

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

LÍGIA SOUZA FERREIRA

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER E *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA:TRICHOGRAMMATIDAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E SUAS INTERAÇÕES

ALEGRE
2010

LÍGIA SOUZA FERREIRA

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER E *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA:TRICHOGRAMMATIDAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E SUAS INTERAÇÕES

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo A. Polanczyk
Co-orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

ALEGRE
2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

F383s Ferreira, Lígia Souza, 1984-
Seleção de *Bacillus thuringiensis* Berliner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:trichogrammatidae) para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e suas interações / Lígia Souza Ferreira. – 2010.
81 f. : il.

Orientador: Ricardo Antonio Polanczyk.

Co-orientador: Dirceu Pratisoli.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. *Bacillus thuringiensis*. 2. Trichogramma. 3. Himenóptero. 4. Bacteria entomopatogênica. 5. Agentes no controle biológico de pragas. 6. Milho – Doenças e pragas – Controle biológico. 7. *Spodoptera frugiperda* – Doenças e pragas – Controle biológico. I. Polanczyk, Ricardo Antonio. II. Pratisoli, Dirceu. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 63

LÍGIA SOUZA FERREIRA

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER E *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA:TRICHOGRAMMATIDAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E SUAS INTERAÇÕES

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 12 de fevereiro de 2010

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientador)

Prof. Dr. Dirceu Pratissoli
Universidade Federal do Espírito Santo
(Co-orientador)

Prof. Dr. Anderson Mathias Holtz
Instituto Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Hugo J. G. dos Santos Junior
Universidade Federal do Espírito Santo

DEDICO

Aos meus Pais Sebastião e Fátima, as minhas irmãs Luciana e Luciene, ao meu esposo Amilton e a minha amiga Débora.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conduzir meus caminhos sempre me abençoando e me dando sabedoria para enfrentar os obstáculos e a Nossa Senhora pela sua interseção;

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

Ao Prof. Ricardo Antonio Polanczyk, pela orientação, amizade, apoio, atenção, até mesmo, pelas críticas que me ajudaram a crescer e principalmente, pela oportunidade de cursar este mestrado nesta instituição;

Ao Prof Dirceu Pratissoli, pela co-orientação, pelos conhecimentos, confiança e apoio;

Ao Setor de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI), por ceder o espaço para criação dos insetos;

A minha família, em especial aos meus pais, por todo carinho, apoio, dedicação, força, por acreditarem em mim e principalmente por suas orações;

Ao meu esposo Amilton, por todo amor, carinho, compreensão, companheirismo e por sempre acreditar em mim;

A minha querida amiga Débora, por todo seu apoio, fazendo-se presente em todos os momentos, não permitindo que eu desanimasse e a sua mãe Alenir, por todo carinho e pelos deliciosos almoços;

À companheira Carol, pelos momentos de alegria, descontração e desabafo, e também por ter me ajudado no abstract;

Ao Dr. Ulysses Rodrigues Vianna;

Ao Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior, por todo apoio e por estar sempre disposto a ajudar;

Ao Prof. Dr. Anderson Mathias Holtz, pelo apoio, sugestões e por aceitar participar dessa banca e contribuir com meu trabalho;

Aos companheiros e colegas André Malacarne, Vando, Flávio Neves e José Romário, que com tanto carinho e disposição me ajudaram na estatística;

Ao estagiário Rafael Alves, por toda sua disponibilidade;

Ao funcionário e amigo Leonardo Mardgan, por todo apoio, amizade, conversas e momentos de alegria e descontração;

Aos funcionários do NUDEMAFI, Carlos Magno e Dona Carlota;

Aos amigos do Laboratório de Entomologia: Camila, Eduardo, Fernando, Gustavo, João Paulo, Kharen, Larissa, Lauana, Luziani, Marcel, Marina, Marília, Marquinhos, Priscila, Rafael Dohler, Raul, Samara, Suelen, Tiago, Victor Lima e Victor Vicentini;

As minhas amigas, que mesmo de longe estão sempre por perto: Andréia, Deíse, Érica, Jacqueline, Michelle, Paolla, Raquel e Sandra;

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

RESUMO

A expansão da área de cultivo e o conseqüentemente uso de algumas técnicas de manejo tem propiciado o aumento de problemas fitossanitários. Dentre essas técnicas, o monocultivo, o plantio escalonado, e a utilização desordenada de agrotóxicos favorecem o ataque de diversos insetos-praga. Entre os insetos-praga, destaca-se, a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) (J.E.Smith), devido ao difícil controle e aos prejuízos ocasionados que variam entre 20 a 40%. Visando ao controle da praga e a redução da utilização de inseticidas, o controle biológico se destaca como o método mais promissor e adequado. Entre os agentes de controle biológico, a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (Bt) e o parasitoide de ovos do gênero *Trichogramma* (Westwood) são considerados promissores visando ao manejo de diversos insetos-praga. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi selecionar uma ou mais linhagens e isolados de Bt, bem como a interação entre esses dois agentes de controle biológico, no controle de *S. frugiperda*. Foram utilizadas 11 linhagens de *Trichogramma pretiosum* (Riley), sendo que a linhagem Tp 16 apresentou melhor desempenho para o controle dessa praga, com 60,66% de parasitismo. Foram testados 50 isolados de Bt para o controle de *S. frugiperda*. Os isolados 676 e 984 mostraram-se mais promissores para o controle dessa praga, causando mortalidade acima de 50%. Para verificar a interação entre os agentes de controle, utilizou-se os isolados de Bt selecionados misturados ao mel e oferecidos a linhagem Tp 16 para sua alimentação. Em outro experimento, as cartelas contendo os ovos da praga foram imersas nos isolados de Bt e oferecidas para a linhagem Tp 16 do parasitoide. Houve interação positiva no experimento em que as cartelas foram imersas no Bt, apresentando um total de 32,85 ovos parasitados para o isolado 676, 30,35 para o isolado 984 e 31,20 para a testemunha. Porém, observou-se uma redução no número total de ovos parasitados quando o Bt foi oferecido como alimento. A testemunha apresentou um total de 55,30 ovos parasitados, enquanto que os isolados 676 e 984, apresentaram 35,15 e 18,70 ovos parasitados, respectivamente.

Palavras Chave: Controle Biológico, Milho, Entomopatógenos, Parasitoides de ovos.

ABSTRACT

The increasing number of corn production areas and the different amount of working strategies used to grow it have increased the number of pests. The monoculture strategy and the frequent use of insecticides expose this culture to severe attacks of several pests. The most common corn pest is the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (J.E. Smith), it has caused around 20 to 40% of losses of corn culture, because it is not easy to be controlled. Aiming the pest control and use less insecticides, the biological control is considered the most promising and suitable method to be used. Among the biological control agents the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) and *Trichogramma* parasite id eggs are considered the most promising ones. This project aimed to analyze the effects isolated *B. thuringiensis* and *Trichogramma* eggs have on *S. frugiperda* control. Eleven *Trichogramma pretiosum* strains were analyzed, Tp 16 presented the best performance, with 60,66% of parasitism. Isolated 676 and 984 showed to be the most promising in this pest control, the rates of mortality caused by them were over 50%. Two experiments were carried out to test such controlling process, in one of them the selected isolated were mixed with honey and they were used to feed Tp 16. In the second one, cards with the pest eggs were immersed in the isolated Bt and offered to Tp 16. It was observed that where the cards were immersed in Bt there was a positive interaction, resulting in 32,85 parasitized eggs when the isolated 676 were used, 30,35 eggs when the isolated 984 were used and 31,20 for the other. However, when the isolated were offered as food, it was observed that the number of parasitized eggs decreased compared to when they were used to control the pest. The controlling experiment resulted in 55,30 parasitized eggs, the isolated 676 and 984, resulted in 35,15 and 18,70 parasitized eggs, respectively.

Key words: Biological control, Corn, Entomopathogenic, Eggs parasitoids.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 A cultura do milho	15
2.2 <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797) (Lepdoptera: Noctuidae)	16
2.2.1 Danos e controle	17
2.3 O parasitóide de ovos <i>Trichogramma pretiosum</i>	18
2.4 A Bactéria entomopatogenica <i>Bacillus thuringiensis</i>	20
2.5 Interação <i>Bacillus thuringiensis</i> - <i>Trichogramma</i> - insetos-alvo	22
2.6 REFERÊNCIAS BLIOGRÁFICAS	24
CAPÍTULO 1	32
Seleção de linhagens de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).....	33
3.1 INTRODUÇÃO	35
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	36
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
3.4 CONCLUSÃO	41
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
CAPÍTULO 2	50
Suscetibilidade de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a <i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner	51
4.1 INTRODUÇÃO	53
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	54
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.4 CONCLUSÃO	58
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

CAPÍTULO 3	62
Interação entre <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Bacillus thuringiensis</i> para o controle biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	63
5.1 INTRODUÇÃO	65
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	66
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
5.4 CONCLUSÃO	76
5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1. INTRODUÇÃO GERAL

Alternativas de controle têm-se buscado atualmente, dentre as quais a utilização do controle biológico, pois cerca de 15% da safra de alimentos do mundo é perdida por causa do ataque de insetos, cujo controle tem sido feito, predominantemente, com uso de agrotóxicos, que se utilizados de forma incorreta podem ser altamente tóxicos ao ambiente. (SILVA-FILHO & FALCO, 2000). Portanto, é necessário substituir esses produtos por alternativas ecologicamente mais corretas (PRAÇA et al., 2004).

Dentre os agentes de controle biológico, os entomopatógenos, predadores e parasitoides são considerados alternativas viáveis no controle de insetos-pragas. Dentre esses agentes a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* e o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* têm sido amplamente estudados (ATLAS & BARTHA, 1998; PRAÇA et al., 2004, BETZ et al., 2006).

A bactéria *B. thuringiensis* é o ingrediente ativo da maioria dos bioinseticidas empregados mundialmente (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). Essa bactéria produz diferentes proteínas tóxicas, denominadas cristais, altamente específicas para insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Hymenoptera. Essas toxinas não afetam o homem, os animais e as plantas (POLANCZYK & ALVES, 2003, POLANCZYK et al., 2008). O parasitoide de ovos *T. pretiosum* é o mais estudado e mais comercializado em todo mundo para o controle de lepidópteros-praga (PARRA & ZUCCHI, 2004) apresentando altas taxas de parasitismo (PRATISSOLI & PARRA, 2001; QUERINO & ZUCCHI, 2003).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) consiste na interação de técnicas de controle para manter a população de pragas em níveis abaixo dos danos econômicos (WAQUIL et al., 2002). Dessa forma, é comum no MIP a integração de dois ou mais métodos de controle. No caso específico de *B. thuringiensis* e *Trichogramma*, os dois agentes de controle são empregados em conjunto, por exemplo, na cultura do tomate no México, Colômbia e Brasil (TRUMBLE & ALVARADO-RODRIGUEZ, 1993; HAJI et al., 2002).

Este trabalho analisa o potencial de controle de isolados de *B. thuringiensis* e *T. pretiosum* sobre *S. frugiperda*, bem como a interação entre os dois agentes de controle biológico.

1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATLAS, R.M.; BARTHA, R. Microbial ecology: fundamentals and applications. 4 ed. **Redwood: Cummings Science**. 1998, p. 694.

BETZ, F.S, B.G. HAMMOND & R.L. FUCHS. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-protected plants to control insect pests. **Regul Toxicol Pharmacol**. v. 32, p.156-173, 2006.

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

HAJI, F.N.P., L. PREZOTTI, J.S. CARNEIRO & J.A. ALENCAR. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial, p.477-494. In: J.R.P. PARRA, P.S.M. BOTELHO, B.S. CORRÊA-FERREIRA & J.M.S. BENTO (Eds.). **Controle biológico no Brasil – parasitoides e predadores**. Piracicaba, Ed. Manole, 2002, p. 609.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, n. 33, v. 3, p. 271-281, 2004.

POLANCZYK, R.; ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociência**, Montevideu, v.7, p.1-10, 2003.

POLANCZYK, R.; MONNERAT, R. G., BERNARDES, C.O.; FERREIRA, L.S; BESTETE, L.R. A Bacteria Entomopatogenica *Bacillus thuringiensis*. **Estudos Avançados em Produção Vegetal**. v. 1, p. 225-248, 2008.

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**. v.39, n.1, p.11-16, 2004.

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

QUERINO, R.B. & ZUCCHI, R.A. New species of *Trichogramma* Westwood associated whit lepidopterous eggs in Brazil. **Zootaxa**. v.163, p.1-10, 2003.

SILVA-FILHO, M.C.; FALCO, M.C. Interação planta-inseto: adaptação dos insetos aos inibidores de proteinase produzidos pelas plantas. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v.2, p.38-42, 2000.

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

WAQUIL, J.M., VIANA, P.A. & CRUZ, I. . Cultivo de milho: manejo integrado de pragas (MIP). **Embrapa-CNPMS**. 2002, p.16.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do milho

A cultura do milho (*Zea mays* L.) ocupa no Brasil cerca de 15 milhões de hectares com uma produção de aproximadamente 134,3 milhões de toneladas por ano, destacando-se como uma das mais importantes no contexto econômico e social no mundo, sendo que o Brasil ocupa a terceira posição em termo de produção mundial (AGRIANUAL, 2007; COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB, 2009). Esta cultura é nativa da América Central, pertencente à família Poaceae (Gramineae), mas com uma enorme capacidade de adaptação a diversos climas, regiões e hemisférios; podendo ser considerada uma espécie altamente politépica e também como a mais cosmopolita (ESPIRITO-SANTO, 2001; CESCO NETTO; 2002).

A importância social do milho respalda-se, em duas evidências: a primeira, por ser componente básico da alimentação animal; a segunda, por ser produto típico do pequeno produtor rural (MELO FILHO & RICHETTI, 1999). Emprega-se a maior parte do milho produzido como ração animal, sendo aproximadamente dois terços da produção nacional. O milho consiste também em importante fonte de óleo vegetal, glúten e amido (MELO FILHO & RICHETTI, 1999; MATTOSO et al., 2001).

Embora o cultivo do milho apresente alta produtividade, praticamente em todo o mundo, a cultura sofre o ataque de várias espécies de insetos-praga, destacando-se a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). No Brasil as perdas causadas por essa praga variam entre 20 e 40%, atingindo um prejuízo de 400 milhões de dólares por ano (CRUZ & TURPIN, 1982; GALLO et al., 2002).

O milho apresenta alta suscetibilidade ao ataque dessa praga, principalmente em função da conformação da planta (cartucho), que propicia proteção para a lagarta, dificultando o seu controle. A ampla distribuição dessa espécie no Brasil ocorre pelo fato de haver alimentação diversificada e disponível o ano todo (semeadura normal e

safrinha), condições favoráveis de clima e a boa capacidade migratória do inseto (SANTOS, 2002).

Entretanto, sua importância deve-se não somente aos danos provocados, mas especialmente à dificuldade de seu controle. É imprescindível o conhecimento dos parâmetros populacionais da praga, como seu padrão de dispersão na cultura, para buscar alternativas de manejo mais econômicas e sustentáveis (SANTOS, 2002).

2.2. *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

A lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda* foi citada pela primeira vez em 1797, na Geórgia (EUA) e inicialmente foi classificada como *Phalaena frugiperda*, passando por várias denominações até receber o nome científico atual de *Spodoptera frugiperda* (BERTELS, 1970; PEDIGO, 1989). É nativa de zonas tropical e subtropical das Américas, sendo que sua distribuição abrange desde o sul do Canadá até a Argentina (LEIDERMAN & SAUER, 1953). Encontrada em inúmeros hospedeiros, ataca preferencialmente o milho, podendo ocorrer em outras culturas de importância agrícola, como: trigo, arroz, feijão, tomate, batata, abóbora, sorgo, alfafa, algodão, amendoim, espinafre, couve, pastagens e outros (CRUZ et al., 1999).

A mariposa é de coloração cinza-escura e mede cerca de 4 cm de envergadura. Emerge à noite e apresenta acentuado dimorfismo sexual, faz postura nas folhas, em grupos de 50 a 300 ovos, podendo chegar ao número médio de 1300 ovos por fêmea. O período médio de duração das fases de ovo, larva, pupa e adulto é em torno de 3, 25, 11 e 12 dias, respectivamente (GASSEN, 1996; CRUZ, 1995). As lagartas apresentam coloração que varia de parda escura até quase preta, apresentando três finas linhas longitudinais branco-amareladas na parte dorsal do corpo (ÁVILA et al., 1997; CRUZ, 1995; GASSEN, 1994).

Durante a fase larval, o inseto pode apresentar de quatro a sete ínstaes, variando conforme a fonte de alimento (artificial ou natural), temperatura, sexo e genética. A

duração dessa fase é de 12 a 30 dias, quando a lagarta atinge aproximadamente 5 cm de comprimento (PARRA & HADDAD, 1989) .

A partir do segundo estágio de desenvolvimento as lagartas podem apresentar canibalismo. Quando falta alimento, elas migram em grupos, sendo, por isso, conhecidas também como lagartas militares (GASSEN, 1996). Após completarem seu desenvolvimento, as lagartas penetram no solo, onde empupam (VALICENTE & CRUZ, 1991).

2.2.1. Danos e Controle

A *S. frugiperda* ataca a planta desde sua emergência até a formação de espigas (CRUZ, 1995). No início do desenvolvimento, apenas raspam as folhas. Porém, após tornarem-se mais ativas, perfuram as folhas, diminuindo a área fotossintética ativa da planta. A redução no rendimento de milho pode chegar a 40% (CRUZ, 1995). O controle é feito, principalmente, com aplicação de inseticidas que, na maioria dos casos, não soluciona o problema e ainda causa inúmeros impactos negativos ao meio ambiente e ao homem (CORTEZ & TRUJILLO, 1994).

O número de aplicações tem aumentado ao longo dos anos e, em algumas regiões, é comum a utilização de mais de cinco aplicações de inseticidas durante a safra (CRUZ et al., 2002). Dessa forma, a grande preocupação com a praga, atualmente, é o uso de agrotóxicos, que, às vezes, são aplicados em proporções pouco recomendáveis, tanto do ponto de vista econômico quanto ecológico, sem levar em conta os seus inimigos naturais, reduzindo dessa forma o componente biótico do agroecossistema, acarretando também o desenvolvimento de populações resistentes à praga (RIBAS et al., 2008).

Ao se adotar o controle biológico, aproveita-se ao máximo o controle natural já disponível, como parasitóides, predadores e entomopatógenos. Também se espera que em alguns anos, um equilíbrio seja atingido onde um mínimo de intervenção seja necessário em uma determinada lavoura (MOSCARDI, 2003).

2.3. O parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae)

Trichogramma Westwood é um microhimenóptero da família Trichogrammatidae, que se caracteriza pelo tamanho diminuto e por parasitar ovos de inúmeras espécies de pragas de diversas ordens. Porém, a sua utilização no controle de insetos-praga da ordem Lepidoptera merece destaque, impedindo, dessa forma, que a praga atinja a fase larval e, conseqüentemente, cause danos (HAJI, 1996).

A utilização de *Trichogramma* em larga escala só foi possível, quando Flanders (1930), demonstrou a possibilidade de utilização de ovos de *Sitotroga cerealella* (1819) o que tornou possível a utilização desse parasitoide como agente de controle biológico em muitos países (HASSAN, 1994). Posteriormente, métodos similares de produção massal utilizaram ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) como hospedeiro alternativo para multiplicação do parasitoide (PARRA & ZUCCHI, 1997; HAJI et al, 2002) .

No processo de desenvolvimento, os insetos do gênero *Trichogramma* passam pela fase de ovo, larva, pré-pupa e pupa. Na fase de pupa, com o desenvolvimento do parasitoide, o ovo do hospedeiro torna-se escuro, em virtude da esclerotização da cutícula, sendo uma característica marcante de parasitismo por *Trichogramma* (CONSOLI et al., 1999).

O gênero *Trichogramma*, constituído por aproximadamente 200 espécies, é considerado um importante agente de controle biológico, devido a sua ampla distribuição geográfica, em que está associado eficientemente a um grande número de insetos-pragas de cultura de interesse econômico como: soja, milho, algodão, tomate, hortaliças, abacate, etc. (PARRA & ZUCCHI, 2004; PARRA et al., 2002; PRATISSOLI & PARRA, 2000; PRATISSOLI & OLIVEIRA, 1999).

Atualmente esse parasitoide é o mais estudado no mundo, sendo criado em 23 países, dos quais se destacam no controle de pragas a Rússia, o México e a China, onde as liberações inundativas são frequentes (HASSAN, 1997). Na América do Sul,

38 espécies foram registradas, enquanto no Brasil, foram relatadas 28 espécies (ZUCCHI & MONTEIRO, 1997; QUERINO & ZUCCHI, 2003). Contudo, a utilização de *Trichogramma* em larga escala só foi possível, quando Flanders (1930), demonstrou a possibilidade de utilização de ovos de *Sitotroga cerealella* (1819) o que tornou possível a utilização desse parasitóide como agente de controle biológico em muitos países (HASSAN, 1994). Posteriormente, métodos similares de produção massal utilizaram ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) e *Corcyra cephalonica* (Stainton, 1865) como hospedeiro alternativo para multiplicação deste parasitóide (PARRA & ZUCCHI, 1997; HAJI et al., 2002).

No Brasil, a espécie *Trichogramma pretiosum* Riley está associada a diversos hospedeiros e se destaca como parasitóide de maior frequência. É comumente encontrada parasitando ovos de *Heliothis virescens* (Fabricius) (ZUCCHI et al., 1989) e *Alabama argillacea* (Hübner) em algodoeiro (ALMEIDA, 2000), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em milho (BESERRA & PARRA, 2003), *Plutella xylostella* (Linneau) em repolho (PEREIRA et al., 2004) e *Tuta absoluta* (Meyrick) em tomateiro (PRATISSOLI et al., 2005).

O fato de *Trichogramma* ser muito eficiente e fácil de criar em laboratório, permite sua utilização em liberações inundativas. Outra característica que favorece a sua utilização em programas de controle biológico é que várias espécies já foram coletadas em diversos hospedeiros, pertencentes a mais de 70 famílias e 8 ordens de insetos (HAJI et al., 2002; ZUCCHI & MONTEIRO, 1997; PARRA & ZUCCHI, 1997; HASSAN, 1993; PRATISSOLI, 1995).

Contudo, um dos fatores que pode ser responsável pelo sucesso ou fracasso da utilização de parasitoides desse gênero é o conhecimento dos parâmetros biológicos dos mesmos, quando associado a determinado hospedeiro alvo, tais como: capacidade e viabilidade do parasitismo, duração do ciclo de desenvolvimento, razão sexual e longevidade. Essas características podem ser altamente influenciadas por fatores bióticos e abióticos (NOLDUS, 1989, HASSAN, 1997, PRATISSOLI & PARRA, 2001).

Nesse sentido, alguns fatores bióticos devem ser considerados para que parasitoides do gênero *Trichogramma* possam expressar sua potencialidade. Por exemplo, a idade do hospedeiro é fator importante na aceitação do parasitoide, uma vez que com avanços da idade dos ovos o valor nutricional dos mesmos é alterado, o que pode modificar a taxa de parasitismo (MALACARNE, 2009). Como pode ser comprovado em alguns estudos que verificaram o comportamento de *T. pretiosum* em relação à fase embrionária de *P. xylostella*, em que o parasitismo foi reduzido quando fêmeas de 48 horas foram expostas a ovos com dois ou três dias de idade (PRATISSOLI et al., 2007). No entanto, *Trichogramma exiguum* (Hym.: Trichogrammatidae) apresentou melhor porcentagem de parasitismo quando parasitou ovos de *P. xylostella* com três dias de desenvolvimento embrionário (POLANCZYK et al., 2007).

2.4. A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria de ocorrência cosmopolita, sendo encontrada em vários substratos como solo, água, superfície de plantas, restos vegetais, insetos, pequenos mamíferos mortos, teias de aranha, grãos armazenados e locais inabitados (BIZZARI & BISHOP, 2007; KONECKA et al., 2007; SWIECICKA & DE VOS, 2003; GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). É uma bactéria gram-positiva e aeróbica, podendo facultativamente crescer em anaerobiose, na faixa de 10 a 40°C. A atividade entomopatogênica dessa bactéria se deve à presença de inclusões proteicas cristalinas, com ação inseticida, que são sintetizados a partir da fase estacionária e acumulados no compartimento da célula-mãe durante a esporulação, podendo corresponder até 25% do peso seco das células. Esses cristais compostos por proteínas denominadas endotoxinas ou proteínas cristais podem ser visualizados por microscopia de contraste de fase (AGLAISSE & LERECLUS, 1995; GLARE & O'CALLAGHAM, 2000; BRAVO et al., 2007). Uma das grandes vantagens de sua utilização é sua inocuidade ao homem e animais domésticos, além de seu efeito não poluente ao ambiente (ARANGO et al., 2002).

Entre as toxinas produzidas por *B. thuringiensis*, destacam-se as α -exotoxina, β -exotina e δ -endotoxina. Esta última, também denominada proteína Cry, apresenta ação extremamente tóxica para as fases imaturas de insetos de diversas ordens, principalmente Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera, entre outras (MONNERAT & BRAVO, 2000; GUTIÉRREZ & GONÇÁLVES, 2008).

Para que as proteínas Cry sejam efetivas, é necessário primeiramente que as larvas dos insetos suscetíveis ingiram os esporos e cristais de Bt. Após a ingestão dos esporos + cristais pelo inseto alvo, os cristais são solubilizados em pH alcalino, originando as protoxinas, que em presença de enzimas digestivas (proteínases) são convertidas em 4 ou mais polipeptídeos tóxicos (δ -endotoxinas). Essas toxinas hidrolizadas cruzam a membrana peritrófica, ligam-se a receptores específicos localizados na membrana apical das células colunares do intestino médio, interferindo no gradiente iônico e balanço osmótico da membrana apical, formando poros que aumentam a permeabilidade da membrana. O aumento na absorção de água causa lise celular, eventual ruptura e desintegração das células do intestino médio, e então se iniciam os sintomas: perda do apetite e o abandono do alimento, paralisia do intestino, vômito, diarreia, paralisia total e finalmente a morte que pode também ocorrer por inanição, uma vez que pouco tempo após a infecção o inseto cessa a alimentação (HABIB & ANDRADE, 1998; COPPING & MENN, 2000).

Uma determinada cepa de Bt pode produzir um ou mais cristais e estes, por sua vez, podem conter uma ou mais toxinas com peso molecular variado. Por exemplo, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 contém três Cry1 (130 kDa) e duas Cry2 (70 kDa), enquanto que *Bacillus tenebrionis* var. *tenebrionis* produz uma única toxina com peso molecular de 67 KDa. A forma do cristal é determinada pelo número de δ -endotoxinas presentes, e uma relação parcial entre composição da proteína e sua estrutura molecular foi estabelecida por Glare & O'Callaghan (2000) e Lereclus et al. (1993).

Embora os produtos comerciais disponíveis restrinjam-se ao controle de lepidópteros, dípteros e coleópteros, Glare & O'Callaghan (2000) citam que mais de 1.000 espécies de insetos, pertencentes a diversas ordens, são suscetíveis ao *B. thuringiensis*.

2.5. Interação *Bacillus thuringiensis* (Bt) – *Trichogramma* – insetos-alvo

Uma das principais formas de incrementar a ação de agentes de controle biológico de insetos-praga é a interação entre inimigos naturais, contudo, como qualquer tipo de interação, os efeitos podem ser favoráveis ou não (HAFEZ et al., 1995; ALVES 1998; DEQUECH et al., 2005).

Pratissoli et al. (2006) e Polanczyk et al. (2006) estudaram o efeito de isolados de *B. thuringiensis* sobre o parasitoide de ovos *Trichogramma* spp. Ambos os trabalhos mostraram que Bt não afeta o parasitismo de *Trichogramma pratissoli* e *T. pretiosum*. Mas alguns isolados afetaram a emergência da progênie de *T. pratissoli*. Em ambos os estudos, foi utilizado como hospedeiro alternativo *A. kuehniella*. Esses resultados sugerem a necessidade de estudos detalhados sobre a interação Bt e *Trichogramma* spp.

Contudo a interação desses dois agentes de controle, *Bt* – *Trichogramma* é bastante comum em programas de MIP, como na cultura do tomate no México, na Colômbia e no Brasil (TRUMBLE & ALVARADO-RODRIGUEZ, 1993; HAJI et al., 2002). Embora os efeitos prejudiciais dos bioinseticidas à base de Bt sobre os inimigos naturais sejam mínimos e/ou significativamente menores que os dos agrotóxicos, eles não podem ser desprezados e estudos são necessários em regiões nas quais essas táticas são empregadas em conjunto ou tem potencial de uso (POLANCZYK et al., 2006).

Tabela 1. Atividade de *Bacillus thuringiensis* (Bt) para *Anticarsia gemmatalis*, *Helicoverpa zea*, *Heliothis virescens* e *Spodoptera frugiperda* (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000)

Linhagem/Subespécie Bt	Noctuídeo suscetível
<i>Bt aizawai</i> e <i>Bt kurstaki</i>	<i>Anticarsia gemmatalis</i> , <i>Helicoverpa zea</i> , <i>Heliothis virescens</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>
<i>Bt alesti</i> e <i>Bt thuringiensis</i>	<i>H. zea</i> , <i>H. virescens</i> e <i>S. frugiperda</i>
<i>Bt darmstadiensis</i>	<i>H. virescens</i> e <i>S. frugiperda</i>
<i>Bt dendrolimus</i> , <i>Bt galleriae</i> , <i>Bt entomocidus</i> e <i>Bt tenebrionis</i>	<i>H. virescens</i>
<i>Bt kenya</i> , <i>Bt sotto</i> , <i>Bt oyamensis</i> e <i>Bt tolworthi</i>	<i>S. frugiperda</i>

Tabela 2. Atividade de *Bacillus thuringiensis* (Bt) para *Trichogramma* spp. (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000)

Linhagem/Subespécie Bt	<i>Trichogramma</i> spp. suscetível
<i>Bt dendrolimus</i>	<i>Trichogramma</i> sp.
<i>Bt kustaki</i>	<i>T. cacoeciae</i> e <i>T. pretiosum</i>
<i>Bt thuringiensis</i>	<i>Trichogramma</i> sp.
Linhagem/Subespécie Bt	<i>Trichogramma</i> spp. não suscetível
<i>Bt dendrolimus</i>	<i>Trichogramma euproctidius</i> , <i>Trichogramma evanescens</i> e <i>Trichogramma</i> sp.
<i>Bt galleriae</i>	<i>Trichogramma cacoeciae pallida</i> , <i>Trichogramma embryophagum</i> , <i>Trichogramma euproctidius</i> , <i>T. evanescens</i> e <i>Trichogramma pallidum</i>
<i>Bt israelensis</i>	<i>T. evanescens</i>
<i>Bt kurstaki</i>	<i>Trichogramma cacoeciae</i> , <i>Trichogramma carverae</i> , <i>T. embryophagum</i> , <i>T. evanescens</i> , <i>Trichogramma exiguum</i> , <i>Trichogramma japonicum</i> , <i>Trichogramma maidis</i> , <i>Trichogramma nubillale</i> , <i>T. pallidum</i> , <i>Trichogramma platneri</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i>
<i>Bt thuringiensis</i>	<i>T. cacoeciae</i> , <i>T. evanescens</i> e <i>T. pallidum</i>

2.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R. P. Distribution of parasitism by *Trichogramma pretiosum* on the cotton leafworm. **Proc Exp Appl Entomol.** v. 11, p. 27-31, 2000.

AGLAISSE, H.; LERECLUS, D. How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? **Journal Bacteriology.** v. 177, p. 6027-6032, 1995.

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Instituto FNP. Milho. p. 405 – 423, 2007.

ARANGO, J.A., ROMERO, M. & ORDUZ, S. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from Colombiawith insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Applied Microbiology.** v. 92, p. 466-474, 2002.

ALVES, S.B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J.E.M. Desenvolvimento, potencial de uso e comercialização de produtos microbianos. In: **Controle Microbiano de Insetos**, S.B. ALVES (ed.), Piracicaba: **FEALQ**, p.1143-1163, 1998.

ÁVILA, C.J.; DE GRANDE, P.E.; GOMEZ, S.A., Insetos-pragas: Reconhecimento, comportamento, danos e controle. In: **Milho informações técnicas**. EMBRAPA, Circular Técnica, 5, Dourados. [Links] EMBRAPA, Circular Técnica, v. 5, p. 168-180, 1997.

BERTELS, A. Estudos da influência da umidade sobre a dinâmica de populações de lepidópteros, pragas do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v. 5, p. 67-79, 1970.

BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia.** v. 47, p. 205-209, 2003.

BIZZARRI, M.F., BISHOP, A.H. The recovery of *Bacillus thuringiensis* in vegetative form from the phylloplane of clover (*Trifolium hybridum*) during a growing season. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.94, p. 38–47, 2007.

BRAVO, A., GILL, S.S. & SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and potential for insect control. **Toxicon**. v. 49, p. 423-435, 2007.

CESCONETTO, A. O.; FAVERO, S; LAURA, V. A. Produção de minimilho com e sem pendão floral, em diferentes densidades de plantio, em Campo Grande, MS. **Horticultura Brasileira**. v. 20, n. 2, 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 22 de outubro de 2009.

CÔNSOLI, F.L., ROSSI, M.M. & PARRA, J.R.P.. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v.43, p.271-275, 1999.

COPPING, L. G.; MENN, J.J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, v.56, n.5, p.651-676, 2000.

CORTEZ, H. M.; TRUJILLO, J. A. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales en tres agrosistemas de maiz. **Turrialba**. v.44, 1994, p.1-9.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. **Sete Lagoas: Embrapa**. 1995, p. 45.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.17, n.3, p.355- 360, 1982.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; VASCONCELOS, C. A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**. v. 45, n. 4, p. 293-296, 1999.

CRUZ, I.; GONÇALVES, E.P.; FIGUEIREDO, M.L.C. Effect of a nuclear polyhedrosis virus on *Spodoptera frugiperda* (Smith) larvae, its damage and yield of maize crop. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, p.20-27, 2002.

DEQUECH, S.T.B; DA SILVA, R.F.P; FIUSA, L.M. Interação Entre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae), *Campoletis flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Bacillus thuringiensis aizawai*, em Laboratório. **Neotropical Entomology**. v. 34, p.937-944, 2005.

ESPIRITO SANTO, B. R. Os caminhos da agricultura brasileira. **São Paulo: Evoluir**. p. 247 – 254, 2001.

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

GASSEN, D. N. Pragas associadas à cultura do milho. **Passo Fundo, Aldeia Norte**, 1994, p. 92.

GASSEN, D.N. Manejo de pragas associadas à cultura do milho. **Passo Fundo, Aldeia Norte**. 1996, p.134.

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

GUTIÉRREZ, M.E.M.; GONÇALVES, E.F. Selección de cepas de *Bacillus thuringiensis* com efecto nematocida. In: A Bacteria Entomopatogénica *Bacillus thuringiensis*, POLANCZYK, R.; MONNERAT, R. G., BERNARDES, C.O.;

FERREIRA, L.S; BESTETE, L.R. **Estudos Avançados em Produção Vegetal**. v. 1, p. 225-248, 2008.

HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S. Bacterias Entomopatogenicas. In: ALVES, S.B. Controle microbiano de Insetos. 2 Ed. **FEALQ**, p. 383-446, 1998.

HAFEZ, M., SALAMA, H.S., ABOUL-ELA, R., ZAKI, F. N. & RAGAEI, M. Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Apanteles ruficrus* parasitizing the larvae of *Agrotis ypsilon*. **J. Islamic Acad. Sci**. v. 8, p. 33-36, 1995.

HAJI, F.N.P. Controle biológico da traça-do-tomateiro, com uso de *Trichogramma*, na região do submédio São Francisco. In: CURSO DE CONTROLE DE PRAGAS COM TRICHOGRAMMA. Resumos... **Piracicaba: ESALQ**. p. 105-111. 1996.

HAJI, F.N.P., PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial, p.477-494. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO,P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO; J.M.S. (Eds.). **Controle biológico no Brasil – parasitóides e predadores**. Ed. Manole, 2002, p. 609.

HASSAN, S.A. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: Achievements and outlook. **Pesticides Science**. v. 37, p. 387-391, 1993.

HASSAN, S.A. Comparison of three different laboratory and one semi-field test method to asses the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae*. In **Proceedings Taller International production y utilization de *Trichogrammas* para el control biologico de plagas, held on 5-7 December**. Chile. p. 27-38, 1994.

HASSAN, S.A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para uso em programas controle biológico, p.183-205. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi, *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. **FEALQ**, 1997, p. 324.

KONECKA, E.; KAZNOWSKI, A.; ZIEMNICKA, J.; ZIEMNICKI, K. Molecular and phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated during epizootics in *Cydia pomonella*. **Journal Invertebrate Pathology**. v. 94, p.56-63, 2007.

LEIDERMAN, L. SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abbot e Smith, 1797). **O Biológico**. v.19, n.6, p. 105-113, 1953.

LERECLUS, D.; DELECLUSE, A.; LECADET, M. M. Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J.S.; BAILEY, M.; HIGGS, S. (Eds.). *Bacillus thuringiensis* an environmental biopesticide: theory and practice. **Chichester: John Wiley**. p. 37-70. 1993.

MALACARNE, A. M. **Caracterização de parâmetros biológicos e seleção de espécies e/ou linhagens de *Trichogramma* West. (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) visando o manejo fitossanitário de *Trichoplusia ni* (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**. 2009. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009.

MATTOSO, M.J.; LOPES, M. R.; VIEIRA, R. C. M. T.; OLIVEIRA, A. J.; LIMA FILHO, J. R.; SANTOS FILHO, J. I. Cadeia produtiva do milho. In.: EMBRAPA. **Cadeias produtivas no Brasil: Análise da competitividade**. EMBRAPA. p. 319 – 333, 2001

MELO FILHO, G. A.; RICHETTI, A. **Aspectos socioeconômicos da cultura do milho**. In.: EMBRAPA, Milho: informações técnicas. p. 13 – 38, 1999.

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzida pelas bactérias *Bacillus thuringiensis* modo de ação e resistência. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Eds). **Controle Biológico**. Embrapa Meio Ambiente. v. 3, p. 163-200, 2000.

MOSCARDI, F. Uso de Baculovirus e *Bacillus thuringiensis* no controle de lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. In: CORREA-FERREIRA, B. S. (Org.). *Soja orgânica: alternativas para o manejo dos insetos-pragas*. **Embrapa Soja**. 2003, p. 83.

NOLDUS, L.P.J.J. Semiochemicals, foraging behavior and quality of entomophagous

insects for biological control. **Journal of Applied Entomology**, v.108, p.425-451, 1989.

PARRA, J.R.P.; HADDAD, M.L. **Determinação do numero de ínstaes de insetos**. Piracicaba: FEALQ. 1989, p.49.

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

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico: terminologia**. In: Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo: Manole, p.1-16, 2002

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**. n. 33, v. 3, p. 271-281, 2004.

PEDIGO, L.P. **Entomology and pest management**. New York: MacMillan. 1989, 646 p.

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). **Ciencia Rural**. v. 34, p. 1669-1674, 2004.

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

POLANCZYK, R.A., PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A.M.; PEREIRA, C.L.T. & FURTADO I.S.A. Efeito da idade de *Trichogramma exigum* e do desenvolvimento embrionário da Traça-das-crucíferas sobre as características biológicas do parasitóide. **Acta Sci. Biol**. v.29, p. 161-166, 2007.

PRATISSOLI, D. Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, nas traças, *Scrobipalpuloidea absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873), em tomateiro. Ph.D. thesis, **Piracicaba, ESALQ**.Universidade de São Paulo, 1995, p. 135.

PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N. Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34. p. 891-896, 1999.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, p. 1284-1288, 2000.

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

PRATISSOLI, D.; THULER, R. T.; ANDRADE, G. S.; ZANOTTI, L. C. M.; SILVA, A. F. Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. v. 40, p. 715-718, 2005.

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, mar-abr, 2006.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; PEREIRA, C.L.T.; FURTADO, I.S.A. & COCHETO, J.G. Influência da fase embrionária dos ovos da traça-das-crucíferas sobre fêmeas de *Trichogramma pretiosum* com diferentes idades. **Horticultura Brasileira**. v. 25, p. 286-290, 2007.

QUERINO, R.B.; R.A., ZUCCHI. Six new species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from a Brazilian forest reserve. **Zootaxa**. v.134, p.1-11, 2003.

RIBAS, N.L.K. de Sá; RANGEL, M.A.; GABRIEL, M. Utilização de produtos bioinseticidas com *Bacillus thuringiensis* no controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 3, Suplemento especial, 2008.

SANTOS. L. M. dos. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho doce e comum**. 2002. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2002.

SWIECICKA I., DE VOS P. Properties of *Bacillus thuringiensis* isolated from bank voles. **Journal Applied Microbiology**. v. 94, p. 60-64, 2003.

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

VALICENTE, F.H., CRUZ, I. **Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus**. Sete Lagoas: Embrapa (Circular Técnica, 15). 1991, 23 p.

ZUCCHI, O. L. A. D.; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R. A. Desenvolvimento de um modelo determinístico compartimental para simular o controle de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) através de *Trichogramma* spp. **An Soc Entomol**. v. 2, p. 357-365, 1989.

ZUCCHI, R. A.; MONTEIRO, R. C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p. 41-66. In: J. R. P. PARRA & R. A. ZUCCHI. (ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. FEALQ, 1997, p. 324.

3. CAPÍTULO 1

**SELEÇÃO DE LINHAGENS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O CONTROLE DE
Spodoptera frugiperda (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

RESUMO

A lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, é considerada a principal praga do milho no Brasil e o parasitoide de ovos do gênero *Trichogramma* Westwood vem sendo estudado como uma forma de controle dessa praga, no Manejo Fitossanitário de Pragas. Dessa forma, este trabalho foi realizado para avaliar as características biológicas de 11 linhagens de *Trichogramma pretiosum* em ovos *S. frugiperda*, com o objetivo de selecionar a linhagem com maior potencial para ser empregada no manejo dessa praga. Os experimentos foram conduzidos em tubos de vidro de 8,5 x 2,5 cm, com 15 repetições. Para cada fêmea, foram oferecidos 20 ovos do hospedeiro, permitindo um parasitismo por um período de 24h. As fêmeas de *T. pretiosum* foram alimentadas com mel puro. Os parâmetros biológicos avaliados foram: a porcentagem de parasitismo, a viabilidade, a razão sexual e o número de indivíduos/ovo. Ocorreu uma grande variabilidade entre as 11 linhagens estudadas. Considerando as características biológicas desejáveis, ou seja, melhor parasitismo, maior viabilidade, predominância de fêmeas e indivíduo/ovo, a linhagem Tp 16 apresentou maior potencial para controle de *S. frugiperda*.

PALAVRAS-CHAVE. Controle biológico; lagarta-do-cartucho; parasitoide de ovos.

**Selection of the most effective kind of *Trichogramma pretiosum* Riley
(Hymenoptera: Trichogrammatidae) to control the germination of *Spodoptera
frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), is considered the main corn pest in Brazil and the egg parasitoid *Trichogramma*, has been studied in the Integrated Management of Pests as a possible controlling pest. This project aims to analyze the characteristics of 11 kinds of *Trichogramma pretiosum* Riley, in order to select the one which best controls the germination of *S. frugiperda* eggs. The experiments were carried out in 8,5 x 2,5 cm glasses tubes. The females were fed with pure honey. Each female was offered 25 host eggs and it was allowed a 24-hour-period of parasitism. Biological aspects, level of parasitism, the sex ratio and the number of parasites/eggs were measured. Considering the biological characteristics aimed, like better parasitism, higher amount found, female domination and the number of parasites per egg, Tp 16 is the one which shows higher potential to control *S. frugiperda*.

KEY WORDS: Biological control; fall armyworm; egg parasitoids.

3.1 INTRODUÇÃO

O cultivo do milho (*Zea mays* L.) ocorre praticamente em todo o mundo, atingindo aproximadamente 777 milhões de toneladas (EMBRAPA MILHO E SORGO, 2007). Dentre os fatores que afetam a produção, destacam-se os insetos-praga, especialmente a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Essa praga ocorre durante todos os estádios de desenvolvimento da cultura, ataca o cartucho e as folhas, podendo destruí-los completamente. Esta praga causa perdas entre 20 e 40% na produtividade, sendo de difícil controle em função da sua grande gama de hospedeiros e capacidade de dispersão durante o período de cultivo (SILVA-WERNECK et al., 2000). As perdas causadas por esta lagarta no Brasil podem causar um prejuízo de até 400 milhões de dólares por ano (CRUZ & TURPIN, 1982; GALLO et al., 2002).

Para contornar tais problemas, o controle dessa praga tem sido realizado através de pulverizações com agrotóxicos. No entanto, má utilização destes produtos pode acarretar prejuízo à entomofauna benéfica, além de favorecer o surgimento de novas pragas ou ressurgência de outras. Uma alternativa é a adoção do controle biológico, ao se adotar este método de controle, aproveita-se ao máximo o controle natural já disponível, através da atuação dos parasitóides, predadores e entomopatógenos (CORRÊA-FERREIRA, 2003).

Dentre os agentes utilizados no controle biológico da lagarta-do-cartucho, os parasitoides do gênero *Trichogramma* Westwood, apresentam grande importância, pois parasitam os ovos dessa praga e são facilmente multiplicados em laboratório (CRUZ et al., 1999). A taxa de parasitismo natural de *T. pretiosum* e ovos da lagarta-do-cartucho pode variar de 0,06 a 98%, sendo esses valores influenciados por características de postura como camadas de ovos e presença de escamas (SÁ, 1991).

Contudo, 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 dos parâmetros biológicos dos mesmos, quando

associados a determinado hospedeiro alvo, tais como: capacidade e viabilidade do parasitismo, duração do ciclo de desenvolvimento, razão sexual e longevidade. Essas características podem ser altamente influenciadas por fatores bióticos e abióticos (NOLDUS, 1989).

Dessa forma, este trabalho desenvolve estudos biológicos com diferentes linhagens de *T. pretiosum*, visando selecionar aquela com melhores características biológicas, para utilização em programas de manejo integrado de *S. frugiperda*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias.

Criação de *S. frugiperda* - A criação foi estabelecida em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) contendo dieta artificial (BURTON & PERKINS, 1972), à 25°C, 70% UR e 14h de fotofase. Inicialmente, lagartas de 1º instar foram individualizadas nos tubos até a fase de pupa. Posteriormente, foram retiradas e acondicionadas em gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm de diâmetro x 20 cm de altura) nas condições descritas anteriormente até a emergência dos adultos. As gaiolas foram fechadas na parte superior com tecido tipo “tule” e forradas internamente com papel, que serviu de substrato para a oviposição. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%. As posturas foram retiradas diariamente para serem utilizadas nos experimentos e para manutenção da criação.

Criação de *Anagasta kuehniella* - O hospedeiro alternativo (*A. kuehniella*) foi criado em dieta à base de farinha de trigo integral (60%), milho (37%) e levedura de cerveja (3%). Essa criação foi realizada em caixas plásticas (30x25x10cm) com fitas de papelão corrugado (25x2cm) no seu interior e a dieta, previamente homogeneizada, foi distribuída sobre as fitas e os ovos de *A. kuehniella* colocados aleatoriamente na dieta. Os adultos foram coletados, diariamente, com aspirador de

pó adaptado e transferidos para tubos de PVC (150 mm de diâmetro por 25 cm de altura) com tiras de tela de náilon, dobradas em zig-zag no seu interior para oviposição.

Criação de *Trichogramma pretiosum* - As linhagens utilizadas no experimento foram coletadas em diferentes regiões (Tabela 1). Para criação, foram utilizados recipientes de vidro (14 x 7 cm), em cujas paredes internas foram colocadas gotículas de mel para a alimentação dos adultos. Esses frascos foram fechados com plástico filme de PVC, a fim de evitar a fuga dos parasitoides, e perfurados com alfinete entomológico número 0 para a aeração dos frascos. Para a manutenção dos parasitoides, foram oferecidos ovos do hospedeiro alternativo, *A. kuehniella*, colados em retângulos de cartolina azul celeste (2,5 cm x 10 cm), com goma arábica e inviabilizados pela exposição à lâmpada germicida, por um período de 45 minutos (PARRA et al., 1989).

Seleção de *T. pretiosum* – Foram utilizadas 11 linhagens de *T. pretiosum* sobre ovos de *S. frugiperda*, em câmara climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 14h. Foram individualizadas 15 fêmeas recém-emergidas de cada linhagem em tubos de vidro de 8,5 x 2,5 cm. Estes tubos foram fechados com filme plástico de PVC para evitar a fuga dos parasitoides. Para alimentação das fêmeas de *T. pretiosum*, foram oferecidas, gotículas de mel puro, na parede interna dos tubos. Para cada fêmea, foram oferecidos 25 ovos do hospedeiro, com no máximo 24h. O parasitismo foi permitido por um período de 24h.

Foram avaliados a porcentagem de parasitismo e emergência (viabilidade), a razão sexual e o número de indivíduos/ovo. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, constando de 11 tratamentos (linhagens) com 15 repetições, sendo os resultados submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas através do teste de Scott Knot, 5% de probabilidade. Os dados foram transformados através de $\sqrt{(x/100)}$ para porcentagem de parasitismo e porcentagem de emergência e $\sqrt{(x + 0,5)}$ para razão sexual e número de indivíduos/ovo.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de parasitismo das 11 linhagens de *T. pretiosum* quando criadas em ovos de *S. frugiperda*, variou de 9,66 a 60,66% (Tabela 2). Os maiores valores foram observados para as linhagens 16 e 13, que apresentaram 60,66 e 53,33% de parasitismo, respectivamente (Tabela 2), sendo que essas diferiram significativamente das demais. Valores de até 82% de parasitismo já foram encontrados para *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* (BESERRA et al., 2003). No entanto, o período de parasitismo foi de 48 horas, o que favoreceu para que o índice de parasitismo fosse maior. As variações nas taxas de parasitismo podem ser influenciadas por vários fatores, dentre os quais estão: hospedeiro, habitat, condições climáticas e espécie e/ou linhagem do parasitóide (MOLINA & PARRA, 2006; ZAGO et al., 2007; PRATISSOLI et al., 2008). Cada espécie de parasitóide pode apresentar características distintas quanto à capacidade de dispersão e ao parasitismo do hospedeiro (ZACHRISSON & PARRA, 1998; PINTO et al., 2003).

A porcentagem de emergência (viabilidade) das linhagens de *T. pretiosum* criadas em ovos de *S. frugiperda* variou de 53,06 a 97,80% (Tabela 2), sendo que apenas as linhagens 1, 9, 11, 12 e 16 apresentaram valores satisfatórios, visto que, valores acima de 85% de emergência são considerados como padrão de qualidade para a criação desses inimigos naturais (ALMEIDA et al., 1998). Essa variação na porcentagem de emergência para linhagens de *T. pretiosum* foi relatada por outros pesquisadores em diferentes hospedeiros, encontrando na literatura valores de emergência de 35,7 a 100% (PRATISSOLI & PARRA, 2001; BESERRA & PARRA, 2004; PRATISSOLI et al., 2004; MOLINA & PARRA, 2006; ANDRADE et al., 2009). Alguns fatores podem estar relacionados com esta variação na emergência de *Trichogramma*, tais como, a agressividade da espécie e/ou linhagem e a qualidade nutricional e densidade de ovos do hospedeiro (PRATISSOLI et al., 2005).

Com relação à razão sexual, as linhagens 1, 12 e 13 de *T. pretiosum* criadas em ovos de *S. frugiperda* apresentaram valores inferiores a 0,90, diferindo das demais linhagens que apresentaram razão sexual com valores iguais ou próximos a 1,0 (Tabela 2). A ausência de machos verificada para essas linhagens de *T. pretiosum*

que apresentaram valores iguais ou próximos a 1, pode ser um fenômeno atribuído à presença de microorganismos como *Wolbachia* que inibem o desenvolvimento de machos (STOUTHAMER et al., 1993). Essa ausência de machos também pode ocorrer, devido à criação por várias gerações em laboratório desses parasitoides, que podem adquirir estabilidade genética, gerando apenas fêmeas (PEREIRA et al., 2004). Os valores de razão sexual foram semelhantes aos obtidos por outros autores para *T. pretiosum* criados em ovos de diferentes hospedeiros (PRATISSOLI & PARRA, 2001; MOLINA & PARRA, 2006; ANDRADE et al., 2009; BUENO et al., 2009).

Analisando a razão sexual em relação ao controle de pragas, observa-se que as linhagens que obtiverem valores diferentes de 1 são as mais adequadas, pois taxa igual a 1 significa ausência de machos na população. Porém, a presença de macho em uma população é desejada para que haja reprodução sexuada, gerando variabilidade genética e melhores condições de manutenção da população em campo (MALACARNE, 2009). Entretanto, razão sexual abaixo de 0,5 não é aceita uma vez que a maior concentração de macho interfere negativamente no controle de praga (NAVARRO, 1998). Porém, no caso de liberações inundativas, é recomendável o maior número de fêmeas do que de machos, pois para o controle é preciso que as fêmeas parasitem o maior número de ovos possível.

O número de indivíduos por ovo das 11 linhagens de *T. pretiosum* variou de 1,0 a 2,0 (Tabela 2). O menor número de indivíduos por ovo do hospedeiro pode ser vantajoso para o desenvolvimento de *Trichogramma*, já que mais nutrientes estarão disponíveis para a sua assimilação e desenvolvimento, gerando, com isso, indivíduos maiores e mais competitivos. Por outro lado, o aumento no número de adultos por hospedeiro, além de poder diminuir a qualidade do indivíduo gerado, poderá refletir na eficiência de controle, já que poderá resultar numa menor quantidade de ovos parasitados (BESERRA et al., 2003).

Para *S. frugiperda*, o número de indivíduos por ovo variou de 1,1 a 1,5 indivíduos por ovo (BESERRA et al., 2003), em *Gymnandrosoma aurantianum* Lima (Lepidoptera, Tortricidae) foi de 1,3 a 1,8 indivíduos por ovo (MOLINA & PARRA, 2006) e em ovos de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) foi de

1,0 a 1,2 (BUENO et al., 2009). O número de parasitoides por ovo pode variar em função da linhagem e/ou espécie do parasitoide e do volume e qualidade do ovo do hospedeiro em questão (BESERRA et al., 2003; MOLINA & PARRA, 2006; ANDRADE et al., 2009; BUENO et al., 2009).

Com os resultados obtidos, observa-se que as 11 linhagens de *T. pretiosum* apresentaram grande variabilidade em seu comportamento e isso pode estar diretamente relacionado ao habitat de origem, à aceitação do hospedeiro, à cultura e às condições climáticas (PRATISSOLI & OLIVEIRA, 1999, FARIA et al., 2000).

Tabela 1: Linhagens de *T. pretiosum* utilizadas na presente pesquisa, com os respectivos locais de coleta, hospedeiros naturais e culturas.

Linhagem	Local de Coleta	Hospedeiros	Culturas
Tp 16	Farroupilha - RS	<i>Helicoverpa zea</i>	Tomate
Tp 13	Paraopeba	-	
Tp 12	Teófilo Otoni – MG	-	Tomate
Tp 1	EAFA – Rive – Alegre – ES	<i>Helicoverpa zea</i>	Tomate
Tp 10	Cristalina – GO	<i>Tricoplusia ni</i>	Couve
Tp 9	Cristalina – GO	-	Tomate
Tp 15	Fazenda São José Jaciará – MT	-	
Tp 11	Cristalina – GO	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	Soja
Tp 14	Sítio N. S. Aparecida – Pedra Preta -MT	-	
Tp 17	Rio Verde – GO	-	
Tp 8	Afonso Cláudio – ES	<i>Helicoverpa Zea</i>	Tomate

Tabela 2 - Taxa de parasitismo, viabilidade, razão sexual e indivíduos/ovo de onze linhagens de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*. Temperatura de 25+1°C, UR: 70+10% e fotofase de 14h.

Linhagens	Parasitismo ¹ (%)	Viabilidade ¹ (%)	Razão Sexual ²	Indivíduo/Ovo ²
Tp 16	60,66 ± 3,90 A	87,73 ± 4,33 A	0,92 ± 0,01 A	1,34 ± 0,15 A
Tp13	53,33 ± 4,82 A	69,73 ± 7,11 B	0,80 ± 0,05 B	1,13 ± 0,05 B
Tp 12	47,66 ± 4,44 B	81,66 ± 5,44 A	0,75 ± 0,06 C	2,00 ± 0,68 A
Tp 1	45,66 ± 5,80 B	84,53 ± 3,55 A	0,85 ± 0,03 B	1,40 ± 0,09 A
Tp 10	38,33 ± 5,24 B	53,06 ± 5,32 B	1,00 ± 0,00 A	1,00 ± 0,00 B
Tp 9	26,33 ± 4,45 C	81,33 ± 6,18 A	1,00 ± 0,00 A	1,00 ± 0,01 B
Tp 15	25,66 ± 3,48 C	63,28 ± 6,70 B	1,00 ± 0,00 A	1,00 ± 0,00 B
Tp 11	25,66 ± 4,60 C	97,80 ± 2,22 A	0,92 ± 0,02 A	1,06 ± 0,05 B
Tp 14	25,33 ± 2,78 C	71,00 ± 7,20 B	1,00 ± 0,00 A	1,06 ± 0,13 B
Tp 17	18,66 ± 2,86 C	63,66 ± 6,68 B	1,00 ± 0,00 A	1,13 ± 0,07 B
Tp 8	9,66 ± 1,33 D	72,73 ± 8,15 B	1,00 ± 0,00 A	1,00 ± 0,00 B

Médias (± EP) seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott Knot, a 5% de probabilidade.

¹Dados transformados em arc sen de $\sqrt{(x/100)}$

²Dados transformados em $\sqrt{(x+0,5)}$

3.4 CONCLUSÃO

A linhagem Tp16 foi a mais promissora para o controle de *S. frugiperda*.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R. P. Distribution of parasitism by *Trichogramma pretiosum* on the cotton leafworm. **Proc Exp Appl Entomol.** v. 11, p. 27-31, 2000.

AGLAISSE, H.; D. LERECLUS. How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? **Journal Bacteriology.** v. 177, p. 6027-6032, 1995.

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Instituto FNP. Milho. p. 405 – 423, 2007.

ARANGO, J.A.; ROMERO, M.; ORDUZ, S. Diversity of *Bacillus thuringiensis* strains from Colombiawith insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Applied Microbiology.** v. 92, p. 466-474, 2002.

ALVES, S.B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J.E.M. Desenvolvimento, potencial de uso e comercialização de produtos microbianos. In: S.B. ALVES (ed.). **Controle Microbiano de Insetos, Piracicaba: FEALQ**, p.1143-1163, 1998.

ÁVILA, C.J.; DE GRANDE, P.E.; GOMEZ, S.A., Insetos-pragas: Reconhecimento, comportamento, danos e controle. In: **Milho informações técnicas**. EMBRAPA, Circular Técnica, 5, Dourados. [Links] EMBRAPA, Circular Técnica, v. 5,168-180. In: Milho: informações técnicas. p. 168-180, 1997.

BERTELS, A. Estudos da influência da umidade sobre a dinâmica de populações de lepidópteros, pragas do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v. 5, p. 67-79, 1970.

BESERRA, E. B.; PARRA, J. R. P. Comportamento de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia.** v. 47, p. 205-209, 2003.

BIZZARRI, M.F.; BISHOP, A.H. The recovery of *Bacillus thuringiensis* in vegetative form from the phylloplane of clover (*Trifolium hybridum*) during a growing season. **Journal of Invertebrate Pathology**. v.94, p. 38–47, 2007.

BRAVO, A.; GILL, S.S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and potential for insect control. **Toxicon**. v. 49, p. 423-435, 2007.

CESCONETTO, A. O.; FAVERO, S.; LAURA, V. A. Produção de minimilho com e sem pendão floral, em diferentes densidades de plantio, em Campo Grande, MS. **Horticultura Brasileira**. v. 20, n. 2, 2002.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 22 de outubro de 2009.

CÔNSOLI, F.L.; ROSSI, M.M.; PARRA, J.R.P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v.43, p.271-275, 1999.

COPPING, L. G.; MENN, J.J. Review biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, v.56, n.5, p.651-676, 2000.

CORTEZ, H. M.; TRUJILLO, J. A. Incidencia del gusano cogollero y sus enemigos naturales en tres agrosistemas de maiz. **Turrialba**. v.44, p.1-9.,1994.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa. 1995, 45 p.

CRUZ, I.; TURPIN, F. T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.17, n.3, p.355- 360, 1982.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; VASCONCELOS, C. A. Damage of *Spodoptera frugiperda* (Smith) in different maize genotypes cultivated in soil under three levels of aluminium saturation. **International Journal of Pest Management**. v. 45, n. 4, p. 293-296, 1999.

CRUZ, I.; GONÇALVES, E.P.; FIGUEIREDO, M.L.C. Effect of a nuclear polyhedrosis virus on *Spodoptera frugiperda* (Smith) larvae, its damage and yield of maize crop. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, p.20-27, 2002.

DEQUECH, S.T.B.; DA SILVA, R.F.P.; FIUSA, L.M. Interação Entre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae), *Campoletis flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Bacillus thuringiensis aizawai*, em Laboratório. **Neotropical Entomology**. v. 34, p.937-944, 2005.

ESPIRITO SANTO, B. R. **Os caminhos da agricultura brasileira**. São Paulo: Evoluir. p. 247 – 254, 2001.

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

GASSEN, D. N. **Pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo, Aldeia Norte. 1994, 92 p.

GASSEN, D.N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo, Aldeia Norte. 1996, 134 p.

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

GUTIÉRREZ, M.E.M.; GONÇALVES, E.F. Selección de cepas de *Bacillus thuringiensis* com efecto nematicida. In: A Bacteria Entomopatogenica *Bacillus thuringiensis*, POLANCZYK, R.; MONNERAT, R. G., BERNARDES, C.O.;

FERREIRA, L.S; BESTETE, L.R. **Estudos Avançados em Produção Vegetal**. v. 1, p. 225-248, 2008.

HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S. Bacterias Entomopatogenicas. In: ALVES, S.B. **Controle microbiano de Insetos**. 2 Ed. FEALQ, p. 383-446, 1998.

HAFEZ, M.; SALAMA, H.S.; ABOUL-ELA, R.; ZAKI, F. N.; RAGAEI, M. Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Apanteles ruficrus* parasitizing the larvae of *Agrotis ypsilon*. **J. Islamic Acad. Sci**. v. 8, p. 33-36, 1995.

HAJI, F.N.P. Controle biológico da traça-do-tomateiro, com uso de *Trichogramma*, na região do submédio São Francisco. In: CURSO DE CONTROLE DE PRAGAS COM TRICHOGRAMMA. **Resumos...** Piracicaba: ESALQ. p. 105-111. 1996.

HAJI, F.N.P.; PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial, p.477-494. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO,P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO; J.M.S. (Eds.). Controle biológico no Brasil – parasitoides e predadores. **Ed. Manole**. 2002. 609 p.

HASSAN, S.A. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: Achievements and outlook. **Pesticides Science**. v. 37, p. 387-391, 1993.

HASSAN, S.A. Comparison of three different laboratory and one semi-field test method to asses the side effects of pesticides on *Trichogramma cacoeciae*. In **Proceedings Taller International production y utilization de Trichogrammas para el control biologico de plagas, held on 5-7 December**. Chile. p. 27-38, 1994.

HASSAN, S.A. Seleção de espécies de *Trichogramma* para uso em programas controle biológico, p.183-205. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi, **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. FEALQ. 1997, 324 p.

KONECKA, E.; KAZNOWSKI, A.; ZIEMNICKA, J.; ZIEMNICKI, K. Molecular and phenotypic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated during epizootics in *Cydia pomonella*. *Journal Invertebrate Pathology*. v. 94, p.56-63, 2007.

LEIDERMAN, L.; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais *Laphygma frugiperda* (Abbot e Smith, 1797). **O Biológico**. v.19, n.6, p. 105-113, 1953.

LERECLUS, D.; DELECLUSE, A.; LECADET, M.M. Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In: ENTWISTLE, P. F.; CORY, J.S.; BAILEY, M.; HIGGS, S. (Eds.). *Bacillus thuringiensis* an environmental biopesticide: theory and practice. **Chichester: John Wiley**. p. 37-70, 1993.

MATTOSO, M.J.; LOPES, M. R.; VIEIRA, R. C. M. T.; OLIVEIRA, A. J.; LIMA FILHO, J. R.; SANTOS FILHO, J. I. Cadeia produtiva do milho. In.: EMBRAPA. Cadeias produtivas no Brasil: Análise da competitividade. **EMBRAPA**. p. 319 – 333, 2001.

MELO FILHO, G. A.; RICHETTI, A. Aspectos socioeconômicos da cultura do milho. In.: **EMBRAPA, Milho: informações técnicas**. p. 13-38, 1999.

MONNERAT, R. G.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzida pelas bactérias *Bacillus thuringiensis* modo de ação e resistência. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Eds). **Controle Biológico. Embrapa Meio Ambiente**. v. 3, p. 163-200, 2000.

MOSCARDI, F. Uso de Baculovirus e *Bacillus thuringiensis* no controle de lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis*. In: CORREA-FERREIRA, B. S. (Org.). Soja orgânica: alternativas para o manejo dos insetos-pragas. **Embrapa Soja**. 2003, 83 p.

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

PARRA, J.R.P.; HADDAD, M.L. Determinação do numero de ínstaes de insetos. **Piracicaba: FEALQ**. 1989, 49 p.

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

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, p.1-16, 2002

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**. n. 33, v. 3, p. 271-281, 2004.

PEDIGO, L.P. Entomology and pest management. New York: **MacMillan**. 1989, 646p.

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**. v. 34, p. 1669-1674, 2004.

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

POLANCZYK, R.A., PRATISSOLI, D.; HOLTZ, A.M.; PEREIRA, C.L.T. & FURTADO I.S.A. Efeito da idade de *Trichogramma exigum* e do desenvolvimento embrionário da Traça-das-crucíferas sobre as características biológicas do parasitoide. **Acta Sci. Biol**. v.29, p. 161-166, 2007.

PRATISSOLI, D. Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, nas traças, *Scrobipalpaloides absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873), em tomateiro. Ph.D. thesis, **Piracicaba, ESALQ**.Universidade de São Paulo, 1995, 135 p.

PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N. Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* no parasitismo de *Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 34. p. 891-896, 1999.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, p. 1284-1288, 2000.

PRATISSOLI, D.; THULER, R. T.; ANDRADE, G. S.; ZANOTTI, L. C. M.; SILVA, A. F. Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para o controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 40, p. 715-718, 2005.

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, mar-abr, 2006.

PRATISSOLI, D.; POLANCZYK, R.A.; PEREIRA, C.L.T.; FURTADO, I.S.A. & COCHETO, J.G. Influência da fase embrionária dos ovos da traça-das-crucíferas sobre fêmeas de *Trichogramma pretiosum* com diferentes idades. **Horticultura Brasileira**. v. 25, p. 286-290, 2007.

QUERINO, R.B.; ZUCCHI, R.A. Six new species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from a Brazilian forest reserve. **Zootaxa**. v.134, p.1-11, 2003.

RIBAS, N.L.K. de Sá; RANGEL, M.A.; GABRIEL, M. Utilização de produtos bioinseticidas com *Bacillus thuringiensis* no controle da lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*). **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 3, Suplemento especial, 2008.

SANTOS, L. M. dos. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho doce e comum.** 2002. 65 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2002.

SWIECICKA, I.; DE VOS, P. Properties of *Bacillus thuringiensis* isolated from bank voles. **Journal Applied Microbiology.** v. 94, p. 60-64, 2003.

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

VALICENTE, F.H.; CRUZ, I. Controle biológico da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovírus. **Sete Lagoas: Embrapa** (Circular Técnica, 15). 1991, 23 p.

ZUCCHI, O. L. A. D.; PARRA, J. R. P.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R. A. Desenvolvimento de um modelo determinístico compartimental para simular o controle de *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) através de *Trichogramma* spp. **An Soc Entomol.** v. 2, p. 357-365, 1989.

ZUCCHI, R. A. & R. C. MONTEIRO. O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p. 41-66. *In:* J. R. P. PARRA & R. A. ZUCCHI. (ed.). ***Trichogramma e o controle biológico aplicado.*** FEALQ. 1997, 324 p.

4. CAPÍTULO 2

**SUSCETIBILIDADE DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) A *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE)**

Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae)

RESUMO

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) é uma das pragas mais importantes da cultura do milho. Visando reduzir a utilização de inseticidas, têm-se buscado alternativas de controle para esta praga, dentre as quais se destaca a utilização de *Bacillus thuringiensis*. Contudo, o isolamento, a identificação e a seleção de isolados, são etapas importantes e essenciais para inserir este patógeno no contexto do manejo fitossanitário. Desse modo, este estudo avalia o efeito de *B. thuringiensis* sobre lagartas de *S. frugiperda*. Foram utilizados 50 isolados de *B. thuringiensis* e o Dipel, para verificar aqueles mais patogênicos a *S. frugiperda* a uma concentração de 3×10^8 esporos/mL⁻¹. Para os bioensaios, uma alíquota de 300 µL de suspensão foi aplicada na superfície da dieta artificial. Foram distribuídas 5 lagartas de segundo instar em 10 repetições de cada isolado e para a testemunha utilizou-se água destilada estéril sobre a dieta. O isolados 676 e 984 se destacaram dentre os demais causando uma mortalidade acima de 50%, sendo considerados os mais virulentos e mais promissores para o controle dessa praga.

Palavras-chave: Controle biológico, Controle microbiano, entomopatógenos, lagarta-do-cartucho.

**Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to
Bacillus thuringiensis Berliner (Bacillaceae)**

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda (JE Smith) is one of the main corn pests . In order to reduce the use of insecticides to control it, alternatives have been sought. Among the ones achieved, the use of *Bacillus thuringiensis* stood out . *B. thuringiensis* is an important pathogen that can be used to reduce the use of pesticides. Isolation, identification and selection of individual pests are important and essential steps to introduce this pathogen in the IPM context. Due to that, the purpose of this study was to analyze the effects caused by *B. thuringiensis* on *S. frugiperda*. A group of fifty isolated *B. thuringiensis* and Dipel were tested to check which one was more pathogenic to a 3×10^8 spores/mL⁻¹ concentration of *S. frugiperda*. The isolated 676 and 984 stood out among the others resulting on a rate of mortality 50% higher. So, they were considered the most effective in controlling this pest.

Keywords: Biological control, microbial control, entomopathogenic, fall armyworm

4.1. Introdução

O número de isolados de *B. thuringiensis* com alta atividade inseticida vem crescendo, porém os produtos comerciais de bioinseticidas atualmente usados no controle de pragas de lepidópteros são constituídos por poucos isolados, podendo aumentar rapidamente a frequência de indivíduos resistentes em populações de pragas a estes bioinseticidas (SWIECICKA et al., 2008).

A maioria dos bioinseticidas à base de *B. thuringiensis*, utilizados para o controle de pragas, é constituída, na mistura, por esporos e cristais, produzidos pela estirpe HD-1 de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*, pelo amplo espectro de ação larvicida para lepidópteros (NAVON, 1993). Entretanto, é reduzido o número de toxinas de Bt que possuem atividade tóxica para *Spodoptera* spp. (NAVON, 1993, LAMBERT et al., 1996).

Entretanto, nove subespécies de *B. thuringiensis* (*aizawai*, *alesti*, *colmeri*, *darmstadiensis*, *kenyae*, *kurstaki*, *sotto*, *thuringiensis*, *tolworthi*) foram relatadas por Glare & O' Callaghan (2000) como patogênicas para *S. frugiperda*. No Brasil, as pesquisas, inicialmente, determinaram que este entomopatógeno é pouco eficiente no controle da referida praga (GARCIA et al., 1982; LIMA & ZANUNCIO, 1976).

Porém, devido à necessidade de métodos de controle menos agressivos ao meio ambiente, de produtos com menores níveis de resíduos e a pouca eficiência dos agroquímicos utilizados, as pesquisas se voltaram para a busca de novos isolados desse patógeno para seu emprego no controle dessa praga, com as premissas do Manejo Fitossanitário de Pragas (POLANCZYK, 2004).

Na fase de produção de bioinseticidas, a seleção de isolados virulentos é a mais importante. Para isso são realizados bioensaios de patogenicidade com objetivo de verificar se o patógeno tem efeito sobre o inseto-alvo, para determinar as curvas de mortalidade e virulência, visando selecionar os isolados mais promissores (POLANCZYK, 2004).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho, foi selecionar isolados com potencial de controle para a *S. frugiperda*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia, NUDEMAFI CCA-UFES, em Alegre, ES.

Criação de *Spodoptera frugiperda* - A criação foi estabelecida em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) contendo dieta artificial (BURTON & PERKINS, 1972), a temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h. Inicialmente, lagartas de 2º instar foram individualizadas nos tubos até a fase de pupa. Até a emergência dos adultos, as pupas foram retiradas e acondicionadas em gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm de diâmetro x 20 cm de altura) nas condições descritas anteriormente. As gaiolas foram fechadas na parte superior com tecido tipo “tule” e forradas internamente com papel, que serviu de substrato para a oviposição. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%. As posturas foram retiradas diariamente para serem utilizadas nos experimentos e para manutenção da criação.

Obtenção e Multiplicação dos Isolados de *Bacillus thuringiensis* (Bt) - Foram utilizados 50 isolados de Bt, selecionados aleatoriamente entre os 200 do Banco de Entomopatógenos do laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo e Bt *kurstaki* (Dipel). Os isolados de Bt foram multiplicados em meio de cultura BHI (Infusão de Cérebro e Coração) a 28°C , 250 rpm e 72 horas para o crescimento das colônias. Após esse processo, as colônias foram transferidas para tubos Falcon com 20mL de água destilada e esterilizada e centrifugados por 20 minutos por três vezes (5.000 rpm) para retirada do meio de cultura e toxinas indesejáveis. Após a última centrifugação, o material de cada isolado foi ressuspenso em água destilada estéril e a concentração foi ajustada para 3×10^8 esporos/mL com auxílio de câmara de Neubauer® e microscópio óptico. A concentração de Dipel® PM (Btk) foi ajustada para 3×10^8 esporos/mL de acordo especificação do fabricante.

Para os bioensaios, uma alíquota de 300 µL de suspensão de Bt na concentração de 3×10^8 esporos/mL⁻¹ foi aplicada na superfície da dieta artificial previamente distribuída em pote de plástico, devidamente selecionados para o experimento. Após a evaporação do excesso de umidade, 5 lagartas de segundo ínstar foram distribuídas em 10 repetições de cada isolado, totalizando 50 lagartas por tratamento. Para a testemunha foi realizado o mesmo procedimento, porém utilizando água destilada estéril (ADE).

Foi utilizada câmara incubadora tipo *Biological Oxygen Demand* (B.O.D.), para acondicionamento do material, à 25° C, 70% de UR e 14 horas de fotofase. Os tratamentos foram avaliados diariamente até o 7º dia após a inoculação. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knot, a 5% de probabilidade, utilizando o programa SAEG (versão 5.0).

O critério de mortalidade usado para as lagartas foi o de imobilidade ou escurecimento ou, ainda, aquelas que não conseguissem se locomover por uma distância igual a do seu corpo.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se um baixo percentual de mortalidade entre os 50 isolados testados, apenas os isolados 676 e 984 causaram mortalidade acima de 50%, e os isolados 852F e 1024A superior a 30%, embora o 633 com 27% de mortalidade não tenha diferido estatisticamente. Os demais isolados apresentaram mortalidade abaixo de 25%, inclusive o produto comercial Dipel com 11% de mortalidade (Tabela 1).

Segundo Aranda et al. (1996), as espécies do gênero *Spodoptera* tem reduzida suscetibilidade à maioria das delta-endotoxinas produzidas por *B. thuringiensis*. De acordo com Navon (1993), as espécies desse gênero não são sensíveis às linhagens comerciais de *B. thuringiensis kurstaki*. No entanto, os isolados de *B.*

thuringiensis aizawai são considerados particularmente ativos contra lagartas de *Spodoptera* spp. (BEEGLE & YAMAMOTO, 1992). Apesar das dificuldades para o controle da *S. frugiperda* em milho, alguns trabalhos têm referido isolados de *B. thuringiensis* com maior eficiência, como, por exemplo, Silva-Werneck et al. (2000) estudaram o efeito de 205 isolados de Bt sobre esse lepidóptero e apenas um causou mortalidade de 100%; Loguercio et al. (2001) testaram 3.408 isolados nativos e somente 3,3% causaram mortalidade acima de 75%, sendo que 52% do material testado mostrou-se pouco ativo (0 a 10%); Fatoretto (2002) avaliou a eficiência de 115 isolados de Bt, de várias regiões do Brasil, contra *S. frugiperda*, obtendo 100% de mortalidade para 25 destes (21,7%) e acima de 75% de mortalidade para 31 isolados (26,9%). Por outro lado, 7,8% dos isolados testados foram inócuos ao inseto.

O produto à base de Bt com maior alcance no mercado mundial é o Dipel (Bt *kurstaki* HD-1). Esse produto, pouco tóxico para ácaros, coleópteros, dípteros e hemípteros é altamente eficiente para 170 lepidópteros-praga (BEEGLE & YAMAMOTO, 1992; GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). Contudo neste trabalho, o Dipel não apresentou mortalidade satisfatória, embora o esperado fosse que obtivesse um resultado positivo já que este produto é eficiente para o controle de lepidópteros-praga. Valicente & Fonseca (2004) também observaram mortalidade entre 20 e 30% para o bioinseticida Dipel, em larvas de *S. frugiperda*.

Algumas toxinas de Bt podem ligar-se ao(s) receptor (es) dos insetos. Os receptores estão de alguma forma envolvidos na fisiologia do inseto, como por exemplo, as caderinas, são essenciais para a manutenção de solidez dos tecidos e também no arrançamento e a rearrajamento celular que ocorre numerosas vezes, em tecidos neurais e não neurais, durante o desenvolvimento embrionário do inseto (UEMURA, 1998; POLANCZYK, 2004).

No entanto, essa ligação pode não ser suficiente para causar a morte do inseto. Aranda et al. (1996) realizaram estudo para verificar a interação entre as toxinas Cry e as células epiteliais do intestino médio de *S. frugiperda*. Os autores observaram que, embora as toxinas Cry 1Aa, Cry 1Ab, Cry 1Ac e Cry 2B se liguem aos receptores, esta ligação não implica em toxicidade para o inseto. Nesses casos, a

ligação é estável e altamente específica, sendo suficiente para a formação do poro no epitélio e conseqüente morte do inseto.

Embora a afinidade pelos receptores seja o principal fator que determine o nível de suscetibilidade de uma espécie para as toxinas Cry, Forcada et al. (1996), observaram que para *Heliothis virescens*, a ativação da protoxina pelas proteases é o principal fator determinante para a eficiência do patógeno. Os autores verificaram que as enzimas digestivas da população de insetos resistentes são capazes de degradar as toxinas de tal modo que diminui significativamente a quantidade de toxina ativa no lúmen do intestino médio em um determinado momento, reduzindo a toxicidade.

Na etapa de seleção de isolados de Bt para *S. frugiperda*, assim como para outros insetos, novos estudos são necessários para determinar as razões do sucesso ou não dessa etapa. Por isso, é importante conhecer detalhadamente o inseto-alvo seus hábitos, fisiologia e histologia, e qual é a resposta do inseto para presença deste microrganismo (NAVON, 2000; POLANCZYK, 2004).

Dessa forma, somente os isolados 676 e 984 são considerados os mais promissores para serem utilizados no controle da lagarta-do-cartucho, pois atingiram um nível de mortalidade acima de 50%. Dessa forma, não foi possível realizar a CL50, pois para isso, é necessário que a mortalidade seja acima de 80% (ALVES, 1998).

Tabela 1: Mortalidade de *S. frugiperda* por diferentes isolados de *B. thuringiensis*.

Trat	Mortalidade (%)	Trat	Mortalidade (%)
676	56,25 ± 5,76 A	531	14,00 ± 5,20 D
984	52,96 ± 5,31 A	1028	14,00 ± 4,26 D
1024A	36,17 ± 3,13 B	238	13,75 ± 3,67 D
853F	34,04 ± 4,90 B	977 FA	13,19 ± 4,40 D
633	27,08 ± 3,13 B	872 B	13,19 ± 4,40 D
273	25,07 ± 5,18 C	933 E	13,18 ± 4,28 D
105	24,56 ± 4,28 C	167	12,71 ± 3,81 D
1000	24,56 ± 5,23 C	886	12,27 ± 4,47 D
537	24,00 ± 4,00 C	1052 B	11,70 ± 4,59 D
716	23,19 ± 7,68 C	Dipel	11,70 ± 4,59 D
775C	23,19 ± 7,01 C	878 B	11,36 ± 4,63 D
1009	22,55 ± 4,82 C	868 G	10,90 ± 3,74 D
466	22,00 ± 4,66 C	766 B	10,90 ± 3,74 D
725	20,69 ± 4,59 C	816 A	9,90 ± 4,03 D
1077	20,69 ± 4,59 C	100	9,16 ± 5,06 D
862	20,42 ± 5,58 C	927 R	9,09 ± 4,03 D
1005	19,78 ± 3,82 C	926	8,72 ± 4,78 D
775G	19,78 ± 3,82 C	1044-CV-N	8,18 ± 4,13 D
275 G	18,29 ± 4,30 C	637	8,00 ± 3,23 D
1054	18,00 ± 4,66 C	478	8,00 ± 3,26 D
997	16,66 ± 4,00 D	1115	6,66 ± 2,77 D
101	16,00 ± 4,00 D	80	6,59 ± 3,81 D
467	16,00 ± 4,00 D	108	5,00 ± 2,59 D
941 D	14,46 ± 5,87 D	927 R	4,35 ± 2,00 D
287	14,00 ± 5,00 D	985	3,18 ± 3,20 D
1077 A	14,00 ± 4,80 D	Testemunha	0,05 ± 0,01 E

*Médias seguidas de uma mesma letra não diferem estatisticamente (Teste Scott-Knott)

4.4 CONCLUSÃO

Entre os 50 isolados testados, dois (676 e 984) causaram mortalidade superior a 50% em *S. frugiperda*.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. 2.ed. Piracicaba, FEALQ. 1998, 1163 p.

ARANDA, E.; SÁNCHEZ, J.; PEFEROEN, N.; GUERECA, L.; BRAVO, A. Interactions of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Invertebrate Pathology**. v. 68, n. 3, p. 203-212, 1996.

BEEGLE, C. B.; YAMAMOTO, T. Invitation paper (C.P. Alexander Fund): history of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. **Canadian Entomologist**, Toronto, v. 124, n. 4, p. 587-616, 1992.

BURTON, R.L.; PERKINS, W.D. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and fall armyworm. **Journal Econ. Entomology**. v. 65, p. 385-386, 1972.

FATORETTO, J. C. Associação de bioensaio e caracterização molecular para seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* efetivos contra *Spodoptera frugiperda*. Monografia (Graduação) – **Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”**. Jaboticabal. 2002, 105 p.

FORCADA, C.; ALCÁCER, E.; GARCERÁ, M.D. Differences in the midgut proteolytic activity on two *Heliothis virescens* strains, susceptible and one resistant to *Bacillus thuringiensis* toxins. **Archives on Insect Biochemistry and Phisiology**. v. 32, n. 2, p. 257-272, 1996.

GARCIA, M.A.; SIMÕES, M.; HABIB, M.E.M. Possible reasons of resistance in larvae of *Spodoptera frugiperda* (Abbot & Smith, 1797) infected by *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Revista de Agricultura**. v. 57, n. 2, p. 215-222, 1982.

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

LAMBERT , B. et al. *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein with a high activity against members of the family Noctuidae. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, n. 1, p. 80-86, 1996.

LIMA, J. O. G. de; ZANUNCIO, J. C. Controle da “lagarta do cartucho do milho”, *Spodoptera frugiperda*, pelo carbaril, carbofuram, dipel (*Bacillus thuringiensis*) e endossulfam. **Revista Ceres**. v. 23, n. 127, p. 222-225, 1976.

LOGUERCIO, L.L.; SANTOS, C.G.; BARRETO M.R.; GUIMARÃES, C.T.; PAIVA, E. Association of PCR and feeding bioassays as a large-scale method to screen tropical *Bacillus thuringiensis* isolates for Cry constitution with higher insecticidal effect against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Letters In Applied Microbiology**. v. 32, n.1, p. 1-6, 2001.

POLANCZYK, R. A. Estudos de *Bacillus thuringiensis* Berliner visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Tese (Doutorado) – **Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**. 2004, p.144.

NAVON, A. Control of lepidopteran pests with *Bacillus thuringiensis*. In: ENTWISTLE, P. F. et al. *Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide*: theory and practice. **Chichester: John Wiley & Sons**. p. 125-146,1993.

NAVON, A. *Bacillus thuringiensis* application in agriculture. In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; NILELSEN-LE ROUX, C. (Ed). **Entomopathogenic bacteria**: from laboratory to field application. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. p. 355-367, 2000.

SILVA-WERNECK, J. O. Novo isolado de *Bacillus thuringiensis* efetivo contra a lagarta-do-cartucho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, n. 1, p. 221-227, 2000.

SWIECICKA, I.; BIDESHI, D. K.; FEDERICI, B. A. Novel Isolate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis* that produces a quasicuboidal crystal of Cry1Ab21 toxic to larvae of *Trichoplusia ni*. **Applied Environmental Microbiology**. Washington, p .923-930, 2008.

UEMURA, T. The cadherin superfamily at synapse: more members, more missions. **Cell**. v. 93, n. 10, p. 1095-1098, 1998.

VALICENTE, F.H.; FONSECA, M.M. Susceptibilidade da Lagarta-do-Cartucho do Milho, *Spodoptera frugiperda*, a diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. v.3, n.1, p.21-29, 2004

5. CAPÍTULO 3

INTERAÇÃO ENTRE *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E *Bacillus thuringiensis* BERLINER PARA O CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)

Interação entre *Trichogramma pretiosum* Riley e *Bacillus thuringiensis* Berliner para o controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)

RESUMO

Estudou-se o efeito da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) sobre fêmeas de *Trichogramma pretiosum* Riley, e ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). O experimento foi dividido em duas etapas: primeiramente, os isolados de Bt, 676 e 984, pré-selecionados foram misturados em gotícula de mel (1:1), como fonte de alimento para o parasitoide e mel puro para a testemunha. Na segunda parte, foram oferecidos cartelas com 25 ovos do hospedeiro imersas nos respectivos isolados, sendo que na testemunha, a cartela foi imersa em água, para o parasitismo. Utilizou-se 20 repetições por tratamento. Foram avaliados os parasitismos diários, totais e acumulados; sobrevivência; emergência e razão sexual da progênie. Os tratamentos não afetaram a viabilidade, razão sexual e a longevidade, alterando apenas o parasitismo do *Trichogramma*. Porém, quando as cartelas foram imersas nos isolados Bt os resultados foram satisfatórios, e o isolado 676 se destacou apresentando melhor parasitismo. Este trabalho enfatiza a interação entre linhagens de *Trichogramma* spp, isolados de *Bacillus thuringiensis* e insetos-praga em sistemas de Manejo Integrado de Pragas.

Palavras-chave: controle biológico, parasitoide de ovos, interação.

**Interaction among *Trichogramma pretiosum* and *Bacillus thuringiensis* for
Spodoptera frugiperda biological control**

ABSTRACT

This project studied the effects the bacteria *Bacillus thuringiensis* (Bt) has on *Trichogramma pretiosum* females and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) eggs. The experiment done was divided into two parts: in the first part isolated Bts, 676 and 984, were mixed with honey (1:1), to feed the parasitoid. In the second one, cards with 25 host eggs immersed in the isolates were offered, but in the other the card was immersed in water, this way the parasitism would be able to happen. Total and accumulated parasitism, survival, emergency and progeny sexual ratio were analyzed every day. The treatments did not affect the viability, sex ratio and longevity. Parasitism was affected when *Trichogramma* was fed with honey+Bt. The expected results were observed when the cards were immersed in the Bt isolates, and the isolate 676 was detached obtaining a better parasitism. This project emphasizes the interaction among *Trichogramma* spp, isolated *Bacillus thuringiensis* and insect pests in the Integrated Management of Pests system.

Key words: Biological control, egg parasitoid, interaction.

5.1 INTRODUÇÃO

A atividade agrícola tem se intensificado ao longo do tempo e tem provocado um desequilíbrio ecológico, fazendo-se necessária a utilização de produtos seletivos que não afetem o equilíbrio entre as pragas e seus predadores, parasitoides e patógenos responsáveis por boa parte do controle biológico, já que eles mantêm as pragas em níveis populacionais aceitáveis (DENT, 2000).

De forma a reverter esse quadro, preconiza-se o desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas, definido como um sistema de decisão para uso de táticas de controle, isoladamente ou associadas harmoniosamente, em uma estratégia de manejo baseada em análises de custo/benefício que levam em conta o interesse e/ou impacto nos produtores, sociedade e ambiente (KOGAN, 1998). Entre as táticas de controle disponíveis para esses sistemas de manejo, estão os entomopatógenos e os insetos parasitoides, que em conjunto englobam os diferentes segmentos do controle biológico de pragas (POLANCZYK et al. 2006, PRATISSOLI et al. 2006, SANTOS JUNIOR, 2009).

Entre os entomopatógenos, *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) destaca-se como a bactéria mais utilizada e estudada no controle de insetos e responsável por 90% do mercado mundial de bioinseticidas. Sua alta especificidade e seletividade favorecem a preservação do meio ambiente e é considerada uma excelente alternativa para o agricultor, visando ao controle de insetos-praga (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). Apesar de favorecerem a preservação do meio ambiente, generalizações, nesses aspectos são difíceis, devido ao grande número de isolados existentes (mais de 60.000) e cada caso deve ser analisado separadamente (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Com relação a parasitoides, espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera, Trichogrammatidae) são, as mais estudadas e utilizadas em todo o mundo, pela sua eficiência, facilidade de criação em laboratório e ao fato de que diversas espécies de *Trichogramma* já foram coletadas em mais de 200 hospedeiros, pertencentes a mais de 70 famílias e oito ordens de insetos (HASSAN 1993, ZUCCHI & MONTEIRO

1997). Com relação ao Brasil, sua importância é relevante devido ao potencial de controle de pragas em diversas culturas (PINTO, 1997). Em todo o mundo, 28 espécies de *Trichogramma* são liberadas em plantações (HASSAN, 1988).

A interação desses dois agentes de controle é bastante comum em programas de MIP, como na cultura do tomate no México, na Colômbia e no Brasil (TRUMBLE e ALVARADO-RODRIGUEZ, 1993; HAJI et al., 2002). Embora os efeitos prejudiciais dos bioinseticidas à base de Bt sobre os inimigos naturais sejam mínimos e/ou significativamente menores que os dos agrotóxicos, eles não podem ser desprezados e estudos são necessários em regiões nas quais essas táticas são empregadas em conjunto ou tem potencial de uso (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Vários aspectos podem ser analisados a partir do estudo das interações resultantes entre parasitoides e patógenos. Dentre eles podem ser citados: suscetibilidade a bactérias por lagartas parasitadas (NEALIS & VAN FRANKENHUYZEN 1990), possibilidade de transmissão do patógeno no momento da postura de ovos (BELL et al. 1974), influência do patógeno na biologia do parasitoide (AHMAD et al. 1978, SALAMA et al. 1982), influência do patógeno na biologia do hospedeiro (WESELOH et al. 1983) e habilidade do parasitoide em distinguir entre lagartas do hospedeiro infectadas ou não (LÓPEZ & FERRO 1995, ULPAH & KOK 1996).

Com isso, este trabalho avalia os efeitos de diferentes isolados de Bt, sobre a linhagem Tp 16 de *Trichogramma pretiosum* Riley em ovos de *S. frugiperda*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de pragas e Doenças (NUDEMAFI), do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), em Alegre, ES.

Criação de *Trichogramma pretiosum*. Para a criação da linhagem selecionada, foram utilizados recipientes de vidro (14 x 7 cm), em cujas paredes internas foram colocadas gotículas de mel para a alimentação dos adultos. Esses frascos foram fechados com plástico filme de PVC, a fim de evitar a fuga dos parasitoides, e perfurados com alfinete entomológico número 0 para a aeração dos frascos. Para a manutenção dos parasitoides, foram oferecidos ovos do hospedeiro alternativo, *A. kuehniella* (Zeller), colados em retângulos de cartolina azul celeste (2,5 cm x 10 cm), com goma arábica e inviabilizados pela exposição à lâmpada germicida, por um período de 45 minutos (PARRA et al., 1989).

Criação de *Spodoptera frugiperda* - A criação foi estabelecida em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) contendo dieta artificial (BURTON e PERKINS, 1972), temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 14h. Inicialmente, lagartas de 2º instar foram individualizadas nos tubos até a fase de pupa. Posteriormente, foram retiradas e acondicionadas em gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm de diâmetro x 20 cm de altura) nas condições descritas anteriormente até a emergência dos adultos. As gaiolas foram fechadas na parte superior com tecido tipo “tule” e forradas internamente com papel, que serviu de substrato para a oviposição. Os adultos foram alimentados com solução aquosa de mel a 10%. As posturas foram retiradas diariamente para serem utilizadas nos experimentos e para manutenção da criação.

Obtenção e Multiplicação dos Isolados de *B. thuringiensis* (Bt) - Os isolados de Bt foram multiplicados em meio de cultura BHI (Infusão de Cérebro e Coração) a 28°C , 250 rpm e 72 horas para o crescimento das colônias. Após esse processo, as colônias foram transferidas para tubos Falcon com 20mL de água destilada e esterilizada e centrifugados por 20 minutos por três vezes (5.000 rpm) para retirada do meio de cultura e toxinas indesejáveis. Após a última centrifugação, o material de cada isolado foi ressuspenso em água destilada estéril e a concentração foi ajustada para 3×10^8 esporos/mL⁻¹ com auxílio de câmara de Neubauer e microscópio óptico.

Experimento 1 (Mel com Bt p/ alimentação do parasitoide): Para cada isolado de Bt analisado, assim como para a testemunha foram individualizadas 20 fêmeas recém emergidas do parasitoide, em tubos de Duran, contendo uma gotícula de mel

inoculado com diferentes isolados de Bt, 676 e 984, em suas paredes (proporção 1:1), sendo cada fêmea considerada uma repetição. A cada 24 horas, foi oferecida para cada fêmea uma cartela de cartolina azul celeste (2,5 x 0,5cm) contendo 25 ovos do hospedeiro colados com goma arábica a 10%. Os tubos foram posteriormente fechados com plástico filme de PVC. Para a testemunha foi oferecida gotícula de mel sem Bt.

Experimento 2 (cartela mergulhada no Bt): Para cada isolado de Bt analisado foram individualizadas 20 fêmeas recém emergidas do parasitoide, em tubos de Duran, contendo uma gotícula de mel puro a 10%, em suas paredes para alimentação do inimigo natural. A cada 24 horas, foi oferecida para cada fêmea uma cartela de cartolina azul celeste (2,5 x 0,5cm) contendo 25 ovos do hospedeiro colados com goma arábica a 10%. A cartela foi imersa em suspensão contendo 3×10^8 esporos/mL de Bt e seca em capela de fluxo para retirar o excesso de água. Os tubos foram posteriormente fechados com plástico filme de PVC. Para a testemunha foi oferecida cartela com ovos do hospedeiro sem Bt.

Os experimentos foram mantidos em câmaras climatizadas reguladas, até a emergência dos descendentes, quando foram avaliados o parasitismo diário, acumulado e total e a longevidade dos indivíduos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo os resultados, submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A sobrevivência foi comparada pelo método de distribuição de Weibull (SGRILLO, 1982).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O parasitismo diário de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* sofreu alterações devido à presença do Bt no alimento, conforme pode ser observado pela tendência das linhas em todos os tratamentos (Figura 1). Nos tratamentos cujas cartelas com ovos do hospedeiro foram mergulhadas em Bt, constatou-se que o parasitismo foi abaixo de 12 ovos parasitados por dia. Já nos tratamentos com Bt adicionado ao mel, é possível verificar que o parasitismo diário apresentou valores de 10 e 5 ovos parasitados por dia para os isolados 676 e 984, respectivamente. O tratamento testemunha alimentado somente com mel foi o que apresentou o maior resultado de parasitismo com 15 ovos parasitados por fêmea, indicando que o Bt influenciou o parasitoide. Como observado na Figura 1, houve uma maior concentração de postura do parasitoide nos primeiros dias. A partir do terceiro dia ocorreu queda no parasitismo com algumas oscilações ao decorrer do período (Figura 1). Esta tendência é reforçada pela Tabela 1, que mostra a diferença estatística entre os isolados de Bt com número total de ovos parasitados por *T. pretiosum* tratados com *B. thuringiensis*. Quando alimentado com mel + Bt, apresentou diferença estatística entre os isolados comparados à testemunha. Para os isolados em que a cartela foi mergulhada no Bt, o número total de ovos parasitados não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1).

O parasitismo foi afetado quando os parasitoides foram alimentados com mel + Bt, apresentando número total de ovos de 18,70 e 35,15 ovos parasitados por fêmea, nos isolados 984 e 676, respectivamente (Tabela 1). O número total de ovos parasitados foi maior para a testemunha, que diferiu dos demais com 55,30 ovos parasitados por fêmea (Tabela 1).

A queda do parasitismo em *T. pretiosum* é uma característica dessa espécie, pois esse parasitoide concentra as posturas nos primeiros dias de vida (PRATISSOLI, 1995; POLANCZYK et al., 2006). Diferentemente dos resultados deste estudo, Polanczyk et al., (2006), estudando a interação entre os inimigos naturais, Bt e *Trichogramma*, observaram que os isolados de Bt testados e a espécie de Bt *kurstaki* não apresentaram efeitos negativos que possam reduzir o percentual de parasitismo de *Trichogramma pratissolii* e *T. pretiosum*, quando fornecidos como suplemento alimentar para os parasitoides. Carvalho et al. (2001) verificaram em sua

pesquisa que o Bt não influenciou o parasitismo de *T. pretiosum* quando aplicado sobre os ovos de *A. kuehniella*.

O parasitismo acumulado de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* alcançou o índice de 80% em torno do sexto dia nos tratamentos 676 Bt, 676 mel + Bt e na testemunha alimentada apenas com mel, sétimo dia para o tratamento testemunha mergulhada em água, oitavo dia para o tratamento 984 Bt e no nono dia para o tratamento 984 mel + Bt (Figura 1). Alguns autores, relatando sobre a interação de Bt e *Trichogramma*, obtiveram resultados diferentes aos obtidos neste trabalho. Pratisoli et al. (2006) mostraram que o Bt fornecido como suplemento alimentar para *T. pratissoli* em ovos de *A. kuehniella* não afetou o parasitismo. Contudo, esses autores verificaram uma aceleração do parasitismo do parasitoide estudado sugerindo que sob algum tipo de pressão externa, como o Bt, o parasitoide tende a parasitar o mais rápido possível para garantir a sobrevivência de sua prole. Neste trabalho esta aceleração não ocorreu. Santos Junior (2009), por sua vez, observou que Bt oferecido na alimentação a *T. pretiosum* em ovos de *Helicoverpa zea* não foi prejudicial ao desenvolvimento do *Trichogramma*.

O processo de parasitismo consiste em uma série de estágios interconectados (VINSON, 1976). Uma vez que o hospedeiro é encontrado, ele poderá ser inspecionado para que se avalie sua identidade, condição e disponibilidade no que se refere ao local de oviposição. Baseado em dicas sensoriais adquiridas antes ou durante o contato, o parasitoide determina a aceitabilidade do hospedeiro. Antes de tentar ovipositar em um hospedeiro potencial, a fêmea de *Trichogramma* caminha para trás e para frente sobre o hospedeiro, enquanto o toca continuamente com sua antena. Se o hospedeiro for aceito, o parasitoide assume uma postura de perfuração e começa a aprofundar o córion do hospedeiro com seu ovipositor. Se o hospedeiro é rejeitado o ovipositor é retirado antes da deposição no ovo do hospedeiro (WAJNBERG & HASSAN, 1994).

As características físico-químicas é outro fator que pode afetar a aceitação e adaptação das espécies e/ou linhagens, o que interferiria nas características biológicas, e na sua agressividade, comprometendo a qualidade do parasitoide produzido e sua eficiência a nível de campo (BIGLER, 1994; MONJE et al., 1999),

características intrínsecas do ovo, como a qualidade nutricional, pode ter sido o principal fator no processo de aceitação do hospedeiro (SHIPP et al., 1998; PRATISSOLI E PARRA, 2000; 2001).

Tabela 1. Número de total de ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) parasitados por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) tratados com *Bacillus thuringiensis*.

PARASITISMO						
TRAT	24 horas		72 horas		Total	
	MEL	CARTELA	MEL	CARTELA	MEL	CARTELA
Test	14,90 ± 1,17 A	5,90 ± 0,91 B	37,10 ± 2,43 A	15,30 ± 1,69 B	55,30 ± 4,77 A	31,20 ± 4,20 A
676	10,10 ± 1,11 B	11,00 ± 1,15 A	27,75 ± 3,03 A	26,15 ± 3,00 A	35,15 ± 4,23 B	32,85 ± 4,18 A
984	4,75 ± 0,65 C	8,31 ± 1,20 A	8,53 ± 0,90 B	18,36 ± 2,00 B	18,70 ± 3,03 B	30,35 ± 3,93 A

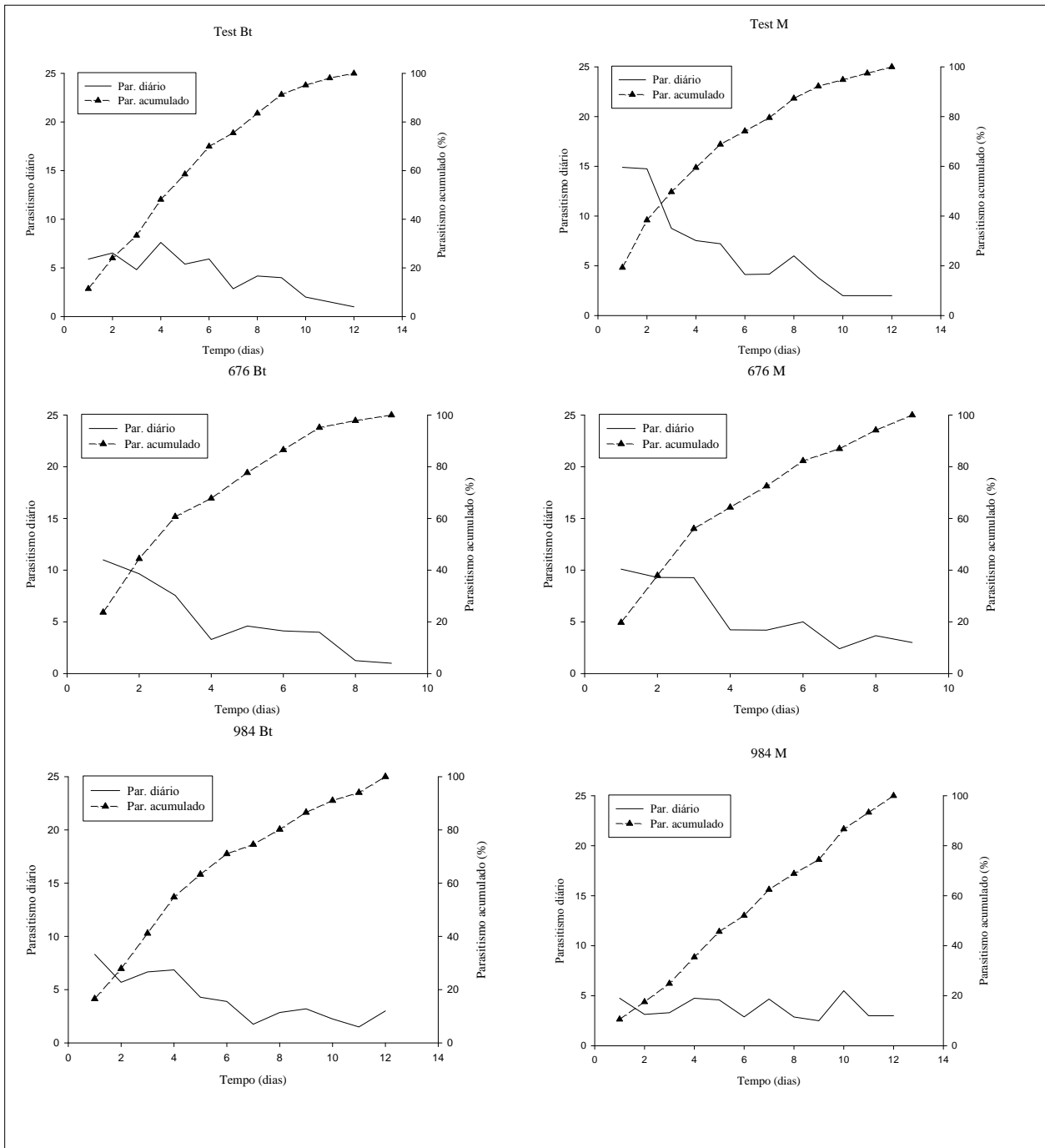


Figura 1 – Parasitismo diário e acumulado de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) tratados com diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*.

A longevidade em todos os tratamentos mostrou a mesma tendência, pois a sobrevivência seguiu uma distribuição normal não sendo observada queda acentuada como mostra a distribuição de Weibull (Figura 2). Pratissoli et al. (2006) obtiveram resultados semelhantes para *T. pratissoli*.

A emergência dos parasitoides foi afetada pelos isolados 676 e 984 quando acrescidos ao alimento, pois nos dois casos, inicialmente, a emergência ficou abaixo de 85%, número considerado ideal por NAVARRO (1998), diferindo da testemunha que obteve sua viabilidade em torno de 89,88% (Tabela 3). Os ovos do hospedeiro tratados com o isolado 984, quando parasitados pelo *Trichogramma* apresentaram maior percentagem de emergência em relação à testemunha e ao isolado 676. De acordo com Pratisoli (2006), os tratamentos não afetaram o parasitismo, razão sexual e a longevidade, porém em alguns tratamentos foi observado efeito indireto sobre a emergência da progênie, o que implicaria a necessidade de mais liberações massais do parasitoide para alcançar resultados positivos.

Os valores da razão sexual (Tabela 3), não foram significativos entre os isolados e nem nos diferentes métodos de inoculação, obtendo valores acima de 0,90, sendo superiores aos valores encontrados por Beserra et al., (2006), de 0,71 a 0,84 para *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, porém sem interferência do Bt, enfatizando que o Bt não teve interferência nenhuma no parâmetro da razão sexual.

Outro parâmetro avaliado, que obteve resultados positivos, foi o número de indivíduos/ovo que não apresentou diferença significativa em ambos os aspectos, com valores entre 1,03 e 1,05 (Tabela 3), resultados considerados satisfatórios, pois o aumento no número de adultos por hospedeiro, além de poder diminuir a qualidade do indivíduo gerado, poderá refletir na eficiência de controle, já que poderá resultar numa menor quantidade de ovos parasitados (BESERRA et al., 2003).

Glare & O'Callaghan (2000) afirmam que a presença da bactéria no trato digestivo de insetos adultos, não implica no desenvolvimento da doença, pois são necessários receptores para que ocorra a ligação da toxina com as células epiteliais do intestino médio. Esses receptores são normalmente encontrados no intestino médio das formas imaturas. Fazendo-se necessário assim um estudo mais detalhado desses isolados, quanto a sua interação com *Trichogramma pretiosum*.

Tabela 2. Emergência (%), razão sexual e número de indivíduos/ovo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, tratados com Bt. Temperatura de 25+1°C, UR: 70+10% e fotofase de 14h.

TRAT	Viabilidade		Razão Sexual*		Ind/Ovo*	
	MEL	CARTELA	MEL	CARTELA	MEL	CARTELA
Test	89,88 ± 3,83 A	74,85 ± 8,73 B	0,97 ± 0,01	0,97 ± 0,01	1,03 ± 0,01	1,05 ± 0,02
676	59,11 ± 7,04 B	66,88 ± 6,01 B	0,90 ± 0,00	0,99 ± 0,00	1,03 ± 0,01	1,04 ± 0,02
984	61,86 ± 5,24 B	87,16 ± 3,18 A	0,98 ± 0,01	0,98 ± 0,01	1,05 ± 0,02	1,03 ± 0,01

Médias (± EP) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

* Não há diferença estatística.

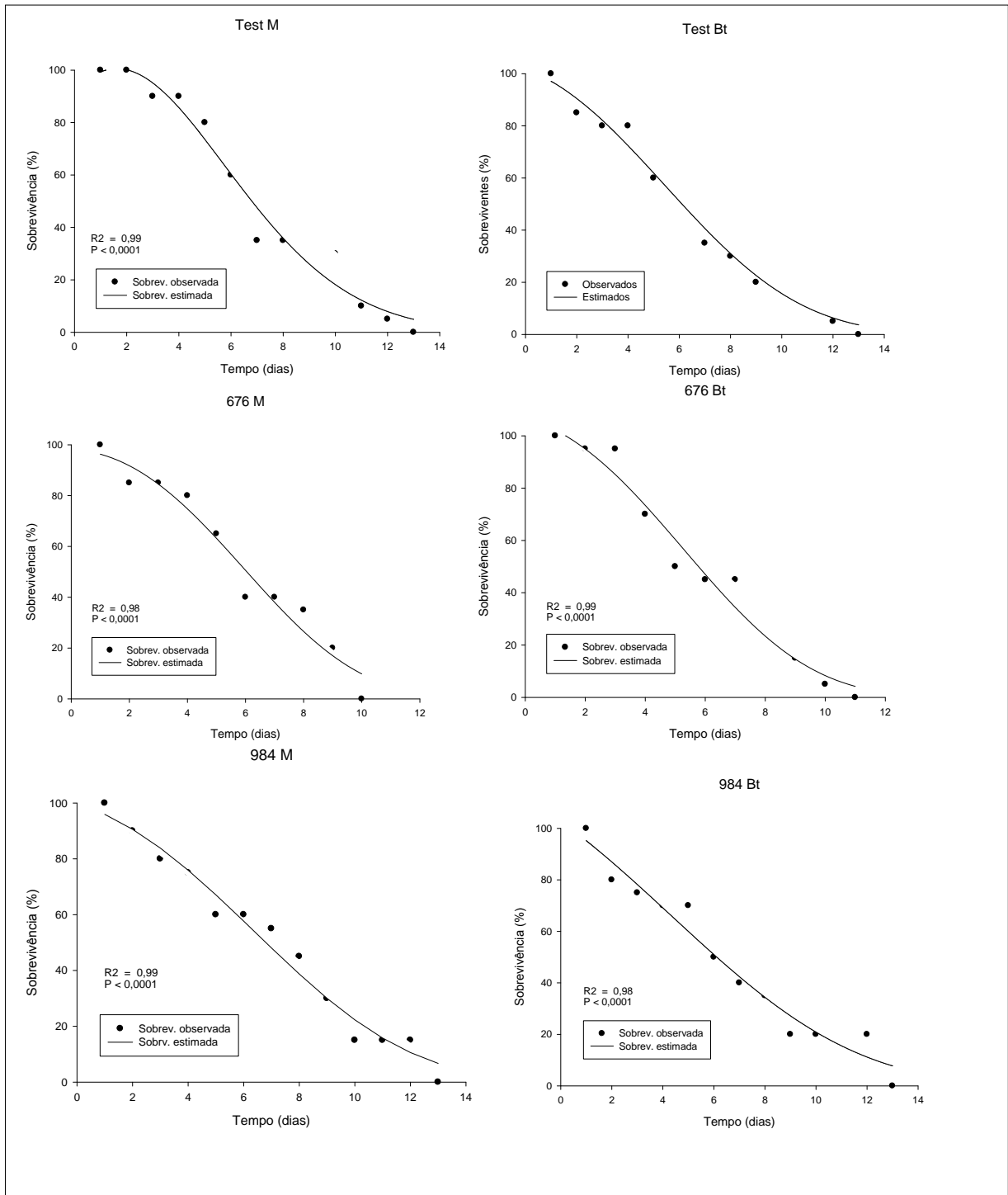


Figura 2 - Sobrevivência de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera Trichogrammatidae), alimentado com mel e diferentes isolados de Bt.

5.4 CONCLUSÃO

Os isolados de Bt testados, quando os ovos foram imersos em suspensão com Bt, não têm efeitos negativos e foi observado aumento do parasitismo com o isolado 676.

Ambos os tratamentos causaram redução no parasitismo, quando os isolados de Bt foram fornecidos via alimento para o *Trichogramma*.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, S.; O'NEILL, J.R.; MAGUE, D.L. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to gypsy moth larvae parasitized by *Apanteles melanoscelus*. **Environmental Entomology**. v.7, p. 73-76. 1978.

BELL, J.V.; E.G. KING; R.J. HAMALLE. Interactions between bollworms, a braconid parasite, and the bacterium *Serratia marcescens*. **Annals of the Entomological Society of America**. v. 67, p. 712-714, 1974.

BESERRA, E.B.; DIAS, C.T.S.; PARRA, J.R.P. Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Acta Scientiarum. Agronomy**. v. 25, n. 2, p. 479-483, 2003.

BIGLER, F. Quality control in *Trichogramma* production. In: E. Wajnberg & S. A. Hassan (eds.), Biological Control with Egg Parasitoids. **CAB International, Wallingford**. p. 93-111, 1994.

BURTON, R.L.; PERKINS, W.D. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and fall armyworm. **Journal Econ. Entomology**. v. 65, p. 385-386, 1972.

CARVALHO, G. A.; PARRA, J. R. P.; BAPTISTA, G. C. Seletividade de produtos fitossanitários utilizados na cultura do tomateiro à fase imatura de duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**. v. 25, n. 3, p. 583-591, 2001.

DENT, D. Insect pest management. Cambridge: **Cabi Bioscience**, 2000.

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

HAJI, F.N.D.; PREZOTTI, L.; CARNEIRO, J.S.; ALENCAR, J.A. *Trichogramma pretiosum* para o controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.;

BOTELHO, P.S.M.; CÔRREA FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, cap. 28, p. 477-494. 2002.

HASSAN, S.A.; KOLHER E.; ROST, W.M. Mass production and utilization of *Trichogramma*: 1. Control of the codling moth, *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxophyes orana* (Lep.: Tortricidae). **Entomophaga**. p. 413-420. 1988.

HASSAN, S. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. **Pest. Sci.** v.37, p. 387- 391, 1993.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspective and contemporary development. **Annu. Rev. Entomol.** v. 43, p. 243-270, 1998.

LÓPEZ, R.; FERRO, D.N. Larviposition response of *Myiopharus doryphorae* (Diptera:Tachinidae) to colorado potato beetle (Coleoptera, Chrysomelidae) larvae treated with lethal and sublethal doses of *B.thuringiensis* Berliner subsp. *tenebrionis*. **Journal. Econ. Entomology**. v. 88, p. 870-874, 1995.

MAGALHÃES, B.P.; MONNERAT R.; ALVES, S.B. Interações entre entomopatógenos, parasitóides e predadores, p.195-216. In S.B. Alves (ed.), **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, FEALQ. 1998, 1136 p.

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

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

NEALIS, V.; VAN FRANKENHUYZEN, K. Interactions between *Bacillus thuringiensis* Berliner and *Apanteles fumiferanae* Vier. (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). **Can. Entomol.** p. 585-594, 1990.

PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; BIRAL, E.; GOUVEIA, P. C. R. Número ideal de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) por caixa de criação para pesquisas com *Trichogramma* spp. **An. Soc. Entomol.** v. 18, p. 391-402, 1989.

PINTO, J.D. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. In PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, cap. 1, p. 13-39. 1997.

PRATISSOLI, D. **Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, nas traças *Scrobipalpoides absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) em tomateiro**. 1995. Tese (Doutorado)–Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1995.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, p.1284-1288, 2000.

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

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, mar-abr, 2006.

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

SALAMA, H.S.; ZAKI, F.N.; SHARABY, A.F. Effect of *Bacillus thuringiensis* Berl. on parasites and predators of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd.). **Journal Appl. Entomology**. v. 94, p. 498-504, 1982.

SANTOS JUNIOR, H.J.G dos. **Seleção de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae) e populações de *Trichogramma* spp. (Westwood) (Hym.: Trichogrammatidae) para o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae). Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2009.**

SGRILLO, R.B. A distribuição de Weibull como modelo de sobrevivência de insetos. **Ecossistema**, v.7, p.9-13, 1982.

SHIPP, J. L.; WANG, K.; FERGUSON, G. Evaluation of commercially produced *Trichogramma* spp. (Hym.: Trichogrammatidae) for control of tomato pinworm, *Keiferia lycopersicella* (Lep.: Gelechiidae), on greenhouse tomatoes. **Can J Entomol** v. 130, p. 721-731, 1998.

TAMEZ-GUERRA, P.; GALÁN-WONG, L.J.; MEDRANO-ROLDÁN, H.; GARCÍA-GUTIÉRREZ, C.; RODRÍGUEZ-PADILLA, C.; GÓMEZ-FLORES, R.A.; TAMEZ-GUERRA, R.S. Bioinseticidas: su empleo, producción y comercialización en México. **Ciencia UANL**, v.4, n.2, p.143-152, 2001.

TRUMBLE, J.; ALVARADO-RODRIGUEZ. B. Development of economic evaluation of an 1PM program for fresh market tomato production in México. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v.43, p.267-284, 1993.

ULPAH, S.; KOK, L.T. Interrelationship of *Bacillus thuringiensis* Berliner to the diamondback moth (Lepidoptera, Noctuidae) and its primary parasitoid, *Diadegma insulare*. **J. Entomol. Sci.** v. 31, p. 371-377, 1996.

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 biológico aplicado.** Piracicaba: FEALQ, cap. 4, p. 67-120. 1997.

WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. Biological control with egg parasitoids. 1. ed. **Wallingford, British library.** 1994, 286 p.

WESELOH, R.M.; ANDREADIS, T.G.; MOORE, R.E.B.; ANDERSON, J.F. Field confirmation of a mechanism causing synergism between *Bacillus thuringiensis* and the gypsy moth parasitoid, *Apanteles melanoscelus*. **Journal Invertebrate Pathology.** v. 41, p. 99-103, 1983.

ZUCCHI, R. A; MONTEIRO R.C. O gênero *Trichogramma* na América do Sul. p.41-66. In: Parra, J.R.P.; Zucchi R.A. *Trichogramma e o Controle Biológico Aplicado.* **Piracicaba: FEALQ.** 1997, 354 p.