

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) E POPULAÇÕES DE  
*Trichogramma* spp. (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O  
CONTROLE DE *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)

por

HUGO JOSÉ GONÇALVES DOS SANTOS JUNIOR

(Sob Orientação do Professor Edmilson Jacinto Marques - UFRPE)

RESUMO

A utilização conjunta de *Bacillus thuringiensis* Berliner com outros inimigos naturais é uma forma de incrementar o manejo de insetos-praga. Entre estes agentes, *Trichogramma* (Westwood) é reconhecido pela sua viabilidade e eficiência e, pode ser utilizado conjuntamente com *B. thuringiensis*. Porém, apesar de *B. thuringiensis* apresentar inúmeras vantagens, são necessários estudos que possibilitem comprovar sua seletividade a insetos benéficos. A seleção de isolados de *B. thuringiensis* é uma forma de avaliar a virulência a insetos-praga, além de possibilitar a descoberta de novas toxinas com maior atividade entomopatogênica. Populações de *Trichogramma* também devem ser selecionadas para evitar o insucesso da sua utilização, pois estes parasitóides apresentam grande variação, seja no comportamento de procura, preferência hospedeira e até mesmo às condições ambientais. Este trabalho teve como objetivo selecionar isolados de *B. thuringiensis* (B.t) e populações de *Trichogramma* spp. visando o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Os resultados apresentaram variabilidade em relação à virulência dos isolados de B.t a *H. zea*, sendo que alguns não apresentaram índices satisfatórios de virulência, porém afetaram o desenvolvimento de *H. zea*. Foram identificados isolados promissores no controle de *H. zea*, a exemplo do B.t 23 e B.t 26. Entre as populações de

*Trichogramma* avaliadas verificou-se variabilidade em relação aos parâmetros analisados e as condições térmicas, sendo que a população de *T. atopovirilia* (Tatp1) foi a que apresentou melhor desempenho a 25°C e, as populações Tp13 e Tp16 de *T. pretiosum* nas condições térmicas de 18 e 30°C respectivamente. Em virtude dos resultados encontrados, as populações de *T. atopovirilia* (Tatp1) e de *T. pretiosum* (Tp13 e Tp16) apresentam potencial para serem utilizadas em programas de controle biológico de *H. zea*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, controle microbiano, parasitismo, lagarta-da-espiga

SELECTION OF *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) AND POPULATIONS  
OF *Trichogramma* spp. (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) TO CONTROL  
*Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)

by

HUGO JOSÉ GONÇALVES DOS SANTOS JUNIOR

(Under the Direction of Professor Edmilson Jacinto Marques)

ABSTRACT

The combined use of the entomopathogenic *Bacillus thuringiensis* Berliner with other arthropod natural enemies is an approach to improve the management of insect pests. Among the natural enemies, the egg parasitoid *Trichogramma* (Westwood) is recognized by its efficacy against various pest species in different agroecosystems, and can be used combined with *B. thuringiensis*. However, although *B. thuringiensis* exhibit several advantages, studies are required to ascertain about its selectivity for beneficial insects. The selection of isolates of *B. thuringiensis* is a way to assess the virulence to target insect pests, and the discovery of new toxins with higher entomopathogenic activity. Populations of *Trichogramma* should also be selected to avoid failure of its use, since this parasitoid has large variation regarding host preference and environmental conditions. Thus, this study selected isolates of *B. thuringiensis* (Bt) and populations of *Trichogramma* spp. to control of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). The selection methodology identified the Bt isolates Bt 23 and Bt 26 as promissory to control of *H. zea*. Among populations of *Trichogramma* evaluated there was variability in relation to the parameters analyzed and the thermal conditions, and the population of *T. atopovirilia* (Tatp1) exhibited the best performance at 25°C, and the populations Tp13 and Tp16 of *T. pretiosum* in the

thermal conditions of 18 and 30°C respectively. Based on these results, the populations Tatp1 of *T. atopovirilia* and Tp13 and Tp16 of *T. pretiosum* have potential as biological control agent against *H. zea* as well as the isolates Bt 23 and Bt 26 of *B. thuringiensis*.

KEY WORDS: Control biological, microbial control, parasitism, corn earworm

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) E POPULAÇÕES DE  
*Trichogramma* spp. (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O  
CONTROLE DE *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)

por

HUGO JOSÉ GONÇALVES DOS SANTOS JUNIOR

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Janeiro - 2009

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) E POPULAÇÕES DE  
*Trichogramma* spp. (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O  
CONTROLE DE *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)

por

HUGO JOSÉ GONÇALVES DOS SANTOS JUNIOR

Comitê de Orientação:

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Dirceu Pratissoli – CCA-UFES

Ricardo Antonio Polanczyk – CCA-UFES

SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) E POPULAÇÕES DE  
*Trichogramma* spp. (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O  
CONTROLE DE *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)

por

HUGO JOSÉ GONÇALVES DOS SANTOS JUNIOR

Orientador:

---

Edmilson Jacinto Marques - UFRPE

Examinadores:

---

Ricardo Antonio Polanczyk - CCA-UFES

---

José Vargas de Oliveira - UFRPE

---

Hugo Bolsoni Zago - UFRPE

---

Maria Helena N. Silva Filha - FIOCRUZ

## DEDICATÓRIA

À minha família por todo o apoio e carinho, em especial meus avós Hugo e Diva (In memorian), meus pais Hugo J. G. dos Santos e Marilene de Alencar e tios “pais” Helvécio e Bárbara Castello.

À Jorgeana Azevedo pelo amor, incentivo, companheirismo e, sobretudo pela compreensão em todos os momentos.

## AGRADEÇO

A Deus e a Nossa Senhora por me abençoar com a presença de pessoas iluminadas ao longo de minha vida e acima de tudo pela energia que me encoraja a persistir.



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade dada a minha formação profissional.

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

Ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA.UFES) em especial ao NUDEMAFI - Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Edmilson J. Marques pela compreensão nos momentos necessários, pela confiança na realização deste trabalho, pelos ensinamentos acadêmicos e, por demonstrar o verdadeiro valor da pesquisa.

Aos meus co-orientadores, Prof. Dirceu Pratisoli e Prof. Ricardo A. Polanczyk, pelas sugestões, esclarecimentos e acima de tudo pelo suporte profissional do Laboratório de Entomologia (CCA-UFES).

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola que me auxiliaram no desenvolvimento profissional, em especial aos professores José Vargas de Oliveira, Antônio F. de Souza Leão, Reginaldo Barros, Manoel Guedes, Jorge B. Torres e Valéria Teixeira que participaram ativamente do meu desenvolvimento profissional.

Aos amigos Leonardo Mardgan, Gilberto Santos Andrade, Leandro Pin Dalvi, Ulysses Rodrigues Vianna e Alexandre Faria da Silva que participaram ativamente na realização desta pesquisa, através de sugestões, conselhos e acima de pelo companheirismo.

Aos contemporâneos do curso de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, em especial aos colegas Hugo Bolsoni Zago, Gilberto Santos Andrade, Ana Elisabeth, Rodrigo L. B. Coitinho.

A todos os estagiários e amigos do Laboratório de Entomologia do CCA-UFES que trabalham em busca da realização de um sonho, e sempre demonstram o verdadeiro significado da palavra determinação.

Aos contemporâneos do Laboratório de Patologia de Insetos da UFRPE, em especial Ítalo William, Cíntia C. M. Silva, José Menezes Jr., Marco Aurélio e Laurici Pires.

Aos funcionários e amigos da UFRPE e da UFES, em especial Darci e Romildo (PPGEA/UFRPE), Ana Katarina (Biblioteca/UFRPE), Regina (Laboratório de Fitopatologia/UFES), Leonardo e Dona Carlota (Laboratório de Entomologia/UFES) pela cordialidade e presteza quando necessário.

Aos irmãos de república (Recife) Hugo Bolsoni Zago, Gilberto Santos Andrade, Marcela Campanharo, Priscila Alves Lima, os quais compartilharam os momentos de felicidade e de angústia ao longo desta trajetória acadêmica.

A família Valory Silveira em especial Werton Silveira Antunes, Maria Rizete de Assis Valory Silveira (In memorian) e Márcio Valory Silveira pelo apoio ao longo desta trajetória.

À minha família pernambucana (Tia Gil, Sr. Evandro, Wendel, Wendson e Nazaré) por compartilharem os inúmeros momentos de amor, alegria e acima de tudo por sempre me receberem de braços abertos.

Às amigas aqui conquistadas durante minha estadia em Pernambuco, em especial aos contemporâneos de curso Íris Lettiere, Marissônia Noronha, Indira Molo, Lílian Guimarães, Sandra Maranhão, Adriana Melo, Edson Borges e os demais alunos dos cursos de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola e Fitopatologia da UFRPE.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA .....	viii
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	01
LITERATURA CITADA.....	08
2 SELEÇÃO DE <i>Trichogramma</i> (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O CONTROLE DE <i>Helicoverpa zea</i> (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE).....	16
RESUMO .....	17
ABSTRACT .....	18
INTRODUÇÃO .....	19
MATERIAL E MÉTODOS .....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
AGRADECIMENTOS.....	25
LITERATURA CITADA.....	25
3 SUSCETIBILIDADE DE <i>Helicoverpa zea</i> (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE) A <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER (BACILLACEAE).....	32
RESUMO .....	33
ABSTRACT .....	34
INTRODUÇÃO .....	35

MATERIAL E MÉTODOS .....	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
AGRADECIMENTOS.....	41
LITERATURA CITADA.....	42
4 EFEITO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> BERLINER (BACILLACEAE) SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS DO PARASITÓIDE <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY (TRICHOGRAMMATIDAE).....	50
RESUMO .....	51
ABSTRACT .....	52
INTRODUÇÃO .....	53
MATERIAL E MÉTODOS .....	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	57
AGRADECIMENTOS.....	60
LITERATURA CITADA.....	60

## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

Entre os principais problemas enfrentados pelos países desenvolvidos e em desenvolvimento é conciliar o crescimento populacional com a demanda de alimentos. O avanço tecnológico no sistema produtivo agrícola tenta equiparar este processo, porém, torna-se necessário a reestruturação e desenvolvimento de tecnologias que visem um melhor aproveitamento dos recursos naturais com intuito de fortalecer a cadeia produtiva e minimizar os efeitos deletérios ao ambiente.

Entretanto, independente do status quantitativo na produção de alimentos, o aspecto qualitativo está sendo cada vez mais questionado, devido maior conscientização do mercado em adquirir alimentos mais saudáveis e livres de resíduos de agrotóxicos. Assim sendo, a principal tecnologia adotada para o controle das pragas, que é a utilização de agrotóxicos, deverá ser reavaliada para evitar os prejuízos causados ao ambiente e o homem.

Os insetos-praga causam infestações em diversas culturas provocando prejuízos indesejáveis ao setor produtivo, entre estes insetos alguns são caracterizados como polívoros, como *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) considerada praga de inúmeras culturas, dentre as quais o algodão, milho e tomate são as que apresentam maior importância econômica (Gould *et al.* 2002, Nault & Speese III 2002, Giolo *et al.* 2006, Lebedenco *et al.* 2007).

Os adultos de *H. zea* possuem colorações variadas, apresentando as asas anteriores cinza-esverdeadas ou amareladas com manchas escuras dispersas e uma faixa transversal escura. Possuem hábitos crepusculares, ovipositando em média de 400 a 3000 ovos, os quais possuem

formato hemisférico com cerca de 1 mm de diâmetro e coloração branca. Após a eclosão as lagartas possuem coloração branca e cabeça escura, alcançando no fim deste estágio 40 a 50 mm de comprimento, com tonalidades variáveis e listras longitudinais (Gallo *et al.* 2002, Gravena & Benvenga 2003).

Uma das principais medidas de controle de *Helicoverpa* spp. é o emprego de inseticidas (Dawson *et al.* 2006, Giolo *et al.* 2006). Nos Estados Unidos da América, *H. zea* é considerada a praga-chave no agroecossistema do algodoeiro, milho e tomate (Zalom *et al.* 1986, Zehnder *et al.* 1995, Pietrantonio *et al.* 2007), sendo que nas condições do sistema produtivo brasileiro de tomate esta praga não é considerada importante, isso devido ao uso de altas dosagens de agrotóxicos e ao calendário de pulverização para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), porém caso ocorra um desequilíbrio ecológico esse inseto poderá causar sérios danos à cultura (Castelo Branco *et al.* 2003).

Pesquisadores buscam aprimorar ou descobrir novas tecnologias de manejo de *H. zea*, entretanto todos estão engajados em desenvolver táticas de controle eficientes e de encontro com a tendência mundial de produzir alimentos livres de resíduos de agrotóxicos.

O manejo integrado de pragas é uma importante ferramenta de controle e composta por inúmeras táticas que podem ser utilizadas, isoladamente, ou em conjunto no controle dos problemas fitossanitários. Destacando-se o controle biológico como um dos principais pilares. Logo, o uso de inimigos naturais com outras táticas de manejo é uma forma de aprimorar à sua utilização no manejo integrado de pragas, como é o caso da utilização de inseticidas seletivos.

Dentre os agentes de controle que podem ser utilizados no manejo de insetos, pode-se citar a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae) que vem sendo utilizada a mais de cinquenta anos no controle de insetos. É uma bactéria de solo, formadora de esporos,

crece em aerobiose e é facultativamente anaeróbia, reage positivamente para a coloração de Gram e pode ser encontrada nos mais variados ecossistemas (Alves 1998, Polanczyk *et al.* 2008).

A atividade entomopatogênica é devido à produção de cristais protéicos durante a esporulação. Os cristais são constituídos por  $\delta$ -endotoxinas, também conhecidas como proteínas Cry e Cyt, com ação inseticida. Sendo que após serem ingeridas se solubilizam no meio alcalino no intestino do inseto e são em seguida ativadas através da ação de proteases (Habib & Andrade, 1998).

Os parasitóides são importantes agentes de controle biológico de insetos, especialmente os microhimenópteros, dentre os quais os parasitóides de ovos do gênero *Trichogramma* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), que são reconhecidos pela sua capacidade de controlar insetos-praga, preferencialmente por insetos da ordem Lepidoptera, mas também parasitam Diptera, Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera e Neuroptera. Apresentam cerca de 160 espécies, com ampla distribuição geográfica (Pinto & Sthouthamer, 1994; Zucchi e Monteiro, 1997, Ma & Chen 2006).

Outra particularidade destes agentes é a facilidade de produção e multiplicação em laboratório, favorecendo a implantação de programas de controle biológico nos mais variados sistemas agroflorestais, sendo reconhecidos mundialmente como um dos principais grupos de inimigos naturais (Oliveira *et al.* 2005).

A utilização de espécies do gênero *Trichogramma* é comumente questionada apesar de apresentar diversos relatos de sucesso, isso pode estar relacionado com falhas na seleção da espécie e até mesmo da população envolvida, pois este parasitóide apresenta grande variabilidade no comportamento de procura, preferência hospedeira e até mesmo respostas às condições ambientais (Pak 1986, Hassan 1997). Portanto, algumas características biológicas e comportamentais devem ser aferidas para selecionar a espécie mais adaptada ao ambiente e hospedeiro (Beserra *et al.* 2003).

Alguns estudos com espécies de *Trichogramma* visando à utilização em programas de manejo integrado de *H. zea* são realizados com intuito de identificar a espécie que apresente melhor desempenho nas condições ambientais do ecossistema onde será realizada a sua liberação. Ao longo dos anos, a liberação de parasitóides deste gênero visando ao controle de *H. zea* é relatada por diversos autores, como uma importante ferramenta de controle de *H. zea* em diversos sistemas agrícolas (Oatman *et al.* 1983, Hoffmann *et al.* 1990, Castelo Branco *et al.* 2003).

No Chile, Velásquez & Gerding (2006) verificaram a adequação de diferentes espécies de *Trichogramma*, dentre as quais *Trichogramma nerudai* Pintureau & Gerding e *Trichogramma pretiosum* Riley. As duas espécies apresentaram resultados satisfatórios no controle de *H. zea*, entretanto como *T. nerudai* é uma espécie nativa, esta foi selecionada para testes em condições de campo, pois a sua incorporação no manejo desta praga pode ser favorecida por estar adaptada à região e com isso favorecer o controle de *H. zea*.

Sá & Parra (1994) avaliaram os aspectos biológicos de duas populações de *T. pretiosum* visando o controle de *H. zea*, ambas foram promissoras no controle da referida praga, alcançando resultados superiores a 70% de parasitismo. Outra espécie que merece destaque no controle de *H. zea* é *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, a qual é encontrada em plantações de milho atuando como um importante regulador da densidade populacional desta praga, despertando o interesse de alguns pesquisadores na sua utilização como inimigo natural neste agroecossistema (Paron *et al.* 1998).

Parasitóides do gênero *Trichogramma* e a bactéria entomopatogênica *B. thuringiensis* são citados frequentemente como agentes de controle de insetos-praga, seja através de liberação ou ocorrência natural. No caso da bactéria, a sua utilização pode ser mediante pulverizações com inseticida biológico ou através de plantas transgênicas, as quais expressam as toxinas deste agente



(Sá & Parra 1994, Losey *et al.* 1995, Polanczyk & Alves 2003, Hou *et al.* 2006, Velásquez & Gerding 2006, Aguilar-Medel *et al.* 2007, Wang *et al.* 2007)

A bactéria *B. thuringiensis* apresenta características essenciais no controle de insetos-praga, tais como seu modo de ação, especificidade e seletividade (Glare & O'Callaghan 2000, Karim *et al.* 2000, Bobrowski *et al.* 2003, Polanczyk & Alves 2003, Bravo *et al.* 2007). Entretanto, assim como os inseticidas convencionais, que comumente são aplicados de maneira inadequada propiciando a ocorrência de resistência dos insetos, os bioinseticidas a base de *B. thuringiensis* e as plantas geneticamente modificadas têm que ser manejados corretamente para evitar a ocorrência de novos casos de resistência e efeitos indesejáveis aos inimigos naturais (Gould *et al.* 2002, Tabashnik *et al.* 2008).

A busca por isolados de *B. thuringiensis* mais eficientes no controle de *H. zea* é constante, portanto, bioensaios que avaliam a atividade inseticida de diferentes isolados desta bactéria são realizados com frequência. A respeito deste assunto, o trabalho realizado por Rogoff *et al.* 1969 é um exemplo clássico, no qual os autores avaliaram o potencial de diferentes isolados de *B. thuringiensis* visando o controle de alguns insetos-praga, dentre estes *H. zea*.

Ameen *et al.* 1998 verificaram o antagonismo entre formulações de diferentes subespécies deste entomopatógeno no controle de *H. zea* e *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). Recentemente, Aguilar-Medel *et al.* 2007 verificaram a variabilidade em relação a suscetibilidade de diferentes populações de *H. zea* a  $\delta$ -endotoxina Cry2Ab presentes nas plantas transgênicas de algodão.

Logo, a seleção de novos isolados de *B. thuringiensis* e, conseqüentemente, a descoberta de novas proteínas com atividade inseticida é uma forma de incrementar o manejo da resistência, pois possibilita o desenvolvimento de bioinseticidas e cultivares com maior potencial de resistência através dos avanços na engenharia genética, com a introdução de genes codificadores das proteínas

tóxicas aos insetos-praga no genoma da planta (Stewart *et al.* 2001, Bobrowski *et al.* 2003, Escudero *et al.* 2004.).

No México, Del Rincón-Castro *et al.* 2006 com intuito de descobrirem isolados eficientes de *B. thuringiensis* no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) efetuaram o isolamento de cepas nativas, pois os produtos disponíveis no mercado local e utilizados no controle desta praga apresentam baixa eficiência. Similarmente no Brasil, Medeiros *et al.* 2005 selecionaram e caracterizaram novas cepas de *B. thuringiensis* efetivas contra a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (Linneau) (Lepidoptera: Plutellidae).

A interação entre inimigos naturais é uma das principais formas de incrementar o controle biológico de insetos-praga, porém como qualquer tipo de interação os efeitos podem ser favoráveis ou não, sendo considerados de ação sinérgica, aditiva ou antagônica (Hafez *et al.* 1995, Alves 1998, Dequech *et al.* 2005). Portanto, alguns estudos comprovam a importância de pesquisas em agroecossistemas, onde *B. thuringiensis* e organismos benéficos irão interagir no manejo de insetos-praga (Losey *et al.* 1995, Mascarenhas & Luttrell 1997, Chenot & Raffa 1998, Erb *et al.* 2001, Torres & Ruberson 2006).

A toxicidade dos inseticidas é o fator que tem gerado muita preocupação nos pesquisadores, profissionais e produtores agrícolas, isso devido ao impacto negativo quando não administrado corretamente. Os inseticidas biológicos, também têm despertado os interesses de diversos setores, inclusive científico. Kok & Acosta-Martinez 2001, avaliaram a toxicidade de *B. thuringiensis* sobre *Cotesia orobena* Forbes (Hymenoptera: Braconidae), parasitóide de *P. xylostella*, e concluíram que a ingestão ou o contato deste entomopatógeno não afeta o parasitóide.

Os conhecimentos das interações envolvidas entre espécies do gênero *Trichogramma*, *B. thuringiensis* e os insetos-alvo ainda são incipientes no Brasil. Porém, trabalhos precursores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de

pragas (Marques & Alves 1995, Marques & Alves 1996, Morandi Filho *et al.* 2006, Polanczyk *et al.* 2006, Pratisoli *et al.* 2006).

Por sua vez, a literatura internacional dispõe de inúmeros trabalhos relacionados ao estudo das interações entre *B. thuringiensis* e inimigos naturais (Hafez *et al.* 1995, Mertz *et al.* 1995, Erb *et al.* 2001, Mansour 2004, Ruiu *et al.* 2007). Dentre estes relatos evidenciam-se alguns casos da utilização conjunta deste entomopatógeno com espécies do gênero *Trichogramma*, como a utilização das espécies *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner e *T. pretiosum* no controle de *H. zea*, onde os autores concluíram que não houve influência na capacidade de parasitismo (Campbell *et al.* 1991), concordando com o resultado encontrado por Oatman *et al.* 1983, que também verificaram que o uso conjunto de *B. thuringiensis* e *T. pretiosum* não afeta a capacidade de parasitismo dos ovos de *H. zea*.

Como descrito anteriormente, é necessário salientar que a utilização conjunta de *B. thuringiensis* e parasitóides do gênero *Trichogramma* apresenta na maioria das vezes efeito benéfico no controle de insetos-praga. A liberação conjunta de *Trichogramma evanescens* Westwood e aplicação de *B. thuringiensis* é recomendada para o controle de pragas do algodoeiro, sem prejuízos para a fauna benéfica (Mansour 2004).

A utilização de plantas geneticamente modificadas, que expressam as proteínas de *B. thuringiensis*, está sendo cada vez mais questionadas em relação ao possível impacto sobre os inimigos naturais. No entanto, Wang *et al.* 2007 comprovaram em laboratório que a longevidade e fecundidade de *Trichogramma ostrinae* Pang & Chen não foram afetadas pela ingestão de pólen proveniente de milho Bt. Jin-Hu *et al.* 2006 também constataram que *Trichogramma chilonis* (Ishii) alimentados com pólen proveniente de algodão Bt não reduziu sua capacidade de parasitismo, longevidade e razão sexual, bem como a longevidade de seus descendentes.

Estudos que visem avaliar o comportamento de inimigos naturais em relação a insetos-praga são de primordial relevância antes de sua utilização aplicada. Assim, o presente trabalho teve como objetivo selecionar a espécie e/ou populações do parasitóide de ovos *Trichogramma* e o isolado de *B. thuringiensis* com melhor desempenho, visando ao controle de *H. zea*, bem como avaliar a interação entre estes agentes de controle biológico para incorporá-los em programas de manejo integrado de *H. zea*.

### Literatura Citada

- Aguilar-Medel, S., Rodríguez-Maciél, J.C., Díaz-Gómez, O., Martínez-Carrillo, J.L., López-Collado, J., C.A. Blanco & A. Lagunes-Tejeda. 2007.** Susceptibilidad de *Helicoverpa zea* (Boddie) a la  $\delta$ -endotoxina Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Agrociência* 41: 653-662.
- Ameen, A.O., J.R. Fuxa & A.R. Ritcher. 1998.** Antagonism between formulations of different *Bacillus thuringiensis* subspecies in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Entomol. Sci.* 33: 129-135.
- Alves, S.B. 1998.** Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.
- Beserra, E.B., C.A. Santos Dias & J.R.P. Parra. 2003.** Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. *Acta Sci. Agron.* 25: 479-483.
- Bravo, A., S.S. Gill & M. Soberón. 2007.** Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and potential for insect control. *Toxicon.* 49: 423-435.
- Bobrowski, V.L., Fiúza, L.M., G. Pasquali & M.H. Bodanese-Zanettini. 2003.** Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Cienc. Rural* 34: 843-850.

- Campbell, C.D., J.F. Walgenbach & G.G. Kennedy. 1991.** Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide-treated and untreated tomatoes in western North Carolina. *J. Econ. Entomol.* 84: 1662-1667.
- Castelo Branco, M., Pontes, L.A., P.S.T. Amaral & M.V. Mesquita Filho. 2003.** Inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e broca-grande e seu impacto sobre *Trichogramma pretiosum*. *Hortic. Bras.* 21: 652-654.
- Chenot, A.B. & K. F. Raffa. 1998.** Effects of parasitoid strain and host instar on the interaction of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* with Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae) larval parasitoid *Cotesia melanoscela* (Hymenoptera: Braconidae). *Environ. Entomol.* 27: 137-147.
- Dawson, J., A.J. Hamilton & C. Mansfield. 2006.** Dispersion statistics and a sampling plan for *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) on fresh-market tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Aust. J. Entomol.* 45: 91-95.
- Del Rincón-Castro, M.C., J. Méndez-Lozano & J.E. Ibarra. 2006.** Caracterización de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* con actividad insecticida hacia el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Folia Entomol. Mex.* 45: 157-164.
- Dequech, S.T.B., R.F.P. Da Silva & L.M. Fiuza. 2005.** Interação entre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), *Campoletis flavicineta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Bacillus thuringiensis aizawai*, em laboratório. *Neotrop. Entomol.* 34: 937-944.
- Erb, S.L., Bouchier, R.S., K. Van Frankenhuyzen & S.M. Smith. 2001.** Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). *Environ. Entomol.* 1174-1181.

- Escudero, I.R., Ibáñez, I., Padilla, M.A., A. Carnero & P. Caballero. 2004.** Aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus thuringiensis* procedentes de muestras de tierra de Canarias. Bol. San. Veg. Plagas 30: 703-712.
- Gallo, D., O. Nakano, S.S. Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E.B. Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Giolo, F.P., Busato, G.R., Garcia, M.S., Manzoni, C.G., O. Bernadi & M. Zart. 2006.** Biología de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. Rev. Bras. Agroc. 12: 167-171.
- Glare, T.R., O'Callaghan, M. 2000.** *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. Chichester, John Wiley & Sons, 350p.
- Gould, F., Blair, N., Reid, M., Rennie, T.L., J. Lopez & S. Micinski. 2002.** *Bacillus thuringiensis*-toxin resistance management: Stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 16581-16586.
- Gravena, S. & S.R. Benvenga. 2003.** Manual práctico para manejo de pragas do tomate. Jaboticabal, Gravena-ManEcol Ltda., 143p.
- Habib, M.E.M & C.F.S. Andrade. 1998.** Bactérias Entomopatogênicas, p. 383-446. In: Alves, S.B. Controle Microbiano de Insetos. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163p.
- Hassan, S.A. 1997.** Seleção de espécies de *Trichogramma* para uso em programas controle biológico, p.183-205. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi, *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Hafez, M., Salama, H.S., Aboul-Ela, R., F. N. Zaki & M. Ragaei. 1995.** Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Apanteles ruficrus* parasitizing the larvae of *Agrotis ypsilon*. J. Islamic Acad. Sci. 8: 33-36.

- Hoffmann, M.P., Wilson, L.T., F.G. Zalom & R.J. Hilton. 1990.** Parasitism of *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs: effect on pest management decision rules for processing tomatoes in the Sacramento Valley of California. *Environ. Entomol.* 19: 753-763.
- Hou, M., Wang, F., F. Wan & F. Zhang. 2006.** Parasitism of *Helicoverpa assulta* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) eggs by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Implications for inundative release on tobacco plants. *Appl. Entomol. Zool.* 41: 577-584.
- Jin-Hu, G., Zuo-Rui, S., S. Kai & L. Zheng. 2006.** Effect of pollen of regular cotton and transgenic *Bt*+CpTI cotton on the survival and reproduction of the parasitoid wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory. *Environ. Entomol.* 35: 1661-1668.
- Karim, S., Riazuddin, S., F. Gould & D. H. Dean. 2000.** Determination of receptor binding properties of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxins to cotton bollworm (*Helicoverpa zea*) and pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) midgut brush border membrane vesicles. *Pestic. Biochem. Physiol.* 67: 198–216.
- Kok, L.T. & J.A. Acosta-Martinez. 2001.** Differential susceptibility of *Cotesia orobena*, a parasitoid of the cross-striped cabbageworm, to commonly used insecticides in Cruciferae. *Biocontrol* 46: 419-426.
- Lebedenco, A., Auad, A.M. & S.N. Kronka. 2007.** Métodos de controle de lepidópteros do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Acta Sci. Agron.* 29: 339-344.
- Losey, J.E., Fleischer, J., Calvin, D.D., W.L. Harkness & T. Leahy. 1995.** Evaluation of *Trichogramma nubilalis* and *Bacillus thuringiensis* in management of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. *Environ. Entomol.* 24: 436-445.
- Ma, C.S. & Y.W. Chen. 2006.** Effects of constant temperature, exposure period, and age on diapause induction in *Trichogramma dendrolimi*. *Biol. Control* 36: 267-273.

- Marques, I.M.R. & S.B. Alves. 1995.** Influência de *Bacillus thuringiensis* no parasitismo de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lep. Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* R. (Hym: Trichogrammatidae). Braz. Arch. Biol. Technol. 31: 317-325.
- Marques, I.M.R. & S.B. Alves. 1996.** Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* sobre *Scrobipalpuloides absoluta* Meyer (Lepidoptera: Gelechiidae). An. Soc. Entomol. Brasil 25: 39-45.
- Mascarenhas, V.J. & R.G. Luttrell. 1997.** Combined effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Environ. Entomol. 26: 939-945.
- Mansour, E. S. 2004.** Effectiveness of *Trichogramma evanescens* Westwood, bacterial insecticide and their combination on the cotton bollworms in comparison with chemical insecticides. Egypt. J. Biol. Pest. Control 14: 339-343.
- Medeiros, P.T, Ferreira, M.C., Martins, E.S., Gomes, A.C.M.M., Falcão, R., J.M.C. Souza Dias & R.G. Monnerat. 2005.** Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. Pesqu. Agropecu. Bras. 40: 1145-1148.
- Mertz, B.P., Fleischer, S.J., D.D. Calvin & R.L. Ridgway. 1995.** Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. J. Econ. Entomol. 88: 1616-1625.
- Morandi Filho, W.J., Botton, M., Grützmacher, A.D., F.P. Giolo & C. G. Manzoni. 2006.** Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de



- videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Cienc. Rural 36: 1072-1078.
- Nault, B.A. & J. Speese III. 2002.** Major insects pests and economics of fresh-market tomato in eastern Virginia. Crop Prot. 21: 359-366.
- Oatman, E.R., Wyman, J.A., R.A. van Steenwyk & M.W. Johnson. 1983.** Integrated control of the tomato fruitworm (Lepidoptera: Noctuidae) and other lepidopterous pests on fresh-market tomatoes in southern California. J. Econ. Entomol. 76: 1363-1369.
- Oliveira, H.N., Colombi, C.A, Pratisoli, D., E.P.Pedruzzi & L.P. Dalvi. 2005.** Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em dois hospedeiros por diversas gerações. Cienc. Agrotec. 29: 284-288.
- Paron, M.J.F.O, A.I. Ciociola & I. Cruz. 1998.** Desposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) An. Soc. Entomol. Brasil 27: 427-433.
- Pak, G.A. 1986.** Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp. J. Appl. Entomol. 101: 55-64.
- Pietrantonio, P.V., Junek, T.A., Parker, R., Mott, D., Siders, K., Troxclair, N., Vargas-Camplis, J., J.K. Westbrook & V.A. Vassiliou. 2007.** Detection and evolution of resistance to the pyrethroid cypermethrin in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Texas. Environ. Entomol. 36: 1174-1188.
- Pinto, J. D. & R. Sthouthamer. 1994.** Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*, p.1-36 In Wajnberg, E. & S.A. Hassan (eds.). Biological Control with Egg Parasitoids. London, C.A.B. International, 304p.

**Polanczyk, R.A. & S.B. Alves. 2003.** *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. *Agrociencia* 7: 1-10.

**Polanczyk, R.A., Pratissoli, D., Vianna, U.R., R.G.S. Oliveira & G. S. Andrade. 2006.** Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. *Acta Sci. Agron.* 28: 233-239.

**Polanczyk, R.A., F.H. Valicente & M.R. Barreto. 2008.** Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina, p.111-136. In Alves, S.B. & R.B. Lopes (eds.). *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba, FEALQ, 414p.

**Pratissoli, D., Polanczyk, R.A., Vianna, U.R., G. S. Andrade & R.G.S. Oliveira. 2006.** Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, *Trichogrammatidae*) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, *Pyralidae*) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Cienc. Rural* 36: 369-377.

**Rogoff, M.H., Ignoffo, C.M., Singer, S., I. Gard & A.P. Prieto. 1969.** Insecticidal activity of thirty-one strains of *Bacillus thuringiensis* five insect species. *J. Invertebr. Pathol.* 14: 122-129.

**Ruiu, L., A. Satta & I. Floris. 2007.** Susceptibility of the house fly pupal parasitoid *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: *Pteromalidae*) to the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* and *Brevibacillus laterosporus*. *Bio Control* 43: 188-194.

**Sá, L.A.N. & J.R.P. Parra. 1994.** Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., *Trichogrammatidae*) on *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lep., *Pyralidae*) and *Heliothis zea* (Boddie) (Lep., *Noctuidae*) eggs. *J. Appl. Entomol.* 118: 38-43.

**Stewart, S.D., Adamczyk Jr., J.J., K.S. Knighten & F.M. Davis. 2001.** Impact of B.t cottons expressing one or two insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* Berliner on growth and survival of noctuid (Lepidoptera) larvae. *J. Econ. Entomol.* 94: 752-760.

- Tabashnik, B.E., Gassmann, A.J., D.W. Crowder & Y. Carrière. 2008.** Insect resistance to B.t crops: evidence versus theory. *Nat. Biotechnol.* 26: 199-202.
- Torres, J.B. & J.R. Ruberson. 2006.** Interactions of Bt-cotton and the omnivorous big-eyed bug *Geocoris punctipes* (Say), a key predator in cotton Wolds. *Biol. Control* 39: 47-57.
- Velásquez, C.F. & M. Gerding P. 2006.** Evaluación de diferentes especies de *Trichogramma* spp. para el control de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). *Agric. Técnica* 66: 411-415.
- Wang, Z.Y., Wu, Y., K.L. He & S.X. Bai. 2007.** Effects of transgenic B.t maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostrinae* in laboratory conditions. *Bulletin of Insectology* 60: 49-55.
- Zalom, F.G., L.T. Wilson & M.P. Hoffmann. 1986.** Impact of feeding by Tomato Fruitworm, *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), and Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), on processing tomato fruit quality. *J. Econ. Entomol.* 79: 822-826.
- Zehnder, G.W., E.J. Sikora & W.R. Goodman. 1995.** Treatment decisions based on egg scouting for tomato fruitworm, *Helicoverpa zea* (Boddie), reduce insecticide use in tomato. *Crop Prot.* 14: 683-687.
- Zucchi, R.A. & R.C. Monteiro. 1997.** O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p.41-66. In Parra, J. R. P. & Zucchi, R. A. (eds.), *Trichogramma* e o controle biológico aplicado, Piracicaba, FEALQ, 324p.

## CAPÍTULO 2

### SELEÇÃO DE *Trichogramma* (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) PARA O CONTROLE DE *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)<sup>1</sup>

HUGO J. G. DOS SANTOS JUNIOR<sup>1</sup>, DIRCEU PRATISSOLI<sup>2</sup>, EDMILSON J. MARQUES<sup>1</sup> E RICARDO A.  
POLANCZYK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

<sup>2</sup>Departamento de Produção Vegetal – NUDEMAFI, Centro de Ciências Agrárias da  
Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre-ES.

---

<sup>1</sup>Santos Jr., H.J.G., D. Pratissoli, E.J. Marques & R.A. Polanczyk. Seleção *Trichogramma* (Westwood) (Hym.: Trichogrammatidae) para o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae). Ciência Rural

RESUMO – O uso de *Trichogramma* em programas de manejo integrado de pragas pode apresentar respostas variáveis, pois o sucesso é relacionado à seleção da espécie apta a controlar o inseto-alvo nas condições do agroecossistema envolvido. Este trabalho teve como objetivo selecionar uma população de *Trichogramma* para o controle de *Helicoverpa zea* (Boddie), analisando algumas características biológicas dos insetos a 18, 25 e 30 ± 0,5°C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 14h. A capacidade de parasitismo entre as populações de *T. atopovirilia*, *T. exiguum* e *T. pretiosum* apresentou variabilidade nas temperaturas analisadas, sendo que a população Tatp1 de *T. atopovirilia* proporcionou o maior parasitismo a 25°C. Por outro lado, as populações Tp13 e Tp16 de *T. pretiosum* nas temperaturas de 18 e 30°C foram mais adaptadas, sendo indicadas para o manejo de *H. zea* nessas condições climáticas. Em relação a razão sexual houve maior predominância de fêmeas para as populações de *T. pretiosum* a 25°C, porém as demais espécies também apresentaram valores satisfatórios entre 0,8 a 1,0 nas condições térmicas avaliadas. O número de adultos emergidos por ovo diferiu entre as populações de *T. pretiosum*, porém o mesmo não foi observado entre as populações Te1 e Te3 de *T. exiguum*, cujo número médio variou entre 1,61 a 2,23 parasitóides/ovo a 25°C. Os resultados apontam variação entre as populações, porém Tatp1, Tp13 e Tp16 são promissoras para utilização no controle de *H. zea*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, parasitóide de ovos, lagarta-da-espiga

SELECTION OF *Trichogramma* (WESTWOOD) (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) TO  
CONTROL OF *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – The use of *Trichogramma* in programs of integrated pest management can result in variable responses because of specific characteristics of parasitoid populations and pest targeted in the agroecosystems. This study aimed to select a population of *Trichogramma* to control *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae), using results from biological characteristics yielded at 18, 25 and 30°C . The capacity of parasitism among the populations of *T. atopovirilia*, *T. exiguum* and *T. pretiosum* showed variability in the temperatures examined, and the population Tatp1 of *T. atopovirilia* achieved the highest parasitism at 25°C. Otherwise, at 18 and 30°C, the results indicated the populations Tp13 and Tp16 of *T. pretiosum* with better performance parasitizing *H. zea*. The female proportion was greater for *T. pretiosum* at 25°C, but the overall results fit within the satisfactory values from 0.8 to 1.0. The average number of offspring produced per egg parasitized ranged from 1.61 to 2.23 at 25°C differing among *T. pretiosum* populations, but similar for *T. exiguum*. The results show variation between populations, however Tatp1, Tp13 and Tp16 are promising for use in the control of *H. zea*.

KEY WORDS: Biological control, egg parasitoids, corn earworm

## Introdução

O algodão, milho e tomate são culturas de importância sócio-econômica, sendo hospedeiras de vários lepidópteros-praga, entre os quais *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), a qual pode ocasionar prejuízos se medidas de controle não forem tomadas. No milho, por exemplo, sua infestação pode chegar a 90% das espigas ocasionando prejuízos da ordem de 8% na produção. Em tomate os danos podem chegar a 80%, quando o controle com agrotóxicos não foi adotado (França *et al.* 2000, Pinto *et al.* 2004).

Espécies de parasitóide do gênero *Trichogramma* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) são reconhecidos por sua capacidade de controlar insetos-praga nos mais diversos sistemas agrícolas e florestais, preferencialmente insetos da ordem Lepidoptera (Sá & Parra 1993, Hou *et al.* 2006, Ma & Chen 2006, Ayvaz *et al.* 2008). Outra particularidade destes agentes é a facilidade de produção e multiplicação em laboratório, favorecendo a implantação de programas de controle biológico (Oliveira *et al.* 2005).

A utilização de espécies de *Trichogramma* é comumente questionada, apesar de apresentar diversos relatos de sucesso, isso pode estar relacionado com falhas na seleção da espécie e/ou da população envolvida, pois este parasitóide apresenta grande variabilidade no comportamento de procura, preferência hospedeira e respostas às condições ambientais (Pak 1986, Hassan 1997).

Portanto, as características comportamentais e biológicas devem ser aferidas para selecionar a espécie mais adaptada ao ambiente e hospedeiro, tais como: parasitismo, viabilidade, razão sexual e emergência (Beserra *et al.* 2003). Pois o grande número de espécies e/ou populações de *Trichogramma*, apresentam diferenças que podem alterar sua eficiência no controle de uma determinada praga (Molina & Parra 2006). Desse modo o trabalho teve como objetivo selecionar uma população com potencial para controle de *H. zea*.

## Material e Métodos

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

**Criação do Hospedeiro.** O hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) foi criada em dieta a base de farelo de trigo e milho na proporção de 2:1 acrescida de 30 gramas de levedura de cerveja por Kg de dieta. A dieta foi previamente homogeneizada e distribuída em caixas plásticas de 30 x 25 x 10 cm, em cada caixa foram distribuídos aleatoriamente 0,3 g de ovos do hospedeiro alternativo. Os adultos emergidos foram coletados diariamente, sendo transferidos para gaiolas de tubo PVC de 20 cm de diâmetro por 25 cm de altura, contendo no seu interior tiras de tela de “nylon”, dobradas em zig-zag, para a oviposição. A parte superior das gaiolas foi fechada com tela de tecido voil para evitar a fuga dos adultos. Os ovos foram coletados diariamente por cinco dias e armazenados em câmara climatizada a uma temperatura de  $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Criação dos Parasitóides.** As espécies de *Trichogramma* utilizadas foram: *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley; sendo 1, 2 e 8 populações respectivamente de cada espécie (Tabela 1). A criação das espécies de *Trichogramma* foi realizada em ovos do hospedeiro *A. 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, de acordo com a metodologia proposta por Parra 1997.

**Coleta e Criação de *H. zea*.** A coleta de *H. zea* foi realizada em plantios de milho, no município de Alegre-ES (20° 45' 50" S 41° 31' 58" O) e a criação foi desenvolvida em sala climatizada ( $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h). Os adultos de *H. zea* foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidos internamente com folha de papel branco, sendo



as extremidades fechadas com tecido do tipo “voil”, sendo oferecida diariamente uma solução de mel à 10% como substrato alimentar. Os ovos de *H. zea* foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos, após a eclosão as lagartas foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) preenchidos em até 1/4 de seu volume com dieta artificial a base de feijão, germe de trigo e farelo de soja de acordo Greene *et al.* (1976). Após o resfriamento da dieta as lagartas foram transferidas para o tubo, sendo mantidas nestes recipientes até o período pupal.

**Seleção de Populações de *Trichogramma*.** Fêmeas (0-6h) das populações de *Trichogramma* foram individualizadas em tubos de vidro (3,5 de comprimento x 0,7 cm de diâmetro) e, para cada fêmea foram oferecidos 30 ovos (0 - 24h de idade) de *H. zea* colados em cartolina azul celeste (3,0 x 0,5 cm) com goma arábica a 10%. Permitiu o parasitismo por 24h. As cartelas contendo os ovos parasitados foram mantidas em câmara climatizada ( $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h). Para evitar o canibalismo dos ovos parasitados foram eliminadas as lagartas recém-eclodidas de ovos não parasitados durante cinco dias. Os parâmetros analisados foram: porcentagem de parasitismo, viabilidade do parasitismo, razão sexual e número de indivíduos/ovo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 20 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa de análise estatística SAEG (versão 5.0).

**Seleção de Populações de *Trichogramma* em duas Temperaturas.** Fêmeas (0-6h) das populações selecionadas de *T. atopovirilia*, *T. exiguum*, e *T. pretiosum* foram individualizadas nas mesmas condições experimentais utilizadas no experimento anterior, entretanto, para cada população avaliada foram realizados dois experimentos paralelos, onde as condições de temperatura foram  $18 \pm 0,5^{\circ}$  e  $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Os parâmetros analisados foram os mesmos da etapa anterior. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, constando de cinco tratamentos e vinte repetições por temperatura analisada. Os

dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa de análise estatística SAEG (versão 5.0).

## Resultados e Discussão

**Seleção de Populações de *Trichogramma*.** A capacidade de parasitismo das populações apresentou variabilidade, sendo evidenciado uma maior capacidade na população Tatp<sub>1</sub> de *T. atopovirilia* e o inverso na população Tp<sub>1</sub> de *T. pretiosum*, correspondendo a 63,0 e 25,2% de parasitismo respectivamente (Tabela 2). Paron *et al.* 1998a nas mesmas condições experimentais verificaram que *T. atopovirilia* parasitou 27,3% dos ovos de *H. zea*, resultados inferiores ao encontrado no presente trabalho, porém estudos de amostragem em campo salientaram o potencial de *Trichogramma* spp. no controle de *H. zea* (Sá & Parra 1993, Paron *et al.* 1998b, Castelo Branco *et al.* 2003).

Entre as populações de *T. exiguum* houve diferença, Te<sub>1</sub> apresentou uma maior adaptação ao hospedeiro, parasitando 43,5% dos ovos de *H. zea*. Por sua vez, as populações de *T. pretiosum* mais adaptadas ao hospedeiro foram Tp<sub>11</sub>, Tp<sub>13</sub> e Tp<sub>16</sub>, com 48, 47,7 e 46,2% de parasitismo respectivamente (Tabela 2). Velásquez & Gerding (2006) avaliaram as espécies *Trichogramma cacoeciae* March, *Trichogramma nerudai* Pintureau & Gerding e *T. pretiosum* visando ao controle de *H. zea*, obtendo 50, 61,25 e 63,25% de parasitismo, respectivamente.

A viabilidade do parasitismo apresentou resultados satisfatórios para todas as populações testadas, com valores superiores a 98%, sendo que as populações de *T. pretiosum* apresentaram potencial máximo de emergência, com exceção das populações Tp<sub>8</sub> e Tp<sub>9</sub> que diferiram das demais da espécie (Tabela 2).

A razão sexual não diferiu entre as populações Te<sub>1</sub> e Te<sub>3</sub> de *T. exiguum* e Tp<sub>11</sub>, Tp<sub>16</sub> de *T. pretiosum*, com valores de 0,80 a 0,84, porém diferiram das populações de *T. atopovirilia* e *T.*

*pretiosum*, que apresentaram razão sexual de até 1 (Tabela 2), resultados similares aos encontrados por Navarro & Marcano (1999) com o mesmo hospedeiro e as espécies *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*. No entanto, Sá & Parra (1994) avaliaram as populações 5 e 8 de *T. pretiosum* em ovos de *H. zea* em condições térmicas similares e, obtiveram razão sexual de 0,56 e 0,25 respectivamente, inferiores aos valores obtidos neste trabalho.

O número de adultos emergidos por ovo diferiu entre as populações de *T. pretiosum*, porém o mesmo não foi observado entre as populações de *T. exiguum*, cujo número médio variou entre 1,61 a 2,23 parasitóides/ovo (Tabela 2). Estudos afirmam que um menor número de parasitóides desenvolvidos/ovo pode beneficiar o controle biológico, pois estes descendentes terão maior disponibilidade de nutrientes e conseqüentemente poderão ser mais competitivos (Beserra *et al.* 2003).

**Seleção de Populações de *Trichogramma* em Duas Temperaturas.** As temperaturas de 18 e 30°C não afetaram o parasitismo nas populações selecionadas, exceto a população Tp<sub>11</sub> de *T. pretiosum* que demonstrou melhor resultado a 30°C, com 38% de parasitismo (Tabela 3). No entanto, na temperatura mais baixa o inverso foi observado com maior parasitismo dos ovos de *H. zea* pela população Tp<sub>13</sub> (Tabela 3). Nesta mesma condição térmica *T. atopovirilia* parasitou 26% dos ovos de *H. zea*, valor semelhante ao verificado por Navarro & Marcano (1999).

Considerando cada temperatura isoladamente, observou-se uma maior diferenciação entre as populações na temperatura de 18°C (Tabela 3), sendo que a 30°C a população Te<sub>1</sub> de *T. exiguum* parasitou 23,7%, diferindo da população Tp<sub>11</sub>, a qual apresentou o melhor resultado, alcançando 38% de parasitismo. Observando o comportamento da população Te<sub>1</sub> a 18°C verificou-se parasitismo inferior a 20%, porém não diferiu das populações Tatp<sub>1</sub> e Tp<sub>11</sub> (Tabela 3).

A porcentagem de emergência não foi influenciada pelas temperaturas, apresentando valores superiores a 90% (Tabela 3), demonstrando que o hospedeiro é adequado para o desenvolvimento

das espécies de *Trichogramma*, o mesmo foi observado por Navarro & Marcano (2000) para as espécies *T. atopovirilia* e *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*.

Na condição térmica de 30°C a razão sexual das populações não apresentou diferença com índices similares a 0,99, enquanto as populações Tatp<sub>1</sub> e Tp<sub>16</sub> foram influenciadas negativamente a 18°C (Tabela 3).

Em relação ao número de indivíduos/ovo os resultados não diferiram para as populações de *T. atopovirilia*, *T. exiguum* e *T. pretiosum* na condição de 18°C, porém a população de *T. atopovirilia* diferiu das demais a 30°C, sendo que a média obtida variou entre 1,6 a 1,85 parasitoides/ovo nestas condições térmicas. Estes valores foram superiores ao obtido por Navarro e Marcano (2000) com as espécies *T. atopovirilia* e *T. pretiosum*, 1,29 e 1,26 indivíduos/ovo respectivamente.

Os resultados demonstram uma maior adaptação à condição térmica de 25°C de *T. atopovirilia*, o que resultou no melhor desempenho da população Tatp<sub>1</sub> em parasitar ovos do hospedeiro. A 18 e 30°C verificou-se potencial de parasitismo abaixo do encontrado a 25°C, isso pode ser devido à tolerância as condições climáticas como descrito na literatura ou até mesmo devido a adaptação às condições térmicas da criação (Hassan 1997, Beserra & Parra 2004).

Por outro lado, as populações de *T. pretiosum* nas temperaturas de 18 e 30°C foram mais adaptadas, sendo promissoras para o manejo de *H. zea* em agroecossistemas com estas condições. Em contrapartida na condição térmica de 25°C, a espécie *T. atopovirilia* apresentou o melhor desempenho. Isto pode está relacionado à melhor adaptação desta espécie às condições de laboratório e até mesmo ao tempo em que o parasitóide foi introduzido no biotério e a temperatura do seu local de origem (Tabela 1).

As populações Tp<sub>13</sub> e Tp<sub>16</sub> de *T. pretiosum* apresentaram os melhores percentuais de parasitismo na condição térmica de 18°C, com 36 e 29,5% de parasitismo respectivamente (Tabela

3). Esse comportamento pode ter ocorrido pelo condicionamento dessas populações a temperaturas mais baixas, uma vez que são originárias de regiões que apresentam temperatura média variando entre 15 a 20°C (Tabela 1).

Assim sendo, torna-se necessário realizar pesquisas que identifiquem o potencial de cada população de *Trichogramma* no controle de insetos-pragas para o agroecossistema em que será utilizado, em virtude da comprovação da diferença entre a eficiência de populações do parasitóide (Pak 1986, Beserra & Parra 2004).

Estudos no âmbito da utilização destas populações devem levar em consideração além das características biológicas e comportamentais, as condições do agroecossistema envolvido, que são de extrema relevância na implantação de programas de controle biológico que utilizem espécies de *Trichogramma* no controle de insetos-praga, como é o caso de *H. zea*.

### **Agradecimentos**

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por ter concedido a bolsa de estudos ao primeiro autor.

### **Literatura Citada**

**Ayvaz, A., Karasu, E., S. Karaborklu & S. Yilmaz. 2008.** Dispersal ability and parasitization performance of egg parasitoid *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in field and storage conditions. Turk. J. Biol. 32: 1-7.

- Beserra, E.B., C.A. Santos Dias & J.R.P. Parra. 2003.** Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Acta Sci. Agron. 25: 479-483.
- Beserra, E.B. & J.R.P. Parra. 2004.** Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 48: 119-126.
- Carvalho, R. L. P. 1980.** Pragas do milho, p.505-570. In: Paterniani, E. (ed.). Melhoramento e produção de milho no Brasil. Piracicaba, Fundação Cargill.
- Castelo Branco, M., Pontes, L.A., P.S.T. Amaral & M.V. Mesquita Filho. 2003.** Inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e broca-grande e seu impacto sobre *Trichogramma pretiosum*. Hort. Bras. 21: 652-654.
- França, F. H., Villasbôas, G. L., Castelobranco, M. & M.A. Medeiros. 2000.** Manejo integrado de pragas, p.112-127. In Silva, J.B.C. & L.B. Giordano (Org.). Tomate para processamento industrial. Brasília: Embrapa-CNPQ/Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 168p.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69: 487-488.
- Hassan, S.A. 1997.** Seleção de espécies de *Trichogramma* para uso em programas controle biológico, p.183-205. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi, *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Hou, M., Wang, F., F. Wan & F. Zhang. 2006.** Parasitism of *Helicoverpa assulta* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae) eggs by *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Implications for inundative release on tobacco plants. Appl. Entomol. Zool. 41: 577-584.

- Ma, C.S. & Y.W. Chen. 2006.** Effects of constant temperature, exposure period, and age on diapause induction in *Trichogramma dendrolimi*. Biol. control 36: 267-273.
- Molina, R.M.S. & J.R.P. Parra. 2006.** Seleção de linhagens de *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) e determinação do número de parasitóides a ser liberado para o controle de *Gymnandrosoma aurantianum* Lima (Lepidoptera, Tortricidae). Rev. Bras. Entomol. 50: 534-539.
- Navarro, R. & R. Marcano. 1999.** Preferencia de *Trichogramma pretiosum* Riley y *T. atopovirilia* Oatman y Platner por huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) de diferentes edades. Bol. Entomol. Venez. 14: 87-93.
- Navarro, R.V. & R. Marcano. 2000.** Efecto de diferentes insecticidas sobre el parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley y *Trichogramma atopovirilia* Oatman y Platner en huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie). Agron. Trop. 50: 337-346.
- Oliveira, H.N., Colombi, C.A, Pratisoli, D., E.P. Pedruzzi & L.P. Dalvi. 2005.** Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em dois hospedeiros por diversas gerações. Cienc. Agrotec. 29: 284-288.
- Pak, G.A. 1986.** Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp. J. Appl. Entomol. 101: 55-64.
- Paron, M.J.F.O., A.I. Ciociola & I. Cruz. 1998a.** Resposta de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a diferentes densidades de ovos do hospedeiro natural, *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). An. Soc. Entomol. Brasil 27: 427-433.

- Paron, M.J.F.O., I. Cruz & A.I. Ciociola. 1998b.** Efeito de genótipos de milho no parasitismo de *Trichogramma* spp. em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie). An. Soc. Entomol. Brasil 27: 435-441.
- Parra, J.R.P. 1997.** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p.121-150. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Pinto, A. S.; Parra, J. R. P. & H.N. Oliveira. 2004.** Pragas e insetos benéficos do milho. Piracicaba: Esalq/USP, 108 p.
- Sá, L.A.N. & J.R.P. Parra. 1993.** Efeito do número e intervalo entre liberações de *Trichogramma pretiosum* Riley no parasitismo e controle de *Helicoverpa zea* (Boddie), em milho. Sci. Agric. 50: 355-359.
- Sá, L.A.N. & J.R.P. Parra. 1994.** Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and *Heliothis zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) eggs. J. Appl. Entomol. 118: 38-43.
- Velásquez, C. F. & M. Gerding P. 2006.** Evaluación de diferentes especies de *Trichogramma* spp. para el control de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Agric. Técnica 66: 411-415.



Tabela 1. Características de populações de *Trichogramma* spp. coletadas em campo e mantidas no insetário do Laboratório de Entomologia do CCA-UFES (Espírito Santo, Brasil).

Populações <sup>1</sup>	Origem	Altitude (m)	Temperatura (°C)	Hospedeiros	Cultura
Tatp1	Sete Lagoas - MG	761	21	<i>H. zea</i>	Milho
Te1	Muniz Freire - ES	650	18	<i>A. kuehniella</i> <sup>2</sup>	Tomate
Te3	Alegre - ES	254	22	<i>H. zea</i>	Tomate
Tp1	Alegre - ES	254	22	<i>H. zea</i>	Tomate
Tp8	Afonso Cláudio - ES	380	20	<i>A. kuehniella</i> <sup>2</sup>	Tomate
Tp9	Cristalina - GO	1250	22	<i>H. zea</i>	Tomate
Tp10	Cristalina - GO	1250	22	<i>H. zea</i>	Tomate
Tp11	Cristalina - GO	1250	22	<i>H. zea</i>	Tomate
Tp13	Paraopeba - MG	700	20	<i>A. kuehniella</i> <sup>2</sup>	Eucalipto
Tp16	Fraiburgo - SC	1048	15,2	<i>Sitotroga cerealella</i> <sup>2</sup> (Olivier)	Tomate
Tp17	Rio Verde - GO	748	26	<i>Pseudoplusia includens</i> (Walker)	Milho

<sup>1</sup>Códigos adotados pelo Laboratório de Entomologia do CCA-UFES (Tatp - *Trichogramma atopovirilia*; Te - *T. exiguum*; Tp - *T. pretiosum*).

<sup>2</sup>Insetos coletados no campo através de armadilha com ovos de hospedeiros alternativos.

Tabela 2. Características biológicas de diferentes populações de *Trichogramma* em ovos de *H. zea*. Temperatura:  $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h.

Populações <sup>1</sup>	Parasitismo <sup>2</sup> (%)	Viabilidade <sup>2</sup> (%)	Razão sexual <sup>2</sup>	Indivíduos/ovo <sup>2</sup>
Tatp1	63,0 ± 3,32 A	98,4 ± 0,78 B	0,88 ± 0,01 B	1,86 ± 0,04 B
Te1	43,5 ± 3,62 C	99,0 ± 0,66 B	0,82 ± 0,01 C	2,23 ± 0,09 A
Te3	36,5 ± 3,19 D	99,1 ± 0,58 B	0,84 ± 0,01 C	2,00 ± 0,06 A
Tp1	25,2 ± 3,32 E	100 ± 0,00 A	1,00 ± 0,00 A	2,14 ± 0,07 A
Tp8	33,6 ± 3,32 D	98,0 ± 0,94 B	1,00 ± 0,00 A	1,77 ± 0,07 B
Tp9	29,3 ± 2,72 E	98,8 ± 0,82 B	1,00 ± 0,00 A	2,05 ± 0,09 A
Tp10	40,3 ± 2,42 C	100 ± 0,00 A	0,73 ± 0,03 D	1,92 ± 0,04 B
Tp11	48,0 ± 3,02 B	100 ± 0,00 A	0,83 ± 0,02 C	1,61 ± 0,08 B
Tp13	47,7 ± 3,46 B	100 ± 0,00 A	0,60 ± 0,03 E	1,73 ± 0,09 B
Tp16	46,2 ± 2,82 B	100 ± 0,00 A	0,80 ± 0,03 C	1,74 ± 0,16 B
Tp17	29,0 ± 1,56 E	100 ± 0,00 A	1,00 ± 0,00 A	2,05 ± 0,11 A

<sup>1</sup>Códigos adotados pelo Laboratório de Entomologia do CCA-UFES (Tatp - *Trichogramma atopovirilia*; Te - *T. exiguum*; Tp - *T. pretiosum*).

<sup>2</sup>Médias (± EP) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Características biológicas de diferentes populações de *Trichogramma* em ovos de *H. zea* em temperaturas extremas. UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h.

Populações <sup>1</sup>	Parasitismo <sup>2</sup> (%)		Viabilidade <sup>3</sup> (%)	
	18°C	30°C	18°C	30°C
Tatp1	26,0 ± 1,49 BC a	28,8 ± 2,19 AB a	99,5 ± 0,35	99,8 ± 0,13
Te1	19,7 ± 1,43 C a	23,7 ± 1,77 B a	99,5 ± 0,32	99,5 ± 0,32
Tp11	27,3 ± 1,75 BC b	38,0 ± 2,71 A a	99,5 ± 0,33	99,3 ± 0,44
Tp13	36,0 ± 3,58 A a	29,5 ± 2,96 AB a	99,5 ± 0,35	99,6 ± 0,23
Tp16	29,5 ± 1,16 AB a	28,6 ± 1,97 AB a	99,5 ± 0,32	99,4 ± 0,41
	Razão Sexual <sup>2</sup>		Indivíduos/ovo <sup>2</sup>	
Tatp1	0,8 ± 0,02 B b	0,9 ± 0,00	1,7 ± 0,10	1,4 ± 0,08 B b
Te1	1,0 ± 0,00 A a	0,9 ± 0,00	1,7 ± 0,13	1,7 ± 0,10 A a
Tp11	0,8 ± 0,20 A b	0,9 ± 0,00	1,8 ± 0,11	1,6 ± 0,06 AB b
Tp13	1,0 ± 0,00 A a	0,9 ± 0,00	1,6 ± 0,10	1,7 ± 0,09 AB a
Tp16	0,7 ± 0,02 C b	0,9 ± 0,00	2,0 ± 0,10	1,8 ± 0,07 A a

<sup>1</sup>Códigos adotados pelo Laboratório de Entomologia do CCA-UFES (Tatp - *Trichogramma atopovirilia*; Te - *T. exiguum*; Tp - *T. pretiosum*).

<sup>2</sup>Médias ( $\pm$  EP) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, 5% de probabilidade.

<sup>3</sup>Não houve diferença pela análise de variância.

### CAPÍTULO 3

#### SUSCETIBILIDADE DE *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE) A *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE)<sup>1</sup>

HUGO J. G. DOS SANTOS JUNIOR<sup>1</sup>, EDMILSON J. MARQUES<sup>1</sup>, RICARDO A. POLANCZYK<sup>2</sup> E DIRCEU PRATISSOLI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

<sup>2</sup>Departamento de Produção Vegetal – NUDEMAFI, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre-ES.

---

<sup>1</sup>Santos Jr., H.J.G., E.J. Marques, R.A. Polanczyk & D. Pratisoli. Suscetibilidade de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae) a *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae). Arquivos do Instituto Biológico

RESUMO - A utilização de agentes de controle biológico é uma alternativa para reduzir o impacto ocasionado pela adoção do uso intensivo de produtos químicos sintéticos, além de possibilitar a produção de alimentos mais saudáveis e que possam gerar mais renda ao produtor. A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner é uma excelente opção, uma vez que é específica e não é prejudicial ao homem. Este trabalho teve como objetivo avaliar isolados de *B. thuringiensis* obtidos a partir de amostras de solos e duas formulações comerciais (Dipel<sup>®</sup> PM e Xentari<sup>®</sup> WG) visando sua utilização em programas de manejo de *Helicoverpa zea* (Boddie), analisando suscetibilidade, efeito subletal e a toxicidade através de estimativas da CL<sub>50</sub> de lagartas de primeiro instar. Os isolados B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 e os formulados proporcionaram mortalidades superiores a 94%, e os demais isolados ocasionaram mortalidades inferiores a 33,33%. A CL<sub>50</sub> variou entre  $3 \times 10^4$  a  $1,2 \times 10^7$  esporos/mL de *B. thuringiensis*. Os isolados B.t 6, B.t 12, B.t 15, B.t 16 e B.t 18 afetaram o desenvolvimento de *H. zea*, reduzindo o peso de lagartas e pupas. Entre os isolados, B.t 23 pode ser promissor para o controle de lagartas de *H. zea*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle microbiano, bactéria entomopatogênica, lagarta-da-espiga

SUSCEPTIBILITY OF *Helicoverpa zea* (BODDIE) (LEP.: NOCTUIDAE) THE *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE)

ABSTRACT – The use of biological control agents is an alternative to reduce the impact caused by the adoption of the intensive use of synthetic chemicals, hence, allowing production of food healthier and generating more revenue to the growers. The entomopathogenic *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) is an option because its specificity and harmfulness characteristics. The study investigated the susceptibility, toxicity and effect sublethal of *B. thuringiensis* isolates obtained from soil samples and two commercial formulations (Dipel® PM and Xentari® WG) to first instar of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae). The Bt isolates B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 and the commercial Bt formulations caused larval mortalities over 94%. The LC<sub>50</sub> estimated ranged from  $3 \times 10^4$  to  $1.2 \times 10^7$  spores/mL. In addition, the isolates B.t 6, B.t 12, B.t 15, B.t 16 and B.t 18 caused reduction on weight of larvae and pupae of *H. zea*. Among the isolates, B.t 23 has potential to be used against *H. zea*.

KEY WORDS: Microbiological Control, entomopathogen bacteria, corn earworm

## Introdução

Insetos-pragas, entre os quais *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), causa prejuízo em inúmeras culturas, como exemplo o algodão, milho e tomate que são consideradas culturas de importância sócio-econômica (Gould *et al.* 2002, Nault & Speese III 2002, Giolo *et al.* 2006, Lebedenco *et al.* 2007). No milho, infestações de *H. zea* podem chegar a 90% das espigas, reduzindo em até 8% a produtividade. No Brasil, alguns plantios de tomate sofrem danos da ordem de até 80%, inviabilizando a produção, isso caso o controle com agrotóxicos não seja adotado (França *et al.* 2000, Pinto *et al.* 2004).

O uso de inseticidas sintéticos é a principal tática para o controle de *H. zea*, porém a necessidade de produção de alimentos mais saudáveis vem estimulando e favorecendo o uso de medidas alternativas aos inseticidas. Entre estas, a utilização de agentes de controle biológico, como é o caso da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae). (Glare & O'Callaghan 2000, Karim *et al.* 2000, Bobrowski *et al.* 2003, Polanczyk & Alves 2003).

Entretanto, para obter sucesso na utilização de *B. thuringiensis* em programas de manejo de insetos-praga é necessária a adoção de isolados eficientes. Logo, a seleção de isolados nativos pode fortalecer o desenvolvimento regional, uma vez que a maioria dos produtos disponíveis no mercado são importados e oneram os custos de produção (Polanczyk *et al.* 2008).

A respeito deste assunto, trabalho realizado por Rogoff *et al.* 1969 é um exemplo clássico, onde os autores avaliaram o potencial de diferentes isolados de *B. thuringiensis* visando o controle de alguns insetos-praga, dentre estes *H. zea*. A seleção de novos isolados de *B. thuringiensis* e consequentemente a descoberta de novas proteínas com atividade inseticida é uma forma de incrementar o manejo de insetos-praga (Escudero *et al.* 2004, Medeiros *et al.* 2005).

Estudos que avaliem a suscetibilidade de insetos-praga a novos isolados de *B. thuringiensis* são de primordial relevância, desta forma este trabalho teve como objetivo selecionar o(s) isolado(s) de *B. thuringiensis* que apresentem potencial para o controle de *H. zea*, para serem incorporados em programas de manejo integrado.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi conduzido no Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), Alegre-Es, em sala climatizada ajustada para a temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa e fotofase de 12h.

**Coleta e Criação de *H. zea*.** A coleta de *H. zea* foi realizada em plantios de milho, no município de Alegre-ES ( $20^\circ 45' 50'' \text{ S } 41^\circ 31' 58'' \text{ O}$ ) e a criação foi desenvolvida em sala climatizada ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h). Os adultos de *H. zea* foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidos internamente com folha de papel branco, sendo as extremidades fechadas com tecido do tipo “voil”, sendo oferecida diariamente uma solução de mel à 10% como substrato alimentar. Os ovos de *H. zea* foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos, após a eclosão as lagartas foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) preenchidos até em 1/4 de seu volume com dieta artificial a base de feijão, germe de trigo e farelo de soja de acordo Greene *et al.* (1976). Após o resfriamento da dieta as lagartas foram transferidas para o tubo, sendo mantidas nestes recipientes até o período pupal.

**Obtenção e Multiplicação dos Isolados de *B. thuringiensis* (B.t).** Foram utilizados 27 isolados de *B. thuringiensis* oriundos de amostras de solo e dois formulados comerciais, a base de *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari<sup>®</sup> WG) e a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup> PM). Os isolados utilizados neste experimento foram provenientes da ESALQ/USP, os quais fazem



parte do banco de entomopatógenos do NUDEMAFI do CCA-UFES. A multiplicação dos isolados foram realizados em meio LB - Luria-Bertani (extrato de levedura, peptona, cloreto de sódio, ágar e água destilada), procedendo com o isolamento da bactéria (papel filtro), por um período de 24 a 48 horas e; posteriormente sua multiplicação em placas cheias, durante 72 horas; ambas as fases foram realizadas em temperatura de 28°C. Posteriormente, as colônias foram removidas das placas com auxílio de espátula e transferidas para tubos plásticos, contendo 10 mL de água destilada estéril. Com o objetivo de eliminar as toxinas indesejáveis e restos de meio de cultura, procedeu-se à centrifugação de cada isolado por 20 minutos por três vezes (5.000 rpm) consecutivas, assim como do material proveniente do produto Xentari® WG (Bta). Após a última centrifugação, o material de cada isolado foi ressuspensão em água destilada estéril e a concentração foi ajustada para  $3 \times 10^8$  esporos/mL<sup>-1</sup> com auxílio de câmara de Neubauer® e microscópio óptico, a concentração de Dipel® PM (Btk) foi ajustada para  $3 \times 10^8$  esporos/mL<sup>-1</sup> de acordo especificação do fabricante. Com relação ao produto Xentari® WG, por não possuir a especificação de ingrediente ativo/grama, se fez necessário o isolamento, multiplicação e quantificação, conforme procedimento com os isolados anteriormente citados.

**Suscetibilidade de *H. zea* ao *B. thuringiensis*.** Os ensaios foram realizados com bandejas confeccionadas com micro-tubos de acrílico de 3,0 cm x 2,0 cm de diâmetro, onde ¼ dos tubos foram preenchidos com a mesma dieta artificial, utilizada na fase de criação de *H. zea*. Posteriormente, 50 µL de cada isolado na concentração  $3 \times 10^8$  esporos/mL<sup>-1</sup> foi inoculado nos micro-tubos de acrílico contendo dieta artificial. Após a evaporação do excesso de umidade, 50 lagartas de primeiro ínstar foram acondicionadas individualmente, perfazendo desta forma 50 repetições por tratamento. O mesmo procedimento foi realizado para a testemunha, mas utilizando somente água destilada estéril sobre a dieta.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 30 tratamentos e 50 repetições, perfazendo 1500 insetos, sendo conduzido em sala climatizada ( $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $70 \pm 10\%$  de UR e fotofase de 12h) e avaliados diariamente até o 7º dia. A patogenicidade dos isolados e dos produtos a base de B.t sobre as lagartas foi avaliada diariamente, determinando a mortalidade e o tempo letal ( $TL_{50}$ ), os quais foram aferidos em intervalos de 12, 24, 48, 72 e 96h; para a análise foram considerados apenas os isolados que apresentaram mortalidade superior a 90%. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SAEG (versão 5.0). A  $TL_{50}$  foi determinada através do programa Micro-probit (versão 3.0) (Haddad *et al.* 1995).

**Efeito Subletal de *B. thuringiensis* a *H. zea*.** Com o objetivo de observar possíveis efeitos subletais nos insetos sobreviventes no teste de patogenicidade, foi realizada a pesagem das lagartas e posteriormente o peso das pupas dos tratamentos, e da testemunha. A pesagem das lagartas e de pupas foi realizada em balança analítica devidamente calibrada, onde um grupo de 20 insetos de cada tratamento que apresentou mortalidade inferior a 34% foram escolhidos aleatoriamente para pesagem. Os insetos foram individualizados em tubos de vidro similares aos utilizados para criação da praga, e ao atingirem o estágio pupal foram novamente pesados. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa de análise estatística SAEG (versão 5.0).

**Estimativa da Concentração Letal ( $CL_{50}$ ).** Os isolados de B.t que proporcionaram mortalidade superior a 90%, assim como o produto Dipel<sup>®</sup> PM foram submetidos à bioensaios para estimativa da  $CL_{50}$ , onde foram utilizadas 100 lagartas de primeiro instar por tratamento, e as condições experimentais foram as mesmas do teste de suscetibilidade. Para cada isolado foram testadas seis concentrações, as quais foram estabelecidas em ensaios preliminares, para a testemunha utilizou-se água destilada estéril sobre a dieta. Cada tratamento foi composto por 700 lagartas, perfazendo

5600 insetos. Os bioensaios foram avaliados diariamente, até o 5º dia após a aplicação. As CLS<sub>50</sub> foram estimadas com auxílio do programa computacional Mobae, através do Micro-probit (versão 3.0) (Haddad *et al.* 1995).

## Resultados e Discussão

**Suscetibilidade de *H. zea* a *B. thuringiensis*.** A patogenicidade dos isolados de *B. thuringiensis* e os produtos Xentari® WG e Dipel® PM apresentaram resultados significativos (P= 0,05; F= 163,78; GI= 28), sendo que apenas os isolados B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 e os produtos comerciais proporcionaram mortalidades superiores a 94,1%; os demais isolados não apresentaram percentuais satisfatórios no controle de *H. zea* na concentração utilizada, com mortalidades inferiores a 33,3% (Tabela 1). Estes resultados denotam a importância da realização de testes de patogenicidade, pois permitem a identificação de isolados eficientes contra o inseto-alvo.

O isolado B.t 12 não apresentou nenhuma virulência para *H. zea* (Tabela 1), isso pode ser relacionado à falta de toxicidade do isolado. Estudos de Rogoff *et al.* 1969 verificaram baixa mortalidade de *H. zea* ao avaliar isolados de B.t, dentre estes EPE-2000 de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* e o isolado HA-3 de *B. thuringiensis* var. *aizawai*. Aguilar-Medel *et al.* 2007 verificaram variabilidade de quatro populações distintas de *H. zea* em relação a sua suscetibilidade à  $\delta$ -endotoxina de *B. thuringiensis* em diferentes concentrações, sendo que na concentração mais alta a mortalidade foi inferior a 43%.

Os valores obtidos para as TL<sub>50</sub> variaram entre 4,84 a 9,95h entre os isolados que apresentaram mortalidade superior a 90% (Tabela 2), sendo que para Dipel® PM e Xentari® WG os valores foram de 6,32 e 6,44h, respectivamente. A importância desta análise pode ser correlacionada com a eficiência do isolado, pois aqueles que apresentam valores menores de TL

conseguem matar o inseto-alvo mais rapidamente, sendo um dos pontos importantes a serem considerados na seleção. De acordo com as  $TL_{50}$ , os isolados B.t 23 e B.t 26 foram os mais eficientes (Tabela 2).

**Efeito Subletal de *B. thuringiensis* a *H. zea*.** Os isolados B.t 4, B.t 5, B.t 6, B.t 12, B.t 15, B.t 16, B.t 17, B.t 18, B.t 20 e B.t 24 promoveram a redução no peso das lagartas sendo significativamente inferiores a testemunha ( $P= 0,05$ ;  $F= 13,69$ ;  $GI= 20$ ) (Tabela 3). Resultados similares foram encontrados por Eizaguirre *et al.* 2005, ao avaliarem o efeito subletal de *B. thuringiensis* sobre o desenvolvimento larval de *Sesamia nonagrioides* (Lefèvre) (Lepidoptera: Noctuidae) e por Polanczyk & Alves (2005) ao verificarem o efeito subletal de alguns isolados de *B. thuringiensis* a lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).

Mascarenhas & Luttrell (1997) observaram redução no peso de lagartas de *H. zea* alimentadas com algodão B.t, o qual expressa a endotoxina CryIA de *B. thuringiensis*, em comparação aos insetos alimentados com uma cultivar convencional de algodão.

Pedersen *et al.* 1997 e Moreau & Bauce 2003 verificaram que doses subletais de *B. thuringiensis* afetaram o desenvolvimento de *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae), reduzindo o peso das pupas. Assim como os trabalhos citados anteriormente, evidenciou-se a redução no peso das pupas ( $P= 0,05$ ;  $F= 1,46$ ;  $GI= 20$ ) de *H. zea* tratadas com os isolados B.t 6, B.t 9, B.t 12, B.t 13, B.t 14, B.t 15, B.t 16, B.t 18 e B.t 19. Sendo que B.t 1, B.t 2, B.t 3, B.t 4, B.t 7, B.t 8 e B.t 10 não afetaram o desenvolvimento larval e pupal de *H. zea* (Tabela 3). Resultados similares foram encontrados por Erb *et al.* 2001 ao avaliarem o efeito subletal de *B. thuringiensis* sobre o desenvolvimento de *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Lymantriidae).

**Estimativa da Concentração Letal Média ( $CL_{50}$ ).** A concentração requerida para ocasionar a mortalidade de 50% da população de *H. zea* variou entre  $3 \times 10^4$  a  $1,2 \times 10^7$  esporos/mL de *B.*

*thuringiensis*, sendo que o isolado B.t 23 foi o mais virulento, apresentando intervalo de confiança de  $4 \times 10^4$  (P= 0,05) e  $2,2 \times 10^4$  esporos/mL (P= 0,05) de B.t (Tabela 4). De acordo o intervalo de confiança houve resposta semelhante entre os isolados B.t 26 e B.t 27 (Tabela 4), apresentando toxicidade semelhante para as lagartas de *H. zea* de acordo os limites superiores e inferiores da CL<sub>50</sub> (Tabela 3). Em relação ao produto Dipel<sup>®</sup> PM foi necessária concentração de  $1,2 \times 10^7$  esporos/mL para ocasionar morte em 50% da população de *H. zea* (Tabela 4).

Ameen *et al.* (1998) avaliaram a patogenicidade dos formulados Dipel ES<sup>®</sup>, Dipel 6AF<sup>®</sup> e Xentari AS<sup>®</sup> a lagartas de *H. zea*, sendo que Xentari AS<sup>®</sup> apresentou a CL<sub>50</sub> superior aos demais, similarmente ao resultado encontrado neste trabalho (Tabela 4). Aguilar-Mendel *et al.* 2007 avaliaram a suscetibilidade de diferentes populações de *H. zea* a  $\delta$ -endotoxina Cry2Ab através da análise de probit, concluindo que houve variação entre as populações avaliadas e as CL<sub>50</sub> variaram entre 0,017 a 0,086  $\mu$ g da  $\delta$ -endotoxina/mL de dieta.

O isolado B.t 23 pode ser considerado promissor para o controle de lagartas de *H. zea*, uma vez que apresentou maior virulência em comparação aos demais. A seleção através de testes de patogenicidade é o primeiro passo para avaliação da eficiência de qualquer entomopatógeno. Logo estudos mais detalhados são necessários para validar a sua utilização no manejo de *H. zea*, tais como: produção em larga escala; virulência a outros insetos-praga e efeitos sobre organismos benéficos. Uma vez que o comportamento deste isolado em condições de campo pode sofrer variações mediante a influência de fatores bióticos e abióticos.

### **Agradecimentos**

À UFRPE e ao CCA-UFES, por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa. À CAPES, por ter concedido a bolsa de estudos ao primeiro autor.

## Literatura Citada

- Aguilar-Medel, S., Rodríguez-Maciel, J.C., Díaz-Gómez, O., Martínez-Carrillo, J.L., López-Collado, J., C.A. Blanco & A. Lagunes-Tejeda. 2007.** Susceptibilidad de *Helicoverpa zea* (Boddie) a la  $\delta$ -endotoxina Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Agrociencia* 41: 653-662.
- Ameen, A.O., J.R. Fuxa & A.R. Ritcher. 1998.** Antagonism between formulations of different *Bacillus thuringiensis* subspecies in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Entomol. Sci.* 33: 129-135.
- Bobrowski, V.L., Fiúza, L.M., G. Pasquali & M.H. Bodanese-Zanettini. 2003.** Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. *Cienc. Rural.* 34: 843-850.
- Eizaguirre, M., Tort, S., C. López & R. Albajes. 2005.** Effects of sublethal concentrations of *Bacillus thuringiensis* on larval development of *Sesamia nonagrioides*. *J. Econ. Entomol.* 98: 464-470.
- Erb, S.L., Bouchier, R.S., K. Van Frankenhuyzen & S.M. Smith. 2001.** Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). *Environ. Entomol.* 1174-1181.
- Escudero, I.R., Ibáñez, I., Padilla, M.A., A. Carnero & P. Caballero. 2004.** Aislamiento y caracterización de nuevas cepas de *Bacillus thuringiensis* procedentes de muestras de tierra de Canarias. *Bol. San. Veg. Plagas.* 30: 703-712.
- França, F. H., Villasbôas, G. L., M. Castelobranco & M.A. Medeiros. 2000.** Manejo integrado de pragas, p.112-127. In Silva, J.B.C. & L.B. Giordano. (Org.). *Tomate para processamento*

industrial. Brasília: Embrapa-CNPQ/Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 168p.

**Giolo, F.P., Busato, G.R., Garcia, M.S., Manzoni, C.G., O. Bernadi & M. Zart. 2006.**

Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. Rev. Bras. Agroc. 12: 167-171.

**Glare, T.R., O'Callaghan, M. 2000.** *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety.

Chichester, John Wiley & Sons, 350p.

**Gould, F., Blair, N., Reid, M., Rennie, T.L., J. Lopez & S. Micinski. 2002.** *Bacillus*

*thuringiensis*-toxin resistance management: Stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*. Proc. Natl. Acad. Scienc. USA 99: 16581-16586.

**Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing

procedure and artificial médium. J. Econ. Entomol. 69: 487-488.

**Haddad, M.L., R.C.B. Moraes & J.R.P. Parra. 1995.** MOBAE, Modelos bioestatísticos

aplicados à entomologia. Manual. ESALQ/USP. 44p.

**Lebedenco, A., Auad, A.M. & S.N. Kronka. 2007.** Métodos de controle de lepidópteros do

tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Acta Sci. Agron. 29: 339-344.

**Karim, S., Riazuddin, S., F. Gould & D. H. Dean. 2000.** Determination of receptor binding

properties of *Bacillus thuringiensis* d-endotoxins to cotton bollworm (*Helicoverpa zea*) and pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) midgut brush border membrane vesicles. Pestic. Biochem. Physiol. 67: 198–216.

**Mascarenhas, V.J. & R.G. Luttrell. 1997.** Combined effect of sublethal exposure to cotton

expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of Bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Environ. Entomol. 26: 939-945.

- Medeiros, P.T, Ferreira, M.C., Martins, E.S., Gomes, A.C.M.M., Falcão, R., J.M.C. Souza Dias & R.G. Monnerat. 2005.** Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 40: 1145-1148.
- Moreau, G. & E. Bauce. 2003.** Lethal and sublethal effects of single and double applications of *Bacillus thuringiensis* variety *kurstaki* on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) larvae. *J. Econ. Entomol.* 96: 280-286.
- Nault, B.A. & J. Speese III. 2002.** Major insects pests and economics of fresh-market tomato in eastern Virginia. *Crop Prot.* 21: 359-366.
- Pinto, A. S.; Parra, J. R. P.; Oliveira, H.N. 2004.** Pragas e insetos benéficos do milho. Piracicaba: Esalq/USP, 108 p.
- Pedersen, A., Dedes, J., D. Gauthier D. & van Frankenhuyzen K. 1997.** Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Entomol. Exp. Appl.* 83: 253-262.
- Polanczyk, R.A. & S.B. Alves. 2003.** *Bacillus thuringiensis*: Uma breve revisão. *Agrociencia* 7: 1-10.
- Polanczyk, R.A. & S.B. Alves. 2005.** Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Sci. Agric.* 62: 464-468.
- Polanczyk, R.A., F.H. Valicente & M.R. Barreto. 2008.** Utilização de *Bacillus thuringiensis* no controle de pragas agrícolas na América Latina, p.111-136. In S.B. Alves & R.B. Lopes (eds.). *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. Piracicaba, FEALQ, 414p.



**Rogoff, M.H., Ignoffo, C.M., Singer, S., I. Gard & A.P. Prieto. 1969.** Insecticidal activity of thirty-one strains of *Bacillus thuringiensis* five insect species. J. Invertebr. Pathol. 14: 122-129.

Tabela 1. Mortalidade de *H. zea* por diferentes isolados de *B. thuringiensis* e dois formulados comerciais Xentari® WG e Dipel® PM, concentração correspondente a  $3 \times 10^8$  esporos/mL<sup>-1</sup>. (26 ± 1°C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 12h).

Tratamentos	Mortalidade	Tratamentos	Mortalidade
B.t 21	100 ± 0,00 A	B.t 10	9,8 ± 0,04 C
B.t 23	100 ± 0,00 A	B.t 13	9,8 ± 0,04 C
B.t 25	100 ± 0,00 A	B.t 14	9,8 ± 0,04 C
B.t 26	100 ± 0,00 A	B.t 18	7,8 ± 0,04 C
B.t 27	100 ± 0,00 A	B.t 17	5,9 ± 0,03 D
B.t 28	98,0 ± 0,02 A	B.t 1	3,9 ± 0,03 D
Bta	98,0 ± 0,02 A	B.t 2	3,9 ± 0,03 D
Btk	98,0 ± 0,02 A	B.t 5	3,9 ± 0,03 D
B.t 11	94,1 ± 0,03 A	B.t 6	3,9 ± 0,03 D
B.t 24	33,3 ± 0,07 B	B.t 7	3,9 ± 0,03 D
B.t 16	15,7 ± 0,05 C	B.t 9	3,9 ± 0,03 D
B.t 20	13,7 ± 0,05 C	B.t 3	1,9 ± 0,02 D
B.t 15	11,7 ± 0,05 C	B.t 4	1,9 ± 0,02 D
B.t 19	11,7 ± 0,05 C	B.t 12	0,0 ± 0,00 D
B.t 8	9,8 ± 0,04 C	Testemunha	0,0 ± 0,00 D

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

Tabela 2. Tempo letal (TL<sub>50</sub>) em horas e intervalos de confiança para lagartas de 1º instar de *H. zea* infectadas por *B. thuringiensis*, concentração correspondente a 3 x 10<sup>8</sup> esporos/mL<sup>-1</sup>. (26 ± 1°C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 12h).

Tratamentos	Equação de Regressão	TL <sub>50</sub> (IC 95%)	χ <sup>2(1)</sup>
B.t 11	y = (4,0656) + 1,3409 * log x	4,97 (0,93 – 9,44)	0,43
B.t 21	y = (2,9433) + 2,0609 * log x	9,95 (5,69 – 13,64)	0,94
B.t 23	y = (3,6710) + 1,9393 * log x	4,84 (0,95 – 8,51)	0,92
B.t 25	y = (2,8809) + 2,5303 * log x	6,87 (2,02 – 10,15)	0,06
B.t 26	y = (3,5935) + 2,0409 * log x	4,88 (0,77 – 8,58)	1,49
B.t 27	y = (2,4594) + 2,8209 * log x	7,95 (3,26 – 10,94)	0,16
B.t 28	y = (3,6496) + 1,8224 * log x	5,50 (1,63 – 9,20)	0,20
Btk	y = (3,5845) + 1,7669 * log x	6,32 (2,44 -10,08)	0,85
Bta	y = (3,7795) + 1,5083 * log x	6,44 (2,33 – 10,63)	2,38

N = 50 insetos/tratamento.

χ<sup>2</sup> = Qui-quadrado.

<sup>1</sup>não significativo.

Tabela 3. Efeito subletal de diferentes isolados de *B. thuringiensis* no peso de lagartas e pupas de *H. zea*, concentração correspondente a  $3 \times 10^8$  esporos/mL<sup>-1</sup>. (26 ± 1°C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 12h).

Tratamentos	Peso (g)	
	Lagartas	Pupas
Testemunha	0,0255 ± 0,0011 A	0,5212 ± 0,01 A
B.t 1	0,0258 ± 0,0031 A	0,5151 ± 0,01 A
B.t 2	0,0238 ± 0,0035 A	0,5062 ± 0,01 A
B.t 3	0,0262 ± 0,0021 A	0,5241 ± 0,01 A
B.t 4	0,0190 ± 0,0025 B	0,5186 ± 0,02 A
B.t 5	0,0204 ± 0,0022 B	0,5127 ± 0,01 A
B.t 6	0,0036 ± 0,0002 D	0,4744 ± 0,04 B
B.t 7	0,0263 ± 0,0014 A	0,5201 ± 0,01 A
B.t 8	0,0255 ± 0,0020 A	0,5186 ± 0,01 A
B.t 9	0,0263 ± 0,0018 A	0,4783 ± 0,02 B
B.t 10	0,0243 ± 0,0018 A	0,5066 ± 0,01 A
B.t 12	0,0221 ± 0,0019 B	0,4758 ± 0,01 B
B.t 13	0,0262 ± 0,0018 A	0,4552 ± 0,01 B
B.t 14	0,0259 ± 0,0015 A	0,4893 ± 0,01 B
B.t 15	0,0136 ± 0,0011 C	0,4623 ± 0,02 B
B.t 16	0,0122 ± 0,0010 C	0,4742 ± 0,02 B
B.t 17	0,0206 ± 0,0023 B	0,5037 ± 0,02 A
B.t 18	0,0165 ± 0,0023 C	0,4813 ± 0,01 B
B.t 19	0,0261 ± 0,0019 A	0,4576 ± 0,02 B
B.t 20	0,0110 ± 0,0012 C	0,5024 ± 0,02 A
B.t 24	0,0051 ± 0,0005 D	0,5265 ± 0,01 A

<sup>1</sup>Médias (± EP) seguidas de mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Tabela 4. Estimativa da CL<sub>50</sub> de diferentes isolados e dois formulados de *B. thuringiensis* em lagartas de *H. zea* (26 ± 1°C, UR de 65 ± 5 % e fotofase de 14h).

Tratamentos	Equação	CL <sub>50</sub> (IC 95%)	χ <sup>2</sup>
B.t 11	y = (-8,4609) + 1,9906 * log x	5,7 x 10 <sup>6</sup> ; (6,6 x 10 <sup>6</sup> ; 5 x 10 <sup>6</sup> )	1,05
B.t 21	y = (-6,9578) + 1,9087 * log x	1,8 x 10 <sup>6</sup> ; (2,1 x 10 <sup>6</sup> ; 1,5 x 10 <sup>6</sup> )	4,30
B.t 23	y = (0,6654) + 0,9679 * log x	3,0 x 10 <sup>4</sup> ; (4 x 10 <sup>4</sup> ; 2,2 x 10 <sup>4</sup> )	6,63
B.t 25	y = (-1,4345) + 1,2293 * log x	1,7 x 10 <sup>5</sup> ; (2,2 x 10 <sup>5</sup> ; 1,3 x 10 <sup>5</sup> )	1,13
B.t 26	y = (-1,9206) + 1,2715 * log x	2,7 x 10 <sup>5</sup> ; (3,7 x 10 <sup>5</sup> ; 2 x 10 <sup>5</sup> )	3,19
B.t 27	y = (-1,7649) + 1,2278 * log x	3,2 x 10 <sup>5</sup> ; (4,4 x 10 <sup>5</sup> ; 2,4 x 10 <sup>5</sup> )	6,05
B.t 28	y = (-0,2815) + 0,8665 * log x	1,2 x 10 <sup>6</sup> ; (1,8 x 10 <sup>6</sup> ; 7,8 x 10 <sup>5</sup> )	6,91
Btk	y = (-3,7712) + 1,2374 * log x	1,2 x 10 <sup>7</sup> ; (1,5 x 10 <sup>7</sup> ; 9,7 x 10 <sup>6</sup> )	3,83

N = 100 insetos/tratamento.

χ<sup>2</sup> = Qui-quadrado.

<sup>1</sup>não significativo.

## CAPÍTULO 4

### EFEITO DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS DO PARASITÓIDE *Trichogramma pretiosum* RILEY (TRICHOGRAMMATIDAE)<sup>1</sup>

HUGO J. G. DOS SANTOS JUNIOR<sup>1</sup>, RICARDO A. POLANCZYK<sup>2</sup>, EDMILSON J. MARQUES<sup>1</sup> E DIRCEU PRATISSOLI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE.

<sup>2</sup>Departamento de Produção Vegetal – NUDEMAFI, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, 29500-000 Alegre-ES.

---

<sup>1</sup>Santos Jr., H.J.G., R.A. Polanczyk, E.J. Marques & D. Pratissoli. Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillaceae) sobre parâmetros biológicos do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley (Trichogrammatidae). Bioassay

RESUMO - A Interação entre agentes de controle biológico é uma alternativa para o controle de insetos- praga. Desse modo, este trabalho teve como principal objetivo avaliar os efeitos de alguns isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner nas principais características biológicas do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley sobre o seu hospedeiro natural *Helicoverpa zea* Boddie, os quais são amplamente utilizados em programas de manejo integrado deste inseto. Os estudos foram conduzidos em laboratório, a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR:  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h. Para analisar os efeitos dos isolados de *B. thuringiensis*, fêmeas (0-6h) de *T. pretiosum* foram individualizadas em tubos, contendo como substrato alimentar gotículas de mel misturadas com a suspensão dos respectivos isolados de B.t (proporção 1:1), de acordo a  $CL_{50}$  dos isolados para *H. zea*. Os resultados mostraram que não houve influência nas características biológicas do parasitóide, verificando-se porcentagens de parasitismo acima de 50%, para todos os tratamentos, comprovando que a associação destes agentes pode ser uma excelente medida na supressão de *H. zea* em agroecossistemas em que este inseto é considerado praga.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, seletividade, parasitismo, *Helicoverpa*

EFFECT OF *Bacillus thuringiensis* BERLINER (BACILLACEAE) ON BIOLOGICAL  
PARAMETERS OF *Trichogramma pretiosum* RILEY (TRICHOGRAMMATIDAE)

ABSTRACT – The interaction between agents of biological control is an alternative to insect pest control. Thus, this work evaluated the effects of selected isolates of *Bacillus thuringiensis* Berliner on biological characteristics of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley parasitizing eggs of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae). Females (0-6h) of *T. pretiosum* were individualized in tubes containing honey drops mixed with the suspension of tested Bt-isolates at ratio 1:1. The Bt isolates suspensions were prepared according to the LC<sub>50</sub> estimated for each isolate tested against *H. zea*. The results showed that there was no influence of the Bt isolated on the biological characteristics of the parasitoid. Thus, the results indicate the compatibility of the studied Bt isolates and the egg parasitoid *T. pretiosum*.

KEY WORDS: Control biological, selectivity, parasitism, *Helicoverpa*



## Introdução

A atuação conjunta de inimigos naturais é considerada uma excelente alternativa no manejo de insetos-pragas em diversos agroecossistemas, sendo que este tipo de interação pode ocorrer naturalmente ou através da manipulação do homem, de forma inoculativa ou inundativa mediante a liberação de parasitóides e predadores ou aplicação de entomopatógenos.

Em diversos agroecossistemas são comuns os relatos referentes à interação de inimigos naturais, sendo considerada uma das principais formas de incrementar o controle biológico de insetos-praga, porém como qualquer tipo de interação os efeitos podem ser favoráveis ou não, sendo considerado de ação sinérgica, aditiva ou antagônica (Alves 1998).

Alguns insetos-praga são caracterizados como polívoros, como *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) praga de inúmeras culturas de importância econômica, como o algodão, milho e tomate (Gould *et al.* 2002, Nault & Speese III 2002, Giolo *et al.* 2006, Lebedenco *et al.* 2007). Porém, estes cultivos são parcialmente protegidos pela atuação de inimigos naturais, dentre estes o parasitóide de ovos do gênero *Trichogramma* (Westwood) e a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae) (Oatman *et al.* 1983, Sá & Parra 1994, Losey *et al.* 1995, Castelo Branco *et al.* 2003, Medeiros *et al.* 2003, Velásquez & Gerding 2006).

Os conhecimentos das interações envolvidas entre parasitóides do gênero *Trichogramma*, da bactéria *B. thuringiensis* e insetos-alvo ainda são incipientes no Brasil. Trabalhos precursores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de pragas (Marques & Alves 1995, Marques & Alves 1996, Morandi Filho *et al.* 2006, Polanczyk *et al.* 2006, Pratisoli *et al.* 2006).

Por sua vez, a literatura internacional dispõe de inúmeros trabalhos relacionados ao estudo das interações entre *B. thuringiensis* e inimigos naturais (Hafez *et al.* 1995, Mertz *et al.* 1995, Erb *et al.* 2001, Mansour 2004, Ruiu *et al.* 2007). Dentre estes relatos, evidenciam-se casos da

utilização conjunta de *B. thuringiensis* com espécies do gênero *Trichogramma*, como a utilização das espécies *Trichogramma pretiosum* Riley e *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner no controle de *H. zea*, onde não houve influência na capacidade de parasitismo (Campbell *et al.* 1991), concordando com Oatman *et al.* 1983, que também verificaram que a associação não afetou a capacidade de parasitismo dos ovos de *H. zea*.

Em outros estudos verificou-se que a utilização destes inimigos naturais conjuntamente não acrescenta nenhum efeito no controle de insetos-praga, como verificado por Mertz *et al.* 1995 com a utilização conjunta de *B. thuringiensis* e *Trichogramma brassicae* Bezdenko visando o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae). O mesmo comportamento foi observado por Ulrichs *et al.* 2001 que não comprovaram incremento no controle de alguns insetos-praga de feijão pelo uso conjunto de *B. thuringiensis* e *Trichogramma evanescens* Westwood.

Portanto, estudos que visem avaliar o comportamento de inimigos naturais em relação a insetos-praga são de primordial relevância antes de sua utilização aplicada, desta forma este trabalho teve como principal objetivo avaliar os efeitos de diferentes isolados de *B. thuringiensis* sobre parâmetros biológicos de *T. pretiosum* visando o controle de *H. zea*, para validar a sua utilização e conseqüentemente incorporá-los em programas de manejo integrado de *H. zea*.

### **Material e Métodos**

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

**Criação do Hospedeiro.** A criação do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) foi criada em dieta a base de farelo de trigo e milho na proporção de 2:1 acrescida de 30 gramas de levedura de cerveja por Kg de dieta. A dieta foi previamente

homogeneizada e distribuída em caixas plásticas de 30 x 25 x 10 cm, em cada caixa foram distribuídos aleatoriamente 0,3 g de ovos do hospedeiro alternativo. Os adultos emergidos foram coletados diariamente, sendo transferidos para gaiolas de tubo PVC de 20 cm de diâmetro por 25 cm de altura, contendo no seu interior tiras de tela de “nylon”, dobradas em zig-zag, para a oviposição. A parte superior das gaiolas foi fechada com tela de tecido voil para evitar a fuga dos adultos. Os ovos foram coletados diariamente por cinco dias e armazenados em câmara climatizada a uma temperatura de  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**Criação do Parasitóide.** A população Tp11 de *Trichogramma pretiosum* Riley foi selecionada para avaliar o efeito de *B. thuringiensis* em função de ter sido coletada em ovos do hospedeiro natural *H. zea* no município de Cristalina-GO ( $16^\circ 46' 08'' \text{ S } 47^\circ 36' 50'' \text{ O}$ ). Essa população vem sendo mantida no Laboratório de Entomologia do CCA-UFES por aproximadamente 100 gerações, nas seguintes condições ( $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , UR de  $65 \pm 5 \%$  e fotofase de 14h). A criação de *T. pretiosum* (Tp11) foi realizada em ovos do hospedeiro *A. 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, de acordo com a metodologia proposta por Parra 1997.

**Coleta e Criação de *H. zea*.** A coleta de *H. zea* foi realizada em plantios de milho, no município de Alegre-ES ( $20^\circ 45' 50'' \text{ S } 41^\circ 31' 58'' \text{ O}$ ) e a criação foi desenvolvida em sala climatizada ( $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , UR de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 12h). Os adultos de *H. zea* foram mantidos em gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidos internamente com folha de papel branco, sendo as extremidades fechadas com tecido do tipo “voil”, sendo oferecida diariamente uma solução de mel à 10% como substrato alimentar. Os ovos de *H. zea* foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos, após a eclosão as lagartas foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) preenchidos até 1/4 de seu volume com dieta artificial a base de feijão, germe de trigo e

farelo de soja de acordo Greene *et al.* (1976). Após o resfriamento da dieta as lagartas foram transferidas para a dieta, sendo mantidas nestes recipientes até o período pupal.

**Obtenção e Multiplicação dos Isolados de *B. thuringiensis* (B.t).** Foram utilizados sete isolados de *B. thuringiensis*, B.t 11, B.t 21, B.t 23, B.t 25, B.t 26, B.t 27, B.t 28 e dois produtos comerciais, um a base de *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari<sup>®</sup> WG) e o outro a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel<sup>®</sup> PM). Os isolados foram provenientes da ESALQ/USP, os quais fazem parte do banco de entomopatógenos do NUDEMAFI do CCA-UFES. A seleção dos isolados foi realizada através de bioensaios de patogenicidade a *H. zea*, que determinaram as CL<sub>50</sub>. A multiplicação dos isolados foram realizados em meio LB - Luria-Bertani (extrato de levedura, peptona, cloreto de sódio, ágar e água destilada), procedendo com o isolamento da bactéria (papel filtro), por um período de 24 a 48 horas e; posteriormente sua multiplicação em placas cheias, durante 72 horas; ambas as fases foram realizadas em temperatura de 28°C. Posteriormente, as colônias foram removidas das placas com auxílio de espátula e transferidas para tubos plásticos, contendo 10 mL de água destilada estéril. Com o objetivo de eliminar as toxinas indesejáveis e restos de meio de cultura, procedeu-se à centrifugação de cada isolado por 20 minutos por três vezes (5.000 rpm) consecutivas, assim como do material proveniente do produto a base de *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Bta). Após a última centrifugação, o material de cada isolado foi ressuspensão em água destilada estéril e com auxílio de câmara de Neubauer<sup>®</sup> e microscópio óptico a concentração foi ajustada para a CL<sub>50</sub> de cada isolado, sendo que a CL<sub>50</sub> do produto a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) foi ajustada de acordo especificação do fabricante. Com relação ao produto Xentari<sup>®</sup> WG, por não possuir a especificação de ingrediente ativo/grama, se fez necessário o isolamento, multiplicação e quantificação, conforme procedimento com os isolados anteriormente citados.

**Efeitos de *B. thuringiensis* sobre *T. pretiosum*.** Para condução do experimento, foram individualizadas, para cada tratamento 20 fêmeas (0-6h) do parasitóide em tubos de vidro (3,5 de comprimento x 0,7 cm de diâmetro), contendo uma gotícula de mel inoculado com a  $CL_{50}$  do isolado de *B.t* correspondente a cada tratamento (Tp11 + *B.t* 11, Tp11 + *B.t* 21, Tp11 + *B.t* 23, Tp11 + *B.t* 25, Tp11 + *B.t* 26, Tp11 + *B.t* 27, Tp11 + *B.t* 28, Tp11 + *Btk*, Tp11 + *Bta* e Testemunha), na proporção 1:1, suspensão bacteriana e mel respectivamente. A testemunha foi tratada com uma solução de mel e água destilada estéril. Cada parcela constou de 30 ovos (0 - 24h de idade) de *H. zea* colados em cartolina azul celeste (3,0 x 0,5 cm) com goma arábica a 10%. Permitiu o parasitismo por 24h. As cartelas contendo os ovos parasitados foram mantidas em câmara climatizada ( $25 \pm 1^{\circ}C$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h). Para evitar o canibalismo dos ovos parasitados foram eliminadas as lagartas recém-eclodidas de ovos não parasitados. Os parâmetros analisados foram: porcentagem de parasitismo, viabilidade do parasitismo, razão sexual e número de indivíduos/ovo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 20 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa de análise estatística SAEG (versão 5.0).

### **Resultados e Discussão**

A capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* não foi alterada mediante o fornecimento de mel misturado com *B. thuringiensis* como suprimento alimentar ( $P= 0,05$ ;  $F= 2,12$ ;  $Gl= 9$ ), sendo evidenciado percentuais de parasitismo entre 42 e 54,66% (Tabela 1); o menor percentual foi obtido na interação entre *T. pretiosum* e o isolado *B.t* 27 de *B. thuringiensis*, em contrapartida, os maiores foram alcançados pelos isolados *B.t* 23 e *B.t* 25, os quais foram similares à testemunha (Tabela 1).

A importância de *T. pretiosum* no controle de *H. zea* foi constatada por Medeiros *et al.* (2003) que verificaram taxa de parasitismo de 70% em condições de campo. Pratisoli *et al.* 2004 comprovaram que o fornecimento de mel como suprimento alimentar favorece a capacidade de *T. pretiosum* parasitar ovos de *A. kuehniella*, aumentando assim a atuação do parasitóide. Berti & Marcano (1993) em estudos anteriores também verificaram que o fornecimento de alimento favorece positivamente a fecundidade, longevidade e a capacidade reprodutiva de *T. pretiosum*.

Em relação aos produtos comerciais, os percentuais foram superiores a 50% de parasitismo, não diferindo da testemunha, demonstrando que a  $CL_{50}$  correspondente a *H. zea* não afetou a taxa de parasitismo de ovos da praga (Tabela 1). Concordando com os resultados obtidos por Wang *et al.* 2007, os quais verificaram que o parasitismo de ovos de *Ostrinia furnacalis* (Guenée) não foi prejudicado pela interação de *B. thuringiensis* com o parasitóide *Trichogramma ostrinae* Pang & Chen.

Geng *et al.* 2006, também constataram que *Trichogramma chilonis* (Ishii) alimentados com pólen proveniente de algodão Bt não reduziu a capacidade de parasitismo, longevidade e razão sexual, bem como a longevidade de seus descendentes. Pratisoli & Oliveira (1999) evidenciaram valores superiores a 50% de parasitismo de *T. pretiosum* sobre ovos de *H. zea* com o fornecimento de mel com substrato alimentar.

Entretanto, valores superiores de parasitismo foram encontrados por Velásquez & Gerding (2006), ao avaliarem o potencial de *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*, obtendo 63,2% de parasitismo respectivamente, entretanto a metodologia adotada por estes pesquisadores variou da usada nesta pesquisa, isso em relação ao número de ovos da praga, o que pode ter sido a razão da diferença nos valores de parasitismo entre os trabalhos.

A viabilidade de emergência alcançou valores superiores a 90% em todos os tratamentos, não havendo diferença estatística ( $P= 0,05$ ;  $F= 2,12$ ;  $Gl= 9$ ) (Tabela 1), concordando com os resultados

obtidos por Sá & Parra (1994) e Pratissoli & Oliveira (1999), que obtiveram viabilidade de 95 e 91,6% respectivamente. Mais recentemente, Wang *et al.* 2007 comprovaram que a emergência de *Trichogramma ostrinae* Pang & Chen não foi prejudicada pelo fornecimento de substrato alimentar contendo pólen oriundo de milho Bt, com valores similares ao encontrado no presente trabalho.

Ao contrário dos resultados obtidos por Pratissoli *et al.* (2006), concluíram que os isolados E-3, E-10, E-16 e E-20 de *B. thuringiensis* afetaram indiretamente a emergência da progênie de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zuchi oriundos de ovos do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*.

Os valores obtidos para a razão sexual não diferiram entre os tratamentos analisados ( $P=0,05$ ;  $F=1,89$ ;  $Gl=9$ ), com índices de 0,54 a 0,81, sendo que a interação da população Tp11 com o isolado B.t 21 de *B. thuringiensis* apresentou o menor índice (Tabela 1), porém ainda é considerado satisfatório (Navarro 1998), sendo ainda superior ao encontrado por Sá & Parra (1994) ao avaliarem a razão sexual da população 8 de *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*. Neste mesmo estudo os autores verificaram que a população 5 apresentou comportamento análogo ao encontrado neste trabalho para a população Tp11 em associação com o isolado B.t 21 de *B. thuringiensis* (Tabela 1).

O número de adultos emergidos por ovo diferiu entre os tratamentos ( $P=0,05$ ;  $F=2,19$ ;  $Gl=12$ ), o número médio de parasitóides/ovo variou entre 1,21 a 1,57 (Tabela 1), apesar dessa variação pesquisadores salientam o lado positivo destes resultados (Beserra *et al.* 2003), concluindo que os descendentes poderão ser mais vigorosos pelo aumento da disponibilidade de nutrientes e serem mais eficientes no controle de insetos-praga. Estes resultados confirmam o obtido por Pratissoli & Oliveira (1999) trabalhando com a mesma espécie de parasitóide e inseto-praga.

Concordando com alguns autores que sugerem a utilização conjunta de *B. thuringiensis* e parasitóides do gênero *Trichogramma* no controle integrado de insetos-praga (Campbell *et al.*

1991, Losey *et al.* 1995, Mansour 2004, Polanczyk *et al.* 2006), os resultados obtidos demonstram que a associação dos isolados e dos produtos comerciais de *B. thuringiensis* analisados não foram prejudiciais ao desenvolvimento da população de *T. pretiosum* (Tp11).

Acredita-se que a forma pela qual o Bt foi oferecido aos adultos de *T. pretiosum* (Tp11) não tenha sido suficiente para interferir no desempenho deste parasitóide em relação aos parâmetros observados. Considerando também que a longevidade dos adultos não foi avaliada sendo impossível verificação de alterações neste parâmetro. No entanto, estudos com outras formas de fornecimento do patógeno ao parasitóide deverão ser continuados para confirmação das relações entre esses agentes, objetivando suas incorporações em programas de manejo integrado de *H. zea*.

### **Agradecimentos**

À UFRPE e ao CCA-UFES, por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa. À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

### **Literatura Citada**

**Alves, S.B. 1998.** Controle microbiano de insetos. Piracicaba, FEALQ, 1163p.

**Berti, J. & R. Marcano. 1993.** Efecto de diferentes sustancias alimenticias sobre la reproducción y longevidad de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Bol. Entomol. Venez. 8: 105-110.

**Beserra, E.B., C.A. Santos Dias & J.R.P. Parra. 2003.** Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. Acta Sci. Agron. 25: 479-483.



- Campbell, C.D., J.F. Walgenbach & G.G. Kennedy. 1991.** Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide-treated and untreated tomatoes in western North Carolina. *J. Econ. Entomol.* 84: 1662-1667.
- Castelo Branco, M., Pontes, L.A., P.S.T. Amaral & M.V. Mesquita Filho. 2003.** Inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e broca-grande e seu impacto sobre *Trichogramma pretiosum*. *Hortic. Bras.* 21: 652-654.
- Erb, S.L., Bouchier, R.S., K. Van Frankenhuyzen & S.M. Smith. 2001.** Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). *Environ. Entomol.* 1174-1181.
- Hafez, M., Salama, H.S., Aboul-Ela, R., F. N. Zaki & M. Ragaei. 1995.** Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Apanteles ruficrus* parasitizing the larvae of *Agrotis ypsilon*. *J. Islamic Acad. Sci.* 8: 33-36.
- Geng, J.H., Shen, Z.R., K. Song & Z. Li. 2006.** Effect of pollen of regular cotton and transgenic *Bt+CpTI* cotton on the survival and reproduction of the parasitoid wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory. *Environ. Entomol.* 35: 1661-1668.
- Giolo, F.P., Busato, G.R., Garcia, M.S., Manzoni, C.G., O. Bernadi & M. Zart. 2006.** Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. *Rev. Bras. Agroc.* 12: 167-171.
- Gould, F., Blair, N., Reid, M., Rennie, T.L., J. Lopez & S. Micinski. 2002.** *Bacillus thuringiensis*-toxin resistance management: Stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*. *Proc. Natl. Acad. Scienc. USA* 99: 16581-16586.

- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial médium. *J. Econ. Entomol.* 69: 487-488.
- Lebedenco, A., Auad, A.M. & S.N. Kronka. 2007.** Métodos de controle de lepidópteros do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Acta Sci. Agron.* 29: 339-344.
- Losey, J.E., Fleischer, J., Calvin, D.D., W.L. Harkness & T. Leahy. 1995.** Evaluation of *Trichogramma nubilalis* and *Bacillus thuringiensis* in management of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. *Environ. Entomol.* 24: 436-445.
- Mansour, E. S. 2004.** Effectiveness of *Trichogramma evanescens* Westwood, bacterial insecticide and their combination on the cotton bollworms in comparison with chemical insecticides. *Egypt J. Biol. Pest. Control* 14: 339-343.
- Marques, I.M.R. & S.B. Alves. 1995.** Influência de *Bacillus thuringiensis* no parasitismo de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lep. Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* R. (Hym: Trichogrammatidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 31: 317-325.
- Marques, I.M.R. & S.B. Alves. 1996.** Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* sobre *Scrobipalpuloides absoluta* Meyer (Lepidoptera: Gelechiidae). *An. Soc. Entomol. Brasil.* 25: 39-45.
- Medeiros, M.A., Pontes, L.A., P.S.T. Amaral & M.V.M. Filho. 2003.** Inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e broca-grande e seu impacto sobre *Trichogramma pretiosum*. *Hortic. Bras.* 21: 652-654.
- Mertz, B.P., Fleischer, S.J., D.D. Calvin & R.L. Ridgway. 1995.** Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. *J. Econ. Entomol.* 88: 1616-1625.

**Morandi Filho, W.J., Botton, M., Grützmacher, A.D., F.P. Giolo & C. G. Manzoni. 2006.**

Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaleropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Cienc. Rural 36: 1072-1078.

**Nault, B.A. & J. Speese III. 2002.** Major insects pests and economics of fresh-market tomato in eastern Virginia. Crop Prot. 21: 359-366.

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

**Oatman, E.R., Wyman, J.A., R.A. van Steenwyk & M.W. Johnson. 1983.** Integrated control of the tomato fruitworm (Lepidoptera: Noctuidae) and other lepidopterous pests on fresh-market tomatoes in southern California. J. Econ. Entomol. 76: 1363-1369.

**Parra, J.R.P. 1997.** Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*, p.121-150. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.

**Polanczyk, R.A., Pratissoli, D., Vianna, U.R., R.G.S. Oliveira & G. S. Andrade. 2006.** Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. Acta Sci. Agron. 28: 233-239.

**Pratissoli, D., Polanczyk, R.A., Vianna, U.R., G. S. Andrade & R.G.S. Oliveira. 2006.** Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Cienc. Rural 36: 369-377.

- Pratissoli, D., Holtz, A.M., Gonçalves, J.R., U.R. Vianna & L.L. Bellini. 2004.** Alimentação e ausência de hospedeiro afetando aspectos biológicos de populações de *Trichogramma pretiosum*. Revista Ceres. 51: 587-596.
- Pratissoli, D. & H.N. Oliveira. 1999.** Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley. Pesqu. Agropecu. Bras. 34: 891-896.
- Ruiu, L., A. Satta & I. Floris. 2007.** Susceptibility of the house fly pupal parasitoid *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) to the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* and *Brevibacillus laterosporus*. Bio Control 43: 188-194.
- Sá, L.A.N. & J.R.P. Parra. 1994.** Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and *Heliothis zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) eggs. J. Appl. Entomol. 118: 38-43.
- Ulrichs, C., I. Mewis & W.H. Schnitzler. 2001.** Experiments with synthetic insecticides alone and in combination with *Bacillus thuringiensis* and *Trichogramma evanescens* to control Vigna pests under tropical lowland conditions. Anz. Schadlingskd 74: 117-120.
- Velásquez, C. F. & M. Gerding P. 2006.** Evaluación de diferentes especies de *Trichogramma* spp. para el control de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). Agric. Técnica 66: 411-415.
- Wang, Z.Y., Wu, Y., K.L. He & S.X. Bai. 2007.** Effects of transgenic B.t maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. Bull. Insectol. 60: 49-55.

Tabela 1. Efeito da  $CL_{50}$  de *Bacillus thuringiensis* sobre parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* parasitando ovos de *Helicoverpa zea* ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h).

Tratamentos	Parasitismo (%) <sup>1</sup>	Viabilidade (%) <sup>1</sup>	Razão sexual <sup>1</sup>	Indivíduos/ovo <sup>2</sup>
Testemunha	54,66 ± 0,03	99,70 ± 0,17	0,81 ± 0,03	1,30 ± 0,04 AB
Tp11 + B.t 11	52,33 ± 0,03	99,30 ± 0,38	0,74 ± 0,03	1,45 ± 0,05 AB
Tp11 + B.t 21	45,66 ± 0,12	99,00 ± 0,54	0,54 ± 0,12	1,51 ± 0,07 AB
Tp11 + B.t 23	54,66 ± 0,04	99,20 ± 0,45	0,74 ± 0,04	1,50 ± 0,06 AB
Tp11 + B.t 25	54,66 ± 0,02	99,20 ± 0,45	0,80 ± 0,02	1,21 ± 0,03 B
Tp11 + B.t 26	47,33 ± 0,02	99,20 ± 0,49	0,78 ± 0,02	1,38 ± 0,05 AB
Tp11 + B.t 27	42,00 ± 0,02	99,10 ± 0,49	0,73 ± 0,02	1,57 ± 0,07 A
Tp11 + B.t 28	50,66 ± 0,08	99,40 ± 0,34	0,70 ± 0,08	1,50 ± 0,08 AB
Tp11 + Btk	51,00 ± 0,01	99,20 ± 0,49	0,80 ± 0,01	1,36 ± 0,03 AB
Tp11 + Bta	53,33 ± 0,08	99,30 ± 0,42	0,70 ± 0,08	1,32 ± 0,06 AB

<sup>1</sup>Não houve diferença pela análise de variância (Teste de Tukey a 5% de probabilidade).

<sup>2</sup>Médias (± EP) seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de significância.