

CAROLINA DE OLIVEIRA BERNARDES

**ATIVIDADE DE *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) PARA O
COMPLEXO *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) E *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

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 Antonio Polanczyk
Co-orientador: Prof. Dr. Dirceu Pratissoli

ALEGRE
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CAROLINA DE OLIVEIRA BERNARDES

**ATIVIDADE DE *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) PARA O
COMPLEXO *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) E *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

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.

COMISSÃO EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Ulysses Rodrigues Vianna
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Dori Edson Nava
(Embrapa)

DEDICO

Aos meus Pais Roberto e Sandra

a minha irmã Roberta

e ao meu namorado Patrick

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar sempre me dando força e me mostrando os caminhos por onde devo percorrer para superar os obstáculos da vida.

A minha família pelo imenso apoio.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do CCA/UFES, pelo suporte total dado a pesquisa.

Ao Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk pela orientação, amizade, compreensão e pela oportunidade de cursar o mestrado em Produção Vegetal no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

Ao Prof. Dr. Dirceu Pratisoli pela co-orientação e por estar sempre disposto a ajudar.

Ao Prof. Dr. Ulysses Rodrigues Vianna.

Ao Prof. Dr. Hugo José Gonçalves dos Santos Junior.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do CCA/UFES, pelos ensinamentos.

Aos funcionários do NUDEMAFI Dona Carlota, Carlos Magno e Leonardo pela ajuda em tudo que precisei, pela amizade, pelas conversas e momentos de descontração que me proporcionaram.

Aos amigos do NUDEMAFI: Lígia, Larissa, Débora, Marina, Camila, Suelen, Samara, Lívia, Kharen, Flávio, Vando, Rafael, Rafael Dohler, João Rafael, Tiago, Victor, Marcel, João Paulo, Marquinho, Marília, Raul, Gustavo, Luziani, Eduardo, Priscila, José Romário, Fernando, Victor lima e Luíz Flávio.

RESUMO

A soja é considerada um dos produtos de maior importância para a economia brasileira e dentre as pragas mais importantes destaca-se *Anticarsia gemmatalis*. Visando reduzir a utilização de inseticidas no controle de pragas, têm-se buscado alternativas de controle, dentre as quais a utilização do controle biológico. Entre os agentes de controle biológico se destaca a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) e o parasitóide de ovos *Trichogramma*. Este estudo teve como objetivo avaliar a interação desses dois agentes de controle biológico utilizados no controle de *A. gemmatalis*. Inicialmente foram feitos testes de seleção com onze linhagens e a linhagem *T. pretiosum* Tp 12 foi a que apresentou melhor desempenho para esta praga. Testes de patogenicidade e virulência foram realizados com isolados de Bt para selecionar aqueles mais agressivos para o inseto e os isolados 80, 997, 1054, 716 e 633 e o produto comercial Dipel foram os mais promissores. Por fim, foram realizados dois experimentos de interação entre o *T. pretiosum* Tp 12, os isolados 80, 997, 1054, 716 e 633 e o produto comercial Dipel. Foi observado que para o experimento em que os isolados foram misturados ao alimento houve uma interação positiva, onde os isolados 633 e 1054 causaram aumento no parasitismo. Com relação ao segundo experimento foi observado que a imersão das cartelas com ovos de *A. gemmatalis* nas suspensões contendo os diferentes isolados de Bt 80, 633, 716, 993, 1054 e o Dipel houve redução do número total de ovos parasitados devido à repelência do *T. pretiosum* Tp12 aos ovos imersos em suspensão com Bt. Estudos histopatológicos da interação do Bt com as células do intestino médio de *Trichogramma* são necessários para elucidar como o Bt atua no inseto adulto. Estes estudos aliados à caracterização molecular das toxinas presentes nos isolados contribuirão para elucidar a interação parasitóide x entomopatógeno x hospedeiro.

Palavras Chave: Soja, Controle Biológico, *Bacillus thuringiensis*, *Trichogramma pretiosum*.

ABSTRACT

Soybean is considered one of the most important products to the Brazilian economy and among the most important pests *Anticarsia gemmatalis* is detached. Aiming to reduce the use of insecticides on the pests control, alternatives of control have been searched, among these the use of biological control. Among the biological control agents the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) and the egg parasitoids *Trichogramma* are detached. This study had the objective of evaluating the interaction between these two biological control agents used on *A. gemmatalis* control. Initially selection tests were made with eleven lineages and the lineage *T. pretiosum* Tp 12 was the one which presented best performance for this pest. Patogenicity and virulence tests were carried out with Bt isolates to select the most virulent ones for the insect and the isolates 80, 997, 1054, 716, 633 and the commercial product Dipel were the most promising. With these results, two interaction experiments were performed among *T. pretiosum* Tp 12, the isolates 80, 997, 1054, 716, 633 and the commercial product Dipel. It was observed that for the experiment which the isolates were mixed to the food there was a positive interaction, where the isolates 633 and 1054 caused an increase on the parasitism. Concerning the second experiment it was observed that the immersion of the cards containing *A. gemmatalis* eggs in the different Bt isolates 80, 633, 716, 993, 1054 and Dipel reduced the total number of parasitized eggs due to repellence of *T. pretiosum* to the immersed eggs in Bt suspensions. Histopathologic studies of Bt interaction with *T. pretiosum* midgut cells are necessary to elucidate how Bt acts on the adult insect. These studies allied to molecular characterization of the toxins presented on the isolates will contribute to elucidate the interaction parasitoid x entomopathogen x host.

Key Words: Soybean, Biological control, *Bacillus thuringiensis*, *Trichogramma pretiosum*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae) (Hübner, 1818).....	11
2.2 A BACTÉRIA ENTOMOPATOGÊNICA <i>Bacillus thuringiensis</i>	12
2.3 O PARASITÓIDE DE OVOS <i>Trichogramma</i>	16
2.4 INTERAÇÃO <i>Bacillus thuringiensis</i> — <i>Trichogramma</i> – Noctuidae	18
CAPÍTULO 1	21
Seleção de linhagens de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para <i>Anticarsia gemmatalis</i> (Lepidoptera: Noctuidae).....	21
3.1 INTRODUÇÃO	23
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.4 CONCLUSÃO.....	30
CAPÍTULO 2	31
Patogenicidade e virulência de <i>Bacillus thuringiensis</i> para <i>Anticarsia gemmatalis</i>	31
4.1 INTRODUÇÃO	33
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	34
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.4 CONCLUSÃO.....	41
CAPÍTULO 3	42
Interação entre inimigos naturais: <i>Bacillus thuringiensis</i> e <i>Trichogramma pretiosum</i> no controle biológico de <i>Anticarsia gemmatalis</i>	42
5 INTRODUÇÃO	45

5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.4 CONCLUSÃO.....	60
6 REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

A soja constitui um dos produtos da maior relevância para a economia brasileira e possivelmente é a cultura no Brasil que apresentou crescimento mais expressivo no cultivo e no segmento agroindustrial, na segunda metade do século XX. No ano de 2008, as exportações brasileiras corresponderam a 36% das exportações mundiais de soja em grão, 23% do farelo e 16% do óleo de soja. A produção da soja no ano de 2008 correspondeu a 27% da produção de soja em grão mundial, 14% do farelo e a 15% do óleo. Com destaques para as regiões centro-oeste e sul do país, a safra 09/10 apresentou 10.073,9 mil ha em área, produtividade de 2.966 Kg/ha e produção de aproximadamente 29.880,1 mil toneladas para a região Centro-Oeste e 8.595,5 mil ha em área, 2.570 Kg/ha de produtividade e produção de cerca de 22.092,7 mil toneladas em soja para a região Sul (CONAB, 2009).

Esta cultura, porém, está sujeita, durante todo o seu ciclo, ao ataque de diferentes espécies de insetos e dentre as pragas mais importantes na soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), apresenta-se como a lagarta desfolhadora que acarreta maiores prejuízos para a cultura (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000), sendo considerada uma das principais pragas da soja no Hemisfério Ocidental (TURNIPSEED & KOGAN, 1976).

O controle de pragas, principalmente em sistemas de produção agrícola, é realizado mediante aplicações freqüentes de inseticidas químicos, como método predominante para reduzir o risco de danos econômicos em lavouras. Embora o controle químico seja importante para este fim, o uso de produtos de alta toxicidade e de amplo espectro pode resultar em efeitos adversos ao homem e ao ambiente (MOSCARDI, 2002).

A crescente preocupação com o meio ambiente tem elevado a importância das pesquisas científicas que procuram diminuir a agressão constante que o ecossistema vem sofrendo por intervenções do homem. Por esse motivo e outros como o elevado custo dos agrotóxicos e aumento da resistência das pragas a estes produtos, o número de pesquisas envolvendo microrganismos capazes de promover o controle biológico de pragas agrícolas e de interesse na saúde pública tem aumentado (DESTÉFANO, 2003).

Entre os agentes de controle biológico destacam-se a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) e o parasitóide de ovos *Trichogramma*. O primeiro é o ingrediente ativo da maioria dos bioinseticidas empregados mundialmente (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000) e o segundo é o parasitóide de ovos mais estudado e mais comercializado em todo mundo no controle de lepidópteros-praga (PARRA & ZUCCHI, 1997).

É comum, no Manejo Integrado de Pragas, a integração de dois ou mais métodos de controle. Embora os efeitos prejudiciais dos bioinseticidas à base de *Bt* sobre os inimigos naturais (insetos predadores, parasitóides e microrganismos) sejam mínimos e/ou significativamente menores que os dos agrotóxicos, esses não podem ser desprezados e são necessários estudos em regiões onde essas táticas são empregadas em conjunto ou têm potencial de uso (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Desta forma, o principal objetivo deste trabalho foi analisar o impacto de isolados/formulação de *Bacillus thuringiensis* sobre *Trichogramma pretiosum*, utilizando *Anticarsia gemmatalis* como hospedeiro do parasitóide.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hübner, 1818)

A lagarta-da-soja (*A. gemmatalis*) é a principal desfolhadora da cultura da soja, sendo muito ativa e dotada de grande agilidade. Uma lagarta pode consumir cerca de 90 cm² de folhas para completar o seu desenvolvimento. No Brasil, ocorre desde o sul de Goiás até o Rio Grande do Sul (PANIZZI et al., 1977). Este noctuídeo é praga importante em outras culturas tais como amendoim, alfafa e pastagens (GALLO et al., 2002).

Os ovos de *A. gemmatalis* são de coloração branca, ligeiramente achatados, depositados isolados geralmente na face inferior das folhas, embora em elevadas infestações possam ser encontrados nas hastes e pecíolos. Os ovos colocados em meses com temperaturas mais elevadas têm desenvolvimento embrionário de cerca de três dias. (ELISOR, 1942). A postura é realizada durante a noite, com pico de oviposição entre 21 e 23 horas, sendo que a postura é maior com decréscimo da temperatura e com aumento da umidade (GREENE et al., 1973). As larvas recém-eclodidas se alimentam das cascas dos ovos (WATSON, 1916).

Em geral o estágio larval de *A. gemmatalis* é constituído por seis instares, podendo variar de cinco a oito de acordo com temperatura, idade da folha e hospedeiro sobre o qual o inseto se desenvolve. As lagartas apresentam variado padrão de coloração e manchas ao longo de seu ciclo de desenvolvimento. A maioria das lagartas apresenta linha longitudinal negra e um grande número de linhas estreitas brancas, amarelas ou rosadas (WATSON, 1916; REID, 1975; NICKLE, 1917).

O corpo da lagarta de primeiro instar é uniformemente verde sem nenhuma linha longitudinal. Em condições de alta população, ou escassez de alimento, formas escuras de lagartas podem ocorrer (SILVA, 1981). Os prolegos dos segmentos abdominais 3 e 4 são menores que os dos segmentos 5 e 6. No segundo instar, aparece uma linha lateral negra e o primeiro e segundo par de prolegos abdominais são cerca de 25 a 50% maiores que os prolegos do terceiro par, respectivamente. O segundo instar dura de três a quatro dias e podem chegar a 9 mm de comprimento.

O terceiro instar também dura de três a quatro dias e a lagarta pode atingir até 16 mm de comprimento. O quarto e quinto instar duram de três a quatro dias e podem alcançar até 25mm em comprimento. O sexto instar dura cinco dias, completando 25 dias de ciclo larval.

No estágio de pré-pupa a lagarta tem seu tamanho reduzido para 25 milímetros de comprimento, apresenta coloração marrom e poucas linhas longitudinais (WATSON, 1916). Alguns trabalhos de biologia feitos com *A. gemmatalis* incluem a fase de pré-pupa no desenvolvimento da fase larval, porém, alguns autores têm optado pela sua separação. Assim, Salvadori e Corseuil (1982) indicaram uma duração de 2,05 dias para essa fase isolada e Gamundi (1988) determinou valores de 1,6 a 2 dias.

A pupa de *A. gemmatalis* apresenta coloração verde clara no primeiro dia, tornando-se marrom num período de 24 horas. A pupa apresenta de 18 a 20 mm de comprimento e de 4 a 6 mm de largura. As lagartas de *A. gemmatalis* empupam, em campo, em uma profundidade de cerca de 2 cm da superfície do solo. A duração da fase de pupa é de sete a dez dias dependendo da estação do ano (WATSON, 1916).

Os adultos apresentam coloração marrom-acinzentada. A marca predominante na cor padrão é uma linha que cruza ambas as asas diagonalmente. Apresentam asas com envergadura de 30 a 38 milímetros (WATSON, 1916).

O acasalamento tem seu pico durante as primeiras 48 horas após a emergência, ocorrendo uma redução nos seis dias seguintes e continuando a diminuir até o 15º dia (LEPPLA, 1976).

2.2 A BACTÉRIA ENTOMOPATOGÊNICA *Bacillus thuringiensis*

A crescente preocupação com o ambiente, além do elevado custo dos agrotóxicos e aumento da resistência das pragas a estes produtos, fez com que o número de pesquisas envolvendo microrganismos capazes de promover o controle biológico de pragas agrícolas e de interesse na saúde pública aumentasse (DESTÉFANO, 2003). Entre esses organismos destacam-se bactérias, fungos e vírus que são agentes

naturais de controle de pragas e que podem ser cultivados em laboratórios e/ou escala industrial (BARRETO, 2005).

Desde a sua descoberta, em 1900, a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) lidera os estudos de patologia e controle microbiano e é atualmente um dos principais patógenos de insetos utilizados no controle de pragas agrícolas (LORD, 2005; BRAR et al., 2006). Cerca de 200 produtos a base de *Bt* são responsáveis por 97% do mercado mundial de bioinseticidas (BRAR et al., 2006). Estes produtos são usados principalmente em países desenvolvidos como os Estados Unidos (POLANCZYK & ALVES 2003).

O Bt foi descrito pela primeira vez por Berliner em 1911 quando esse pesquisador isolou o bacilo de *Anagasta kuehniella*. Posteriormente ele nomeou o *B. thuringiensis* em homenagem à província de Thuringia (Alemanha), onde o primeiro inseto infectado foi encontrado. Esta foi a primeira descrição utilizando o nome de *Bacillus thuringiensis*, porém este não foi o primeiro isolamento do patógeno. Em 1901, o biólogo S. Ishiwatta isolou a bactéria que era o agente causal da “sotto-disease”. Em 1908, Iwabuchi a denominou como *B. sotto* Ishiwatta, que foi, posteriormente, considerado como nome inválido e o nome mais recente (*Bacillus thuringiensis*) foi mantido (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Embora o termo Bt seja geralmente empregado para uma única espécie, levando em consideração aspectos taxonômicos essa bactéria pertence a um complexo de várias espécies (*B. anthracis*, *B. mycoides*, *Bt* e *B. weihenstephanensis*). Este complexo é denominado *B. cereus* (POLANCZYK & ALVES 2003).

B. thuringiensis é uma bactéria em forma de bastonete, formadora de esporos e capaz de produzir inclusões cristalinas durante a esporulação, que são responsáveis pela atividade tóxica desta espécie (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). Tem atraído o interesse mundial no que se refere a aplicações em manejo de pragas devido à sua atividade pesticida específica. (SCHNEPF et al., 1998).

É encontrada em diferentes ambientes. Cepas foram isoladas ao redor do mundo em diferentes habitats, incluindo solo, insetos, plantas e grãos estocados (SCHNEPF et al., 1998). Esta bactéria desenvolve-se, em condições aeróbicas, em meios artificiais bastante simples. Sob certas restrições, como ausência de nutrientes

ou acúmulo de metabólitos indesejáveis, entrando em processo de esporulação durante a fase estacionária (YAMAMOTO & DEAN, 2000).

No início da esporulação Bt sintetiza uma grande quantidade de proteínas com atividade inseticida. As proteínas acumuladas formam um corpo de inclusão cristalina, razão pela qual elas são denominadas Cry (YAMAMOTO & DEAN, 2000). Estas toxinas são codificadas por genes *cry* e sua toxicidade está ligada à região N-terminal das cadeias polipeptídicas, enquanto que a porção C-terminal determina a forma da estrutura do cristal (LI et al., 1991).

O mecanismo de ação das proteínas Cry de *B. thuringiensis* envolve a solubilização do cristal no intestino médio do inseto, processamento proteolítico da protoxina por proteases presentes no intestino médio, ligação da toxina Cry a receptores no intestino médio e inserção da toxina na membrana apical para criar canais ou poros (SCHNEPF et al., 1998).

Um inseto suscetível deve ingerir esporos + cristais para que esses se tornem ativos. Os cristais são solubilizados em pH alcalino, originando as protoxinas que em presença de enzimas digestivas (proteínases) são convertidas em quatro ou mais polipeptídeos tóxicos (δ -endotoxinas). As toxinas hidrolizadas cruzam a membrana peritrófica e 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 e eventual ruptura e desintegração das células do intestino médio. O inseto também pode morrer por inanição, uma vez que pouco tempo após a infecção o inseto cessa a alimentação (COPPING & MENN, 2000).

As etapas da patologia de Bt sobre insetos são descritas a seguir: aumento da absorção de glicose e início dos sintomas histopatológicos (1-5 minutos); paralisia do intestino médio, cessa a alimentação, membrana apical permeável a corantes, aumento do volume e formação de vesículas nas células, aumento do pH da hemolinfa e redução do pH do lúmen (5-10 minutos); aumento do fluxo e concentração de K^+ na hemolinfa, diminuição do transporte de glicose e leucina para hemolinfa, colapso metabólico celular (10-30 minutos); lise celular e ruptura da

membrana basal, paralisia geral ocorre em 1 a 7 horas; morte por falta de alimento ou septicemia (1-3 dias) (KNOWLES, 1994).

Embora os produtos comerciais disponíveis restrinjam-se ao controle de lepidópteros, dípteros e coleópteros, mais de 1.000 espécies de insetos, pertencentes a diversas ordens de insetos, são suscetíveis a este patógeno (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). Dos 572 lepidópteros suscetíveis ao Bt 83 são noctuídeos, o que demonstra o alto potencial deste entomopatógeno no controle de noctuídeos-praga (Tabela 1).

A eficácia e especificidade das cepas de Bt e suas toxinas no controle de insetos praga, favoreceu a formulação de biopesticidas à base deste patógeno e mais de 100 formulações foram colocados no mercado mundial, desde o primeiro produto lançado na França em 1938, sendo atualmente responsáveis por mais de 90% do faturamento com bioinseticidas. O continente americano é responsável por 50% deste mercado, principalmente os Estados Unidos e Canadá e a América Latina representa apenas 8 a 10% do total (TAMEZ-GUERRA et al., 2000).

Tabela 1- Espécies de insetos suscetíveis a *Bacillus thuringiensis* (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000)

Ordem	Número de espécies
Lepidoptera (Noctuidae)	572 (83)
Diptera	266
Coleoptera	106
Hymenoptera	62
Hemiptera	48
Siphonaptera	7
Orthoptera	6
Isoptera	5
Neuroptera	4
Thysanoptera	3
Total	1.079

2.3 O PARASITÓIDE DE OVOS *Trichogramma*

O gênero *Trichogramma* é o maior da família Trichogrammatidae, com aproximadamente 210 espécies descritas. São exclusivamente parasitóides de ovos, com inúmeros hospedeiros, principalmente Lepidoptera (PINTO, 2006). Na América do Sul, 38 espécies têm sido registradas (ZUCCHI & MONTEIRO, 1997; QUERINO & ZUCCHI, 2003) enquanto no Brasil se encontram no mínimo 25 espécies (QUERINO & ZUCCHI, 2003).

As espécies de *Trichogramma* são de tamanho pequeno, com cerca de 0,2 a 1,5 mm, são solitárias ou gregárias, endoparasitóides primários de ovos de insetos (PINTO, 1997). *Trichogramma pretiosum* Riley (1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) é dentre essas, a mais comum em diferentes regiões. E no Brasil esta espécie tem sido registrada nas regiões Centro-Oeste, Nordeste, Sul e Sudeste. Na região Sudeste encontra-se o maior número de registro desta espécie (QUERINO, 2002).

O uso de *Trichogramma* em programas de controle biológico de insetos é desenvolvido principalmente pela possibilidade de criação massal em laboratório primeiramente em ovos de *Sitotroga cerealella* Olivier (1819) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Anagasta kuehniella* Zeller (1879) (Lepidoptera: Pyralidae). Flanders, em 1926, iniciou os trabalhos de multiplicação massiva com *Trichogramma* sobre ovos de *S. cerealella*, técnica que se dispersou rapidamente em diversos países (NAVARRO, 1998).

No Brasil, a utilização de *Trichogramma* spp. é pequena se comparado com outros países (PARRA et al., 2004), o caso mais relevante de controle biológico aplicado com a utilização deste parasitóide, refere-se ao uso de *T. pretiosum* para o controle da traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), importado da Colômbia e depois criado em ovos de *S. cerealella* pela Embrapa Semi-Árido em Petrolina (HAJI et al., 2002).

A escolha de agroquímicos seletivos que controlem as pragas sem causar efeitos negativos sobre os organismos benéficos, deve ser estudada, para que não limite a utilização de *Trichogramma*. Assim, são necessários testes padronizados de seletividade, com base nas normas da IOBC (International Organization of Biological

Control), para se ter sucesso nas liberações. Alguns estudos compararam a relativa toxicidade de agroquímicos, incluindo inseticidas, fungicidas e herbicidas com vistas à indicação dos produtos mais seletivos em casos de liberação dos parasitóides (HASSAN, 1992; LI et al., 1993).

As espécies de *Trichogramma* são holometabólicas e seu desenvolvimento embrionário e larval ocorre no interior do ovo de outros insetos e são apnêusticos, sendo as exigências de oxigênio, durante a fase larval, muito baixas (DE LA TORRE, 1993). O processo de desenvolvimento passa pela fase de ovo, larva, pré-pupa e pupa. Na fase de pupa, com o desenvolvimento do parasitóide, o ovo do hospedeiro torna-se escuro em virtude da esclerotização da cutícula, sendo uma característica marcante de parasitismo por *Trichogramma* (CÔNSOLI et al., 1995).

O modo de reprodução pode ser arrenotoca e telítoca, sendo que o primeiro é mais comum, onde todos os ovos fertilizados produzem fêmeas diplóides e ovos não fertilizados produzem machos haplóides, o modo de reprodução telítoca, ou partenogênese completa, se caracteriza pelo fato de ovos fertilizados e não fertilizados produzirem fêmeas diplóides. Entre espécies de *Trichogramma* existem duas formas de telitoquia: reversível (associada a infecções microbianas) e a não reversível (STOUTHAMER; LUCK, HAMILTON, 1990). Nas espécies que apresentam partenogênese completa, a telitoquia é causada por α -proteobactérias do gênero *Wolbachia* conhecidas por induzir partenogênese em várias espécies de *Trichogramma* (STOUTHAMER et al., 1993; PINTO & STOUTHAMER, 1994).

O número de ovos colocados pelo parasitóide e a razão sexual são variáveis. O primeiro varia em virtude da qualidade e do volume do ovo do hospedeiro. E a razão sexual é influenciada pela temperatura, umidade, idade da fêmea, da wolbachia (α -proteobactérias) e pelo hospedeiro. Sendo este último o mais importante, pois há o reconhecimento da idade do ovo antes da oviposição e também pela competição de qualidade de nutrientes no interior do hospedeiro (VINSON, 1997).

Estudos que antecedam a liberação dos parasitóides devem ser realizados, para definição de espécies e/ou linhagens a serem liberadas, em função de seus parâmetros biológicos e comportamentais. Uma vez que a estação de liberação seja definida, a habilidade de dispersão do parasitóide deve ser avaliada para determinar o número de pontos de liberação (LOPES 1988; SÁ et al., 1993; ZACHRISSON &

PARRA, 1998). A forma de liberação pode ser bem simples, através da liberação de adultos de containers de plástico ou vidro, andando através do campo, ou de uma forma mais sofisticada, por avião, utilizando cápsulas biodegradáveis que permitam que os parasitóides saiam, mas previnam o ataque de predadores. (PARRA & ZUCCHI, 2004).

O número de parasitóides a ser liberado deve ser definido em laboratório, testes de campo e semi campo, evitando-se assim, a redução na eficiência de *Trichogramma*, devido à competição intra específica. Tal fenômeno é explicado pela diminuição da probabilidade do parasitóide encontrar um ovo não parasitado, à medida que a densidade do inimigo natural aumenta. Portanto, a densidade do hospedeiro numa determinada cultura e mesmo em diferentes variedades, tem papel preponderante na definição do número de parasitóides a serem liberados (KNIPLING, 1977).

Em citrus e em outras plantações de frutas liberações variam de 70.000 a 3,8 milhões de parasitóides/ha, ou 9.000 a 50.000 parasitóides/planta (HASSAN et al., 1988; MILLS et al., 2000). Em muitos países, números fixos de parasitóides são liberados pela facilidade, sem levar em consideração a população existente da praga, o que poderia ser uma das razões para o insucesso do parasitóide (PARRA & ZUCCHI, 2004).

2.4 INTERAÇÃO *Bacillus thuringiensis* x *Trichogramma* x Noctuidae

É comum em programas de Manejo Integrado de Pragas, a interação *Trichogramma* e *Bacillus* como agentes de controle como, por exemplo, na cultura do tomate no México, Colômbia e 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 esses não podem ser desprezados e estudos são necessários em regiões onde essas táticas são empregadas em conjunto ou têm potencial de uso. Generalizações a respeito da interação *Bt* x *Trichogramma* x insetos-alvo são difíceis

devido ao grande número de isolados existentes (mais de 60.000), dessa forma cada caso deve ser analisado separadamente (GLARE & O'CALLAGHAN, 2000).

Pratissoli et al. (2006) e Polanczyk et al. (2006) estudaram o efeito de isolados de *Bacillus thuringiensis* sobre o parasitóide 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 *Anagasta kuehniella*. Estes resultados sugerem a necessidade de estudos detalhados sobre a interação *Bt* e *Trichogramma*.

Apesar dos produtos à base de *Bt* corresponderem a menos de 1% do mercado mundial de inseticidas, Glare & O'Callaghan (2000) salientam a importância de estudos sobre o impacto ambiental deste entomopatógeno, visando principalmente demonstrar a sua capacidade de substituir ou interagir com os inseticidas convencionais, minimizando os riscos ambientais. Hansen & Salamiou (2000) ressaltam que os riscos em utilizar *Bt* devem ser sempre comparados aos riscos de utilizar agrotóxicos, com impacto reconhecidamente maior sobre o ambiente. Glare & O'Callaghan (2000) consideram que generalizações a respeito da interação *Bt* — *Trichogramma* - insetos-alvo são difíceis devido ao grande número de isolados existentes (mais de 60.000) e que cada caso deve ser analisado separadamente e analisado com muito cuidado, como demonstrado nas Tabelas 2 e 3.

As Tabelas 2 e 3 demonstram que os quatro dos mais importantes noctúdeos pragas são suscetíveis a diferentes linhagens/subespécies de *Bt* e que algumas destas subespécies tem ou não efeito sobre *Trichogramma* spp.

Tabela 2 — Atividade de *Bacillus thuringiensis* (Bt) para *Anticarsia gemmatalis*, *Helicoverpa zea*, *Heliothis virescens* e *Spodoptera frugiperda* (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000)

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

Tabela 3 - 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 euproctidus</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>

2.5

CAPÍTULO 1**Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)****RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo avaliar as características biológicas de onze linhagens de *Trichogramma pretiosum* criados em ovos de *Anticarsia gemmatalis* visando selecionar aquela com melhor desempenho, para utilização no manejo dessa praga. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 15 repetições. Foram individualizadas 15 fêmeas de cada linhagem em tubos de Duran. Cartelas de cartolina azul foram utilizadas para a fixação dos ovos de *A. gemmatalis*, que foram oferecidas as fêmeas do parasitóide por 24 horas. Após esse período as fêmeas foram retiradas dos tubos e as cartelas foram acondicionadas em sacolas plásticas. Após a morte dos descendentes as seguintes características biológicas foram avaliadas: parasitismo, viabilidade, razão sexual e número de indivíduos por ovo. A porcentagem de parasitismo variou entre 53,5 a 5,3%, sendo o maior valor observado para o *T. pretiosum* linhagem (12) e o menor, para *T. pretiosum* linhagem (8). O parâmetro porcentagem de viabilidade foi satisfatório para todas as linhagens ficando acima de 85%. Para a razão sexual as médias obtidas foram satisfatórias variando de 1,0 a 0,9 ficando acima de 0,5 o que é essencial para criação massal do parasitóide. O número de indivíduos por ovo variou entre 2,04 a 0,87. *T. pretiosum* (12) foi à linhagem de melhor desempenho em laboratório quando criada sobre ovos de *A. gemmatalis*, devido os maiores valores observados no parasitismo.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, parasitismo, lagarta da soja.

**Selection of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:
Trichogrammatidae) lineages for *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera:
Noctuidae) control**

ABSTRACT

This work had as objective to evaluate the biological characteristics of eleven lineages of *Trichogramma pretiosum* reared on *Anticarsia gemmatalis* eggs aiming to select the one with best performance, to use in the management of the pest. The experiment was carried out on entirely randomized design, with 15 replications. Fifteen females of each lineage were individualized in Duran tubes. Blue paper cards were used for the fixation of *A. gemmatalis* eggs, which were offered to the parasitoid females for 24 hours. After this period the females were withdrew from the tubes and the cards were arranged in plastic bags. After the descendants death the following characteristics were evaluated: parasitism, viability, sexual ratio and number of individuals emerged from parasitized eggs. The parasitism percentage varied among 53.5 to 5.3%, with the higher observed value to *T. pretiosum* lineage (12) and the smaller to *T. pretiosum* lineage (8). The parameter viability percentage was satisfactory for all the lineages staying above 85%. For the sexual ratio the means obtained were satisfactory varying from 1.0 to 0.9 staying above 0.5 what is essential for the massal rearing of the parasitoid. The number of individuals emerged from parasitized eggs varied from 2.04 to 0.87. *T. pretiosum* (12) was the lineage with best performance in laboratory when reared on *A. gemmatalis* eggs, due to the higher observed values on parasitism beyond reasonable performance on the other evaluated parameters.

KEY WORDS: Biological control, parasitism, velvetbean caterpillar.

3.1 INTRODUÇÃO

A soja constitui uma espécie de grande interesse sócio-econômico, em função dos teores elevados de proteína, da produtividade de grãos e da possibilidade de adaptação a ambientes diversos (XU et al., 1989). No Brasil, o plantio de soja aumentou significativamente, em área e produção, a partir de 1970 no Sul e expandiu para as demais regiões do país. Entretanto, dentre os fatores que contribuem para limitar o avanço e a produção da soja no país destacam-se os insetos-praga, que podem atacar as folhas, as hastes ou as raízes da planta de soja. (MOSCARDI et al., 1999). Dentre as pragas mais importantes na soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae), apresenta-se como a lagarta desfolhadora que acarreta maiores prejuízos para a cultura (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

Com relação ao controle de pragas, deve-se levar em consideração a integração de diversos métodos de controle menos prejudiciais ao homem e ao meio ambiente. O controle biológico é uma das táticas que tem mostrado bons resultados no controle de pragas, principalmente da Ordem Lepidoptera, apresentando alto potencial de sucesso, por meio de liberações inundativas de inimigos naturais, pois se pode reduzir a população das pragas para um nível inferior ao nível de dano econômico, de forma análoga ao uso de agroquímicos (PARRA; ZUCCHI; SILVEIRA NETO, 1987).

Os parasitóides do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) estão entre os mais criados e usados como inimigos naturais no mundo. Todo ano eles são liberados em mais de 16 milhões de hectares em plantações anuais (em sua maior parte) e perenes (HASSAN 1997, LENTEREN 2000). Estes estão entre os insetos mais freqüentemente estudados, com vários livros publicados relatando sua eficiência em controle biológico (PARRA & ZUCCHI 1997).

Estes parasitóides têm sido amplamente utilizados, dentre os insetos utilizados em programas de controle biológico, devido à facilidade de sua criação em hospedeiros alternativos, sua facilidade de multiplicação, além de sua agressividade no parasitismo de ovos de insetos-praga (PARRA, 1997; HAJI et al., 1998).

Em algumas regiões no Brasil, o parasitismo de ovos de *A. gemmatalis* por *T. pretiosum* é algumas vezes superior a 90% (ZACHRISSON, 1997). Seu potencial para o controle de *A. gemmatalis*, é excelente e isso pôde ser observado devido ao fato de que cinco espécies de *Trichogramma* já foram coletadas parasitando esta praga (FOERSTER & AVANCI 1999, AVANCI 2004).

No entanto, diversos trabalhos mostram que, a despeito da aparente inespecificidade de *Trichogramma*, existem espécies ou mesmo linhagens que são mais adequadas para determinados hospedeiros, culturas e condições climáticas. Portanto, estudos que antecedam a liberação dos parasitóides devem ser realizados, para definição de espécies e/ou linhagens a serem liberadas, em função de seus parâmetros biológicos e comportamentais (BUENO, 2008). Assim, deve-se priorizar o emprego de parasitóides mais eficientes, melhor adaptados à cultura e/ou hospedeiro e a diferentes condições climáticas (HASSAN, 1997).

Desta forma, deve-se conhecer os parâmetros biológicos dos parasitóides, quando associados a determinado hospedeiro, para que sua escolha possa ser feita, como exemplo: capacidade e viabilidade de parasitismo, duração do ciclo de desenvolvimento, razão sexual e longevidade do parasitóide. Sendo que essas características podem ser influenciadas por fatores bióticos e abióticos (NOLDUS, 1989).

Assim, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de estudos biológicos com diferentes linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley visando selecionar aquela com melhores características biológicas e com maior potencial de controle, para utilização em programas de manejo integrado de *Anticarsia gemmatalis*, na cultura da soja.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do

Espírito Santo (CCA-UFES) em Alegre, Espírito Santo em câmaras climatizadas a 25 ± 1 °C, $70 \pm 10\%$ UR e fotoperíodo de 12 horas.

Criação e manutenção das linhagens de *Trichogramma pretiosum* e do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella*. Foram utilizadas as onze linhagens de *T. pretiosum* da coleção do NUDEMAFI onde são mantidas com ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) criado com dieta à base de farinha de trigo integral (60%) e de milho (37%) e levedura de cerveja (3%).

A criação de *A. kuehniella* foi realizada em caixas plásticas (30 x 25 x 10 cm) em cujo interior foram colocadas fitas de papelão corrugado (25 x 2 cm). A dieta, previamente homogeneizada, foi distribuída sobre essas fitas e os ovos de *A. kuehniella* colocados aleatoriamente na dieta. Os adultos do inseto 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.

Os adultos das linhagens de *T. pretiosum* foram mantidos em recipientes de vidro (3 x 9 cm) e alimentados com gotículas de mel depositados na parede interna dos mesmos. Ovos do hospedeiro alternativo foram colados com goma arábica a 5% em cartelas de cartolina azul celeste (2,5 x 8 cm), inviabilizados por exposição a lâmpada germicida por 50 minutos e então oferecidos aos parasitóides para sua manutenção. Os frascos foram fechados com filme plástico de PVC para que não ocorresse a fuga dos adultos.

Criação e manutenção de *Anticarsia gemmatalis*. Ovos de *A. gemmatalis* foram obtidos da criação estoque para o processo de seleção da linhagem de *T. pretiosum*. Os ovos foram acondicionadas em potes plásticos de 1.100 mL com a tampa furada e vedada com organza para aumentar a aeração e alimentadas com dieta artificial (Tabela 1).

Adultos foram criados em gaiolas de madeira (40 x 40 x 40 cm) com as laterais teladas e com tampa de vidro em salas climatizadas a 25 ± 2 °C e fotofase de 12h. Esses adultos foram alimentados com dois chumaços de algodão contidos em duas placas de Petri (15 x 1,5 cm) embebidos em solução nutritiva (mel 10,5 g, água

destilada 1,05 L, cerveja 350 ml, sacarose 60 g, nipagin 1,05 g, ácido ascórbico 1,05 g) localizados no interior da gaiola (GREENE et al., 1976). As posturas foram coletadas em folhas de papel branco no interior das gaiolas, as quais foram recortadas e colocadas nos potes de criação com a dieta artificial.

Tabela 1 - Composição da dieta artificial de *Anticarsia gemmatalis* (GREENE et al., 1976)

Componente	Quantidade
Feijão	125 g
Levedo de cerveja	62,4 g
Gérmen de trigo	100 g
Poteína de soja	100 g
Caseína	50 g
Nipagin	5 g
Ácido sórbico	3 g
Ácido ascórbico	6 g
Formaldeído (40%)	6 ml
Solução Vitamínica (niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, biotina e vitamina B ₁₂)	10 ml
Ágar	35 g

Condução do experimento. As linhagens de *T. pretiosum* utilizadas no experimento estão descritas na Tabela 2. Foram individualizadas quinze fêmeas de cada uma das onze linhagens de *T. pretiosum* com até 24 horas de idade, em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) fechados com filme plástico de PVC e alimentadas com uma gotícula de mel puro na parede interna do tubo. Vinte ovos de *A. gemmatalis*, com no máximo 48 horas de desenvolvimento embrionário foram colados em cartolina azul celeste (2,5 x 8 cm) com auxílio de um pincel umedecido e oferecidos por fêmea do parasitóide. O parasitismo foi permitido por 24 horas, após o qual as fêmeas foram retiradas dos tubos de vidro e as cartelas com os ovos acondicionadas em sacos plásticos (4 x 23 cm).

Após a morte dos descendentes, avaliou-se o número de ovos parasitados; ovos com orifício; número de machos e fêmeas. Posteriormente, o número de ovos parasitados e a viabilidade foram expressos em porcentagem; o número total de parasitóides foi dividido pelo número de ovos com orifício, para se determinar o número de parasitóides por ovo e a razão sexual foi determinada através do número de fêmeas em relação ao total de indivíduos na população.

O delineamento experimental para os parâmetros biológicos avaliados foi inteiramente casualizado, com 15 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$) utilizando o programa SAEG 5.0.

Tabela 2 – Linhagens de *Trichogramma pretiosum* utilizadas na presente pesquisa, com seus respectivos locais de coleta

Espécie	Linhagem	Local de Coleta
T. pretiosum	1	Eafa, Alegre ES
T. pretiosum	8	Afonso Cláudio, ES
T. pretiosum	9	Cristalina, GO
T. pretiosum	10	Cristalina, GO
T. pretiosum	11	Cristalina, GO
T. pretiosum	12	Teófilo Otoni, MG
T. pretiosum	13	Paraopeba, MG
T. pretiosum	14	Pedra Preta, MT
T. pretiosum	15	Jaciara, MT
T. pretiosum	16	-
T. pretiosum	17	Rio Verde, GO

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parasitismo. Houve diferença entre as linhagens de *T. pretiosum* (Tabela 3). A linhagem de *T. pretiosum* Tp 12 (Tp – forma como se refere ao *T. pretiosum* no NUDEMAFI) foi mais agressiva ao hospedeiro com 53,5 % de parasitismo. As demais linhagens apresentaram diferenças entre si, e as linhagens que obtiveram menor porcentagem de parasitismo foram Tp17, Tp16 e Tp8 com 8,9; 8,7 e 5,3%, respectivamente. O percentual de parasitismo pode ser o parâmetro de maior importância, visto que, esse percentual é que efetivamente determina a eficiência do controle biológico no campo (BUENO, 2008). Diferenças no potencial de parasitismo entre espécies e/ou linhagens têm sido relatadas (PRATISSOLI et al., 2008) e podem estar relacionadas com a espécie ou linhagem do parasitóide e, principalmente ao hospedeiro utilizado (PRATISSOLI et al., 2004b). Vianna (2009) nas mesmas condições experimentais verificou que *T. pretiosum* parasitou 60% dos ovos de *A. gemmatalis*, o que reforça seu potencial no controle desta praga. Para a seleção de linhagens de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda*, o percentual de parasitismo variou de 27,50 a 89,33, permitindo discriminar as melhores linhagens (BESERRA; DIAS; PARRA, 2003). Ainda ensaios de seleção de espécies de *Trichogramma* mostraram que o percentual de parasitismo de *T. pretiosum*, *T. atopovirilia* e *T. exiguum* para *Helicoverpa zea* foi de 25,2; 63,0 e 43,5 respectivamente (SANTOS JUNIOR, 2009). A porcentagem de parasitismo de *T. pretiosum* foi de 53% quando ovos de *Trichoplusia ni* foram parasitados (MILANEZ, 2009).

Viabilidade. As linhagens Tp12, Tp1, Tp11, Tp14, Tp15, Tp10, Tp9, Tp16 e Tp8 apresentaram viabilidade variando de 96 a 100% não diferindo entre si, enquanto as linhagens Tp13 e Tp17 apresentaram 92,1 e 89,1% de viabilidade (Tabela 3). Todos os resultados são satisfatórios, pois taxas superiores a 85% de viabilidade são consideradas ideais para produção massal de espécies de *Trichogramma* (NAVARRO, 1999). Dados semelhantes foram obtidos para *Helicoverpa zea* quando seus ovos foram parasitados por *T. pretiosum* com 91,6% de viabilidade (PRATISSOLI & OLIVEIRA, 1999). Gonçalves et al., (2003) avaliaram a qualidade de *T. pretiosum* criadas em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lep.: Gelechiidae) e observaram níveis superiores a 89% de viabilidade. Bueno (2008) encontrou

valores de viabilidade de 81,73 a 100% quando testou diferentes linhagens de *T. pretiosum* em ovos de *Pseudoplusia includens*.

Tabela 3 - Parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, (Lepidoptera: Noctuidae). Temp.: $25 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$; UR: $70 \pm 10\%$ e fotofase :14h.

<i>T. pretiosum</i> Linhagens	Parasitismo (%)	Viabilidade (%)	Razão Sexual	Indivíduos por ovo
12	53,5 \pm 2,12 A	96,0 \pm 1,60 A	0,90 \pm 0,02 B	1,40 \pm 0,04 B
1	49,1 \pm 1,53 B	97,9 \pm 1,42 A	0,96 \pm 0,02 A	1,84 \pm 0,11 A
11	48,2 \pm 1,39 B	100 \pm 0,00 A	0,90 \pm 0,02 B	1,70 \pm 0,05 A
14	24,7 \pm 1,30 C	98,5 \pm 1,33 A	1,00 \pm 0,00 A	2,04 \pm 0,14 A
13	24,6 \pm 2,15 C	92,1 \pm 3,23 B	1,00 \pm 0,00 A	0,95 \pm 0,06 C
15	22,1 \pm 1,14 C	99,9 \pm 0,05 A	1,00 \pm 0,00 A	1,88 \pm 0,18 A
10	21,5 \pm 1,57 C	98,9 \pm 0,76 A	1,00 \pm 0,00 A	1,74 \pm 0,13 A
9	17,9 \pm 1,03 D	100 \pm 0,00 A	1,00 \pm 0,00 A	1,54 \pm 0,12 A
17	8,9 \pm 1,37 E	89,1 \pm 3,66 B	0,98 \pm 0,01 A	0,94 \pm 0,08 C
16	8,7 \pm 0,92 E	97,2 \pm 1,15 A	0,98 \pm 0,01 A	0,87 \pm 0,14 C
8	5,3 \pm 0,14 E	99,7 \pm 0,11 A	0,98 \pm 0,01 A	1,22 \pm 0,09 B

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,05$).

Razão Sexual. As linhagens Tp1, Tp14, Tp13, Tp15, Tp10, Tp9, Tp17, Tp16 e Tp8 apresentaram razão sexual de 0,96 a 1,0, sem diferenças entre si. As linhagens Tp12 e Tp11 apresentaram os menores valores com 0,90 para cada. A razão sexual ideal deve ser superior a 0,5, para criação massal de espécies de *Trichogramma* que representa a emergência de, pelo menos, um indivíduo fêmea por macho emergido (NAVA et al., 2007; DIAS et al., 2008). Em programas de controle biológico quanto maior o número de fêmeas maior o potencial de controle (WAKEIL et al., 2008). Com relação ao parasitismo natural em ovos de *A. gemmatalis* por *T. pretiosum*, experimentos em campo mostraram uma razão sexual de 0,69 (MARION, FOERSTER, CAÑETE, 2005)

Indivíduos por ovo. Houve diferença para o número de indivíduos por ovo sendo que as linhagens 14, 15, 1, 10, 11 e 9 não diferiram entre si apresentando os

maiores valores que variaram de 2,04 a 1,54. As linhagens 13, 17 e 16, não diferiram entre si e apresentaram os menores valores que variaram de 0,95 a 0,87. Estudos mostram que é desejável a emergência de menor número de parasitóides por ovo, pois maior quantidade de nutrientes estará disponível para o seu desenvolvimento, gerando indivíduos mais fortes e competitivos. O aumento no número de adultos por ovo pode reduzir a eficiência de controle, com uma menor quantidade de ovos parasitados por fêmea do parasitóide que, ao invés de usar sua capacidade de parasitismo em diferentes ovos do hospedeiro, acaba por parasitar repetitivamente o mesmo ovo (BESERRA, 2000; BESERRA 2003). O desenvolvimento de um grande número de *Trichogramma* em um único ovo do hospedeiro resulta em indivíduos de menor tamanho e de baixa qualidade, devido a competição intraespecífica (SUZUKI et al., 1984). Vianna (2009) encontrou de 1,53 a 2,29 adultos de diferentes linhagens de *T. pretiosum* emergidos de ovos de *A. gemmatalis*. Milanez (2009) encontrou de 1,5 a 2,4 adultos de *T. pretiosum* emergidos de ovos de *T. ni*. Valores inferiores foram encontrados para emergência de adultos de *T. pretiosum* de ovos de *P. includens* (BUENO, 2008)

A fecundidade de *Trichogramma* pode está ligada ao seu tamanho, e este irá depender do número de parasitóides por ovo e do tamanho do hospedeiro (VINSON 1997). Elevadas taxas de parasitismo observadas em trabalho realizado por Marion et al. (2005) mostraram que *T. pretiosum* pode ter um impacto significativo no controle biológico de *A. gemmatalis* sendo considerada uma das espécies mais promissoras em programas de criação massal para o controle biológico desta praga.

A linhagem Tp12 apresentou melhor desempenho em ovos de *A. gemmatalis*, porém não se pode desprezar as demais linhagens que também se demonstraram satisfatórias em certos parâmetros analisados. Este trabalho mostra a importância em se avaliar além de espécies de *Trichogramma* as linhagens das mesmas devido às variações que estas apresentam entre si.

3.4 CONCLUSÃO

A linhagem Tp12 foi a mais promissora para o controle de *A. gemmatalis*.

CAPÍTULO 2

Patogenicidade e virulência de *Bacillus thuringiensis* para *Anticarsia gemmatalis*

RESUMO

O plantio de soja aumentou significativamente a partir de 1970 no Sul do Brasil e expandiu para as demais regiões do país. Os insetos-praga são uns dos fatores que limitam a produção e a expansão da soja no Brasil. Entre estes destaca-se *Anticarsia gemmatalis*, que é considerada a principal praga da soja, pois causa grandes danos à lavoura, que vão desde o desfolhamento até a destruição completa da planta. A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa para reduzir o impacto ocasionado pela adoção do uso intensivo de produtos químicos nas lavouras. Dentre os principais agentes de controle biológico se destaca a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis*, considerada uma boa opção, já que é específica e não prejudicial à saúde humana e ao meio ambiente. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar isolados de *B. thuringiensis* obtidos a partir de amostras de solos e a formulação comercial Dipel, visando sua utilização em programas de manejo de *A. gemmatalis*, analisando a suscetibilidade e a toxicidade destes isolados através de estimativas da CL_{50} das lagartas. Foram utilizados vinte e três isolados de Bt. Dentre estes, cinco isolados 80, 997, 716, 633 e 1054, além do Dipel ocasionaram mortalidade superior a 90%, os demais isolados proporcionaram mortalidade inferior a 78%. A CL_{50} para lagartas de *A. gemmatalis* variou conforme o isolado utilizado de 8×10^7 a $1,9 \times 10^8$, não foi possível selecionar um isolado mais virulento devido à sobreposição dos intervalos de confiança.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, bactéria entomopatogênica, Soja.

Patogenicity and virulence of *Bacillus thuringiensis* to *Anticarsia gemmatalis***ABSTRACT**

Soybean planting has increased significantly since 1970 in the South of Brazil and expanded to the other regions of the country. The insect pests are one of the factors that restrict the production and expansion of soybean in Brazil. Among these *Anticarsia gemmatalis* is detached, this is considered to be the most important pest on soybean, because it causes big damage to the crop, which goes from defoliation to the complete destruction of the plant. The use of biological control agents is an alternative to reduce the impact caused by the adoption of the intensive use of chemical products on the crops. Among the most important biological control agents the bacterium *Bacillus thuringiensis* is detached, and it is considered to be one good option, since it is specific and it is not harmful to human health and to the environment. The objective of this work was to evaluate *B. thuringiensis* isolates obtained from soil samples and the commercial formulation Dipel, aiming their use on *A. gemmatalis* management programs, analyzing susceptibility and toxicity of these isolates through the larvae CI_{50} estimations. Twenty three Bt isolates were used. Among these, five isolates 80, 997, 716, 633 e 1054, and Dipel caused mortality over 90%, the other isolates promoted mortality below 78%. The CL_{50} for *A. gemmatalis* varied according the used isolate from 8×10^7 to $1,9 \times 10^8$, it was not possible to select the most virulent isolate due to the confidence intervals sobrepositions.

KEY WORDS: Biological control, entomopathogen bacterium, Soybean.

4.1 INTRODUÇÃO

A *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera Noctuidae), é uma das principais pragas desfolhadoras da cultura da soja (COURSEUIL et al., 1974). Ocorre desde o sul de Goiás e Mato Grosso até o Rio Grande do Sul (PANIZZI et al., 1977). Altas infestações desse inseto em lavouras de soja podem comprometer a produção em função do nível de infestação e do estágio fenológico da cultura (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000).

Para o controle dessa praga é utilizada uma grande quantidade dos inseticidas químicos (KOGAN et al., 1977). Estes, além de serem prejudiciais ao meio ambiente e ao homem, são, na maioria das vezes, de alto custo para o agricultor. Além disso, o uso contínuo dos mesmos ingredientes ativos resulta no surgimento de populações resistentes o que tem levado a continuidade de trabalhos com objetivo de testar novos produtos e/ou formulações visando o controle destas pragas (BONADIMAN, 2008).

O controle biológico de pragas utilizando microorganismos é, no entanto, uma alternativa ao uso de inseticidas químicos. Na busca de novas alternativas visando à redução ou substituição dos inseticidas, os entomopatógenos possuem excelente potencial para serem empregados como método que tem o objetivo de minimizar o impacto das pragas sobre a produção agrícola. (POLANCZYK et al., 2005).

A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) destaca-se no cenário mundial desde 1938, quando o primeiro produto formulado com este patógeno foi lançado na França (POLANCZYK, 2004).

O modo de ação desse microrganismo está relacionado à solubilização das proteínas Cry no intestino dos insetos suscetíveis. Esse processo resulta na liberação de fragmentos tóxicos que se ligam a receptores específicos na membrana do epitélio intestinal levando a formação de poros e ao desequilíbrio osmótico da célula. O inseto morre por inanição ou por septicemia (AROSON & SHAI, 2001; BRAVO et al., 2002; FIUZA, 2004).

Além da patogenicidade e virulência desse patógeno contra insetos praga, outros aspectos como os efeitos subletais sobre os indivíduos sobreviventes, embora

difíceis de detectar, certamente ocorrem e representam um importante parâmetro, que auxilia na avaliação de sua atividade tóxica (POLANCZYK, 2004).

Esta bactéria entomopatogênica pode ser considerada como o agente biológico de maior potencial para o controle de insetos-praga florestais, agrícolas e vetores de doenças, devido à especificidade das δ -endotoxinas aos insetos e invertebrados-alvos, fazendo deste agente um componente chave em estratégias de manejo integrado de pragas e controle de vetores de doenças (SCHNEPF et al., 1998).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi selecionar isolados de Bt com elevada atividade tóxica contra *A. gemmatalis* para utilização em programas de manejo integrado do inseto na cultura da soja.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os testes de patogenicidade, a estimativa da CL_{50} e a criação de *A. gemmatalis* foram realizados no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) em Alegre, Espírito Santo.

Criação do hospedeiro. As lagartas foram obtidas da criação contida no NUDEMAFI. Ovos de *A. gemmatalis* foram acondicionados em potes plásticos de 1,1 L com a tampa furada e vedada com organza para aumentar a aeração, as lagartas foram alimentadas com dieta artificial constituída por 125 g de feijão, 62,4 g de levedo de cerveja, 100 g de gérmen de trigo, 100 g de proteína de soja, 50 g de caseína, 35 g de ágar, 5 g de nipagin, 6 g de ácido ascórbico, 3 g de ácido sórbico, 6 mL de formol a 40% e 10 ml de solução vitamínica (niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, biotina e vitamina B₁₂) (GREENE et al., 1976).

Adultos foram criados em gaiolas de madeira (40 x 40 x 40 cm) com as laterais teladas e com tampa de vidro em salas climatizadas a $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h. Esses adultos foram alimentados com dois chumaços de algodão contidos em duas placas de Petri (15 x 1,5 cm) embebidos em solução nutritiva (mel 10,5 g, água

destilada 1,05 L, cerveja 350 ml, sacarose 60 g, nipagin 1,05 g, ácido ascórbico 1,05 g) localizados no interior da gaiola (GREENE et al., 1976). As posturas foram coletadas em folhas de papel branco no interior das gaiolas, as quais foram recortadas e colocadas nos potes de criação com a dieta artificial.

Obtenção dos isolados. Foram utilizados vinte e três isolados de *B. thuringiensis* escolhidos ao acaso no banco de entomopatógenos do NUDEMAFI, e a formulação comercial Dipel (*Bt kurstaki*). Os isolados desta coleção foram estocados na forma de fitas de papel filtro impregnados com uma suspensão de esporos, e mantidos a 4 °C. Os isolados de *Bt* utilizados foram coletados em solos de diferentes locais do Brasil (Tabela 1).

Os isolados foram multiplicados em meio de cultura BHI (“Brain Heart Infusion” ou Infusão de Cérebro e Coração - Biobrás) a 28 °C, sob agitação orbital a 180 rpm por 72 h para um crescimento padrão dos mesmos. Após a lise bacteriana, a mistura contendo esporos, cristais e células vegetativas foram transferidas para tubos de Falcon com 5 mL de água destilada e esterilizada e foram submetidas a 3 centrifugações consecutivas de 5.000 rpm por 20 min. Após a última centrifugação, o material foi re-suspenso em água destilada esterilizada e utilizado no experimento. Em seguida, uma alíquota de 1 mL da suspensão foi diluída 100 vezes em água destilada, e a concentração de esporos determinada por meio de leitura em câmara de Neubauer conforme método descrito em Alves e Moraes (1998). O *Bt kurstaki* foi obtido de formulação comercial e utilizado conforme recomendações do fabricante.

Tabela 1 – Isolados de *Bacillus thuringiensis* e seus respectivos locais de coleta.

Isolados de Bt	Local de Coleta
R251	-
R239	-
937H2	Uberaba - MG
101	-
287	-
814B	Ervália - MG
105	-
SP13	-
R238	-
1005	Uberaba - MG
879C	-
1034F	Sacramento - MG
1054	Coqueiral - MG
633	Ervália - MG
997	Uberaba - MG
716	Indefinido
80	-
8326H	-
858H	Patos de Minas - MG
277L	-
100	-
SP5	-
5244	-

Testes de patogenicidade. Os bioensaios foram realizados espalhando-se 150 µl da suspensão de *Bt* contendo 3×10^8 esporos/mL de cada um dos 23 isolados em potes descartáveis contendo dieta artificial previamente distribuída. Após a absorção e evaporação do excesso de água, 10 lagartas de primeiro ínstar de *A. gemmatalis*, distribuídas em 10 repetições, foram acondicionadas nos potes descartáveis que continham a dieta. Para o controle foi aplicado água destilada e esterilizada na superfície da dieta.

Os bioensaios foram mantidos em câmara climatizada a $25 \pm 1,0$ °C, $70 \pm 10\%$ de U.R e 14 h de fotofase, sendo avaliados diariamente por sete dias. O critério de mortalidade usado para as lagartas foi o de estar imóvel e escurecida ou que não conseguisse se locomover uma distância igual a do seu corpo. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa SAEG 5.0. A mortalidade corrigida foi calculada pela fórmula de Abbott (1925).

Testes para estimativa da CL₅₀. Biosensaio para estimar os valores de CL₅₀ foram realizados apenas com os isolados de *Bt* que causaram mortalidade acima de 90% nos testes de patogenicidade. Estes ensaios foram conduzidos com a mesma metodologia e condições descritas acima. A amplitude das concentrações testadas foi pré-estabelecida em ensaio preliminar em valores que atendessem às exigências da análise de Probit (5 a 95% de mortalidade). Para cada isolado foram testadas seis concentrações espaçadas logaritmicamente e controle (água destilada e autoclavada), com 10 lagartas, distribuídas em 10 repetições para cada concentração. Os bioensaios de estimativa da CL₅₀ foram avaliados a cada 24 h, até o sétimo dia após a aplicação. A concentração letal (CL₅₀) foi calculada pela análise de Probit utilizando o programa Polo-PC (LEORA SOFTWARE, 1987).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Bioensaios de patogenicidade de *Bacillus thuringiensis* em *Anticarsia gemmatalis*. A patogenicidade dos isolados de *B. thuringiensis* e o produto comercial Dipel apresentaram resultados significativos, onde os isolados 716, 633, 80, 1054, 997 e o Dipel proporcionaram mortalidade superior a 90%. Os demais isolados apresentaram percentuais abaixo de 78%, não sendo promissores para o controle de *A. gemmatalis* (Tabela2). Resultados de superioridade ou semelhança de estirpes contra lepidópteros com o padrão Dipel, já haviam sido relatados por Souza et al. (1999).

Barreto (2008) mostrou que entre 341 isolados da bactéria avaliados em *A. gemmatalis* apenas 10 mostraram ação entomocida para esta. Em outro estudo, entre nove isolados testados contra lagartas de *A. gemmatalis* quatro apresentaram mortalidade igual ou superior que o padrão Dipel (BOBROWSKI, 2001). De 41 isolados de *Bt* 44% dos isolados produziram taxa de mortalidade em *A. gemmatalis* maior que 70% (CORINA, 2006). Da Silva et. al (2004) mostraram que três isolados testados causaram mortalidade de 100% em lagartas de *A. gemmatalis*.

Tabela 2 – Mortalidade corrigida (%) (\pm EP) de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) inoculadas em dieta artificial contendo suspensão de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*, a $25 \pm 1,0$ °C, U.R. $65 \pm 10\%$ e fotofase de 14h

Isolado	Mortalidade
Dipel	97,94 \pm 2,1 a
716	95,88 \pm 2,7 a
633	95,88 \pm 3,1 a
80	95,88 \pm 4,1 a
1054	93,88 \pm 6,1 a
997	92,80 \pm 3,5 a
466	77,56 \pm 2,0 b
676	77,34 \pm 2,1 b
537	74,75 \pm 2,7 b
1028	68,38 \pm 3,2 b
984	61,24 \pm 5,2 c
238	57,77 \pm 2,8 c
273	57,76 \pm 4,2 c
167	54,67 \pm 2,8 c
725	49,00 \pm 3,4 d
101	48,00 \pm 4,4 d
100	47,44 \pm 3,9 d
478	46,00 \pm 3,4 d
816	45,00 \pm 3,4 d
287	44,00 \pm 3,1 d
467	41,00 \pm 3,1 d
531	12,66 \pm 2,6 e
105	4,85 \pm 3,3 e
637	1,92 \pm 1,9 e

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferenciam entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Os resultados obtidos nos testes de patogenicidade salientam a necessidade de realizações dos mesmos para que se possa determinar os isolados que sejam eficientes no controle do inseto em questão. A variação na eficiência dos isolados testados neste estudo, pode ser explicada por uma série de fatores, relacionados ou não, ligados ao modo de ação deste patógeno, como: dissolução do cristal, ativação da protoxina e ligação da toxina ativada a receptores no epitélio intestinal, sendo que, este último mostra uma maior complexidade funcional e é, geralmente, determinante no desenvolvimento da doença no inseto-alvo (PEYRONNET et al., 1997).

Com relação a especificidade, algumas toxinas de Bt podem ligar-se ao(s) receptor(es) sem, no entanto, esta ligação ser suficiente para causar a morte do inseto (POLANCZYK, 2004). Embora a afinidade pelos receptores seja o principal fator que determine o nível de suscetibilidade de uma espécie para as toxinas Cry,

foi observado que para *Heliiothis virescens* a ativação da protoxina pelas proteases é o principal fator determinante para eficiência do patógeno. As enzimas digestivas da população de insetos resistentes são capazes de degradar as toxinas de modo tal que diminui significativamente a quantidade de toxina ativa no lúmen do intestino médio em um determinado momento, reduzindo a toxicidade (FORCADA et al., 1996).

Estimativa da Concentração Letal Média (CL_{50}). Para estimar a concentração letal média dos isolados selecionados com o teste de patogenicidade anteriormente, foi realizado ensaio preliminar para determinar as concentrações a serem utilizadas no experimento: 1×10^7 , $6,8 \times 10^7$, $1,26 \times 10^8$, $1,84 \times 10^8$, $2,4^2 \times 10^8$ e 3×10^8 esporos/mL, logaritmicamente espaçadas.

A concentração letal requerida para ocasionar a mortalidade de 50% da população de *A. gemmatalis* variou de $8,1 \times 10^7$ a $1,9 \times 10^8$ esporos/mL de *B. thuringiensis*. Com relação ao Dipel a concentração de $8,0 \times 10^7$ esporos/mL foi necessária para ocasionar a morte de 50% das lagartas de *A. gemmatalis*. De acordo com o intervalo de confiança houve resposta semelhante entre os isolados 80, 633, 997, 1054 e o Dipel. O isolado 716 diferiu dos isolados 633 e 80, sendo que não houve diferença entre este e os isolados 997, 1054 e Dipel, portanto não foi possível selecionar um isolado mais virulento dentro do grupo (Tabela 3).

Tabela 3 - Dados de inclinação das curvas de concentração-mortalidade, concentração letal (CL₅₀), número de graus de liberdade (GL) e teste qui-quadrado (χ^2) dos isolados de *B. thuringiensis* em lagartas de *S. frugiperda*.

Isolado	n ¹	Inclinação ± EPM ²	CL ₅₀ (esporos/ml) (IC95%) ³	GL	χ^2
80	500	1,53 ± 0,165	8,1 x 10 ⁷ (4,9 x 10 ⁷ - 1,2 x 10 ⁸)	3	4,52
633	500	1,41 ± 0,161	9,4 x 10 ⁷ (7,5 x 10 ⁷ - 1,1 x 10 ⁸)	3	2,87
716	400	0,863 ± 0,157	1,9 x 10 ⁸ (1,3 x 10 ⁸ - 3,6 x 10 ⁸)	2	0,64
997	500	3,35 ± 0,303	1,2 x 10 ⁸ (1,0 x 10 ⁸ - 1,3 x 10 ⁸)	3	2,64
1054	500	1,03 ± 0,140	1,2 x 10 ⁸ (9,3 x 10 ⁷ - 1,7 x 10 ⁸)	3	0,64
Dipel	400	1,76 ± 0,198	8,0 x 10 ⁷ (2,3 x 10 ⁷ - 1,5 x 10 ⁸)	2	3,73

¹n: Número de insetos usados no teste; ²EPM: Erro-padrão da média; ³IC95%: Intervalo de confiança das CL₅₀ a 95% de probabilidade.

Da Silva et al. (2004) estimaram a CL₅₀ de três isolados de Bt (S701, S764, S1265, e do formulado Dipel para lagartas de *A. gemmatalis* e encontraram que o isolado mais efetivo (S1265) apresentou CL₅₀ de 4,08 x 10⁵ esporos/mL enquanto foi necessário 1,8 x 10⁶ esporos/ml de Dipel para ocasionar a mortalidade 50% da população de *A. gemmatalis*.

A mortalidade dos insetos variou conforme isolado e concentração utilizada o que sugere a realização de estudos para que se determine doses diferenciadas do isolado para o controle da praga. Ignoffo et al. (1977), constataram que lagartas de *A. gemmatalis* foram 12 vezes mais suscetíveis à bactéria em relação a lagartas de *Pseudoplusia includens*. A diferença de suscetibilidade tem sido constatada em diversos trabalhos (LUTTRELL et al., 1982, ABBAS ALI & YOUNG, 1993).

Alguns trabalhos realizados para estimativa da CL₅₀ utilizam proteínas purificadas de *B. thuringiensis* para assegurar que o resultado expresse a atividade somente para determinadas toxinas Cry, evitando a influência de outras toxinas, como Vip's e exotoxinas. Porém, esse não foi o objetivo deste trabalho que foi conduzido utilizando a suspensão, provavelmente, contendo mais de uma toxina (ARANDA et al., 1996, BOHOROVA et al., 1997).

4.4 CONCLUSÃO

Entre vinte e três isolados testados, cinco (80, 633, 716, 997, 1054) causaram mortalidade superior a 90% em *A. gemmatalis* e a estimativa da CL₅₀ mostrou que os isolados apresentam virulência semelhante.

CAPÍTULO 3

Interação entre inimigos naturais: *Bacillus thuringiensis* e *Trichogramma pretiosum* no controle biológico de *Anticarsia gemmatalis*

RESUMO

Com o objetivo de estudar o efeito da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) sobre fêmeas adultas de *Trichogramma pretiosum* no controle de *Anticarsia gemmatalis*, foram realizados dois experimentos onde no primeiro foram utilizados cinco isolados de Bt 80, 633, 716, 997, 1054 e o produto comercial Dipel misturados ao alimento fornecido para o parasitóide e o segundo consistiu na imersão de cartelas de ovos de *A. gemmatalis* nesses mesmos isolados de Bt e Dipel. Para o primeiro experimento as suspensões dos isolados e o Dipel foram misturados em gotícula de mel (proporção 1:1), como fonte de alimento e mel puro como testemunha, e, em seguida, foram oferecidas simultaneamente cartelas com ovos do hospedeiro para o parasitismo. Para o segundo experimento cartelas com ovos de *A. gemmatalis* foram mergulhadas nas suspensões e no Dipel, sendo que a testemunha consistiu em cartela de ovos mergulhada em água destilada e em seguida oferecidas para o parasitismo. Foram utilizadas 15 repetições por tratamento para cada experimento. Os experimentos foram mantidos em câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Foram avaliados os parasitismos diários, totais e acumulados, além da sobrevivência dos parasitóides e do número total de ovos parasitados. No primeiro experimento os tratamentos com os isolados 633 e 1054 favoreceram o parasitismo. Porém, no segundo experimento foi observado que os tratamentos com os isolados 716 e 1054 causaram redução na capacidade de parasitismo do *T. pretiosum* Tp12. Dessa forma, o trabalho mostra que Bt fornecido via alimento para adultos de *T. pretiosum* afeta o parasitismo da espécie de forma positiva, no entanto, quando as cartelas de ovos foram mergulhadas nos isolados 716 e 1054, o parasitismo sofreu uma queda o que

mostra a necessidade de realização de trabalhos para que se possa determinar quais possíveis combinações de isolados de Bt podem ser aplicados em conjunto com o *T. pretiosum* em programas de manejo fitossanitário.

PALAVRAS-CHAVE: Inimigos naturais, *Bacillus thuringiensis*, lagarta da soja.

Interaction among natural enemies: *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) *Trichogramma* on *Anticarsia gemmatalis* biological control

ABSTRACT

With the objective of studying the effect of the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) on adults females of *Trichogramma pretiosum* on *A. gemmatalis* control, two experiments were carried out, where on the first one five isolates of *Bt* were used 80, 633, 716, 997, 1054 and the commercial product Dipel mixed to the food offered to the parasitoid and the second one consisted of *A. gemmatalis* egg cards immersion in the same isolates of *Bt* and Dipel. For the first experiment the isolates suspensions and Dipel were mixed in one honey droplet (1:1), as food source and pure honey as the witness and then, cards with the host eggs were simultaneously offered to the parasitism. For the second experiment cards with *A. gemmatalis* eggs were immersed in the suspensions and in Dipel, and the witness consisted of egg cards sank in distilled water and then offered to the parasitism. Fifteen replications were used per treatment for each experiment. The experiments were kept in acclimatized chamber with $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ and photofase of 14h. Daily, total and accumulated parasitisms were evaluated, beyond the parasitoids survival and the total number of parasitized eggs. On the first experiment the treatments 633 and 1054 affected the parasitoids parasitism positively. However, on the second experiment, it was observed that the treatments with the isolates 716 and 1054 caused a reduction on the parasitism capacity of *T. pretiosum* Tp12. The work shows that *Bt* offered to the adults of *T. pretiosum* with food affects the species parasitism positively, however, when the egg cards were immersed in the isolates 716 and 1054, the parasitism suffered a drop what shows the necessity of experiments realization so that it can be determined which are the possible *Bt* isolates combinations that may be applied together with *T. pretiosum* on fitossanitary management programs.

KEY WORDS: Natural enemies, *Bacillus thuringiensis*, velvetbean caterpillar.

5 INTRODUÇÃO

A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Bt) é gram-positiva e forma um cristal paraesporal durante a fase estacionária do seu ciclo de desenvolvimento. Foi inicialmente caracterizada como um patógeno de insetos e sua atividade inseticida é atribuída aos cristais paraesporais. Esta observação levou ao desenvolvimento de bioinseticidas a base de *B. thuringiensis* para o controle de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (SCHNEPF et al., 1998).

Isolados de Bt e/ou bioinseticidas à base desta bactéria têm ação patogênica contra mais de 1.000 espécies de insetos, destacando-se os lepidópteros com 572 espécies suscetíveis (POLANCZYK & ALVES, 2003). Sua alta especificidade e seletividade favorecem a preservação do meio ambiente sendo uma grande vantagem para o agricultor, por outro lado, sua baixa persistência em campo é um dos principais obstáculos à sua utilização em larga escala (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Apesar dos produtos à base de *Bt* favorecerem a preservação do meio ambiente, generalizações, nestes 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).

Atualmente, com relação a parasitóides espécies de *Trichogramma* (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).

É comum em programas de Manejo Fitossanitário a interação desses dois agentes de controle biológico. Embora os efeitos prejudiciais dos bioinseticidas à base de *Bt* sobre os inimigos naturais sejam mínimos e/ou significativamente menores que os dos agrotóxicos, esses não podem ser desprezados e estudos são necessários em

regiões onde essas táticas são empregadas em conjunto ou têm potencial de uso (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000).

Dessa forma o objetivo deste trabalho foi determinar o efeito de diferentes isolados de *Bt* sobre *Trichogramma pretiosum* no controle de *Anticarsia gemmatalis*.

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 da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES) em Alegre, Espírito Santo.

Criação do parasitóide. A linhagem *Trichogramma pretiosum* Riley Tp12 foi selecionada para avaliar o efeito de *B. thuringiensis* (capítulo 1). A população é mantida no NUDEMAFI nas seguintes condições ($25 \pm 0,5^\circ\text{C}$, UR de $65 \pm 5\%$ e fotofase de 14h). A criação de *T. pretiosum* Tp12 foi realizada em ovos do hospedeiro *Anagasta kuehniella* colados com goma arábica 10% em retângulos de cartolina azul celeste de 8,0 x 2,0 cm e inviabilizados por exposição à lâmpada germicida (Parra, 1997).

A criação de *A. kuehniella* foi realizada em caixas plásticas (30 x 25 x 10 cm) em cujo interior foram colocadas fitas de papelão corrugado (25 x 2 cm). A dieta, previamente homogeneizada, foi distribuída sobre essas fitas e os ovos de *A. kuehniella* colocados aleatoriamente na dieta. Os adultos do inseto 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 *Anticarsia gemmatalis*. Os adultos de *A. gemmatalis* foram criados em gaiolas de madeira (40 x 40 x 40 cm) com as laterais teladas e com tampa de vidro em salas climatizadas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotofase de 12h. Esses adultos foram alimentados com dois chumaços de algodão contidos em duas placas de Petri (15 x 1,5 cm) embebidos em solução nutritiva (mel 10,5 g, água destilada 1,05 L, cerveja 350 ml, sacarose 60 g, nipagin 1,05 g, ácido ascórbico 1,05 g) localizados no interior da

gaiola (GREENE et al., 1976). As posturas foram coletadas em folhas de papel branco no interior das gaiolas.

Estas foram recortadas e colocadas em potes de 1.100 mL com a tampa furada e vedada com organza para aumentar a aeração e alimentadas com dieta artificial constituída por 125 g de feijão, 62,4 g de levedo de cerveja, 100 g de gérmen de trigo, 100 g de proteína de soja, 50 g de caseína, 35 g de ágar, 5 g de nipagin, 6 g de ácido ascórbico, 3 g de ácido sórbico, 6 mL de formol a 40% e 10 ml de solução vitamínica (niacinamida, pantotenato de cálcio, tiamina, riboflavina, piridoxina, ácido fólico, biotina e vitamina B₁₂) (GREENE et al., 1976).

Obtenção dos isolados de *Bacillus thuringiensis*. Foram utilizados cinco isolados de *B. thuringiensis* 80, 997, 663, 716 e 1054 , além da formulação comercial Dipel (*Bt kurstaki*). Os isolados foram obtidos do banco de entomopatógenos do NUDEMAFI. A seleção destes foi realizada através de bioensaios de patogenicidade e virulência para *A. gemmatalis* (capítulo 2). Os isolados da coleção foram estocados na forma de fitas de papel filtro impregnados com uma suspensão de esporos, e mantidos a 4 °C.

Os isolados foram multiplicados em meio de cultura BHI (“Brain Heart Infusion” ou Infusão de Cérebro e Coração - Biobrás) a 28 °C, sob agitação orbital a 180 rpm por 72 h para um crescimento padrão dos mesmos. Após a lise bacteriana, a mistura contendo esporos, cristais e células vegetativas foram transferidas para tubos de Falcon com 5 mL de água destilada e esterilizada e foram submetidas a 3 centrifugações consecutivas de 5.000 rpm por 20 min. Após a última centrifugação, o material foi re-suspenso em água destilada esterilizada e utilizado no experimento.

Em seguida, uma alíquota de 1 mL da suspensão foi diluída 100 vezes em água destilada, e a concentração de esporos determinada por meio de leitura em câmara de Neubauer conforme método descrito em Alves e Moraes (1998). O *Bt kurstaki* foi obtido de formulação comercial e utilizado conforme recomendações do fabricante.

Condução dos experimentos. Foram realizados dois experimentos que serão descritos a seguir.

Experimento 1. Foram individualizadas 15 fêmeas recém emergidas do parasitóide (15 repetições), em tubos de Duran, contendo uma gotícula de mel

inoculado com diferentes isolados de *Bt* em suas paredes (proporção 1:1). A cada 24 horas, foi oferecida para cada fêmea uma cartela de cartolina azul celeste (2,5 x 0,5cm) contendo 20 ovos do hospedeiro colados com goma arábica a 10%. Os tubos foram posteriormente fechados com filme plástico de PVC. Para a testemunha foi fornecida gotícula de mel sem *Bt*.

Experimento 2. Foram individualizadas 15 fêmeas recém emergidas do parasitóide (15 repetições), em tubos de Duran, contendo uma gotícula de mel 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 20 ovos do hospedeiro colados com goma arábica a 10%. Esta cartela foi imersa em suspensão contendo a CL₅₀ de cada um dos isolados e do Dipel e seca em capela de fluxo para retirar o excesso de água. Os tubos foram posteriormente fechados com filme plástico de PVC. Para a testemunha foi fornecida cartela com ovos do hospedeiro sem *Bt*.

Os experimentos foram mantidos em câmaras climatizadas reguladas a temperaturas de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e foto fase de 14 horas, até a emergência dos descendentes, quando foram avaliados os parasitismos 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 de erro, no caso do parasitismo total. Foi utilizado o programa computacional Sigma Plot para confecção dos gráficos de parasitismo diário e acumulado. 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 *A. gemmatalis* sofreu alterações devido à presença de *Bt* no alimento. O ritmo do parasitismo no primeiro dia oscilou de 4,6 a 7,4 ovos parasitados por fêmea de *T. pretiosum*. O maior número de ovos parasitados no primeiro dia foi o que correspondeu ao tratamento com o isolado 80

(7,4 ovos parasitados), e o menor foi o da testemunha e Dipel (4,6). (Dados não mostrados). Houve maior concentração de postura nos primeiros dias. A partir do terceiro dia ocorreu queda no parasitismo com algumas oscilações ao decorrer do período (Figura 1). A queda do parasitismo em *T. pretiosum* é uma característica dessa espécie, pois esse parasitóide concentra as posturas nos primeiros dias de vida (PRATISSOLI, 1995).

O parasitismo, não foi prejudicado pela interação de *B. thuringiensis* com o parasitóide, apresentando número total de ovos que oscilou entre 39 e 56 ovos parasitados. Para os isolados 633 e 1054 foi observado aumento no número total de ovos parasitados, com 56 e 54 ovos parasitados, respectivamente (Figura 2). A presença da bactéria no trato digestivo de insetos adultos não implicou no desenvolvimento da doença, pois são necessários receptores para que ocorra a ligação da toxina com as células epiteliais do intestino médio. Estes receptores são normalmente encontrados no intestino médio das formas imaturas (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). É possível que o aumento do número de ovos parasitados seja uma resposta da fêmea para garantir a sobrevivência da prole, uma vez que a ingestão da toxina embora não seja letal para a fêmea, tenha causado algum processo fisiológico que desencadeou o comportamento expresso pelo aumento do parasitismo. Bezerrides et al (2004) observaram que um alcalóide, obtido quando as lagartas de *Utetheisia ornatrix* se alimentaram de plantas, está presente no inseto adulto e também nos ovos que a fêmea oviposita. Este alcalóide serve de proteção contra o parasitismo de *Trichogramma ostrinae*. Porém, a fêmea do parasitóide ao perceber a presença do alcalóide aumenta a taxa de parasitismo para garantir a sobrevivência da prole, vencendo o mecanismo de defesa do inseto.

No entanto o parasitismo superior observado nestes dois isolados levou um período maior para ser alcançado, pois foi necessário um período de 13 dias para a fêmea submetida ao isolado 633 alcançar 80% de parasitismo e de 10 dias para o isolado 1054. Para os demais isolados, este valor foi alcançado em 9 dias pela testemunha, em 8 dias pelos isolados 80 e 997, 10 dias pelo isolado 716 e pelo produto comercial Dipel (Figura 1).

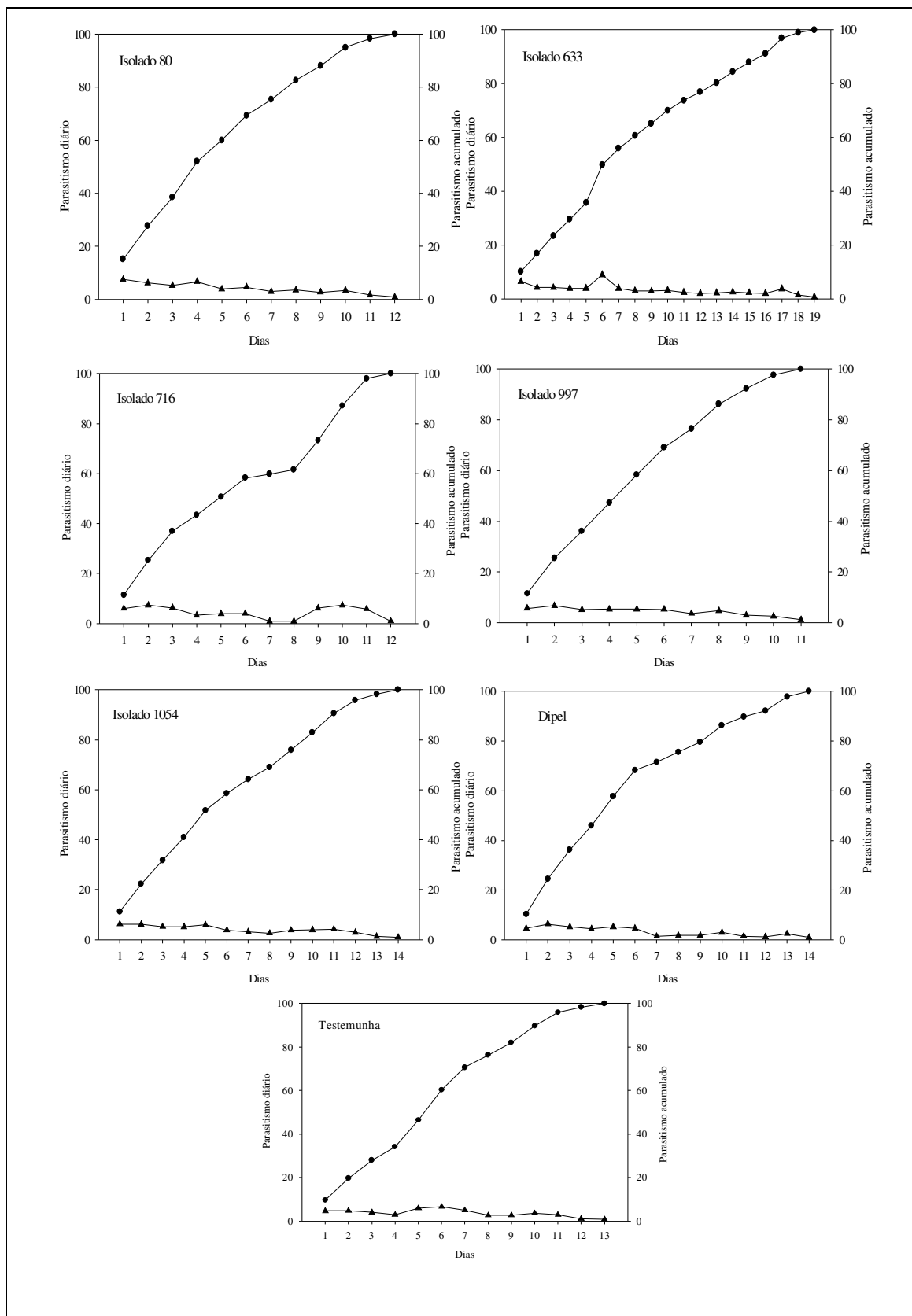


Figura 1 – Parasitismo diário e acumulado de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) alimentados com mel inoculado com diferentes isolados de Bt e Dipel.

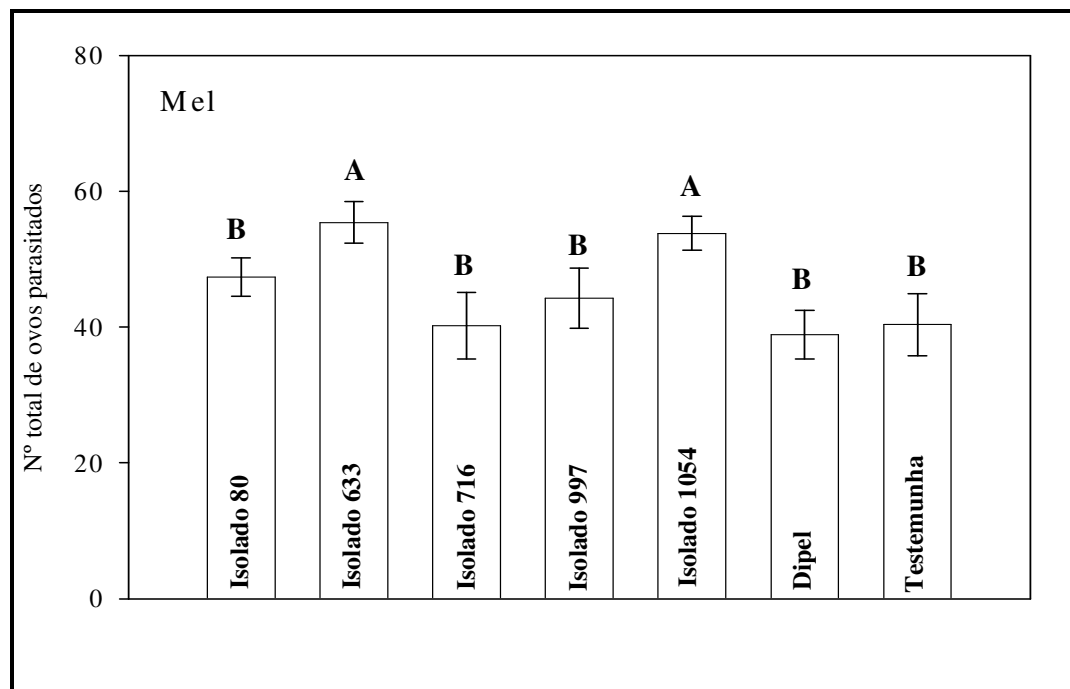


Figura 2- Número total de ovos de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Noctuidae) parasitados por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) alimentado com mel e *Bacillus thuringiensis*. 25±1 °C, UR 70±10% fotofase 14h.

Ao contrário dos dados observados neste trabalho, Wang et al. 2007, mostraram que o parasitismo de ovos de *Ostrinia furnacalis* (Guenée) não foi afetado pela interação de *B. thuringiensis* fornecido no alimento com o parasitóide *Trichogramma ostrinae* Pang & Chen. Polanczyk et al. (2006) mostraram que o parasitismo de *T. pretiosum* e *T. pratissolii* em ovos de *A. kuehniella* também não sofreu alterações devido a presença de Bt no alimento. Santos Junior (2009) mostrou também não haver alteração na capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *Helicoverpa zea* quando tratados com alimento + isolados de Bt. Estes resultados indicam que o comportamento de aumento de parasitismo pode ser característico da linhagem *T. pretiosum* Tp12 na interação com alguns isolados de Bt.

A caracterização molecular dos isolados 663 e 1054 será crucial para a melhor compreensão dos dados obtidos neste trabalho. A identificação das toxinas presentes nos isolados tornará possível o estudo dos receptores presentes no epitélio intestinal de *A. gemmatalis*. A histopatologia do intestino médio deste inseto também fornecerá indícios sobre o processo fisiológico que causou a alteração no comportamento do parasitóide.

Pela distribuição de Weibull a longevidade dos parasitóides em todos os tratamentos neste experimento mostrou a mesma tendência, pois a mortalidade seguiu uma distribuição normal não sendo observada queda acentuada (Figura 3). Os valores variaram de 11 a 19 dias, com maior valor para o isolado 633 e menor valor para o isolado 997.

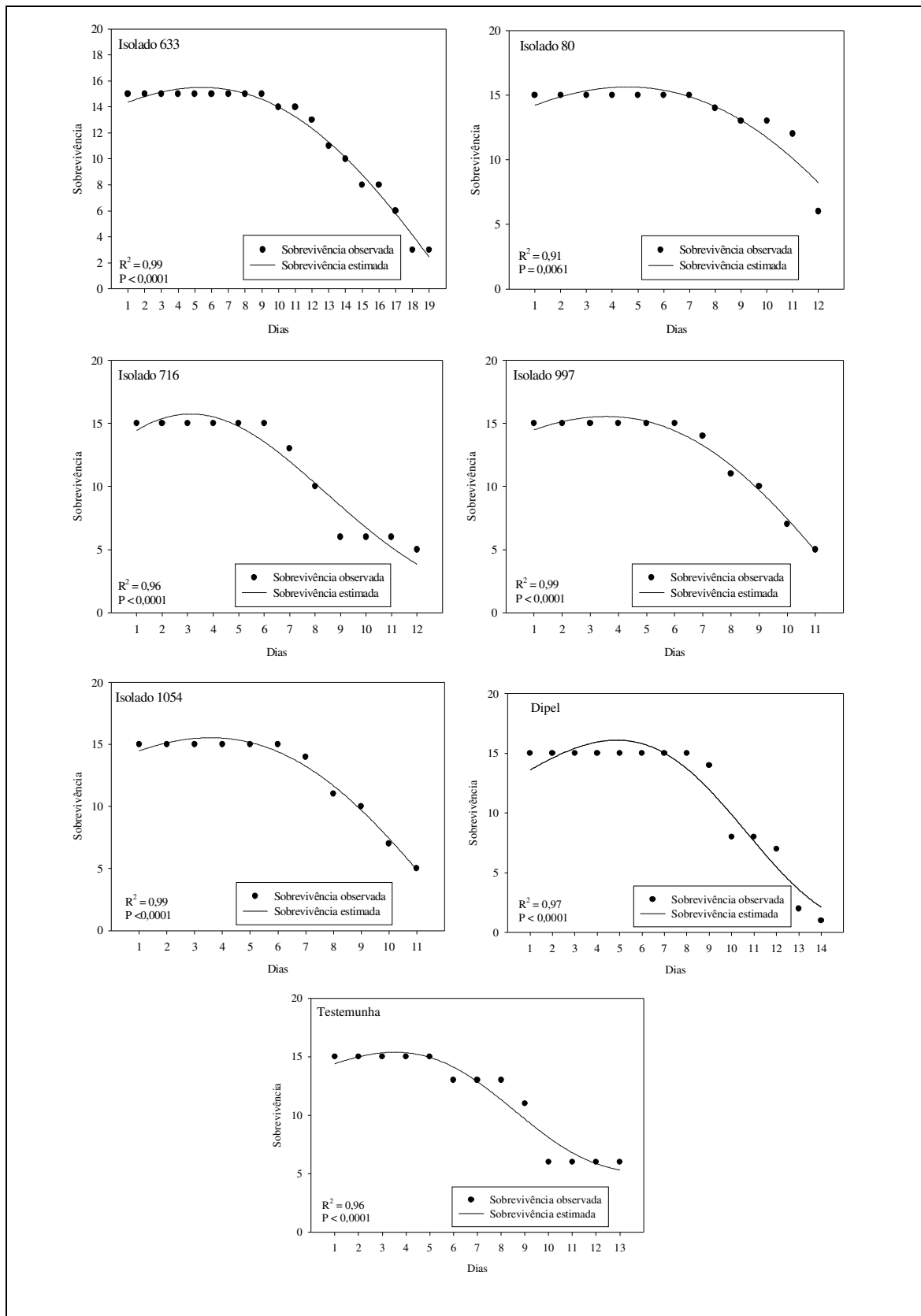


Figura 3 – Sobrevivência de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) alimentado com mel e diferentes isolados de Bt e *Bt kurstaki*.

No experimento em que as cartelas de ovos foram mergulhadas em diferentes isolados de Bt e no Dipel, também ocorreram alterações, pois todos os tratamentos afetam o parasitismo. O número total de ovos parasitados foi maior para a testemunha (67), e o menor número observado para o isolado 716 (26) (Figura 4). O parasitismo no primeiro dia variou de 3,3 a 7,0 ovos parasitados por fêmea de *T. pretiosum*. O maior número de ovos parasitados no primeiro dia foi observado para o isolado 997 (7,0) e o menor para o isolado 1054 (3,3). A testemunha apresentou 3,4 ovos parasitados no primeiro dia, o que demonstra que os tratamentos com os diferentes isolados de Bt e com Dipel apresentaram número de ovos parasitados no primeiro dia superior ao encontrado na testemunha, com exceção ao valor encontrado para o tratamento com o isolado 1054 que foi menor quando comparado com os tratamentos anteriormente mencionados (3,3 ovos parasitados no primeiro dia) (Dados não mostrados). Neste experimento o índice de 80% de parasitismo acumulado foi alcançado em 8 a 10 dias (Figura 5).

Pratissoli e Parra (2001) atribuíram, como causa da variação no parasitismo, o uso de diferentes espécies e/ou linhagens de *Trichogramma*, assim como o hospedeiro utilizado e condições climáticas. Outro fator que pode ter causado a baixa capacidade de parasitismo pode estar relacionado ao efeito de repelência causado pela aplicação prévia dos isolados de Bt. 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 parasitóide 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 parasitóide 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).

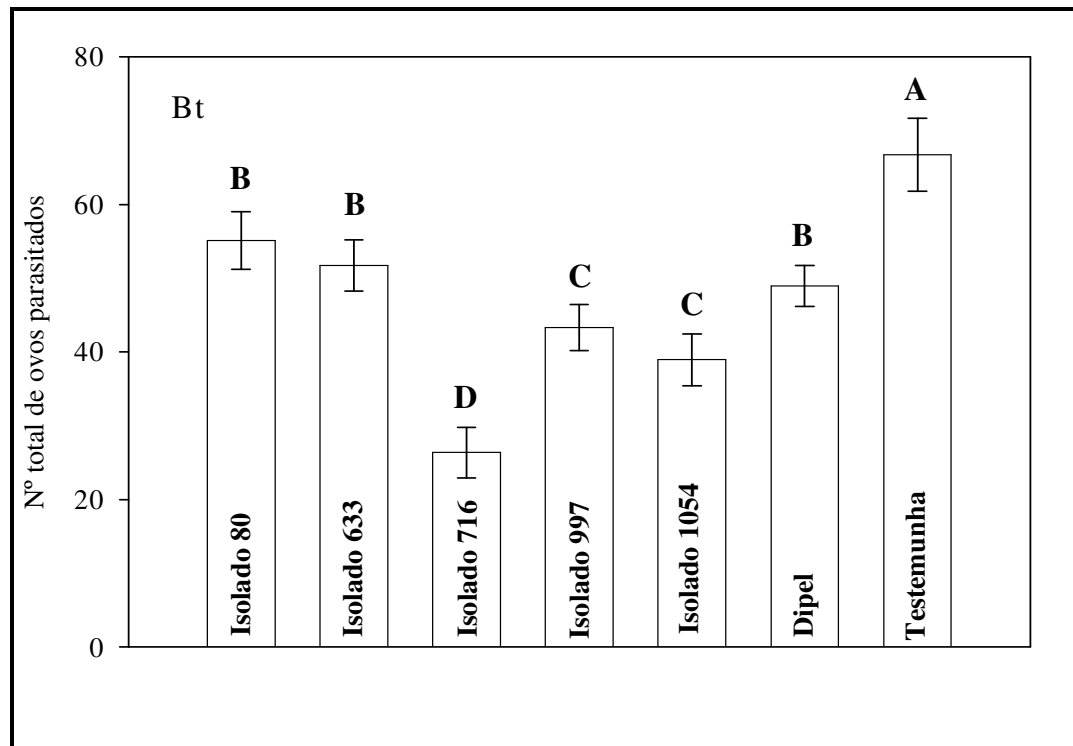


Figura 4 - Número total de ovos de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Noctuidae) parasitados por *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) quando cartelas com ovos foram mergulhadas nos isolados de *Bacillus thuringiensis*, Dipel e em água deslilada. 25±1 °C, UR 70±10% fotofase 14h.

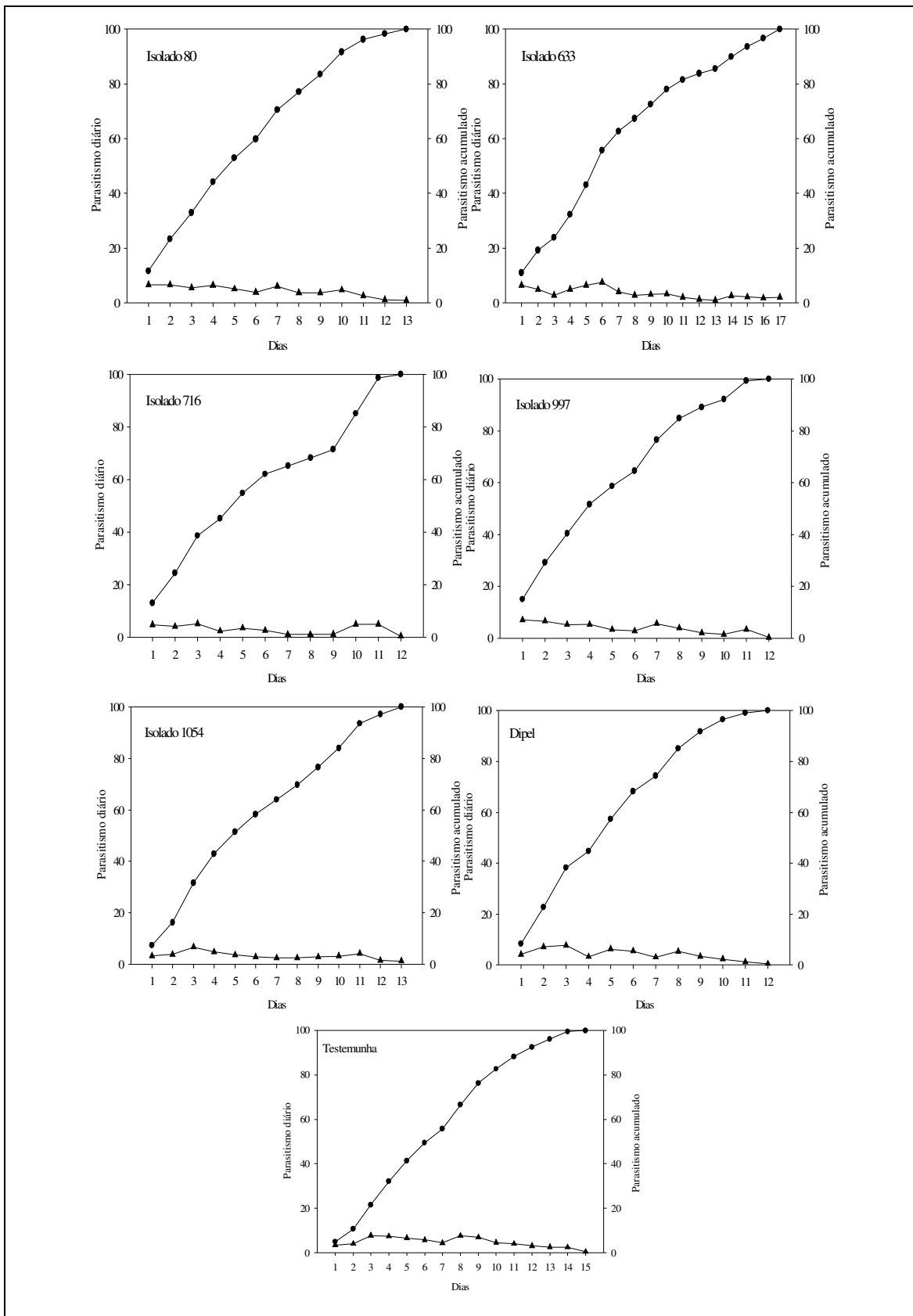


Figura 5 – Parasitismo diário e acumulado de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) cartela de ovos mergulhada em diferentes isolados de Bt e Dipel.

Vários fatores afetam a aceitabilidade ao hospedeiro e a alocação da progênie. Dentre eles pode-se citar os fatores visuais, *Trichogramma* pode detectar diferenças na intensidade da luz e no comprimento de onda. Os fatores físicos e químicos também podem ser citados. No primeiro, a espessura, dureza e a permeabilidade do córion, são sempre mencionados como fatores que afetam a aceitação e a adequação ao hospedeiro.

Com relação aos fatores químicos, trabalhos mostram que substâncias químicas presentes na superfície do hospedeiro podem promover ou inibir a aceitação por espécies de *Trichogramma* (WAJNBERG & HASSAN, 1994). Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004) realizaram experimentos em que ovos de *A. kuehniella* foram mergulhados em extrato aquoso de sementes de Nim a 10% e observaram que houve repelência do hospedeiro pelo *T. pretiosum* que teve seu parasitismo afetado de forma significativa sobre ovos de *A. kuehniella*. Broglio-Micheletti et al. (2006) observaram que isolados de *Metarhizium anisopliae* acarretaram uma diminuição de 13 a 33,2% no parasitismo de ovos de *Diatraea saccharalis* por *T. galloi* quando estes foram mergulhados nos isolados. No mesmo trabalho observaram que isolados de Nim impossibilitaram o parasitismo, pois este foi repelente a adultos de *T. galloi*.

A repelência de inseto predador à outro entomopatógeno foi relatada por Meyling & Pell (2006). Estes autores observaram que tanto machos como fêmeas de *Anthocoris nemorum* L. (Heteroptera: Anthocoridae) mostraram comportamento de repelência à folhas contendo conídios do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* e permaneceram pouco tempo sobre as folhas contaminadas o que prejudicou sua busca por presas.

A sobrevivência de *T. pretiosum* neste experimento apresentou valores que variaram de 12 a 17 dias. Para os isolados 716, 997 e Dipel os valores foram menores (12 dias) e o maior valor foi observado para o isolado 633 (17 dias), embora sem diferença significativa (Figura 6)

Estes resultados mostram que Bt fornecido via alimento para adultos de *T. pretiosum* Tp12 favoreceu o parasitismo nos tratamentos 633 e 1054, o que ressalta a viabilidade da interação Bt e *Trichogramma* observada em trabalhos em campo (HAJI et al., 2002). Os bons resultados, muitas vezes, são essenciais para o

sucesso e a continuidade de programas de manejo fitossanitário. Com relação ao segundo experimento as cartelas com ovos mergulhadas em alguns isolados de Bt e oferecidas em seguida ao parasitóide afetou sua capacidade de parasitismo negativamente.

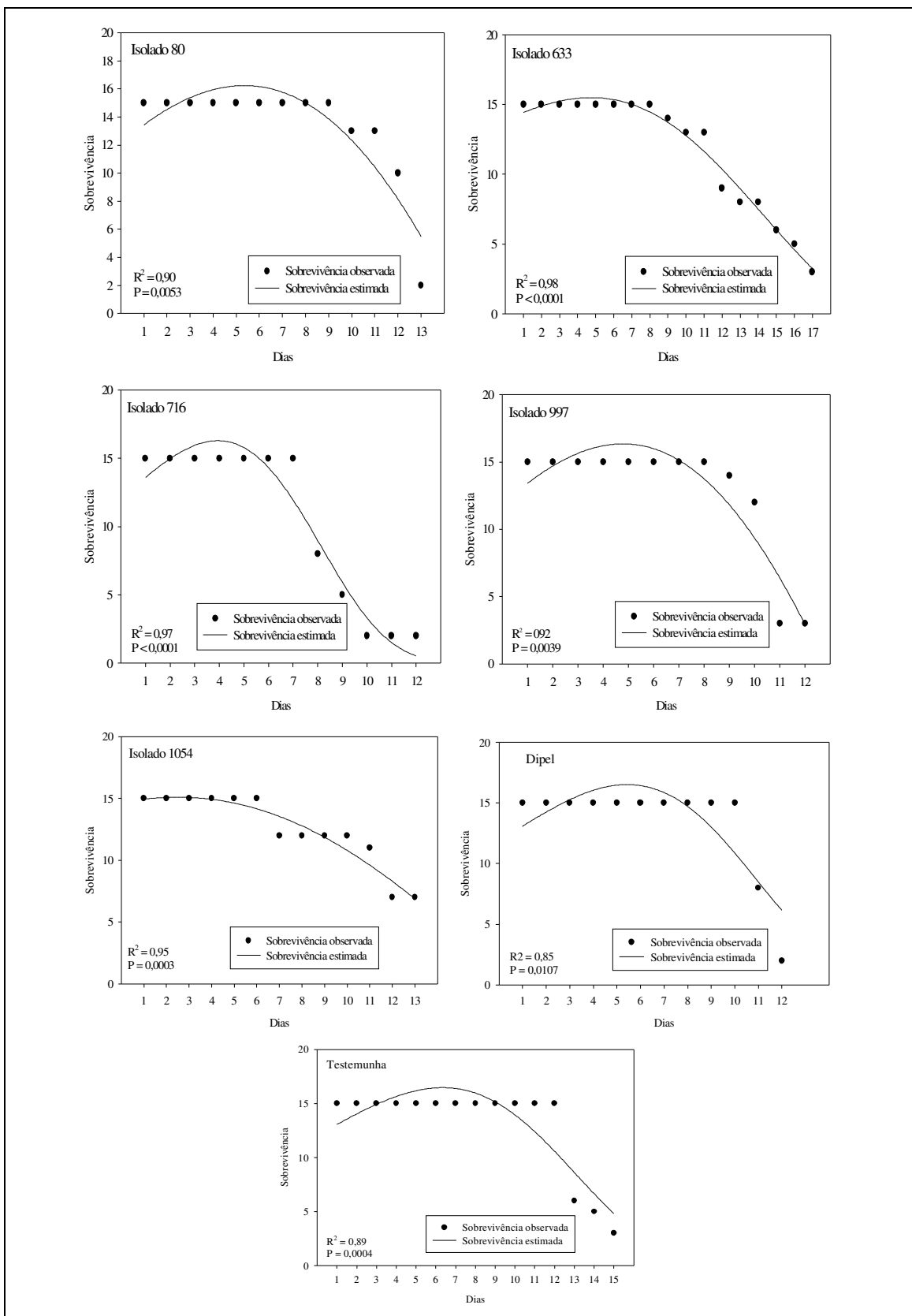


Figura 6 – Sobrevivência de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) cartela mergulhada em isolados de Bt e *Bt kurstaki*.

5.4 CONCLUSÃO

Os isolados de Bt testados e o produto comercial Dipel quando fornecidos via alimento não têm efeitos negativos e aumento do parasitismo foi observado com os isolados 663 e 1054.

Todos os tratamentos causaram redução no parasitismo quando os ovos foram imersos em suspensão com Bt.

6 REFERÊNCIAS

MEYLING, N.V.; PELL, J.K.; EILENBERG, J. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the activity of nettle insects. **Journal of invertebrate pathology**. p. 121-126. 2006.

ABBAS ALI & S.Y. YOUNG. *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* activity against larvae of *Helicoverpa zea* and *Heliiothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton. **J. Econ. Entomol.** 86: 1064 – 1068. 1993.

ABBOT, W.S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **J. Invert. Pathol.** 18: 265-267. 1925.

ALVES, S. B.; MORAES, S. A. Quantificação de inóculo de patógenos de insetos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 765-777. 1998.

ARANDA, E., J. SANCHES, N. PEFEROEN, L. GUERECIA & A. BRAVO. Interactions of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins with the midgut epithelial cells of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **J. Invertebr. Pathol.** 68: 202 - 212. 1996.

AROSON, A. I. & SHAI, Y. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. **FEMS Microbiology Letters** 195: 1-8. 2001.

AVANCI, M.R.F. **Espécies de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que ocorrem em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) no Sudeste do Paraná: Parasitismo natural, bioecologia, exigências térmicas e estocagem em baixas temperaturas**. Ph.D. thesis, Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 116p. 2004.

BARRETO, M.R. **Prospecção e caracterização de Genes de *Bacillus thuringiensis* com potencial para o controle de insetos-praga da cultura da soja**. 2005. Tese (doutorado em Biologia). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 14. 2005.

BESERRA, E.B. **Biologia, etologia e capacidade de parasitismo de *Trichogramma* spp. visando ao controle biológico de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)**. 2000. 133 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

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 Sci Agron** 25: 479-483. 2003.

BEZZERIDES, A.; YONG, T.H., BEZZERIDES, J.; HUSSEINI, J.; LADAU, J.; EISNER, M.; EISNER, T. Plant-derived pyrrolizidine alkaloid protects eggs of a moth (*Utetheisa ornatrix*) against a parasitoid wasp (*Trichogramma ostrinae*) PNAS **vol. 101 no. 24. 2004**

BOHOROVA, N., M. CABRERA, C. ABARCA, R. QUINTERO, A.M. MACIEL, R.M. BRITO, D. HOISINGTON & A. BRAVO. Susceptibility of four tropical lepidopteran maize pests to *Bacillus thuringiensis* CryI-type insecticidal toxins. **J. Econ. Entomol.** 90: 412 - 415. 1997.

BOBROWSKI, V.A.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M.H.; FIUZA, L.M. Detection of *Cry1* genes in *Bacillus thuringiensis* isolates from south of Brazil and activity against *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, 32:105-109, 2001.

BONADIMAN R., **Pontas de pulverização e volumes de calda no controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 e *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) na cultura da soja *Glycine max*.** 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2008.

BRAR, S. K.; TYAGI, V. R. D.; VALÉRIO, J. R. Recent advances in downstream processes and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. **Process Biochemistry**, 41:323-42, 2006.

BRAVO, A.; MIRANDA, R.; GÓMEZ, I.; SOBERÓN, M. 2002. Pore formation activity of Cry 1Ab toxin from *Bacillus thuringiensis* in an improved membrane vesicle preparation from *Manduca sexta* midgut cell microvilli. **Biochemistry et Biophysical Acta** 1562: 63- 69. 2002.

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F.; DOS SANTOS, A.J.N.; PEREIRA-BARROS, J.L. Efeitos de herbicida, inseticidas químico, biológico e botânico sobre *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Magistra**. Cruz das Almas-BA. v.18, n. 1, p. 21-26. 2006.

BUENO, R.C.O. de F. **Bases biológicas para utilização de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para controle de *Pseudoplusia includens* (Walker, 1857) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818**

(Lepidoptera: Noctuidae) em soja. 2008. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CAÑETE, C.L.; FOERSTER, L.A. Incidência natural e biologia de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.47, p.201-204, 2003.

CAPALBO D.M.F., VILAS-BÔAS G.T., ARANTES O.M.N., SUZUKI M.T.. *Bacillus thuringiensis*: Formulações e plantas transgênicas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento** 34:78 – 85. 2005.

CONAB. **Série histórica de produtividade.** Disponível em<<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 10 de novembro de 2009.

CÔNSOLI, F.L. & PARRA J.R.P.. Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology II parasitism capacity and longevity. **J. Appl. Entomol.** 119: 667-670. 1995.

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.

BERÓN, C.M.; SALERNO, G.L. Characterization of *Bacillus thuringiensis* isolates from Argentina that are potentially useful in insect pest control. **BioControl**, 51:779–794, 2006.

CORSEUIL, E., F.Z. CRUZ & L.M.C. MAYER. **Insetos nocivos à soja no Rio Grande do Sul.** UFRGS, Porto Alegre. 36p. 1974.

DA SILVA, S.M.B.; SILVA-WERNECK, J.O.; FALCÃO, R.; GOMES, A.C.; FRAGOSO, R.R.; QUEZADO, M.T.; NETO, O.B.O.; AGUIAR, J.B.; DE SÁ, M.F.G.; BRAVO, A.; MONNERAT, R.G. Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. **J. Appl. Ent.** 128, 102–107 (2004)

DE LA TORRE, S.L. ***Trichogramma*: biología, sistemática y aplicación.** La Habana: Editorial Científico Técnica, 316 p. 1993.

DESTÉFANO, R.H.R. **Detecção e identificação de *Metarhizium anisopliae* em larvas de *Diatraea saccharalis* por primers específicos.** 2003. Tese de doutorado. ESALQ/USP Piracicaba, 72. 2003.

DIAS, N.S.; PARRA, J.R.P.; LIMA, T.C.C. Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramatídeos neotropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1467-1473, 2008.

ELISOR, L.O. Notes on the biology and control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner. **Louisiana Agricultural Experimental Station Bulletin** 350: 15-25, 1942.

FIUZA, L.M. Receptores de *Bacillus thuringiensis* em insetos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento** 32: 84-89. 2004.

FOERSTER, L.A. & M.R.F. AVANCI. Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. **An. Soc. Entomol. Brasil** 28: 545-548. 1999.

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

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

GAMUNDI, J.C. **Biologia comparada e nutrição quantitativa de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas e vagens de soja.** Piracicaba, 137p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. 1988.

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

GONÇALVES, J.R.; HOLTZ, A.M.; PRATISSOLI, D.; GUEDES, R.N.C. Avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos

de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**. Maringá, v. 25, no. 2, p. 485-489, 2003.

GONÇALVES-GERVÁSIO, RITA de C.R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de Extratos de Meliáceas Sobre o Parasitóide de Ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**. 2004.

GREENE, G.L., REID, J.C., BLOUNT, V.N. & RIDDLE, T.C. Mating and oviposition behavior of the velvetbean caterpillar in soybean. **Environmental Entomology** 2: 1113-1115, 1973.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v.69, p.487-488, 1976.

HAJI, F.N.D.; JIMENEZ VELASQUEZ, J.; BLEICHER, E.; ALENCAR, J.A.; HAJI, A.T.; DINIZ, R.S. **Tecnologia de produção massal de *Trichogramma* spp.** Petrolina: EMBRAPA CPATSA, 24 p. 1998.

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: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, cap. 28, p. 477-494. 2002.

HANSEN, B.M.; SALAMITOU, S. Virulence of *Bacillus thuringiensis* In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LE ROUX, C. (Ed.). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p.41-64. 2000.

HASSAN, S.A., E. KOLHER & W.M. ROST. 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** 33: 413-420. 1988.

HASSAN, S.A. Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials organisms: description of test methods. In: _____. **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials organism**. Montfavet: Bulletin OILB/SROP, cap. 3, p.18-39. 1992.

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

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

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GOMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja. 70p. (Circular Técnica/EMBRAPA Soja, n. 30). 2000.

IGNOFFO, C.M.; D.L. HOSTETTER; R.E. PINNELL & C. GARCIA. Relative susceptibility of six soybean caterpillars to a standard preparation of *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*. *J. Econ. Entomol.* **70: 60 – 63. 1977.**

KNIPLING, E.F. The theoretical basis for augmentation of natural enemies. In: RIDGWAY, R.L.; VINSON, S.B. (Ed.). **Biological control by augmentation of natural enemies**. New York: Plenum Press, p. 79-123. 1977.

KNOWLES, B. H. Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal δ -endotoxins. **Advances in Insect Physiology**, v.24, n.2, p.275-308, 1994.

KOGAN, M.; TURNIPSEED, S.G.; SHEPARD, M.; OLIVEIRA, E.B. & BORGIO, A. Pitot insect management program for soybean in southern Brazil. **J. Econ. Ent.**, 70:659-63. 1977.

LENTEREN, J.C. VAN. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies, p.77- 103. In T.S. Bellows Jr. & S. Wratten (eds.), **Biological control. Measures of success**. Dordrecht, Kluwer Acad. Publish., 448p. 2000.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC: An user's guide to Probit or Logit analysis**. LeOra Software, Berkely, 1987.

LEPPLA, N. C. Circadian rhythms of locomotion and reproductive behavior in adult velvetbean caterpillar. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 69, n. 1, p. 45-48, 1976.

LI, J.; CARREL, J.; ELLAR, D. J. Cristal structure of insecticide delta-endotoxina from *Bacillus thuringiensis* at 2,5 Å resolution. **Nature**, v.353. n.7, p.815-821, 1991.

LI, S.Y.; SIROIS, G.M.; LUCZYNSKI, A.; HENDERSON, D.E. Indigenous *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) parasiting eggs of *Rhopobota naevana* (Lep.: Tortricidae) on cranberries in British Columbia. **Entomophaga**, Paris, v. 38, p. 313-315, 1993.

LOPES, J.R.S. **Estudos bioetológicos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1986 (Hym., Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lep., Pyralidae)**. Dissertação de Mestrado, Piracicaba, ESALQ, Universidade de São Paulo, 141p. 1988.

LORD, J. C. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: the path of microbial control. **Journal of Invertebrate Pathology**, 89:19-29, 2005.

LUTTRELL, R.G.; YOUNG, S.Y.; W.C. YERIAN, W.C. & HORTON, D.L.. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* – spray adjuvant-viral insecticide combinations against *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). **Environ. Entomol.** 11: 783 – 787. 1982.

MARION, R.F.A.; FOERSTER, L.A.; CAÑETE, C.L. Natural parasitism in eggs of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera, Noctuidae) by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** 49(1): 148-151, março 2005.

MILANEZ, 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. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009.

MILLS, N.; PICKEL, C.; MANSFIELD, S.; MCDUGALL, S.; BUCHNER, R.; APRILE, J.; EDSTROM, J.; ELKINS, R.; HASEY, J.; KELLEY, K.; KRUEGER, B.; OLSON, B. & STOCKER, R. Mass releases of *Trichogramma* wasps can reduce damage from codling moth. **Cal. Agric.** 56: 22-25. 2000.

MOSCARDI, F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S. Soybean IPM in Brazil, with emphasis on biological control tactics. In: **World soybean research conference VI**. Chicago, Illinois, USA. 331 - 339. 1999.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M.L. de. Baculovirus para o controle de pragas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 24, p. 22-29, 2002.

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

NAVARRO, M.A. *Trichogramma* spp. Producción, uso y manejo em Colômbia. 176p. 1998.

NAVARRO R. & MARCANO, R. Preferência de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. atopovirilia* Oatman y Platner por huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) de diferentes edades. **Biol. Entomol. Venez.** 14: 87-93. 1999.

NICKLE, D.A. **The peanut agroecosystem in central Florida; economic threshold for defoliating noctuids (Lepidoptera Noctuidae), associated complex (Hymenoptera Braconidae).** 131 p. Dissert. (PhD), Univ. Florida, Gainesville, USA, 1977.

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.

PANIZZI, A.R.; CORRÊA, B.S.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. de; NEWMAN, G.G.; TURNIPSEED, S.G. **Insetos da soja no Brasil.** Londrina, EMBRAPA/CNPSo, 20p. 1977.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S. Biological control of pests through egg parasitoids of the genera *Trichogramma* and/or *Trichogrammatoidea*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, p. 153-160, 1987.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). ***Trichogramma* e o controle biológico aplicado.** Piracicaba: Fealq, p.121-150. 1997.

PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: Feasibility of Use after Twenty Years of Research. **Neotropical Entomology**. 2004.

PEYRONNET, O.; VACHON, V.; BROUSSEAU, R. Effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on the membrane potential of lepidopteran insect midgut cells. **Applied and Environmental Microbiology**, Massachusetts, v. 63, n. 5, p. 1679-1684, 1997.

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

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.

PINTO, J. D. A review of the New World genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research** 15 : 38-163. 2006.

POLANCZYK, R.A & ALVES, S. B. *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. **Agrociência**. 7:1-10. 2003.

POLANCZYK, R.A. **Estudos de Bacillus thuringiensis Berliner visando ao controle de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith)**. 2004. Tese (Doutorado em Entomologia) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

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

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.

PRATISSOLI, D. **Bioecologia de Trichogramma pretiosum Riley, 1879, nas traças Scrobipalpaloides 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.; OLIVEIRA, H. N. Influência da idade do ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 5, p. 891-896, 1999.

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

PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H.N.; GONÇALVES, J.R.; ZANUNCIO, J.C.; HOLTZ, A.M. Changes in biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) for 23 generations. **Biocontrol Science and Technology**, v.14, p.313-319, 2004b.

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.; HOLTZ, A.M.; DALVI, L.P.; SILVA, A.F.; SILVA, L.N. Selection of *Trichogramma* species for controlling the diamondback moth. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.259-261, 2008.

QUERINO, R.B. **Taxonomia do gênero *Trichogramma* Westwood, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) na América do Sul**. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" /ESALQ, Piracicaba-SP. 214p. 2002.

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

REID, J.C. **Larval development and consumption of soybean foliage by the velvetbean caterpillar *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera Noctuidae) in the laboratory** 118 p. dissert. (PhD), Univ. Florida, Gainesville, USA, 1975.

SÁ, L.A.N. & J.R.P. PARRA & S. SILVEIRA NETO. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) em milho. **Sci. Agr.** 50: 226-231. 1993.

SALVADORI, J. R. & CORSEUIL, L. Consumo foliar e observações sobre o desenvolvimento de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, em soja (*Glycine max* (L.)

Merrill) (Lepidoptera, Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 11, n. 1, p. 93-100, 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)**. 2009. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2009.

SCHNEPF, E.; CRICKMORE, N.; VAN RIE, J.; LERECLUS, D.; BAUM, J.; FEITELSON, J.; ZEIGLER, D. R. AND DEAN D. H.; *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. p. 775–806. 1998.

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

SILVA, R. F. P. **Aspectos biológicos e nutrição de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera – Noctuidae) em meios natural e artificial e influência da temperatura e fotoperíodo no seu desenvolvimento**. 1981. Dissertação de Mestrado. Piracicaba, 130p. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP. 1981

SOUZA, M.T. de; LIMA, M.I.; SILVA-WERNECK, J.O.; DIAS, J.C.S.; RIBEIRO, B.M. Ultrastructural and molecular characterization of the parasporal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* S93 active against *Spodoptera frugiperda*. **Biocell**, v.23, p.43-49, 1999.

STOUTHAMER, R.; LUCK, R.F.; HAMILTON, W.D. Antibiotics cause parthenogenetic *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to revert to sex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 87, p. 2424-2427, 1990.

STOUTHAMER, R. The use of sexual versus asexual wasps in biological control. **Entomophaga**, Paris, v. 38, p. 3-6, 1993.

SUZUKI, Y.; H. TSUJI & M. SASAKAWA. 1984. Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anim. Behav.** 32: 478-484.

TAMEZ-GUERRA, P.; MCGUIRE, M. R.; BEHLE, R. W.; SHASHA, B. S.; WONG, L. J. G. Assessment of microencapsulated formulations for improved residual activity of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Economic Entomology**, v.93, n.2, p.219-225, 2000.

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.

TURNIPSEED, S. G. & KOGAN, M. Soybean entomology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 21, p. 247-282, 1976.

VIANNA, U.R. **Interação de técnicas para o manejo fitossanitário de *Anticarsia gemmatalis* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**. 2009. Tese (Doutorado em Entomologia) – Programa de Pós-graduação em Entomologia, Universidade Federal de Viçosa – Viçosa. 2009.

VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides 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. In: SCHMIDT, J.M. **Host Recognition and acceptance by Trichogramma**. p. 165-193. Cab International 1994.

WAKEIL, N.E.; FARGHALY, H.T.; RAGAB, Z.A. Efficacy of inundative releases of *Trichogramma evanescens* in controlling *Lobesia botrana* in vineyards in Egypt. **Journal of Pesticide Science**, v.81, p.49–55, 2008.

WANG, Z.Y., WU, Y., K.L. HE & S.X. BAI. 2007. Effects of transgenic *Bt* maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostrinia* in laboratory conditions. **Bull. Insectol.** 60: 49-55. 2007.

WATSON, J.R. Life-history of the velvet-bean caterpillar (*Anticarsia gemmatalis* Hübner). **Journal of Economic Entomology**, v.9, n.6, p.521-8, 1916.

YAMAMOTO, T.; DEAN, D. H. Insecticidal proteins produced by bacteria pathogenic to agricultural pests. In: CHARLES, J.F.; DELÉCLUSE, A.; NIELSEN-LE ROUX, C. (Ed.). **Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 81-100. 2000.

XU, B.; ZHEN, H.; LU, Q.; ZHAO, S. HU, Z. Three evidence of the original area of soybean. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, Buenos Aires. **Proceedings...**Buenos Aires: Association Argentina de la Soja, p. 124-128. 1989.

ZACHRISSON, B.S.A. **Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818, na cultura da soja.** Ph.D. thesis, Piracicaba, ESALQ, Universidade de São Paulo, 106p. 1997.

ZACHRISSON, B.S.A. & J.R.P. PARRA. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 em soja. **Sci. Agr.** 55: 133-137. 1998.

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

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)