decréscimo, observam também que na temperatura de 25°C o pico de parasitismo dá-se indiscutivelmente no primeiro dia, o qual apresenta grande diferença dos demais, comportamento observado no presente trabalho, porém sem um pico tão elevado, sendo que essa diferença entre os trabalhos pode ser devido a diferenças já relatadas por NOLDUS (1989), como procedência da linhagem do parasitoide, hospedeiro natural, geração de laboratório e técnica de criação utilizada.

De maneira geral os parasitoides mantiveram o parasitismo até sua morte, fato também observado por TIRONI (1992) e PRATISSOLI et al. (2006), porém na testemunha nos dias 6, 10 e 12 não ocorreu parasitismo, sendo que nas duas primeiras ausências de ovos parasitados, o parasitoide retomou o parasitismo no dia seguinte, e o último dia coincidiu com a morte do parasitoide (Figura 1), situação parecida com o observado por PRATISSOLLI et al. (2004) em que o parasitoide não manteve o parasitismo até a morte. Os resultados demonstram que os isolados tanto pulverizados como a população “resistente” influenciou o comportamento do parasitoide de maneira com que o mesmo conseguiu-se manter o parasitismo durante toda a sua vida.

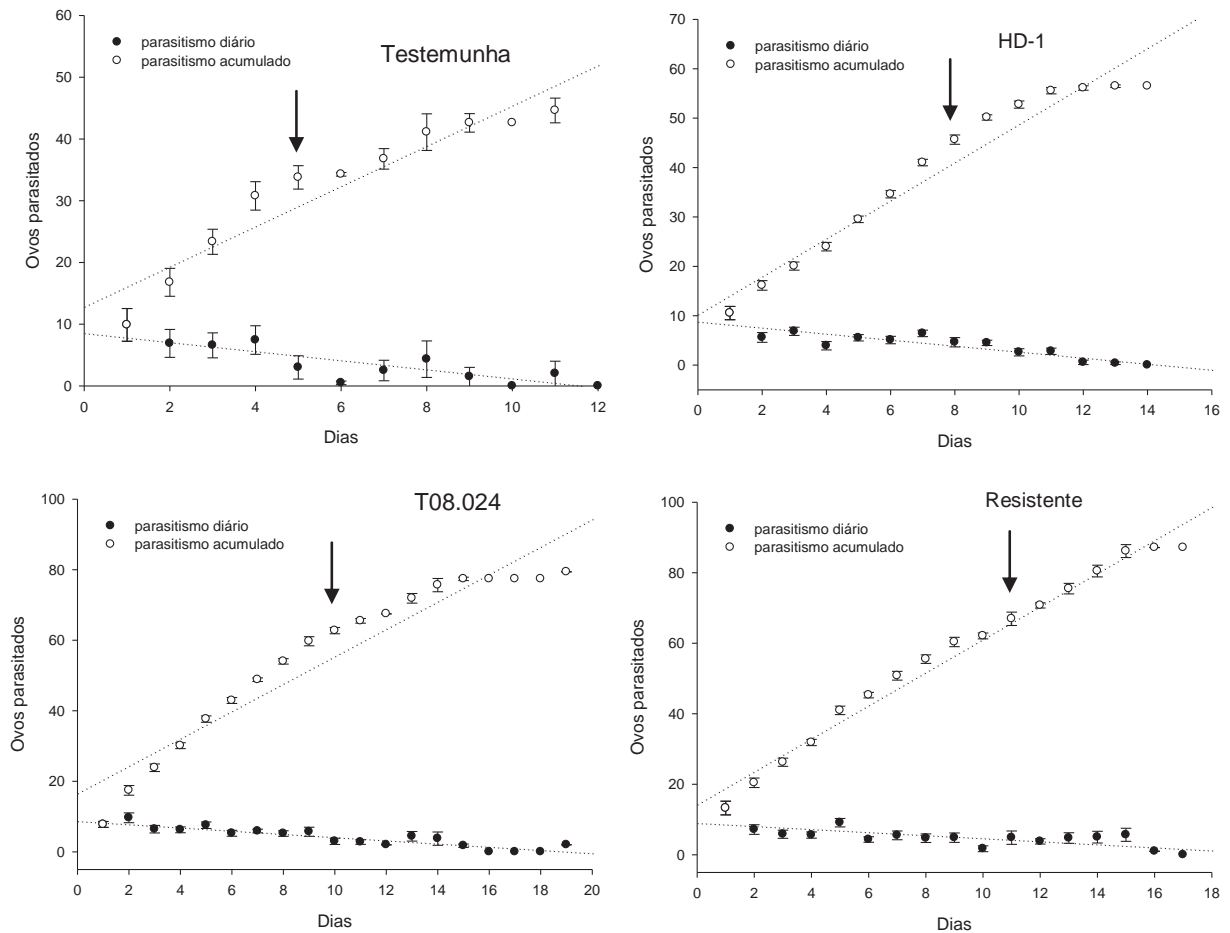


Figura 1. Parasitismo diário e acumulado de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Plutella xylostella* sob ação de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*. As setas indicam 80% de parasitismo.

A influência dos isolados HD-1 e T08.024 pode ser mais uma vez comprovada ao se observar o que aconteceu com *T. exiguum*, onde os insetos da testemunha morreram logo após as primeiras 24 horas sem realizar postura, nos demais tratamentos foram observados parasitismo apenas a partir do segundo dia (Figura 2), discordando com PEREIRA et al. (2007) que observaram maior parasitismo de *Trichogramma exiguum* em *Plutella xylostella* nas primeiras 24 horas. Esta diferença de comportamento pode ser atribuída à linhagem do parasitoide e do hospedeiro utilizada, também pode ser devido ao parasitoide utilizado no presente trabalho estar por muitas gerações em laboratório e por

apresentar apenas fêmeas, tendo menor agressividade levando mais tempo para iniciar o parasitismo.

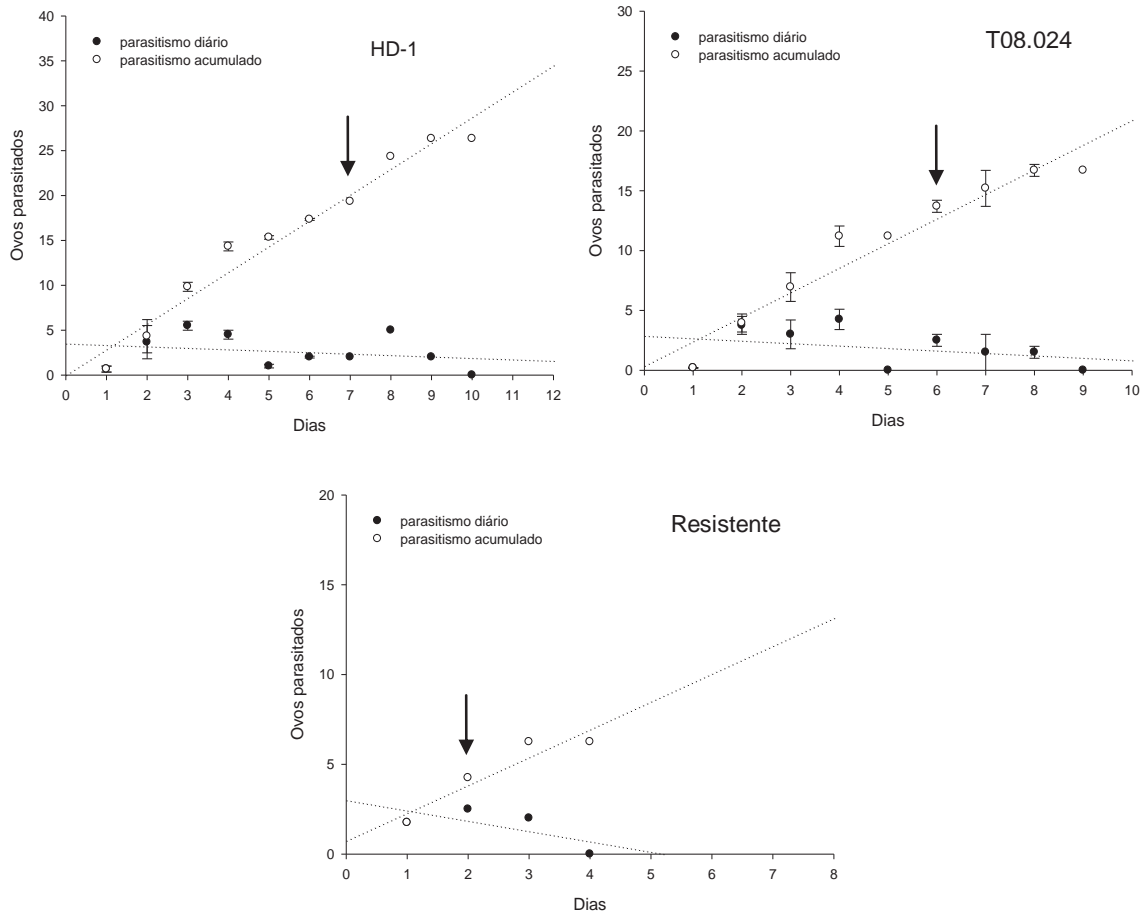


Figura 2. Parasitismo diário e acumulado de *Trichogramma exiguum* em ovos de *Plutella xylostella* sob ação de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*.

O parasitismo acumulado atingiu 80% em diferentes dias de acordo com o tratamento. Para *T. pretiosum* no 5º dia para a testemunha, 8º para HD-1, 10º para T08.024 e 11º para a Resistente (Figura 1), e para *T. exiguum* no 2º, 6º e 7º dias para HD-1, T08.024 e resistente respectivamente (Figura 2). De acordo com PRATISSOLI & PARRA (2001), a variação no parasitismo, deve-se ao uso de diferentes espécies e/ou linhagens de *Trichogramma*, assim como o hospedeiro utilizado e condições climáticas. Como o hospedeiro utilizado em todos os casos foi o mesmo (*P. xylostella*), pode-se inferir que os tratamentos tornaram os ovos

oferecidos diferentes nutricionalmente e/ou atrativamente, como se os parasitoides estivessem em hospedeiros diferenciados. PRATISSOLI et al. (2006) ao avaliar a capacidade de parasitismo de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi, 2003 em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) com parasitoides alimentados com Bt Kurstaki e isolados selvagens (E-3, E-10, E-15, E-16, E-19, E-20), observaram que *T. pratissolii* atingiu 80% de parasitismo mais rapidamente, porém não houve diferença de parasitismo, discordando com os dados encontrados, pois, no presente estudo os insetos da testemunha de *T. pretiosum* atingiram mais rapidamente a taxa de 80% de parasitismo do que os tratamentos com HD-1 e T08.024, enquanto para *T. exiguum* (sem parasitismo na testemunha, e parasitismo iniciado no segundo dia) a população resistente atingiu a taxa de 80% antes de HD-1 e T08.024, porém nenhum dos parâmetros avaliados foi afetado pelos tratamentos, a não ser a testemunha onde não ocorreu parasitismo (Tabela 1). Essa diferença encontrada nos trabalhos em relação e dentro deste pode ser justificada por vários fatores, como as espécies de parasitoide e hospedeiro utilizados, e isolados de Bt utilizados e forma de contato com os isolados (ingeridos ou pulverizados).

Tabela 1. Características biológicas de *Trichogramma exiguum* parasitando ovos de *Plutella xylostella* sob a influência de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*.

	OP /fêmea	LONG (dias)	VIAB (%)
Testemunha	-	1,6 ± 0,13 a	-
HD-1	3,1 ± 1,93 a	2,5 ± 0,69 a	71,9 ± 4,08 a
T08.024	3,7 ± 1,77 a	2,7 ± 0,79 a	66,6 ± 10,76 a
Resistente	3,7 ± 1,45 a	3,1 ± 0,16 a	38,3 ± 9,97 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si. OP= ovos parasitados; LONG= longevidade das fêmeas; RS= razão sexual; VIAB= Viabilidade.

Analisando o número de ovos parasitados por *T. pretiosum* observa-se menor parasitismo e menor longevidade na testemunha (Tabela 2), por isso, atingindo mais rápido os 80% de parasitismo.

Tabela 2. Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* parasitando ovos de *Plutella xylostella* sob a influência de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*.

	OP /fêmea	LONG (dias)	RS	VIAB (%)
Testemunha	19,6 ± 5,96 b	4,4 ± 0,98 b	0,51 ± 0,09 a	89,0 ± 3,14 a
HD-1	50,3 ± 6,35 a	10,3 ± 1,08 a	0,49 ± 0,05 a	62,3 ± 4,10 b
T08.024	52,9 ± 8,85 a	9,9 ± 1,53 a	0,61 ± 0,04 a	60,1 ± 3,51 b
Resistente	46,9 ± 10,67 ab	8,1 ± 1,52 ab	0,62 ± 0,04 a	93,9 ± 0,86 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si. OP= ovos parasitados; LONG= longevidade das fêmeas; RS= razão sexual; VIAB= Viabilidade.

A maioria dos parâmetros obtiveram melhores resultados nos tratamentos que foram tratados com os isolados HD-1 (pulverizado e população “resistente”) e T08.024 de Bt, tendo maior número de ovos parasitados e longevidade das fêmeas, porém HD-1 e T08.024 propiciaram menor viabilidade dos ovos. Concordando novamente com PRATISSOLI et al. (2006), que também observaram diminuição da viabilidade dos ovos tratados com diferentes isolados de Bt, além de estarem abaixo do considerado ideal por NAVARRO (1998) que é de 85%. A razão sexual não foi influenciada pelos tratamentos, e em todos se encontram dentro do adequado, que é de 0,5 (VAN LENTEREN, 1994).

Nas tabelas de vida de *T. pretiosum* observa-se que, a taxa líquida de reprodução (R_0) apresentou variação de acordo com o tratamento; as populações que tiveram contato com os isolados HD-1 e T08.024 de Bt apresentaram maiores R_0 , gerando mais descendentes em uma geração do que a testemunha, os maiores valores foram para resistente e T08.024, significando que essas

populações propiciaram a maior multiplicação em uma geração de *T. pretiosum* (Tabela 3). Já para o tempo médio de geração (T), a Taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m) e a Razão finita de crescimento (λ) não foram observadas diferenças entre as populações, ou seja, os isolados HD-1 e T08.024 de Bt não influenciaram na capacidade das fêmeas dos parasitoides gerarem novas fêmeas.

Tabela 3. Parâmetros das tabelas de vida de fertilidade de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma exiguum* em ovos de *Plutella xylostella* sob influência de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*.

<i>T. pretiosum</i>					
Tratamento	R_0	T	r_m	λ	TD
Testemunha	8,9±5,85c	10,4±0,72c	0,875±0,3529a	2,368±0,84a	0,7±0,33b
HD-1	15,3±4,15b	11,9±0,46b	0,689±0,0711a	1,992±0,14a	1,0±0,10ab
T08.024	19,3±6,95ab	13,1±0,57a	0,646±0,0725a	1,907±0,14a	1,1±0,12a
Resistente	28,0±13,91a	12,1±1,25ab	0,752±0,1549a	2,115±0,34a	0,9±0,18ab
<i>T. exiguum</i>					
Tratamento	R_0	T	r_m	λ	TD
Testemunha	-	-	-	-	-
HD-1	11,5±5,28a	10,5±0,60a	0,689±0,0626a	1,992±0,1285a	1,0±0,08a
T08.024	7,3±6,41a	10,5±0,80a	0,644±0,2104a	1,900±0,4012a	1,0±0,35a
Resistente	2,0±1,12b	10,5±0,40a	0,436±0,3605a	1,528±0,5410a	1,3±0,60a

Letras diferentes na coluna indicam significância pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Taxa líquida de reprodução (R_0); Tempo médio de geração (T); Taxa intrínseca de crescimento populacional (r_m); Razão finita de crescimento (λ); Tempo necessário para a população duplicar em número (TD).

Para o tempo necessário para a população duplicar em número (TD) observa-se diferença apenas entre T08.024 e a testemunha, sendo que T08.024 levou mais tempo para duplicação em número.

Para *T. exiguum* não foram coletados dados para testemunha, pois não ocorreu parasitismo e conseqüentemente descendentes para estimar os parâmetros, mas os tratamentos envolvendo Bt (pulverizados e população resistente) possibilitaram análises dos parâmetros. Para R_0 a população resistente apresentou menores valores, ou seja, produzindo menos descendentes por geração. Os outros parâmetros não foram afetados pelos tratamentos (Tabela 3).

Para ambas as espécies de parasitoides os valores de R_0 foram superiores a 1 e os de r_m positivos, demonstrando que há aumento populacional, permitindo a todos os tratamentos que tiveram contato com Bt a continuidade da espécie do parasitoide. O tempo médio de geração (T) para *T. pretiosum* apresentou diferença entre os tratamentos, a testemunha apresentou o menor ciclo de vida, enquanto os maiores ciclos foram para Resistente e T08.024, ocorrendo influência de Bt no ciclo de vida do parasitoide. Para *T. exiguum* não houve diferença, apresentando ciclo de vida em torno de 10 dias, o qual é o ciclo natural do parasitoide, não havendo influência de Bt sobre esse aspecto (Tabela 3).

PRATISSOLI et al. (2007), ao estudarem a tabela de vida de cinco linhagens de *T. pretiosum* no hospedeiro *Tuta absoluta* (Merick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) encontraram valores de R_0 variando de 10,2 a 23,7 a 25°C, sendo estes valores próximos dos encontrados no presente trabalho, demonstrando que diferentes fatores podem afetar este parâmetro. Os mesmos autores demonstraram que a temperatura e a linhagem do parasitoide geram diferentes taxa líquida de reprodução. O presente trabalho revela outro fator que gera influencia em parâmetros da tabela de vida, o qual é a interação com outros métodos de controle, como o Bt, que pode também alterar a taxa líquida de reprodução e o tempo médio de geração, influenciando no desempenho do parasitoide.

O sucesso das liberações de *Trichogramma* spp., é baseado no conhecimento das características bioecológicas do parasitoide e da sua interação com o hospedeiro alvo (SIQUEIRA et al., 2012), assim como a interação com outros organismos de controle, como Bt por exemplo.

Diante destas constatações torna-se imprescindível análise criteriosa da espécie/linhagem, em conjunto com os fatores ambientais da região para decidir os melhores métodos de controle que podem ser utilizados em conjunto.

4 CONCLUSÕES

Os tratamentos com pulverização de *B. thuringiensis* e população “resistente” influenciaram o comportamento de *T. pretiosum*, mantendo e aumentando o parasitismo durante toda a sua vida, e melhorando as características de desenvolvimento.

Trichogramma pretiosum apresentou maior parasitismo nos primeiros dias, porém o ritmo encontra-se bem distribuído durante toda a vida.

Trichogramma exiguum apresentou baixo parasitismo para *P. xylostella*, mesmo quando em contato com Bt que estimulou o parasitismo.

5 REFERÊNCIAS

BIANCHI, F. J. J. A.; GOEDHART, P. W.; BAVECO, J. M. Enhanced pest control in cabbage crops near forest in The Netherlands. **Landscape Ecology**, Dordrecht, v.23, n. 5, p. 595-602, 2008.

BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Espécies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama argillacea*. Biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.24, n. 8, p.929-940, 1989.

CAMPBELL, C.D.; WALGENBACH, J.F.; KENNEDY, G.G. Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide-treated and untreated tomatoes in western North Carolina. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 84, n. 6, p. 1662-1667, 1991.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.60-63, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p.327-332, 2001.

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, n. 3, p. 387-390, 2004.

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

HAJI, F. N. P. *Trichogramma pretiosum* para controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, S. M.; FERREIRA, B. S. C.; BENTO, J. M. S. (eds.), **Controle biológico no Brasil: Parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002, p.477-494.

HASSAN, S. A. Standard methods to test side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WRPS Working Group:

pesticides and beneficial organisms. **EPPO Bulletin**, Paris, v.15, p. 214-255, 1985.

HEGAZI, E. M.; KHAFAGI, W. G.; HASSAN, S.A. Studies on three species of *Trichogramma*. I. Foraging behaviour for food or hosts. **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v.124, n.3-4, p.145-149, 2000.

IMENES, S. D. L.; CAMPOS, T. B. de; RODRIGUES NETTO, S. M.; BERGMANN, E. C. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n.1, p. 81-84, 2002.

MERTZ, B.P., FLEISCHER, S.J., CALVIN, D.D.; RIDGWAY, R.L. Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.88, n. 6, 1616-1625, 1995.

MONJE, J. C.; ZEBITZ, C. P. W.; OHNESORGE, B. Host and host age preference of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on different hosts. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.92, n. 1, p.97-103, 1999.

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

NAVARRO, M. A. *Trichogramma* spp. **Producción, uso y manejo em Colômbia**. Guadalajara de Buga: Impretec, 1998, 176p.

NOLDUS, L. P. J. J. Semiochemicals, foraging behavior and quality of entomophagous insects for biological control. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.108, n.1, p.425-451, 1989.

OATMAN, E.R.; WYMAN, J.A.; VAN STEENWYK, R.A.; JOHNSON, M.W. Integrated control of the tomato fruitworm (Lepidoptera: Noctuidae) and other lepidopterous pests on fresh-market tomatoes in southern California. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 76, n. 6, p.1363-1369, 1983.

OLIVEIRA, H. N. de; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E. Influência da idade de ovos de *Oxydia vesulia* no parasitismo de *Trichogramma maxacalli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 4, p.231-236, 2003.

OLIVEIRA, H. N. de; ZANUNCIO, J. C.; PRATISSOLI, D.; CRUZ, I. Parasitism rate and viability of *Trichogramma maxacalli* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitoid of the *Eucalyptus* defoliator *Euselasia apisaon* (Lep.: Riodinidae), on eggs *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae). **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v.130, n. 1, p.1-6, 2000.

PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PRATISSOLI, D.; PEREIRA, C. L. T.; VIANNA, U. R.; ZANUNCIO, J. C. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 297-303, 2007.

PHILIP, M. M; ORR, D. B. Operational considerations for augmentation of *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for suppression of *Rhyacionia frustrana* (Lepidoptera: Tortricidae) in *Pinus taeda* plantations. **Journal of Economy Entomology**, Lanham, v.101, n. 2, p. 421-429, 2008.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo integrado de pragas y agroecologia**, Turrialba, v. 74, s/n, p.24-33, 2005

PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n. 7, p. 1281-1288, 2000.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, para o controle das traças, *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller). **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.2, p.277-282, 2001.

PRATISSOLI, D.; PEREIRA, F. F.; BARROS, R.; PARRA, J. R. P.; PEREIRA, C. L. T. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.4, p.754-757, 2004.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; ANDRADE, G. S.; HOLTZ, A. M.; SILVA, A. F.; PASTORI, P. L. Tabela de vida de fertilidade de cinco linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) criadas em ovos de *Tuta absoluta* (Merick) (Lep.: Gelechiidae), sob temperaturas constantes e alternadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.618-622, 2007.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R. A.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, G. S.; OLIVEIRA, R. G. S. 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.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N. A. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Ceres, 1976, 419p.

SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S. S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n.1, p. 1-5, 2012.

SOARES, M. A.; LEITE, G. L. D.; ZANUNCIO, J. C.; ROCHA, S. L.; DE SÁ, V. G. M.; SERRÃO, J. E. Flight Capacity, parasitism and emergence of five *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species from forest areas in Brazil. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.35, n. 3, p. 314-318, 2007.

TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.38, n.1, p.275-301, 1993.

TIRONI, P. **Aspectos bioecológicos de *Trichogramma petiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hym.: Trichogrammatidae), como agentes de controle biológico de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lep.: Noctuidae)**. 1992. 74 f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Lavras, Lavras.1992.

TRUMBLE, J.; ALVARADO-RODRIGUEZ. B. Development of economic evaluation of an IPM program for fresh market tomato production in Mexico. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Charlottetown, v.43, n. 3-4, p.267-284, 1993.

VAN LENTEREN, J. C. Designing and implementing quality control of beneficial insects: towards more reliable biological pest control. Sting. Newsl. **Biological Control**, Orlando, v.14, n. 1, p. 3-24, 1994.

VIANA, C.L.T.P. **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner efetivos em lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 2007. 90f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp, Jaboticabal. 2007.

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, In PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. **Trichogramma e o Controle Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997, p.67-119.

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 Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997, p.41-66,

CAPÍTULO 4 – PREFERÊNCIA DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 E *Trichogramma exiguum* PINTO & PLATNER, 1978 A OVOS DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) SOB AÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER, 1915 (BACILLALES: BACILLACEAE)

RESUMO

O objetivo foi analisar a preferência de *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma exiguum* a ovos de *Plutella xylostella* que tiveram contato com *Bacillus thuringiensis* (Bt). Os experimentos constaram de duas etapas: teste de confinamento e de múltipla chance de escolha. Foram realizados quatro tratamentos para cada espécie do parasitoide: ovos da população suscetível (Ps) a *B. thuringiensis* (testemunha), população criada em laboratório por mais de 100 gerações (110^a-114^a); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 (Res) por mais de 40 gerações (46^a-48^a); ovos da Ps pulverizados com HD-1; ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024. Foram individualizadas em tubos Duran (3,5 x 0,5cm) 15 fêmeas por tratamento (0h-24h de idade e alimentadas com mel). Para *T. pretiosum* foram utilizados 32 ovos/cartela e para *T. exiguum* 8 ovos/cartela. As arenas foram montadas com garrafas transparentes (pré-forma) de polietileno (PET) de 4 cm de altura, contendo na tampa quatro tubos de Duran dispostos equidistantemente e um tubo superior para liberação do parasitoide. Permitiu-se o parasitismo por 24 horas. O parâmetro avaliado foi o número de ovos parasitados. Os resultados sugerem que *T. pretiosum* quando em condição de escolha prefere ovos que não tiveram contato com Bt, porém, quando em contato com apenas ovos tratados realiza o parasitismo eficazmente. *T. exiguum* não apresentou preferência pelos ovos, não ocorrendo parasitismo no teste de confinamento, parasitando apenas os ovos dos tratamentos HD-1 e resistente no teste de múltipla chance.

Palavras-chave: Teste de preferência, parasitoide de ovos, traça-das-crucíferas.

1 INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada a praga mais importante das plantas da família Brassicaceae, no Brasil e no mundo (DIAS et al., 2004). No Brasil, sua ocorrência tem sido observada durante todo o ano (MELO et al., 1994; LOGES, 1996).

A praga está diretamente relacionada à redução de produção de brássicas nos plantios comerciais em todas as regiões de cultivo do mundo (DICKSON et al., 1990), sendo que os danos por ela causados acarretam a depreciação do produto, o atraso no crescimento da planta e até mesmo a morte (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 2001; MONNERAT et al., 2004). Para contornar os danos causados pela traça, o método de controle mais utilizado ainda é o químico, por ser considerado rápido e eficiente na redução populacional dessa praga (DIAS et al., 2004). No entanto, tal prática não tem apresentado bons resultados ao longo dos anos, uma vez que, em alguns casos, aplicações de inseticidas, em até três vezes semanais, não reduziram os danos da traça (CASTELO BRANCO et al., 2001).

A atuação conjunta de inimigos naturais é considerada excelente alternativa no manejo de insetos-praga em diversos agroecossistemas, sendo que este tipo de interação pode ocorrer naturalmente ou por meio da manipulação pelo homem, de forma inoculativa ou inundativa, mediante a liberação de parasitoides e predadores ou da aplicação de entomopatógenos. Em diversos agroecossistemas são comuns os relatos referentes à interação de inimigos naturais, sendo considerada uma das principais formas de incrementar o controle

biológico de insetos-praga. Porém, como qualquer tipo de interação, os efeitos podem ser favoráveis ou não (ALVES, 1998).

Os conhecimentos das interações envolvidas entre parasitoides do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae) e insetos-alvo ainda são incipientes no Brasil. Trabalhos precursores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de pragas (MARQUES & ALVES, 1995; MORANDI FILHO et al., 2006; POLANCZYK et al., 2006).

Trichogramma spp. destacam-se como agentes biológicos promissores no controle de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) pelo fato de terem ampla distribuição geográfica, serem altamente especializados, além da comprovada eficiência no controle de pragas, sobretudo aquelas pertencentes à ordem Lepidoptera (ZUCCHI & MONTEIRO, 1997). Assim, como o uso de *B. thuringiensis* (Bt) para o controle de *P. xylostella* já foi relatado por diversos trabalhos (CASTELO BRANCO & AMARAL, 2002; MONNERAT et al., 2004; DIAS et al., 2004; SAYYED et al., 2004; KHAN et al., 2005).

HASSAN (1997) relata que antes da liberação de *Trichogramma* sp. deve-se realizar experimentos para escolha da melhor espécie, e entre estes o teste de preferência e adequação hospedeira, visto que a diversidade na preferência hospedeira é um fator importante no controle biológico.

O objetivo do presente trabalho foi analisar a preferência de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 e *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 a ovos de *P. xylostella* que tiveram contato (pulverização e população resistente) com Bt visando observar o comportamento dos parasitoides quando na situação de interação de ambos os métodos de controle.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Universidade Estadual Paulista (FCAV/Unesp), campus de Jaboticabal, no ano de 2011, em delineamento experimental inteiramente casualizado. As matrizes dos parasitoides utilizados: *T. pretiosum* e *T. exiguum* foram provenientes da criação do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico de Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES); os isolados de Bt utilizados: HD-1 (presença dos genes: *cry1Aa*, *cry1Ab* e *cry1Ac*) e T08.024 (presença do gene *cry1Ac*) (VIANA, 2007) foram obtidos no Banco de Germoplasma de *Bacillus* entomopatogênicos pertencentes à coleção do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada(LGBBA) da FCAV/Unesp.

Os experimentos constaram de duas etapas: teste de confinamento sem chance de escolha e de múltipla chance de escolha. Ambos foram realizados em sala climatizada a 25°C±1, UR 70%±10 e fotofase de 14 horas e constou de quatro tratamentos para cada espécie do parasitoide (*T. pretiosum* e *T. exiguum*), sendo: ovos da população suscetível (Ps) a Bt (testemunha), população criada em laboratório por mais de 100 gerações (110^a-114^a); ovos da população submetida à pressão de seleção ao isolado HD-1 (Res) por mais de 40 gerações (46^a-48^a); ovos da Ps pulverizados com HD-1; ovos da Ps pulverizados com o isolado T08.024.

As suspensões a serem utilizadas dos isolados foram preparadas a partir da bactéria cultivada em meio de cultura "Nutriente Agar" incubado a 30°C por 5 dias para completa esporulação e liberação dos cristais. Após este período, o conteúdo bacteriano foi retirado da placa com auxílio de uma alça de platina e colocado em tubo Falcon contendo 10 mL de água deionizada autoclavada e 0,05% de espalhante adesivo (Tween[®] 80) e centrifugada por três vezes por 20

minutos cada, a 5000 RPM, para eliminação das exotoxinas (POLANCZYK & ALVES, 2005) constituindo assim a suspensão “mãe”; com esta suspensão foram realizadas outras duas suspensões seriadas, a 10^{-1} e a 10^{-2} , com a finalidade de utilizar a última para quantificação de esporos por ml de suspensão, por meio de leitura em câmara de Neubauer.

Após preparo das suspensões na concentração de 3×10^8 esporos/ml, os ovos (já fixados em cartelas) foram pulverizados com uma pistola para pintura, tipo aerógrafo, acoplada a um compressor da marca Schulz Modelo MS 2.3 com pressão operacional de 25 lbf/pol², em capela de exaustão. Foram aplicados 66 µl de suspensão por cartela, garantindo a deposição média de 1,75 mg.cm⁻² de esporo/cristal, de acordo com a recomendação da International Organization of Biological Control of Noxious Animals and Plants (IOBC) (HASSAN, 1985). Após a pulverização, as cartelas foram levadas para câmara de fluxo laminar para secagem e, somente em seguida, oferecidas aos parasitoides.

Foram individualizadas em tubos Duran (3,5 x 0,5 cm) 15 fêmeas (cada fêmea corresponde a uma repetição) por tratamento (0h-24h de idade e alimentadas com mel) e delineamento experimental inteiramente casualizado. Para *T. pretiosum* foram oferecidos 32 ovos/cartela e para *T. exiguum* 8 ovos/cartela. Os ovos foram colados com goma arábica (30%) em cartelas de cartolina de cor azul celeste (3,5 x 0,4 cm) e acondicionadas em tubos de Duran (3,5 x 0,5 cm).

A metodologia utilizada para os testes de preferência hospedeira foi baseada na desenvolvida por THULER et al. (2007).

As arenas foram montadas com garrafas transparentes (pré-forma) de polietileno (PET) de 4 cm de altura, contendo na tampa quatro tubos de Duran dispostos equidistantemente e um tubo superior para liberação do parasitoide (Figura 1).

Para os testes de confinamento em dois tubos foram acrescentados uma cartela em cada do mesmo tratamento e os outros dois permaneceram vazios, no

tubo superior foi acrescentado uma gotícula de mel para alimentação do parasitoide, de onde o mesmo era liberado.



Figura 1: Esquema de arena para teste de preferência. Fonte: THULER et al. (2007).

Para os testes de múltipla escolha as cartelas de todos os tratamentos foram distribuídas nos quatro tubos de Duran, ficando desta maneira cada tubo com uma cartela, sendo cada cartela correspondente a um tratamento.

Após liberação do parasitoide foi permitido o parasitismo por 24 horas, após as cartelas eram retiradas e mantidas nas mesmas condições de umidade, temperatura e fotoperíodo até escurecimento dos ovos para avaliação do número de ovos parasitados.

Os testes de confinamento com *Trichogramma exiguum* foram realizados duas vezes (equivalendo a um total de 30 repetições por tratamento), apresentando os mesmos resultados, porém para análise estatística foram utilizados apenas os resultados do último teste (referente a 15 repetições por tratamento).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de confinamento demonstraram que os ovos pulverizados com o isolado HD-1 foram menos preferidos por *T. pretiosum* e os tratamentos pulverizados com T08.024 e resistente não diferiram da testemunha. A não preferência por ovos com HD-1 é comprovada pelo teste de múltipla chance em que o mesmo não foi parasitado juntamente com o tratamento resistente onde também não ocorreu parasitismo, sendo apenas testemunha e T08.024 parasitados, com preferência para a testemunha. (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de ovos de *Plutella xylostella* submetidos a pulverização de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis* e parasitados por espécies de *Trichogramma pretiosum* em teste de preferência, em confinamento e múltipla chance de escolha.

Confinamento	
Porcentagem média de ovos parasitados \pm EP	
Testemunha	26,0 \pm 1,06 a
HD-1	8,3 \pm 0,53 b
T08.024	24,0 \pm 1,53 a
Resistente	41,7 \pm 1,41 a
Múltipla chance	
Testemunha	69,7 \pm 1,57 a
HD-1	-
T08.024	30,3 \pm 0,99 b
Resistente	-

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%

Para *T. exiguum* não foi observado parasitismo nos testes de confinamento, e no de múltipla escolha apenas HD-1 e resistente apresentaram parasitismo, mas não houve diferença (Tabela 2), ocorrendo o inverso do observado para *T. pretiosum*.

Tabela 2. Porcentagem de ovos de *Plutella xylostella* submetidos a pulverização de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis* e parasitados por espécies de *Trichogramma exiguum* em teste de preferência, em confinamento e múltipla chance de escolha.

Confinamento	
Porcentagem média de ovos parasitados ± EP	
Testemunha	-
HD-1	-
T08.024	-
Resistente	-
Múltipla chance	
Testemunha	-
HD-1	50 ± 0,21 a
T08.024	-
Resistente	50 ± 0,27 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Trichogramma pretiosum preferiu os ovos que não tiveram contato com os isolados HD-1 e T08.024 de Bt, demonstrando que quando o parasitoide encontra os dois tipos de ovos, consegue diferenciá-los e optando por aquele que não teve contato com Bt. Essa constatação é de grande valia, pois demonstra que *T. pretiosum*, se liberado em campo, provavelmente irá realizar controle dos ovos que não foram pulverizados com os referentes isolados de Bt. Mas que quando

encontrar apenas ovos tratados (com T08.024 e ovos oriundos de populações “resistentes”) o parasitismo se dará na mesma intensidade do que para populações suscetíveis (para ambas as espécies estudadas), tendendo a maior parasitismo nas populações “resistentes” (*T. pretiosum*), porém ovos pulverizados com HD-1 tendem a um menor parasitismo nas mesmas condições citadas. Isso pode não estar relacionado, de acordo com VIANNA (2009) e PATANKAR et al. (2001) a compostos voláteis que promovam atração ou repelência do inseto e sim a alguns compostos que atuam no mecanismo de defesa dos ovos, pois a maioria dos compostos são obtidos por meio de mecanismo de armazenamento dos herbívoros durante sua alimentação.

A preferência das fêmeas de *Trichogramma* spp. tem relação complexa com a qualidade nutricional de cada hospedeiro que está sendo escolhido para o parasitismo (VINSON, 1997; THULER et al., 2007). Entre as diferenças que podem ser destacadas nos hospedeiros, incluem-se diferenças nas superfícies, tamanho, estruturas do córion de cada ovo e também as mudanças na cor durante o desenvolvimento embrionário, tamanho e volume do ovo (VINSON, 1997; SIQUEIRA et al., 2012). Normalmente essas características diferenciadas são encontradas entre as espécies hospedeiras, mas Bt pode ter afetado alguma delas, influenciando desta maneira na preferência pelos ovos.

Porém, os dados de confinamento de ambas as espécies discordam de todos os outros encontrados na presente dissertação, onde nos capítulos 2 e 3 foi relatado que para *T. pretiosum* os ovos preferidos (em confinamento) foram do tratamento Resistente, diferenciando-se da testemunha no parasitismo em todos os testes. E em *T. exiguum*, apesar de não ter sido encontrada diferença entre os tratamentos, observou-se parasitismo.

Essas diferenças observadas podem ser atribuídas à metodologia utilizada, pois, nos outros testes os parasitoides eram mantidos em um único tubo de Duran onde era permitindo o máximo parasitismo. Na metodologia utilizada para o teste de preferência o parasitoide era liberado em um tubo de Duran e tinha que voar a procura dos outros quatro tubos de Duran com ovos, fazendo desta maneira que

mais uma variável entrasse nas análises, a capacidade de vôo; por muitas vezes durante o experimento observou-se que após as 24 horas de liberação dos parasitoides, eles ainda se encontravam no tubo de liberação, gerando a dúvida se ele já tinha parasitado e voltado ao ponto inicial ou se não tinha nem saído, por não conseguir voar. Tendo em vista de que os parasitoides utilizados no estudo já estavam sendo criados em laboratório por muitas gerações, podem ter diminuído a capacidade de vôo, influenciando diretamente nos resultados, pois desta maneira o parasitoide não conseguia alcançar os hospedeiros.

Diante das possíveis falhas encontradas na metodologia utilizada sugere-se realização de testes de preferência com outra metodologia para melhor análise dos dados.

4 CONCLUSÕES

Os isolados HD-1 e T08.024 de *Bacillus thuringiensis* afeta os ovos de *P. xylostella* influenciando o parasitismo de *Trichogramma* sp., de maneira positiva ou negativa dependendo do isolado utilizado e da situação em que encontra-se o parasitoide.

Trichogramma pretiosum, quando em condição de escolha, prefere ovos que não receberam tratamento com os isolados HD-1 e T08.024, porém, quando em contato com apenas ovos tratados realiza o parasitismo eficientemente.

Trichogramma exiguum não apresentou preferência pelos ovos. Porém, é necessário testes de escolha com outra metodologia para confirmação, devido a este teste ter apresentado resultados discrepantes aos demais testes contidos nessa dissertação.

5 REFERÊNCIAS

ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998, 1163p.

CASTELO BRANCO, M.; AMARAL, P. S. T. Inseticidas para controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.3, p.410-415, 2002.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.1, p.60-63, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p.327-332, 2001.

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 no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n. 3, p. 387-390, 2004.

DICKSON, M. H.; SHELTON, A. M.; EIGENBRODE, S. D.; VAMOSY, M. L.; MORA, M. Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage. **Hortscience**, Alexandria, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

HASSAN, S. A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.), **Trichogramma e o Controle Aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997, p.183-205.

HASSAN, S. A. Standard methods to test side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WRPS Working Group:

pesticides and beneficial organisms. **EPPO Bulletin**, Paris, v.15, p. 214-255, 1985.

KHAN, M. F. R.; RIFFIN, P.; CARNER, G. R.; GORSUCH, C. S. Susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from collard fields in South Carolina to *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Agriculture Urban and Entomology**, Sidney, v. 22, n. 1, p. 19-26, 2005.

LOGES, V. **Danos causados pela traça das crucíferas *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) em cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) e efeito sobre populações da praga e do parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912), em condições de campo.** 1996. 98f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Entomologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 1996.

MARQUES, I. M. R.; ALVES, S. B. Influência de *Bacillus thuringiensis* no parasitismo de *Scrobipalpus absoluta* (Lep. Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* R. (Hym: Trichogrammatidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.38, n. 1, p. 317-325, 1995.

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

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

MORANDI FILHO, W. J., BOTTON, M., GRÜTZMACHER, A. D., GIOLO, F. P.; MANZONI, C. G. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de

inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n. 4, p.1072-1078, 2006.

PATANKAR, A. G.; GIRI, A. P.; HARSULKAR, A. M.; SAINANI, M. N.; DESHPANDE, V. V.; RANJEKAR, P. K.; GUPTA, V. S. Complexity in specificities and expression of *Helicoverpa armigera* gut proteinases explains polyphagous nature of the insect pest. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 31, n. 4-5, p 453-464. 2001.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. B. Interação entre *Bacillus thuringiensis* e outros entomopatógenos no controle de *Spodoptera frugiperda*. **Manejo integrado de pragas y agroecologia**, Turrialba, v. 74, s/n, p.24-33, 2005

HASSAN, S. A. Standard methods to test side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WRPS Working Group: pesticides and beneficial organisms. **EPPO Bulletin**, Paris, v.15, p. 214-255, 1985.

POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; OLIVEIRA, R. G. S.; ANDRADE, G. S. Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p.233-239, 2006.

SAYYED, A. H.; RAYMOND, B.; IBIZA-PALACIOS, S.; ESCRICHE, B.; WRIGHT, D. J. Genetic and biochemical characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 12, p. 7010-7017, 2004.

SIQUEIRA, J. R.; BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; VIEIRA, S. S. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n.1, p. 1 – 5, 2012.

THULER, R. T.; VOLPE, H. X. L.; DE BORTOLI, S. A.; GOULART, R. M.; VIANA, C. L. T. P. Metodologia para avaliação da preferência hospedeira de parasitoides do gênero *Trichogramma* Westwood. **Boletim de Sanidad Vegetal Plagas**, Madrid, v. 33, n. 3, p. 333-340. 2007.

VIANA, C.L.T.P. **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner efetivos em lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 2007. 90f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Unesp, Jaboticabal. 2007.

VIANNA, U. R. **Interação de técnicas para o manejo fitossanitário de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2009. 80f. Tese (Doutorado em Entomologia) Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 2009.

VINSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. (Eds.). ***Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.67-119.

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 Aplicado***. Piracicaba: FEALQ, 1997, p.41-66.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atuação conjunta de inimigos naturais é considerada excelente alternativa no manejo de insetos-praga em diversos agroecossistemas, sendo que este tipo de interação pode ocorrer naturalmente ou por meio da manipulação do homem, de forma inoculativa ou inundativa, mediante a liberação de parasitoides e predadores ou da aplicação de entomopatógenos. Em diversos agroecossistemas são comuns os relatos referentes à interação de inimigos naturais, sendo considerada uma das principais formas de incrementar o controle biológico. Porém, como qualquer tipo de interação, os efeitos podem ser favoráveis ou não, podendo ser considerado de ação sinérgica, aditiva ou antagônica (ALVES, 1998).

Os conhecimentos das interações envolvidas entre parasitoides do gênero *Trichogramma*, da bactéria *Bacillus thuringiensis* e insetos-alvo ainda são incipientes no Brasil. Trabalhos precursores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de pragas (MARQUES & ALVES, 1995; MORANDI FILHO et al., 2006; POLANCZYK et al., 2006).

Um dos fatores que pode ser responsável pelo sucesso ou fracasso da utilização de parasitoides do gênero *Trichogramma* no controle de lepidópteros-praga é o conhecimento de seus parâmetros biológicos quando associados a determinado hospedeiro-alvo, tais como: capacidade e viabilidade do parasitismo, duração do ciclo de desenvolvimento, razão sexual e longevidade (FUENTES, 1994).

O objetivo do trabalho foi estudar a performance de *Trichogramma exiguum* e *Trichogramma pretiosum*, em ovos de populações de *P. xylostella* sob ação dos isolados HD-1 e T08.024 de *Bacillus thuringiensis*, observando-se também a diferença entre as espécies de parasitoide. Para isto foram avaliados: a resposta funcional, capacidade de parasitismo, tabela de vida e teste de preferência.

Trichogramma pretiosum foi favorecido pelo uso de Bt; a população com pressão de seleção gerou aumento de parasitismo, sem alterar as demais características do parasitoide, como viabilidade e razão sexual. Todos os tratamentos com a bactéria possibilitaram aumento de parasitismo acumulado durante a vida da fêmea do parasitoide, propiciando até mesmo prolongamento da vida dessas fêmeas. Os isolados pulverizados HD-1 e T08.024 afetaram negativamente a viabilidade, e a razão sexual apesar de afetada manteve-se entre os valores considerados ideais. Outro fato que favorece o uso deste parasitoide é que em condições que o inseto pode escolher os ovos que irá parasitar, a preferência foi por aqueles sem contato com Bt, mas quando não teve escolha o parasitismo foi eficiente sendo maior do que em ovos sem tratamento.

A interação *Trichogramma-Bacillus thuringiensis* pode sofrer alterações de acordo com a espécie do parasitoide utilizada e isolado da bactéria, sendo necessário estudo das interações específicas antes de seu uso em conjunto. Mas, como demonstrado no presente estudo, o uso de espécies adequadas gera aumento de parasitismo em populações de pragas que estão sendo submetidas a pulverizações constantes com Bt, sendo desta maneira mais uma tática para evitar a evolução da resistência.

A utilização de ambos os métodos de controle em conjunto é de grande valia, possibilitando um controle mais eficiente da praga, sem prejuízo para nenhum dos agentes de controle, nem para o meio ambiente, visto que são métodos de controle biológico, além se servirem como tática para burlar a resistência de insetos a Bt.

Porém antes da utilização em conjunto dos métodos utilizando outras espécies de parasitoides e isolados diferentes do presente estudo é necessário a realização de novos testes, pois este trabalho serve como base, porém diferentes espécies e isolados podem apresentar interações diferentes.

São necessárias análises moleculares na população submetida à pressão de seleção, nos ovos, adultos e lagartas, a fim de detectar a modificação que ocorreu devido à sucessivas pulverizações do isolado HD-1 que estimularam o

parasitoide. Assim como nos descendentes do parasitoide que se desenvolveram nesses ovos, a fim de observar se os ovos possibilitaram a geração de parasitoides mais bem nutridos.

REFERÊNCIAS

ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 765-778.

FUENTES, S. F. Producción y uso de *Trichogramma* como regulador de plagas. **Red de acción em alternativas al uso de agroquímicos (RAAA)**. Lima, 1994. p.192.

MARQUES, I. M. R.; ALVES, S. B. Influência de *Bacillus thuringiensis* no parasitismo de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lep. Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* R. (Hym: Trichogrammatidae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v.38, n. 1, p. 317-325, 1995.

MORANDI FILHO, W. J.; BOTTON, M.; GRÜTZMACHER, A. D.; GIOLO, F. P.; MANZONI, C. G. Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n. 4, p.1072-1078, 2006.

POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; OLIVEIRA, R. G. S.; ANDRADE, G. S. Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 2, p.233-239, 2006.