

MANEJO DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): PARASITISMO POR
Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E
SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES A *Bacillus thuringiensis* BERLINER

por

HUGO BOLSONI ZAGO

(Sob Orientação do Professor Reginaldo Barros)

RESUMO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) é praga-chave do repolho no Agreste de Pernambuco. Apesar da condição de praga-chave, ela possui vários inimigos naturais incluindo o parasitóide de ovos *Trichogramma*. Além de que seu controle é feito com inseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Deste modo, esta pesquisa teve como objetivos realizar a coleta de uma população *Trichogramma* spp. associado a cultivo orgânico de brássicas no Agreste de Pernambuco; estudar a biologia e o parasitismo da espécie coletada, no hospedeiro *P. xylostella*, comparado ao hospedeiro de criação *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.: Pyralidae); investigar a distribuição da oviposição de *P. xylostella* e seu parasitismo por *Trichogramma* em repolho antes e após formação da cabeça e; investigar a susceptibilidade de populações de *P. xylostella* as formulações comerciais de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®] WP) (Btk) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari[®] WG) (Bta). Foram realizadas coletas de *Trichogramma* em cultivo orgânico no município de Chã-Grande, PE. A coleta resultou na espécie *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). As características biológicas e o parasitismo desta população em ovos de *P. xylostella* e no hospedeiro alternativo, *Anagasta kuehniella* (Zeller), foram similares. O parasitismo de ovos de *P. xylostella* por *T. pretiosum*, em campo, foi associado ao local de maior

oviposição da praga e mostrou-se positivamente correlacionado com a quantidade de ovos depositados pela praga em diferentes estruturas da planta, porém com taxas de parasitismo independentes da densidade. A oviposição de *P. xylostella* e seu parasitismo por *T. pretiosum* em plantas de repolho antes da formação da cabeça foram igualmente distribuídas entre as folhas. A parte basal e a epiderme superior das folhas foram às localidades preferidas para oviposição e parasitismo, respectivamente. Plantas após a formação de cabeça tiveram maior oviposição e parasitismo na folha central envolvendo a cabeça e na epiderme superior desta folha. Com relação à susceptibilidade de *P. xylostella* aos inseticidas Dipel e Xentari, foram constatados consideráveis níveis de resistência. A razão de resistência de até 180 e 999 vezes a concentração recomendada de Dipel e Xentari, bem como foram observadas variações no comportamento de caminhamento das larvas e preferência de oviposição em discos foliares tratados e não tratados com Dipel e Xentari entre as populações estudadas. Assim, neste estudo foi identificado populações da traça-das-crucíferas com significativos níveis de resistência a formulações comerciais de *B. thuringiensis*.

PALAVRAS CHAVE: Brássicas, traça-das-crucíferas, controle biológico, parasitóide de ovos, entomopatógenos

MANAGEMENT OF *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): PARASITISM BY
Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) AND
SUSCEPTIBILITY TO *Bacillus thuringiensis* BERLINER

by

HUGO BOLSONI ZAGO

(Under the Direction of Professor Reginaldo Barros)

ABSTRACT

The diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* (L.) is a key pest of cabbage in the Agreste area of Pernambuco state. Despite of being a key pest, the DBM is attacked by several natural enemies including the egg parasitoid, *Trichogramma*. In addition, formulated insecticides with different strains of *Bacillus thuringiensis* Berliner are widely used to control the larval stages. Thus, this research aimed to search for a local species or population of *Trichogramma*; to study its biological characteristics and parasitism on DBM eggs; to investigated the oviposition site preference of DBM and its parasitism by *Trichogramma* on cabbage plants at pre- and post-head formation in the field and; to investigate the susceptibility of 10 Brazilian populations of DBM relative to the commercial formulations of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®]WP) (Btk) and *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari[®]WG). *Trichogramma* survey was conducted in areas with organic-growing vegetables, Chã-Grande County, PE. The collected species was *Trichogramma pretiosum* Riley. The biological characteristics and parasitism were similar for this population parasitizing DBM eggs and eggs of the laboratory standard host, *Anagasta kuehniella* (Zeller). In the field, the parasitism of DBM eggs by *T. pretiosum* was associated with the moth oviposition site preference and exhibited a positive relationship with egg availability; but, the egg

parasitism rate was density independent across both plant ages. The oviposition of DBM on cabbage plants at pre-head formation and its parasitism was equally distributed across the plant leaves. At this plant age, the basal part of the leaf and the upper leaf surface were the preferred places for oviposition and parasitism. Plants at post-head formation stage had higher oviposition and parasitism on the central leaf wrapping the head and in the upper leaf surface. The susceptibility of DBM to the insecticides Btk and Bta resulted in significant levels of resistance. The resistance ratio was 180 and 999 times to the recommended rates of Bta and Btk, respectively. Furthermore, variation of larvae and adults regarding walking and oviposition behavior were observed among the populations using treated and untreated cabbage leaf discs with Bta and Btk.

KEY WORDS: Brassica, diamondback moth, biological control, egg parasitoid, entomopathogens

MANEJO DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): PARASITISMO POR
Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E
SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES A *Bacillus thuringiensis* BERLINER

por

HUGO BOLSONI ZAGO

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

Fevereiro - 2008

MANEJO DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): PARASITISMO POR
Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E
SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES A *Bacillus thuringiensis* BERLINER

por

HUGO BOLSONI ZAGO

Comitê de Orientação:

Dr. Reginaldo Barros - UFRPE

Dr. Jorge Braz Torres - UFRPE

Dr. Dirceu Pratissoli – CCA/UFES

RECIFE - PE

Fevereiro - 2008

MANEJO DE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): PARASITISMO POR
Trichogramma pretiosum RILEY (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E
SUSCEPTIBILIDADE DE POPULAÇÕES A *Bacillus thuringiensis* BERLINER

por

HUGO BOLSONI ZAGO

Orientador: _____
Reginaldo Barros - UFRPE

Examinadores: _____
Jorge Braz Torres - UFRPE

Dirceu Pratissoli – CCA/UFES

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira - UFRPE

Ângela Maria Isidro de Farias – UFPE

Elizabeth Araújo de Albuquerque Maranhão - IPA

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Teresinha Bolsoni Zago e Victor Hugo Barbosa Zago, e ao meu irmão Helton Bolsoni Zago, pelo amor, afabilidade e apoio em todos os momentos da minha vida, principalmente aqueles de dificuldade.

AGRADECIMENTOS

A Deus que estendeu a mão e me concedeu mais uma oportunidade para viver;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco que me acolheu e contribuiu para a minha formação profissional;

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

Ao Prof. Reginaldo Barros pela amizade, carisma, apoio profissional e confiança a mim depositada;

Ao Prof. Jorge Braz Torres pela presteza, profissionalismo, amizade e entusiasmo em todos os momentos para realização deste trabalho;

Ao Prof. Dirceu Pratisoli pela amizade e profissionalismo concretizado ao longo desses anos em que estivemos juntos;

Ao Prof. Manoel Guedes Corrêa Gondim Jr pela competência e presteza em coordenar o Curso de Entomologia Agrícola (UFRPE);

Ao Prof. José Vargas de Oliveira, pela amizade, conselhos e atualizações tanto profissional como humorísticas;

Aos demais Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE, por contribuírem na minha formação profissional;

À Dr^a Ranyse Barbosa Querino da Silva (Embrapa Roraima, Boa Vista, RR) pela identificação de *Trichogramma pretiosum*.

Ao Engenheiro Agrônomo Miguel Raimundo de Aguiar Filho e o proprietário Julio Correia Alves pela facilitação das coletas no Rancho Bela Vista, município de Chã-Grande, PE;

A Darcy e Romildo, por serem pessoas excepcionais e vitais para organização e andamento do Curso de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola;

A Paulinha Ribeiro, pelo apoio, alegria, amor, companheirismo e cuidados, principalmente quando mais precisei;

Aos Drs. Eliseu José Guedes Pereira e Raul Narciso Carvalho Guedes pelo apoio, consideração e ensinamentos no período que estive em Viçosa-MG;

Aos amigos, Geraldo, Érick, Luciana (índia), kenia (Piu-piu), Alberto, Célia e Roni do Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Biologia Animal (UFV) pela amizade, apoio, brincadeiras e aprendizado;

Ao Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de aperfeiçoar meus conhecimentos;

Ao Dr. Marcelo Picanço (UFV) pelo apoio estrutural e intelectual para realização dos experimentos;

Aos meus amigos Hugo José Gonçalves dos Santos Jr., Gilberto Santos Andrade, Marcela Campanharo, Priscila Alves Lima, Michel, Badalo (Esmar), Diogo (Gauchinho), Joseane, Leandro (Gaúcho), Fabrício Fagundes, Edivan, Michelangelo, Dagmar, Laerte Amorim que foram muito importantes durante nosso convívio em Recife;

As secretárias Denise (Recife) e Dona Graça (Viçosa), pela atenção e seriedade em cuidar da república;

A minha família Pernambucana André Costa, Any, Paulinho, Ariann, Valtécio e Téo pelo apoio, companheirismo, amizade e momentos felizes que passamos juntos;

Aos meus colegas Ana, Andréia, Eduardo, Christian, André, Antonio, Izeldo, Gustavo e Rodrigo pelo convívio harmonioso.

SUMÁRIO

| | Páginas |
|---|---------|
| AGRADECIMENTOS | ix |
| CAPÍTULOS | |
| 1 INTRODUÇÃO | 01 |
| LITERATURA CITADA..... | 06 |
| 2 OCORRÊNCIA E PARASITISMO DE <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY (HYM.: TRICHOGRAMMATIDADE) EM <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)..... | 13 |
| RESUMO | 14 |
| ABSTRACT | 15 |
| INTRODUÇÃO | 16 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 20 |
| AGRADECIMENTOS..... | 22 |
| LITERATURA CITADA..... | 22 |
| 3 DISTRIBUIÇÃO DA OVIPOSIÇÃO DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE) E SEU PARASITISMO POR <i>Trichogramma pretiosum</i> RILEY (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) | 28 |
| RESUMO | 29 |
| ABSTRACT | 30 |
| INTRODUÇÃO | 31 |

| | |
|--|----|
| MATERIAL E MÉTODOS | 33 |
| RESULTADOS | 35 |
| DISCUSSÃO..... | 37 |
| AGRADECIMENTOS..... | 40 |
| LITERATURA CITADA..... | 41 |
| 4 SUCEPTIBILIDADE DA TRAÇA-DAS-CRUCÍFERAS, <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE), A INSETICIDAS A BASE DE <i>Bacillus thuringiensis</i> ... | 49 |
| RESUMO | 50 |
| ABSTRACT | 51 |
| INTRODUÇÃO | 52 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 54 |
| RESULTADOS..... | 58 |
| DISCUSSÃO..... | 62 |
| AGRADECIMENTOS..... | 65 |
| LITERATURA CITADA..... | 65 |

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

As brássicas, entre as quais incluem repolho, *Brassica oleraceae* (L.) var. capitata, couve, *Brassica oleraceae* var. acephala, couve-flor, *Brassica oleraceae* (L.) var. botrytis, brócolis, *Brassica oleraceae* (L.) var. itálica são cultivadas por pequenos e médios produtores rurais, que sofrem serias perdas por problemas fitossanitários relacionados ao cultivo destas, entre o quais, podemos citar, o ataque por insetos principalmente lepidópteros como *Pieris rapae* (L.) (Lep.: Pieridae), *Trichoplusia ni* (Hubner) (Lep.: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) (Godin & Boivin 1998). Entre estas, a traça-das-crucíferas, *P. xylostella* é considerada a principal praga das brássicas em todo o mundo, sendo a causa de perdas na produção e abandono de cultivos. A dificuldade de controle se dá pela sobreposição de gerações da praga, disponibilidade de hospedeiros simultaneamente nas áreas (i.e., brássicas cultivadas e espécies nativas), ciclo rápido e o mais importante, o aparecimento de populações resistentes a inseticidas devido ao uso intensivo de produtos químicos e biológicos (Kumaraswamia *et al.* 2001, Kwon *et al.* 2004, Baeka *et al.* 2005). Entre os métodos de controle, algumas práticas alternativas como o uso de plantas armadilha (Charleston & Rami 2000, Shelton & Nault 2004), uso de inseticidas botânicos (Barros & Vendramim 1999, Charleston *et al.* 2006), planta transgênica (Schuler *et al.* 2004), entomopatógenos (Aitre & Vandenberg 2001, Somvanshi 2006), predadores (Reddy *et al.* 2004) e parasitóides (Vasquez *et al.* 1997, Ibrahim & Kim 2006) são investigados visando à convivência com a praga. Dentre essas práticas de manejo, o enfoque é dado ao controle biológico seja natural ou aplicado através de liberações de inimigos naturais e o uso da bactéria *Bacillus thuringiensis*

Berliner (Ferré *et al.* 1991, Vasquez *et al.* 1997, Sayyed & Wright 2001, Gingras *et al.* 2003, Pereira *et al.* 2004, Hamilton *et al.* 2005, Heckel *et al.* 2007).

Dentre os métodos de controle, o uso do parasitóide de ovos *Trichogramma* para controle de *P. xylostella* é investigado em muitas pesquisas (Vásquez 1997, Gingras *et al.* 2003, Pereira *et al.* 2004). A facilidade de criação em laboratório de espécies de *Trichogramma* spp. é uma característica vantajosa para a sua utilização em programas de controle biológico aplicado, pois podem ser produzidos em ovos de hospedeiros alternativos e em grande quantidade, desse modo, com custos de produção viáveis para sua utilização (Parra 1997). Vale, ainda, ressaltar que ao parasitar ovos da praga, o parasitóide promove o controle da população do herbívoro antes mesmo da praga causar perdas na cultura (Vasquez *et al.* 1997). Na América do Sul, o Brasil representa o único país onde há relatos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *P. xylostella* (Zucchi & Monteiro 1997).

A utilização de *Trichogramma* é realizada em mais de 16 milhões de hectares de diversas culturas de importância agrícola (van Lenteren 2003). Isso faz deste inimigo natural um dos mais pesquisados mundialmente (Hassan 1997). Apesar desta constatação, o Brasil apresenta grande diversidade de áreas, micro-climas e espécies de brássicas cultivadas o que merece a necessidade de estudos com relação à coleta de novas espécies ou linhagens em áreas alvos para a sua utilização (Pratissoli & Parra 2001). Diferenças em características morfológicas, fisiológicas e comportamentais dentro da mesma espécie de parasitóides sugerem que populações têm sido selecionadas de acordo com as condições as quais são submetidas (Boivin & Brodeur 2006). Esta variabilidade dentro da espécie pode ser vantajosa para o controle biológico, desde que seja cuidadosamente explorado através da utilização de populações de parasitóides adaptados às condições da cultura e da praga alvo. Existem estudos que sugerem a utilização de populações de *Trichogramma* spp. selecionadas para condições específicas (Pak 1992, Liu & Smith 2000,

Pratissoli & Parra 2001, Pratissoli *et al.* 2004). De acordo com Stiling (1993) aproximadamente 12% do insucesso em programas de controle biológico clássico foi a não observância de populações adequadas para as liberações.

A coleta de novas espécies e populações, e estudos básicos de laboratório relacionados ao desenvolvimento, viabilidade e parasitismo de *Trichogramma* da espécie/população coletada são importantes para a multiplicação e controle de qualidade na produção massal desses agentes de controle biológico (Parra *et al.* 2002) bem como, conhecer as espécies mais adequadas para serem produzidas e liberadas (Pratissoli & Parra 2001).

Espécies do gênero *Trichogramma* são classificadas como parasitóides generalistas, mas podem apresentar afinidade por determinados hospedeiros (Pratissoli & Parra 2001, Mansfield & Mills 2003), devido às características nutricionais e morfológicas, que condicionam respostas a estímulos nos inimigos naturais (Vinson 1997). O hospedeiro alternativo utilizado na criação massal de *Trichogramma* representa o fator biótico que mais influência nas características biológicas deste parasitóide, alterando a duração do ciclo, parasitismo, razão sexual e longevidade dos insetos (van Lenteren 2003, Pratissoli *et al.* 2004

O desempenho de espécies de *Trichogramma* em relação a fatores ambientais deve ser avaliado, pois o potencial expresso em condições ótimas pode ser afetado, sob condições adversas. Entre os fatores que podem interferir na eficiência de *Trichogramma*, devemos considerar a localização do habitat da praga (hospedeiro) e a localização do ovo da praga na planta (Vinson 1997, Romeis *et al.* 2005). As características da estrutura da planta como a quantidade de tricomas, cerosidade e forma da superfície das folhas e o tamanho da planta podem fornecer dificuldades ao processo de forragear de *Trichogramma* spp. para encontrar o ovo do hospedeiro, reduzindo assim a taxa de parasitismo (van Lenteren *et al.* 1995, Romeis *et al.* 2005, Olson & Andow 2006). Além disso, estas características da planta podem promover mudanças

comportamentais da praga alvo como alteração na escolha do local de oviposição para escapar do ataque de inimigos naturais, ou locais mais tenros que forneçam mais nutrientes para os seus descendentes (Shiojiri & Takabayashi 2003, Reddy *et al.* 2004, Hamilton *et al.* 2005, Badenes-Perez *et al.* 2006) e que pode coincidir com locais na planta que apresenta barreiras morfológicas como a grande intensidade de tricomas que poderá dificultar o parasitismo por *Trichogramma* spp.(Faria *et al.* 2008).

Plantas de repolho *B. oleracea* variedade capitata, apresentam grandes variações em tamanho e arranjo da estrutura da copa, ao logo do ciclo, podendo influenciar no local de oviposição de insetos-praga, entre outros, na eficiência de parasitóides (Gingras *et al.* 2003). Este fato é de grande importância para parasitóides do gênero *Trichogramma* spp., pois estes têm tamanho reduzido (1mm), além de apresentarem comportamento da fase final de localização do hospedeiro por caminhamento e vôos curtos na superfície dos vegetais onde os ovos do hospedeiro se encontram (Romeis *et al.* 2005).

Apesar da utilização comercial de algumas espécies de *Trichogramma* spp., incluindo *T. pretiosum*, para o controle de *P. xylostella* (Vasquez *et al.* 1997), não existem relatos de utilização comercial de *Trichogramma* spp. no Brasil para controle de *P. xylostella* em brássicas.

Além da utilização de *Trichogramma* spp., o uso de inseticidas microbianos a base de *B. thuringiensis* é uma alternativa já utilizada a mais de 50 anos, principalmente para controle de lepidópteros-praga em diversas culturas de importância agrícola, incluindo *P. xylostella* em brássicas (Ferré *et al.* 1991, Tabashnik *et al.* 1994a, 1994b, Cabrera *et al.* 2001, Medeiros *et al.* 2006, Heckel *et al.* 2007). *B. thuringiensis* é uma bactéria gram-positiva que produz cristais protéicos durante a esporulação. Esses cristais ao serem ingeridos são solubilizados no intestino médio (mesêntero) dos insetos, lançando as proteínas chamadas δ -endotoxinas. As δ -endotoxinas são ativadas por proteinases do mesêntero, interagem com receptores específicos situados no

epitélio do intestino médio, onde formam pólos lipídicos, causando impedimento na absorção de nutrientes; destruição celular da membrana peritrófica e, por último, provoca a morte do inseto por falta de assimilação de nutrientes e septicemia (Gill *et al.* 1992).

Os níveis de toxicidade de *B. thuringiensis* variam de acordo com o gene que codifica as proteínas da estrutura primária da δ -endotoxina. Essas proteínas são codificadas e agrupadas de acordo com a ação biológica, resultando na atividade para larvas de lepidópteros (Cry1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1L, 1J, 2A, 9A, 9B, 15A), larvas de coleópteros (Cry1B, 1L, 3A, 3B, 3C, 7A, 8A, 8B, 8C, 14A), larvas de dípteros (Cry4A, 4B, 10A, 11A, 2A) e nematóides (Cry5A, 6A, 6B, 12A, 13A) (Crickmore *et al.* 2007). Vale ressaltar, que existem dezenas de tipos de δ -endotoxina para cada um desses grupos, resultando em raças de *B. thuringiensis* (Tabashnik 1994) e mais 295 genes codificando toxinas (Crickmore *et al.* 2007). No entanto, aplicações intensivas de inseticidas formulados a partir das toxinas Cry1 de *B. thuringiensis* para controle de *P. xylostella* têm exercido fortes efeitos de seleção, resultando no aparecimento de populações resistentes em diversos locais do mundo (Ferré *et al.* 1991, Sayyed & Wright 2001, Heckel *et al.* 2007), além de casos de resistência cruzada entre raças de *B. thuringiensis* como entre Cry1A e Cry1F (Tabashnik *et al.* 1994b). Estudos sobre linha básica de resistência são importantes para adotar estratégias de manejo, evitando assim possíveis surtos de *P. xylostella* com a seleção de populações resistentes aos inseticidas (Tabashnik 1994, Tabashnik *et al.* 1994b). Levantamentos de resistência a determinados grupos de inseticidas podem auxiliar não somente na escolha de produtos eficientes no controle de populações de insetos-praga (Cabrera *et al.* 2001), mas também auxiliar nas estratégias a serem adotadas para minimizar perdas nas lavouras por falhas no controle. Deste modo, esta pesquisa teve como objetivos:

- Realizar a coleta de uma população de *Trichogramma* spp. em cultivo orgânico de brássicas no município de Chã-Grande-PE;

- Estudar as características biológicas e o parasitismo da espécie coletada, no hospedeiro *P. xylostella*, comparado ao hospedeiro de criação *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.: Pyralidae);
- Investigar a distribuição da oviposição de *P. xylostella* e seu parasitismo por *Trichogramma pretiosum* em repolho antes e após formação da cabeça e;
- Estudar a susceptibilidade de populações de *P. xylostella* as formulações comerciais dos inseticidas a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®] WP) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari[®] WG), magnitude e comportamento.

Literatura Citada

- Altre, J.A., & J.D. Vandenberg. 2001.** Factors Influencing the Infectivity of Isolates of *Paecilomyces fumosoroseus* against Diamondback Moth, *Plutella xylostella*. J. Invertebr. Pathol. 78: 31-36.
- Badenes-Perez F.R., B.A. Nault, & A.M. Shelton. 2006.** Dynamics of diamondback moth oviposition in the presence of a highly preferred non-suitable host. Entomol. Exp. Appl. 120: 23-31.
- Baeka, J.H., J.I. Kima, D.W. Leea, B.K. Chungb, T. Miyatac & S.H. Leea. 2005.** Identification and characterization of ace1-type acetylcholinesterase likely associated with organophosphate resistance in *Plutella xylostella*. Pestic. Biochem. Physiol. 81: 164 -175.
- Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizados para criação de *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Bras. 28: 469-476.
- Boivin, G. & J. Brodeur. 2006.** Intra- and interespecific interactions among parasitoids: mechanisms, outcomes and biological control, p. 123-144. In J. Brodeur & G. Boivin (eds.),

Trophic and guild interactions in biological control. Progress in biological control v. 3. Dordrecht, Springer, 249p.

Cabrera, J.G., S. Herrero, A.H. Sayyed, B. Escriche, Y.B. Liu, S. K. Meyer, D.J. Wright, B.E. Tabashnik, & J. Ferré. 2001. Variation in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* toxins among unselected strains of *Plutella xylostella*. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4610-4613.

Charleston, D.S. & Rami K. 2000. The possibility of using Indian mustard, *Brassica juncea*, as a trap crop for the diamondback moth, *Plutella xylostella*, in South Africa. Crop Prot. 19: 455-460.

Charleston, D.S., Rami, K.W., M. Dicke & L.E.M. Vet. 2006. Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies. Biol. Control 39: 105-114.

Crickmore, N., D.R. Zeigler, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, A. Bravo & D.H. Dean. 2007. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/

Faria, C.A., J.B. Torres, A.M.V. Fernandes & A.M.I. Farias. 2008. Parasitism of *Tuta absoluta* (Meyrick) in tomato plants by *Trichogramma pretiosum* Riley in response to host density and plant structures. Rev. Centr. Ciên. Rural 38: (em impressão).

Ferré, J., M.D. Real, J.V. Rie, S. Jansens & M. Peferoen. 1991. Resistance to the *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field population of *Plutella xylostella* is due to a change in a midgut membrane receptor. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 5119-5123.

Gill, S.S., E.A. Cowles, & P.V. Pietrantonio. 1992. The mode of Action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37:615-36.

Gingras D., P. Dutilleul, & G. Boivinc. 2003. Effect of plant structure on host finding capacity of lepidopterous pests of crucifers by two *Trichogramma* parasitoids. Biol. Control 27: 25-31.

- Godin, C. & G. Boivin. 1998.** Lepidopterous pests of *Brassica* crops and their parasitoids in southwestern Quebec. *Environ. Entomol.* 27: 1157-1165.
- Hamilton A.J., N.M. Endersby, P.M. Ridland, J. Zhang & M. Neal. 2005.** Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. *Aust. J. Entomol.* 44: 284-287.
- Hassan, S.A. 1997.** Seleção de espécies de *Trichogramma* para o uso em programas de controle biológico, p. 183-206. In J.R.P. Parra & R.A. Zucchi (eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Heckel, D.G., L.J. Gahan, S.W. Baxter, J.Z. Zhao, A.M. Shelton, F. Gould & B.E. Tabashnik. 2007.** The diversity of Bt resistance genes in species of Lepidoptera. *J. Invertebr. Pathol.* 95: 192-197.
- Ibrahim, A.M.A. & Y. Kim. 2006.** Parasitism by *Cotesia plutellae* alters the hemocyte population and immunological function of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Insect Physiol.* 52: 943-950.
- Kumaraswamia, N. S., T. Maruyama, S. Kurabea, T. Kishimotoa, T. Mitsui & H. Horia. 2001.** Lipids of brush border membrane vesicles (BBMV) from *Plutella xylostella* resistant and susceptible to Cry1Ac-endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 129: 173-183.
- Kwon, D.H., B.R. Choi, H.M. Park, S.H. Lee, T. Miyata, J.M. Clark, & S.H. Lee. 2004.** Knockdown resistance allele frequency in field populations of *Plutella xylostella* in Korea. *Pestic. Biochem. Physiol.* 80: 21-30.
- Liu, F.H. & S.M. Smith. 2000.** Measurement and selection of parasitoid quality for mass-reared *Trichogramma minutum* Riley used in inundative release. *Biocontrol Sci. Tech.* 10: 3-13.

- Mansfield, S. & N.J. Mills. 2003.** A comparison of methodologies for the assessment of host preferences of the gregarious egg parasitoid *Trichogramma platneri*. Biol. Control 29: 332-340.
- Medeiros P.T, E.H. Sone, C.M.S. Soares, J.M.C.S. Dias & R.G. Monnerat. 2006.** Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. Horticult. Bras. 24: 245-248.
- Olson, D.M. & D.A. Andow. 2006.** Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on various surfaces. Biol. Control 39: 329-335.
- Pak, G.A. 1992.** Inundative release of *Trichogramma* for the control of cruciferous Lepidoptera: preintroductory selection of an effective parasitoid, p. 297-308. In N.S. Talekar (ed.), Diamondback moth and other crucifer pests. Tainan, Taiwan, AVRDC Publication no. 92-368. 603p.
- 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.
- Parra, J.R.P., P.S.M. Botelho, B.S.Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento. 2002.** Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar, p.125-142. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento. Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores. São Paulo, Manole, 635p.
- Pereira, F.F., R. Barros & D. Pratissoli. 2004.** Desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Rev. Centr. Ciên. Rural 34: 1669-1674.

- Pratissoli, D. & J.R.P. Parra. 2001.** Seleção de Linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae) para o Controle das Traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. 30: 277-282.
- Pratissoli, D., A.M. Holtz, J.R. Gonçalves, R.C. Oliveira, U.R. Vianna. 2004.** Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum*, criados em ovos de *Sitotroga cerealella* e *Anagasta kuehniella*. Horticult. Bras. 22: 562-565.
- Reddy, G.V.P., E. Tabone & M.T. Smith. 2004.** Mediation of host selection and oviposition behavior in the diamondback moth *Plutella xylostella* and its predator *Chrysoperla carnea* by chemical cues from cole crops. Biol. Control. 29: 270-277.
- Romeis, J., D. Babendreier, F.L. Wäckers & T.G. Shanower. 2005.** Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids-underlying mechanisms and implications. Basic Appl. Ecol. 6: 215-236.
- Sayre, D. A. & D.J. Wright. 2001.** Fitness costs and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in a field population of the diamondback moth *Plutella xylostella* L. Ecol. Entomol. 26: 502-508.
- Schuler, T. H., I. Denholm, S. J. Clark, C. N. Stewart & G. M. Poppy. 2004.** Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Insect Physiol. 50: 435-443.
- Shelton, A.M. & B.A. Nault. 2004.** Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Crop Prot. 23: 497-503.

- Shiojiri, K. & J. Takabayashi. 2003.** Effects of specialist parasitoids on oviposition preference of phytophagous insects: encounter–dilution effects in a tritrophic interaction. *Ecol. Entomol.* 28: 573-578.
- Somvanshi, V.S., S. Ganguly & A.V.N. Paul. 2006.** Field efficacy of the entomopathogenic nematode *Steinernema thermophilum* Ganguly and Singh (Rhabditida: Steinernematidae) against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) infesting cabbage. *Biol. Control.* 37: 9-15.
- Stiling, P. 1993.** Why do natural enemies fall in classical biological control programs? *Am. Entomol.* 39: 31-37.
- Tabashnik, B.E. 1994.** Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 39:47-79.
- Tabashnik, B.E., N. Finson, F.R. Groeters, W. J. Moar, M.W. Johnson, K. Luo & M.J. Adang. 1994a.** Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 4120-4124.
- Tabashnik, B.E., N. Finson, M.W. Johnson, & D.G. Heckel. 1994b.** Cross-resistance to *Bacillus thuringiensis* Toxin CryIF in the diamondback Moth (*Plutella xylostella*). *Appl. Environ. Microb.* 60: 4627-4629.
- van Lenteren, J.C. 2003.** Need for quality control of mass-produced biological control agents, p. 1-18. In J.C. van Lenteren (ed.), *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford, CABI Publishing, 327p.
- van Lenteren, J.C., Z.H. Li, J.W. Kamerman & R. Xu. 1995.** The parasit-host relationship between *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (West-Wood) (Homoptera: Aleyrodidae) XXVI. Leaf hairs reduce the capacity of *Encarsia* to control greenhouse whitefly on cucumber. *J. Appl. Entomol.* 119: 553-559.

- Vasquez L.A., A.M. Shelton, M.P. Hoffmann, & R.T. Roush. 1997.** Laboratory Evaluation of Commercial Trichogrammatid Products for Potential Use against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Biol. Control* 9: 143-148.
- Vinson, S.B. 1997.** Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, p. 67-119. In J.R.P Parra & R.A Zucchi (eds.), *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Zucchi, R.A. & R.C. Monteiro. 1997.** O gênero *Trichogramma* na América do Sul, 41-66. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S.C. Ferreira & J.M.S. Bento (eds). *Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores*. São Paulo, Manole, 635p.

CAPÍTULO 2

OCORRÊNCIA E PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE) EM *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)

HUGO B. ZAGO¹ REGINALDO BARROS¹E DIRCEU PRATISSOLI²

¹DEPA-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros
s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

²Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário s/n,
Caixa Postal 16, 29500-000 Alegre, ES.

¹Zago, H.B., R. Barros & D. Pratissoli. Ocorrência e Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) em *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae). Revista Caatinga

RESUMO - A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) é a mais importante praga das brássicas em todo o mundo inclusive no Agreste Pernambucano. Apesar da condição de praga, a traça-das-crucíferas é parasitada por vários inimigos naturais incluindo o parasitóide de ovos *Trichogramma*. A proposta deste trabalho foi coletar uma população de *Trichogramma* ocorrendo naturalmente nessa região e investigar suas características biológicas e parasitismo em ovos da traça-das-crucíferas. O levantamento foi conduzido duas vezes entre Junho e Agosto de 2006 em áreas de cultivo orgânico do município de Chã-Grande, PE. Ovos sentinelas foram expostos em campo por um período de 48h e a coleta revelou a presença da espécie *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). Os resultados referentes as a biologia e o parasitismo desta população de *T. pretiosum* em *P. xylostella* e *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.: Pyralidae) foram similares. A média de ovos parasitados foi de 43,6 e 49,1 ovos de *P. xylostella* e *A. kuehniella* por fêmea do parasitóide, respectivamente. O desenvolvimento do parasitismo a emergência do adulto foi, em média, 9 dias e viabilidade acima de 80% na traça-das-crucíferas e *A. kuehniella*. Baseado nos resultados obtidos, a população de *T. pretiosum* coletada na região, exibiu características biológicas e parasitismo favoráveis para a sua utilização no controle de *P. xylostella*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, traça-das-crucíferas, parasitóides de ovos

OCCURRENCE AND PARASITISM OF *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYM.:
TRICHOGRAMMATIDAE) ON *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)

ABSTRACT – The diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* (L.) (Lep: Plutellidae), is one of the most important cruciferous pest worldwide and a key pest of cabbage in the Agreste of Pernambuco State, Brazil. Despite of the pest status, the DBM is parasitized by several natural enemies including the egg parasitoid *Trichogramma*. The major purpose of this study was to survey for *Trichogramma* species or populations occurring naturally in this region and to investigate their biology and parasitism on DBM eggs. The survey was conducted twice between June and August 2006 in areas of organic vegetables in Chã-Grande County, PE. Cards containing sentinel eggs were exposed in the field for 48h. Sentinel eggs were parasitized by *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). The results of the biological characteristics and parasitism of *T. pretiosum* were similar when parasitizing *P. xylostella* eggs or the alternative host, *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.: Pyralidae) eggs. Mean parasitism of *P. xylostella* and *A. kuehniella* was 43.6 and 49.1 eggs per parasitoid female, respectively. Egg parasitism to adult emergence, on average, lasted 9 days with viability greater than 80% on both hosts. Based on the results, the population of *T. pretiosum* collected exhibited prospective for *P. xylostella* control.

KEY WORDS: Biological control, diamondback moth, egg parasitoids

Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) é considerada a principal praga das brássicas em todo o mundo, sendo a causa de perdas na produção e abandono de cultivos. Pela dificuldade de controle imposta pela praga envolvendo sobreposição de gerações, disponibilidade de hospedeiros alternativos nas áreas, ciclo rápido e até mesmo aparecimento de populações resistentes a inseticidas, métodos alternativos de manejo são investigados visando à convivência com a praga. Entre esses métodos, busca-se incrementar o controle biológico seja natural ou aplicado através de liberações de inimigos naturais. Estas iniciativas têm sido observadas nos estudos de Vasquez *et al.* (1997), Ferreira *et al.* (2003), Gingras *et al.* (2003), Pereira *et al.* (2004) e Hamilton *et al.* (2005). Entre os inimigos naturais da traça-das-crucíferas, destaca-se o controle por parasitóides, especialmente, do gênero de *Trichogramma* (Pereira *et al.* 2004). Em países com intenso cultivo de brássicas já foram identificadas aproximadamente 90 espécies de parasitóides atacando *P. xylostella* entre os quais, o gênero *Trichogramma* se destaca (Godin & Boivin, 1998).

A facilidade de criação em laboratório de espécies de *Trichogramma* é uma característica vantajosa para a sua utilização em programas de controle biológico aplicado, pois podem ser produzido em ovos de hospedeiros alternativos e desse modo com custos de produção viáveis para a utilização (Parra 1997). Vale ainda ressaltar que ao parasitar ovos da praga, promove o controle da população do herbívoro antes mesmo da praga causar danos na cultura (Vasquez *et al.* 1997).

Dentre os países da América do Sul, o Brasil representa o único país onde há relatos de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) parasitando ovos de *P. xylostella* (Zucchi & Monteiro 1997). Apesar desta constatação, o Brasil apresenta grande diversidade de áreas, micro-climas e espécies de brássicas cultivadas o que merece estudos com relação à coleta de novas espécies ou populações de *Trichogramma* spp. em áreas alvos para a sua utilização.

A coleta de novas espécies e/ou populações e estudos básicos de laboratório relacionados ao desenvolvimento, viabilidade e parasitismo de *Trichogramma* spp. são importantes para a multiplicação e controle de qualidade na produção massal desses agentes de controle biológico (Parra *et al.* 2002), bem como conhecer as espécies mais adequadas para serem produzidas e liberadas. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi realizar a coleta de uma população de *Trichogramma* em cultivo orgânico de brássicas no município de Chã-Grande-PE e estudar as biológicas e o parasitismo da espécie coletada, no hospedeiro *P. xylostella*, comparado ao hospedeiro de criação *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.: Pyralidae).

Material e Métodos

Ocorrência de *T. pretiosum* em repolho. A coleta de *T. pretiosum* foi feita em cultivos de brássicas no município de Chã-Grande, PE (8° 14' 24''S, 35° 27' 04''W e a 450m de altitude), correspondendo a 4ha. O levantamento foi realizado utilizando-se cartelas de 2x4cm de cartolina, com uma área central de 4cm², contendo em média, 300 ovos de *A. kuehniella*, inviabilizados por exposição sob lâmpada germicida. As cartelas sentinelas contendo ovos de hospedeiro para parasitismo foram preparadas em laboratório e acondicionadas individualmente no interior de gaiolas confeccionadas com tela de náilon (de malha 0,2mm) no tamanho de 4x 4cm. Duas coletas foram realizadas durante os meses de junho e agosto de 2006. Um total de 300 cartelas/4ha foram distribuídas aleatoriamente em cultivos diversificados de couve, repolho e brócolis, feijão vagem e berinjela. No campo, as gaiolas contendo as cartelas sentinelas foram fixadas nas folhas das plantas através de um grampo de metal e permaneceram por um período de 48h, sendo posteriormente coletadas e levadas para o laboratório. As cartelas recuperadas foram então mantidas em sala climatizada, regulada com temperatura de 28 ± 1°C, umidade relativa de 60±10% e fotofase de 12h e observadas por cinco dias para a constatação de parasitismo. Os ovos

parasitados foram isolados em tubos de vidro (8,5 x 2,5cm), fechados com filme plástico de PVC, até a emergência dos parasitóides.

Parte dos adultos emergidos foi mantida em laboratório para multiplicação em ovos de *A. kuehniella* conforme metodologia de Parra (1997), e parte foi acondicionada em álcool 70%, sendo posteriormente enviada para identificação pela especialista em identificação de Trichogrammatide, Dr^a Ranyse Barbosa Querino da Silva (EMBRAPA Roraima, Boa Vista, RR).

Criação dos hospedeiros. Ovos da traça-das-crucíferas, *P. xylostella*, foram provenientes da criação mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE. A criação da *P. xylostella* é feita em folhas de couve de produção orgânica, conforme metodologia de Barros & Vendramim (1999).

O hospedeiro alternativo, *A. kuehniella*, foi criado adotando a dieta proposta por Torres *et al.* (1995) utilizando farinha de trigo integral (60%) e fubá de milho amarelo (37%) e levedura de cerveja (3%). Ovos de *A. kuehniella* foram utilizados tanto nas cartelas sentinelas para coleta a campo do parasitóide como para a sua multiplicação em laboratório.

Características biológicas de *T. pretiosum* em *P. xylostella* e *A. kuehniella*. Foram utilizados 40 ovos de cada hospedeiro, *P. xylostella* e *A. kuehniella* (idade <24h). Ovos de *P. xylostella* foram retirados de discos de folhas de couve contendo posturas, através de pincel e colocados em cartelas (2,5 x 0,3 cm), confeccionadas em papel de filtro, fixados através do umedecimento com água destilada.

No hospedeiro *A. kuehniella*, os ovos foram previamente inviabilizados e colados, conforme metodologia descrita para manutenção de *T. pretiosum*, em cartelas de cartolina azul (2,5 x 0,3cm). Em seguida essas cartelas foram colocadas individualmente em tubos de Duram contendo fêmeas do parasitóide. Posteriormente os tubos de Duran foram fechados com filme plástico PVC para eviatar a fuga do parasitóide.

Em cada tubo contendo ovos dos hospedeiros, foram introduzidas quatro fêmeas (idade 0-6h) de *T. pretiosum*. Estas fêmeas estavam na quinta geração de gerações sucessivas em ovos de *A. kuehniella*. Então, mantidos em câmaras climatizadas, regulada $25,4^{\circ}\text{C} \pm 1,7$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa (UR) e fotofase de 12h para o parasitismo. Após 5h de parasitismo, as fêmeas foram retiradas com pincel sob microscópio estereoscópico, e os tubos com as cartelas retornaram a câmara climatizada para avaliação do desenvolvimento.

Os parâmetros observados foram a duração do ciclo, a porcentagem de emergência [(número de parasitóides emergidos/número total de ovos parasitados)*100] e a razão sexual (número de fêmeas emergidas/número total de parasitóides emergidos). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, dois tratamentos (hospedeiros) com 15 repetições cada. Os dados foram submetidos à análise de variância.

Taxa de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *P. xylostella* e *A. kuehniella*. Fêmeas de *T. pretiosum* com idade de 0 a 6h foram individualizadas em tubos de Duran (0,9cm diâmetro x 3cm comprimento) fechados com filme plástico de PVC. Para cada fêmea foram oferecidos diariamente 40 ovos (idade 0-24h) de *P. xylostella*. Os ovos foram retirados de discos de folhas de couve ofertados as mariposas para oviposição durante a noite anterior de acordo com Barros & Vendramim (1999). Os ovos foram coletados com pincel e colocados em cartelas (2,5 x 0,3cm), confeccionadas em papel de filtro. Esse mesmo procedimento foi realizado para ovos do hospedeiro alternativo, *A. kuehniella*. Entretanto, antes da oferta dos ovos as fêmeas de *Trichogramma*, esses foram colados em cartelas de cartolina azul, de acordo com metodologia de manutenção de *T. pretiosum*. As cartelas contendo ovos dos hospedeiros estudados foram substituídas a cada 24h, até a morte da fêmea do parasitóide.

Cartelas contendo os ovos supostamente parasitados de cada fêmea (repetição) e hospedeiro (*Anagasta* e *Plutella*) foram identificadas e mantidas em câmaras climáticas reguladas a $25,4^{\circ}\text{C} \pm$

1,7; $60 \pm 10\%$ de U.R. e fotofase de 12h para posterior determinação dos seguintes parâmetros: número total e diário de ovos parasitados por fêmea, porcentagem acumulada de parasitismo, longevidade das fêmeas.

Análises. Os resultados de parasitismo e características biológicas de *T. pretiosum* sobre ovos de *P. xylostella* e *A. kuehniella* foram submetidos à teste de normalidade e homogeneidade de variância e interpretados pelo teste de Fisher da análise de variância. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Resultados e Discussão

Ocorrência de *Trichogramma*. A identificação resultou da ocorrência da espécie *T. pretiosum* (Fig. 1) (Basso & Pintureau 2004), já relatada em outros levantamentos de *Trichogramma* no estado de Pernambuco em cultivos de berinjela no município de Recife (região litorânea). Vale ressaltar que mesmo se tratando de uma espécie já coletada nessa região, a referida neste estudo poderá apresentar características biológicas e comportamentais em função do microclima da região do Agreste, pois foi encontrada em condição de relevo superior a 400 metros, no município de Chã Grande, PE, região com vastas áreas cultivadas com hortaliças, conhecida como o cinturão das hortaliças no Agreste do Estado de Pernambuco. Por intenso uso de hortaliças, esta área também é caracterizada por grande uso de pesticidas para o controle de pragas, incluindo o controle de *P. xylostella*. Estudos de Pratisoli & Parra (2001), sugerem a coleta e estudo de espécies e/ou populações de *Trichogramma* spp., na região alvo para o controle biológico aplicado objetivando selecionar indivíduos com melhor performance adaptado ao micro-clima da região.

A metodologia utilizando cartelas com ovos sentinelas deixadas ao campo por 48h mostrou-se capaz de coletar parasitóide de ovos. Das 300cartelas/4ha dispostas no campo durante dois

períodos nos meses junho e agosto de 2006, foram recuperados 53 ovos parasitados distribuídos em duas cartelas. As respectivas cartelas contendo ovos parasitados encontravam-se dispostas em plantas de feijão vagem de um plantio orgânico desta cultura, intercalados com repolho, brócolis, berinjela e couve. Entretanto nenhum potencial hospedeiro (Lepidoptera) foi observado ocorrendo no feijão vagem. Isto pode sugerir a dispersão do parasitóide e a utilização de hospedeiros ocorrendo nas culturas vizinhas, onde se observou grande infestação da traça-das-crucíferas. A utilização dessa metodologia através de armadilhas contendo ovos de *A. kuehniella* tem sido aplicada com sucesso em outros sistemas como no tomate e milho (Pratissoli *et al.* 2002, Oliveira *et al.* 2005). Populações de *T. pretiosum* definidas por localidade e diferentes micro-climas no estado do Espírito Santo foram coletadas em tomate (Pratissoli *et al.* 2002). Também, usando a mesma metodologia, Oliveira *et al.* (2005) coletou *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner em cultivos de milho.

Características biológicas de *T. pretiosum* em *P. xylostella* e *A. kuehniella*. O parasitismo, viabilidade, razão sexual, longevidade e duração do ciclo de *T. pretiosum* criados em ovos de *P. xylostella* e *A. kuehniella* diferiram significativamente com relação a viabilidade e a razão sexual (Tabela 1). Os resultados demonstraram que *T. pretiosum* apresentou características biológicas favoráveis a sua utilização para controle de *P. xylostella*, mostrando desempenho comparável entre os hospedeiros *P. xylostella* e *A. kuehniella*. Pratissoli *et al.* (2004) estudando uma população de *T. pretiosum* proveniente do município de Alegre (ES), encontraram performance diferente à espécie relacionada nessa pesquisa quando aos parâmetros biológicos, capacidade de parasitismo (21,6 ovos/fêmea) e longevidade (5,9 dias).

Taxa de parasitismo de *T. pretiosum* em *P. xylostella* e *A. kuehniella*. O parasitismo diário decresceu em ambos os hospedeiros com o avanço na idade da fêmea de *T. pretiosum* após 48h do início do experimento (Fig. 2). O parasitismo acumulado de *T. pretiosum* atingiu 80% no período

de um a oito dias em ovos de *P. xylostella* e de um a 10 dias em ovos de *A. kuehniella* (Fig. 2). Os resultados demonstraram que *T. pretiosum* foi mais efetivo, reduzindo em dois dias o tempo gasto para atingir 80% do parasitismo em *P. xylostella*, sendo sempre superior, quando comparado ao hospedeiro padrão de criação *A. kuehniella*. Baseado nos resultados encontrados nesta pesquisa, a população de *T. pretiosum* coletada em cultivo orgânico de brássicas no município de Chã-Grande-PE, exibiu características biológicas favoráveis para a sua utilização em futuros programas de controle biológico aplicado em *P. xylostella*.

Agradecimentos

À Dr^a Ranyse Barbosa Querino da Silva (Embrapa Roraima, Boa Vista, RR) pela identificação de *Trichogramma pretiosum*. À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa. Ao Engenheiro Agrônomo Miguel Raimundo de Aguiar Filho e o proprietário Julio Correia Alves pela facilitação das coletas no Rancho Bela Vista, município de Chã-Grande, PE. As Doutoradas Ângela Maria Isidro de Farias e Elizabeth Araújo de Albuquerque Maranhão pela contribuição nas melhorias do trabalho.

Literatura Citada

- Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizados para criação de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Pluelliidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Bras. 28: 469-476.
- Basso, C. & B. Pintureau. 2004.** Las especies de *Trichogramma* de Uruguay (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Rev. Soc. Entomol. Argentina 63: 71-80.

- Ferreira, S.W.J., R. Barros & J.B. Torres. 2003.** Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. *Neotrop. Entomol.* 32: 407-411.
- Gingras D., P. Dutilleul, & G. Boivinc. 2003.** Effect of plant structure on host finding capacity of lepidopterous pests of crucifers by two *Trichogramma* parasitoids. *Biol. Control* 27: 25-31.
- Godin, C. & G. Boivin. 1998.** Lepidopterous pests of *Brassica* crops and their parasitoids in southwestern Quebec. *Environ. Entomol.* 27: 1157-1165.
- Hamilton A.J., N.M. Endersby, P.M. Ridland, J.Z. & M. Neal. 2005.** Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. *Aust. J. Entomol.* 44: 284-287.
- Oliveira, H.N., D. Pratissoli & L.P. Dalvi. 2005.** Ocorrência de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner (Hym.:Trichogrammatidae) na cultura do milho. *Rev. Bras. Milho Sorgo* 4: 259-261.
- 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 Biológico Aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Parra, J.R.P., P.S.M. Botelho, B.S.Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento. 2002.** Controle biológico: uma visão inter e multidisciplinar, p.125-142. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S. Corrêa-Ferreira & J.M.S. Bento (eds.), *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo, Manole, 635p.
- Pereira, F.F., R. Barros & D. Pratissoli. 2004.** Desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) submetidos a diferentes densidades de ovos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Rev. Centr. Ciên. Rural* 34: 1669-1674.

- Pratissoli, D. & J.R.P. Parra. 2001.** Seleção de Linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae) para o Controle das Traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. 30: 277-282.
- Pratissoli, D., F.F. Pereira, R. Barros, J.R.P. Parra & C.L.T. Pereira. 2004.** Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. Hortic. Bras. 22: 754-757.
- Pratissoli, D. M.J. Fornazier, A.M. Holtz, J.R. Gonçalves, A.B. Chioramital & H.B. Zago. 2002.** Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* em áreas comerciais de tomate, no Espírito Santo, em regiões de diferentes altitudes. Hortic. Bras. 21: 73-76.
- SAS Institute. 2002.** SAS/Stat User's Guide. SAS, Cary, NC, USA.
- Torres, J.B., F.S. Freitas & D. Pratissoli. 1995.** Avaliação de diferentes porcentagens da mistura de farinha de milho com farinha de trigo integral e levedura-de-cerveja na criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). Rev. Ciên. Prática 19: 365-368.
- Vasquez L.A., A.M. Shelton, M.P. Hoffmann, & R.T. Roush. 1997.** Laboratory evaluation of commercial trichogrammatid products for potential use against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Biol. Control 9: 143-148.
- Zucchi, R.A. & R.C. Monteiro. 1997.** O gênero *Trichogramma* na América do Sul, p.41-66. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S.C. Ferreira & J.M.S. Bento (eds), Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores. São Paulo, Manole, 635p.

Tabela 1. Parasitismo, viabilidade, razão sexual, longevidade e duração do ciclo de *T. pretiosum* nos hospedeiros *A. kuehniella* e *P. xylostella*. Temp.: $25,4 \pm 1,7^{\circ}\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

| Parâmetros avaliados | Hospedeiros ¹ | |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------|
| | <i>P. xylostella</i> | <i>A. kuehniella</i> |
| Número de ovos parasitados | $43,6 \pm 4,40$ | $49,1 \pm 4,17$ |
| Viabilidade do parasitismo (%) | $82,4 \pm 3,51$ | $87,7 \pm 2,76^*$ |
| Razão sexual | $0,98 \pm 0,00^*$ | $0,90 \pm 0,02$ |
| Longevidade de fêmeas (dias) | $10,8 \pm 0,70$ | $10,5 \pm 0,46$ |
| Duração ciclo ovo-adulto (dias) | $9,0 \pm 0,00$ | $9,0 \pm 0,00$ |

¹Diferença significativa pela ANOVA (Teste de Fisher) a 5% de significância (*).

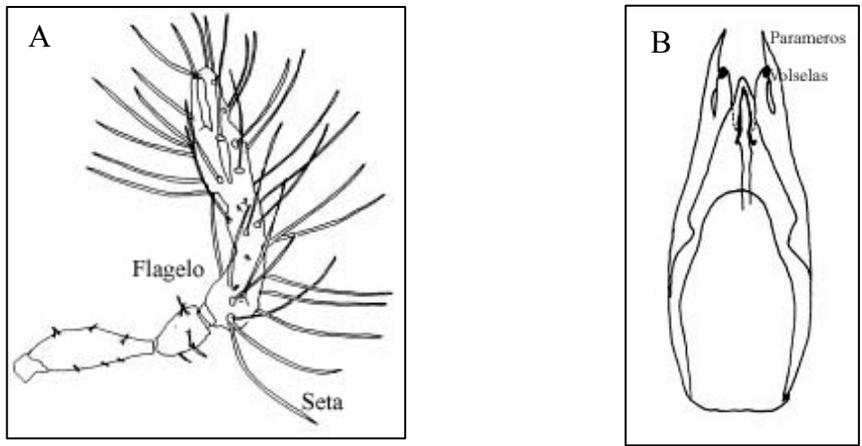


Figura 1. Antena (A) e cápsula genital (B) do macho de *T. pretiosum* (Basso & Pintureau 2004).

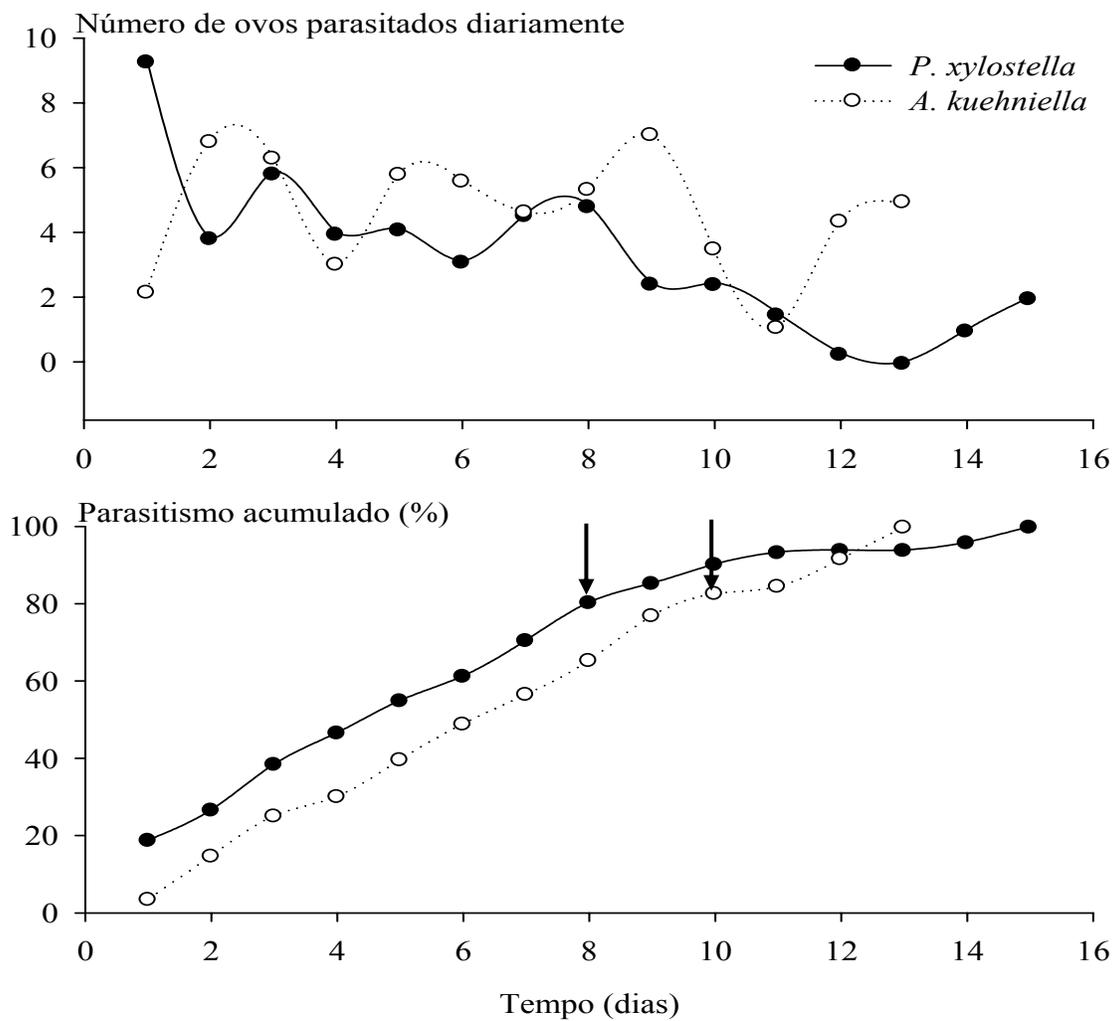


Figura 2. Parasitismo diário e acumulado de *T. pretiosum* em ovos de *P. xylostella* e *A. kuehniella*. Temperatura: $25,4 \pm 1,7^{\circ}\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. As setas indicam 80% de parasitismo.

CAPÍTULO 3

DISTRIBUIÇÃO DA OVIPOSIÇÃO DE *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE) E SEU PARASITISMO POR *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYM.: TRICHOGRAMMATIDAE)

HUGO B. ZAGO¹, REGINALDO BARROS¹, JORGE B. TORRES¹ E DIRCEU PRATISSOLI²

¹DEPA-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

²Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário s/n, Caixa Postal 16, 29500-000 Alegre, ES.

¹Zago, H.B., R. Barros, J.B. Torres & D. Pratissoli. Distribuição da oviposição de *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) e seu parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). Neotropical Entomology.

RESUMO – Este trabalho investigou a relação entre a distribuição da oviposição de *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae) e o seu parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) em plantas de repolho em campo nas idades fenológicas antes e após a formação da cabeça. Gaiolas de 1,2x1,0x1,0m foram aleatoriamente dispostas sobre grupos de seis plantas de repolho. No interior das gaiolas foram liberados às 17h, três casais de *P. xylostella* com 24h de idade e após 12h, 1200 fêmeas de *T. pretiosum*. Decorridos 48h da liberação dos parasitóides, foi determinada a oviposição de *P. xylostella* de acordo com a posição da folha na planta e suas partes (basal, mediana e borda) e faces superior e inferior. A oviposição de *P. xylostella* e seu parasitismo por *T. pretiosum* em plantas antes da formação da cabeça foi igualmente distribuída entre as folhas. A parte basal e a epiderme superior das folhas foram às localidades preferidas para a oviposição da praga e parasitismo, respectivamente. Plantas após formação de cabeça tiveram maior oviposição e parasitismo na folha central envolvendo a cabeça. Nesta idade de plantas, a borda e a epiderme superior foram às localidades preferidas para a oviposição da praga e parasitismo, respectivamente. A taxa de parasitismo foi, respectivamente, de 35 e 56% em plantas antes e após formação de cabeça e independente da densidade de ovos. Assim, maior sucesso de localização de ovos de *P. xylostella* em repolho antes e após formação da cabeça ocorreu na parte basal das folhas ou na borda da folha envolvendo a cabeça, respectivamente. Em ambos os estágios de desenvolvimento das plantas, a maior probabilidade de encontrar ovos parasitados por *T. pretiosum* será na epiderme superior das folhas.

PALAVRAS-CHAVE: Traça-das-crucíferas, controle biológico, parasitóide de ovos, parasitismo em campo

WITHIN-PLANT DISTRIBUTION OF *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE) EGGS
ON CABBAGE AND ITS PARASITISM BY *Trichogramma pretiosum* RILEY (HYM.:
TRICHOGRAMMATIDAE)

ABSTRACT – Oviposition site preference of *Plutella xylostella* (L.) and its parasitism by *Trichogramma pretiosum* Riley on cabbage plants at pre- and post-head formation were investigated in commercial cabbage field. Groups of six plants were randomly caged (1,2x1,0x1,0m). In each cage three pairs of 24h-old *P. xylostella* moths were released at 17.00h followed by release of 1200 *T. pretiosum* females 12h later. After 48h from parasitoid releases, plants were harvested and fully inspected with the oviposition mapped according to the leaf position and their parts (basal, median and border) and upper and bellow leaf surfaces. Moth oviposition and egg parasitism were equally distributed across the plant leaves at pre-head formation stage. At this stage, the basal part and the upper leaf surface were the preferred places for oviposition and egg parasitism, respectively. Cabbage plants at post-head formation stage exhibited greater oviposition and egg parasitism in the inner leaf attached to the head. At this stage, the leaf border and the upper leaf surface were the preferred places for oviposition and egg parasitism, respectively. The rates of parasitism were, on average, 35 and 56% at pre- and post-head formation, respectively, and independent of host density. The infestation of *P. xylostella* on cabbage can be determined by egg counting at pre- and post-head formation stages in the basal part of the leaves or in the border of the leaf attached to the head, respectively. And, in both plant stages parasitized eggs by *T. pretiosum* are more likely to be found in the upper leaf surface.

KEY WORDS: Diamondback moth, biological control, egg parasitoids, field parasitism

Introdução

O cultivo de brássicas, no Brasil e, em especial no Agreste de Pernambuco, é usualmente, realizado por pequenos produtores com plantios escalonados no tempo visando atender a demanda de mercado. Além disso, o cultivo geralmente é simultâneo com diferentes variedades de brássicas como repolho, couve, couve-flor, brocolis e outras brássicas formando um mosaico com disponibilidade abundante de hospedeiro para as pragas. Este sistema de cultivo com múltiplos hospedeiros e disponíveis em todas as épocas do ano favorece a ocorrência de pragas como a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) que é praga-chave das brássicas em todo o mundo (Godin & Boivin 1998). A disponibilidade de hospedeiros freqüente no tempo, aliado a grande capacidade migratória da praga, alto índice de fecundidade, ciclo curto tem acarretado perdas na produção apesar do uso intenso de inseticidas para o seu controle. Isto, ainda, somado ao aparecimento de populações resistentes a inseticidas, tem inviabilizado a produção de brássicas em determinadas regiões (Kwon 2004, Baeka *et al.* 2005).

Para viabilizar o manejo de *P. xylostella* alternativas de controle desde o monitoramento populacional com feromônio sexual, uso de agentes de controle biológico como fungos, predadores e parasitóides, inseticidas botânicos, plantas transgênicas e planta armadilha têm sido investigados (Charleston & Rami 2000, Reddy *et al.* 2004, Schuler *et al.* 2004, Shelton & Nault 2004, Altre & Somvanshi 2006, Charleston *et al.* 2006, Ibrahim & Kim 2006). Dentre esses, o uso de controle biológico com parasitóides tem mostrado potencial de uso, pois em países com intenso cultivo de brássicas já foram identificadas aproximadamente 90 espécies de parasitóides atacando *P. xylostella* entre os quais, o gênero *Trichogramma* spp. se destaca pela frequência de sua constatação e taxas de parasitismo (Godin & Boivin, 1998).

Na América do Sul, somente no Brasil há relatos de *Trichogramma pretiosum* Riley parasitando ovos de *P. xylostella* (Zuchi & Monteiro 1997). Entretanto, alguns fatores podem

interferir na eficiência do parasitóide de ovos *Trichogramma* spp., e devemos considerar o habitat do hospedeiro e a localização do ovo no hospedeiro (Vinson 1997). Pesquisas relacionadas às interações entre a planta hospedeira, o herbívoro e *Trichogramma* spp. tem sido realizadas (Waage 2001, Gingras *et al.* 2003, Hamilton *et al.* 2005, Romeis *et al.* 2005). As características da estrutura da planta como a quantidade de tricomas, cerosidade e forma da superfície das folhas e o tamanho da planta podem fornecer dificuldades ao processo de forragear de *Trichogramma* spp. para encontrar o ovo do hospedeiro, reduzindo assim a taxa de parasitismo (Romeis *et al.* 2005, Olson & Andow 2006). Além disso, estas características da planta podem promover mudanças comportamentais da praga alvo como alteração na escolha do local de oviposição para escapar do ataque de inimigos naturais, ou locais mais tenros que forneçam mais nutrientes para os seus descendentes (Shiojiri & Takabayashi 2003, Reddy *et al.* 2004, Hamilton *et al.* 2005, Badenes-Perez *et al.* 2006) e que pode coincidir com locais na planta apresentando barreira morfológica como a grande intensidade de tricomas que dificulta o parasitismo por *Trichogramma* (Faria *et al.* 2008).

Plantas de repolho *Brassica oleracea* var. capitata, apresentam consideráveis variações em tamanho e arranjo da estrutura da copa ao longo do ciclo, desde folhas pequenas e abertas antes da formação da cabeça a folhas grandes e formação de cabeça. Estas modificações na estrutura da copa da planta pode interferir na preferência do inseto-praga para oviposição e, conseqüentemente, afetar a eficiência de parasitóides (Gingras *et al.* 2003). Este fato é de grande importância para parasitóides do gênero *Trichogramma* spp., pois estes têm tamanho reduzido (1mm), além de apresentarem comportamento da fase final de localização do hospedeiro por caminhamento e vôos curtos na superfície das plantas onde os ovos do hospedeiro se encontravam (Romeis *et al.* 2005). Deste modo, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito de duas idades

de plantas de repolho no padrão de oviposição de *P. xylostella* e no parasitismo de seus ovos por *T. pretiosum*.

Material e Métodos

Criação do hospedeiro. O hospedeiro alternativo, *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep.: Pyralidae), foi criado adotando a dieta proposta por Torres *et al.* (1995) utilizando farinha de trigo integral (60%) e fubá de milho (37%) e levedura de cerveja (3%).

Ovos e adultos da traça-das-crucíferas, *P. xylostella*, empregados nos experimentos foram provenientes da criação mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A criação da *P. xylostella* foi realizada em folhas de couve de produção orgânica, conforme metodologia de Barros & Vendramim (1999).

Criação de *T. pretiosum*. Parasitóides utilizados nos estudos foram obtidos da criação mantida no Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade da UFRPE empregando ovos do hospedeiro alternativo *A. kuehniella*. A colônia foi iniciada com a população de *T. pretiosum* coletada em cultivos de hortaliças no município de Chã-Grande, PE (8° 14' 24''S, 35° 27' 04''W e a 450m de altitude). A confirmação da espécie *T. pretiosum* foi realizada pela especialista em identificação de Trichogrammatidae Dr^a Ranyse Barbosa Querino da Silva (Embrapa Roraima, Boa Vista, RR).

Para a manutenção de *T. pretiosum* foi adotada a técnica desenvolvida por Parra (1997) adaptada às condições do Laboratório de Biologia da UFRPE, onde foram oferecidos ovos de *A. kuehniella* colados em retângulos de cartolina azul, com goma arábica. Os ovos do hospedeiro foram previamente inviabilizados com lâmpada germicida. As cartelas com os ovos do hospedeiro alternativo foram inseridas em recipientes de vidro, contendo adultos de *T. pretiosum*, idade 0-6h,

permitindo o parasitismo por 24h. As cartelas com os ovos parasitados foram armazenadas em sala climatizada com temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 70-80% de U.R. e fotofase de 12h.

Oviposição de *Plutella* e parasitismo por *Trichogramma* a campo. O experimento foi instalado em cultivo comercial de repolho, *B. oleracea* var. capitata (Midori), localizado no município de Gravatá, Agreste de Pernambuco ($8^{\circ}12'34''\text{S}$, $35^{\circ}34'10''\text{W}$ e 500m altitude). Plantas de repolho de tamanho uniforme foram selecionadas dentro do cultivo comercial para a condução do experimento. As plantas selecionadas foram então engaioladas na densidade de seis plantas por gaiola. A gaiola consistia de armação retangular de vergalhão (1,2x1x1m) e coberta com tecido organza no momento de liberação da praga. Fêmeas de *P. xylostella* com 24h de idade e no início da atividade de postura foram sexados e liberados em número de três casais por gaiola às 17h. Decorrido 12h da liberação de *P. xylostella* (i.e., na manhã do dia seguinte), foi liberado uma estimativa de 1200 fêmeas de *T. pretiosum* por gaiola, objetivando uma proporção de 200 fêmeas do parasitóide com 24h de idade e alimentado com mel por planta de repolho. Pré-testes foram realizados para determinar este número de fêmeas de *T. pretiosum* por planta para atingir níveis de parasitismo capaz de serem submetidos análises. Após 48h da liberação do parasitóide, as plantas de repolho foram colhidas e levadas ao laboratório para avaliar o local de oviposição de *P. xylostella* e, posteriormente, a confirmação do parasitismo por *T. pretiosum*. As folhas das plantas de repolho foram enumeradas e separadas da base para o ápice (Fig. 1A), sendo estas divididas em partes denominadas basal, mediana e borda (Fig. 1B), além da epiderme superior e inferior. O local da folha que apresentava ovos de *P. xylostella* foi identificado e removido com auxílio de estilete e, posteriormente, acondicionados em placas de Petri para confirmação do parasitismo. O parasitismo do ovo foi determinado pelo escurecimento do mesmo quando parasitado por *Trichogramma* spp., o que foi feito no sexto dia da liberação do parasitóide. A temperatura no interior das gaiolas durante a realização do experimento foi nas plantas com 30 e 60 dias, $23,7 \pm$

3,28 °C e $25,0 \pm 4,3$ °C, respectivamente, determinadas com auxílio do aparelho WatchDog datalogger (Spectrum™ Technologies, Inc., Plainfield, IL).

Os experimentos foram realizados com plantas de repolho nas idades fenológicas antes e após formação de cabeça correspondente a 30 e 60 dias após o transplante. Foi estabelecido 20 e 28 repetições (gaiolas com seis plantas cada) para as idades antes e após formação da cabeça, respectivamente, com um total de 120 e 168 plantas analisadas. Os dados referentes à distribuição da postura de *P. xylostella* e o número de ovos parasitados por *T. pretiosum* em função das partes (folhas, superfície da folha e cabeça) nas respectivas idades das plantas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott através do programa estatístico SAEG Versão 7.0 (SAEG 1997). A relação entre parasitismo e a densidade de hospedeiro foi determinada através de regressão entre o número de ovos parasitados e proporção de ovos parasitados por *T. pretiosum* em função da densidade de ovos de *P. xylostella* em plantas de repolho com 30 e 60 dias após transplante, respectivamente.

Resultados

Um total de 154 e 805 ovos de *P. xylostella* foi contabilizado para os estágios de desenvolvimento antes e após formação da cabeça, respectivamente, e mapeados de acordo com as estruturas das plantas. O comportamento de deposição desses ovos por *P. xylostella* bem como o parasitismo observado por *T. pretiosum* foi influenciado de acordo com o estágio de desenvolvimento da planta antes após formação de cabeça (Figs. 2 e 3). Plantas de repolho com cabeça formada (i.e., 60 dias após o transplante) apresentaram resposta significativa com maior oviposição de *P. xylostella* e parasitismo por *T. pretiosum*, na folha central que envolve a cabeça, borda e epiderme superior quando comparado com plantas antes da formação da cabeça (i.e., 30 dias após o transplante). Plantas de repolho antes da formação da cabeça apresentavam-se com 12

folhas e haste principal definida sem indícios de formação de cabeça. Nesta idade fenológica das plantas, adultos de *P. xylostella* mostraram preferência para ovipositar na parte basal das folhas, mas não demonstraram diferenças na oviposição entre a 1ª e a 12ª folha, bem como entre as epidermes superior e inferior (Fig. 2A). Da mesma forma comportou-se o parasitismo de ovos por *T. pretiosum* apresentando similar taxa de parasitismo entre folhas e partes das folhas, com exceção do maior parasitismo observado na epiderme superior das folhas (Fig. 2B).

Plantas de repolho após formação da cabeça (i.e., 60 dias após o transplante) apresentavam-se com 1 a 12 folhas abertas e cabeça formada, pronta para a colheita. Entre as estruturas da planta, adultos de *P. xylostella* preferiram depositar ovos na folha mais interna envolvendo a cabeça, na borda desta folha e, nesta folha, na sua epiderme superior (Figs. 3A-C). Também, a taxa de parasitismo de ovos por *T. pretiosum* mostrou-se associado a oviposição de *P. xylostella*, sendo superior na folha envolvendo a cabeça (76%), borda da folha (71%) e epiderme superior desta folha (60%) (Figs. 3A-C).

O número de ovos parasitados de *P. xylostella* por *T. pretiosum*, em plantas confinadas em gaiolas no campo, foi relacionado à densidade de ovos (Figs. 4A e 4C). Em ambas as idades fenológicas das plantas houve uma correlação significativa entre o número de ovos de *P. xylostella* parasitados por *T. pretiosum* em função do número de ovos disponíveis encontrados nas seis plantas (cada gaiola). Em plantas antes da formação da cabeça foram recuperados de 1 a 28 ovos por seis plantas e observado de 0 a 100% de ovos parasitados; enquanto em plantas após a formação da cabeça foi encontrado de 2 a 99 ovos por seis plantas e 0 a 83% de ovos parasitados. Entretanto, a resposta de *T. pretiosum* foi independente da densidade de ovos por seis plantas, pois a proporção de ovos parasitados em função da densidade de ovos foi constante ao aumentar a disponibilidade de ovos em ambas as idades fenológicas de plantas estudadas (Figs. 4B e D). As proporções de ovos parasitados (média \pm EP) em plantas antes e após a formação da cabeça foram

de $0,35 \pm 0,07$ e $0,56 \pm 0,04$, respectivamente. Estes índices de parasitismo diferiram entre as idades de plantas sendo superior em plantas após formação da cabeça ($F_{1,46} = 8,20$; $P = 0,0063$).

Discussão

O conhecimento do padrão de oviposição da praga alvo é muito importante para levantamentos populacionais bem como, para a constatação do parasitismo natural e análise de eficiência de liberações de parasitóides. O parasitismo relacionado a locais de postura da praga é um importante indício para o sucesso no controle biológico aplicado com *Trichogramma* spp. (Pratissoli *et al.* 2003). O padrão de oviposição de insetos-praga pode variar com as idades fenológicas das plantas, como posturas em locais estratégicos para alimentação dos seus descendentes e promover o escape de fatores adversos como o parasitismo. Neste estudo ficou evidenciado que *P. xylostella* prefere ovipositar em folhas mais jovens das plantas de repolho. Estudos de Badenes-Perez *et al.* (2006) corroboram com os resultados da presente pesquisa, pois ao estudar a dinâmica de oviposição de *P. xylostella*, constatou 3,7 vezes mais posturas em folhas jovens do que em folhas mais velhas da planta. E, este comportamento pode ser repetido pela mariposa mesmo já havendo larvas colonizando essas folhas. Shiojiri & Takabayashi (2003) ao analisar o parasitismo de *P. xylostella* pelo parasitóide de larva, *Cotesia plutellae* Kurdjumov (Hym.: Braconidae), observaram que a praga prefere colocar os ovos em folhas com algum indício prévio de seu próprio ataque. Segundo este autor, este comportamento promove uma diluição do parasitismo das larvas, pois independente da disponibilidade de 10 ou 30 larvas por planta, *C. plutellae* parasitou dessas larvas apenas 1,4 e 1,1 larvas, respectivamente.

A variação no sítio de oviposição de *P. xylostella* em plantas de repolho de acordo com a idade da planta traz conseqüências para o seu controle. A alocação da descendência em maior profundidade na copa das plantas (parte basal das folhas) além de escapar relativamente do

parasitismo por *T. pretiosum* como verificado neste estudo, larvas oriundas desses ovos também podem ser protegidas de outros fatores de mortalidade, especialmente, insolação e contato com inseticidas. Como a larva apresenta comportamento de minar as folhas no primeiro instar, o efeito de escape torna-se, ainda, mais pronunciado. Estudos suportam tais hipóteses, pois o tamanho e a complexidade da planta podem exercer influência em insetos-praga, bem como afetar o desempenho dos inimigos naturais, resultando em menores taxas de parasitismo (Gingras & Boivin 2002, Gingras *et al.* 2003, Reddy *et al.* 2004, Hamilton *et al.* 2005, Romeis *et al.* 2005). Entretanto, em plantas após a formação da cabeça, *P. xylostella* é direcionada a ovipositar em locais mais expostos que correspondem ao fácil acesso para as mariposas em comparação as plantas de repolho antes da formação da cabeça que são menores em área foliar e apresentam maior espaço entre as folhas. Assim, facilita o acesso dos adultos à base das folhas, o que acarretou em maior oviposição nesta parte da folha, quando comparado com plantas após formação da cabeça. Com relação a plantas de repolho com cabeça formada, os adultos de *P. xylostella* concentraram a sua oviposição em partes mais jovens das plantas, como as folhas mais próximas do centro e região da cabeça como sugerido pelos resultados de Badenes-Perez *et al.* (2006) e, conseqüentemente, mais expostas resultando em maior taxa de parasitismo nesta idade da planta, bem como na folha e sua superfície superior (Figs. 2A-C e 4A-D).

O número de ovos parasitados por *T. pretiosum* foi relacionado com a densidade de ovos, bem como com o local de oviposição de *P. xylostella*, sendo superior nos locais de maior número de ovos depositados pela praga como na folha da cabeça (Fig. 2A). Em plantas antes da formação da cabeça onde houve distribuição homogênea dos ovos entre as folhas das plantas, também, não houve diferença no parasitismo. Este comportamento de parasitismo associado a locais de maior densidade do hospedeiro indica que *T. pretiosum* é retido em locais de maior disponibilidade de hospedeiros. No entanto, apesar do maior número de ovos na base das folhas de repolho (Fig.

2A), entre as regiões da folha (base, mediana e borda) antes da formação da cabeça, o parasitismo não concentrou neste local e foi maior na superfície superior da folha que é mais acessível e de maior luminosidade incidente, indicando que em locais de maior profundidade na copa da planta permite de certa forma algum escape de parasitismo por *Trichogramma* spp.

A taxa de parasitismo encontrado mostra que *T. pretiosum* respondeu independente da densidade de ovos do *P. xylostella*, pois embora havendo aumento na disponibilidade de ovos no ambiente, a taxa de parasitismo foi constante (Figs. 4A e C), caracterizando de certa forma uma resposta funcional tipo I (Holling 1959). Este comportamento de parasitismo de ovos por *Trichogramma*, em campo, também tem sido encontrado em outras espécies de *Trichogramma* e agroecossistemas (Wang *et al.* 1997, Suh *et al.* 2000, Hoffman *et al.* 2002, Faria *et al.* 2008). Uma das razões para tal resposta é a complexidade do ambiente, oriunda das interações entre a planta hospedeira e o comportamento de oviposição da praga, como observado neste estudo, impedindo que o parasitóide passe a localizar mais ovos e, conseqüentemente, expressar toda a sua capacidade reprodutiva.

Com base nos resultados, podemos afirmar que houve efeito da estrutura das plantas de repolho nas idades antes e após formação da cabeça e da quantidade de ovos no parasitismo por *T. pretiosum*. As altas densidades de ovos de *P. xylostella* em determinados locais da planta como na cabeça, podem ter facilitado a sua localização por *T. pretiosum* possivelmente devido a cairomônios do hospedeiro presente no local de oviposição (Vinson 1997, Wang *et al.* 1997, Gingras & Boivin 2002) e, posteriormente, sua retenção nesse local. Assim, podemos explicar o maior parasitismo (56%) em plantas com idade após formação da cabeça, pois também houve maior disponibilidade de ovos em comparação a plantas antes da formação da cabeça. Também, estruturas mais simples de plantas favorecem o parasitismo por *Trichogramma* spp. como a região da borda e a epiderme superior da folha envolvendo a cabeça de repolho que ficam mais expostos

em comparação à base das que tiveram maior oviposição em plantas antes da formação da cabeça. Entre diferentes plantas de brássicas (repolho, brócolis e couve-de-Bruxelas), Gingras *et al.* (2003) encontraram maior parasitismo de ovos de *P. xylostella* por *T. pretiosum* em repolho e concluíram por ter esta planta menor complexidade da copa e arranjo das folhas quando comparado a brócolis e couve-de-bruxelas.

Os resultados encontrados desta pesquisa indicam os locais na planta e parte da folha onde se deve buscar a estimativa do número de ovos de *P. xylostella* por planta e que resultados poderão ser esperados com liberações de *T. pretiosum* em plantas de repolho antes e após a formação da cabeça. Índices de parasitismo que podem ser considerados relativamente altos para agentes de controle biológico (35 e 56%), mas não o suficiente para a supressão da praga em questão. Ainda, é importante ressaltar que estes índices de parasitismo não serão aumentados simplesmente elevando o número de parasitóides acima de 200 fêmeas a serem liberados por planta, mas com outros conhecimentos da relação planta, *P. xylostella* e *T. pretiosum* e capacidade de busca do parasitóide no ambiente a ser liberado.

Agradecimentos

A Ranyse Barbosa Querino da Silva (Embrapa Roraima) pela identificação de *Trichogramma pretiosum* e a Leandro Bacci (UFV) pelo auxílio na aplicação do teste de Scott-Knott. A CAPES pela bolsa de estudos ao primeiro autor e ao Programa PROCAD CAPES no. 83054. As Doutoradas Ângela Maria Isidro de Farias e Elizabeth Araújo de Albuquerque Maranhão pela contribuição nas melhorias do trabalho.

Literatura Citada

- Altre, J.A., & J.D. Vandenberg. 2001.** Factors influencing the infectivity of isolates of *Paecilomyces fumosoroseus* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. J Invertebr. Pathol. 78: 31-36.
- Badenes-Perez F.R., B.A. Nault & A.M. Shelton. 2006.** Dynamics of diamondback moth oviposition in the presence of a highly preferred non-suitable host. Entomol. Exp. Appl. 120: 23-31.
- Baeka, J.H., J.I. Kima, D.W. Leea, B.K. Chungb, T. Miyatac & S.H. Leea. 2005.** Identification and characterization of ace1-type acetylcholinesterase likely associated with organophosphate resistance in *Plutella xylostella*. Pestic. Biochem. Physiol. 81: 164 -175.
- Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizados para criação de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Pluellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). An. Soc. Entomol. Bras. 28: 469-476.
- Charleston, D. S. & Rami K. 2000.** The possibility of using Indian mustard, *Brassica juncea*, as a trap crop for the diamondback moth, *Plutella xylostella*, in South Africa. Crop Prot. 19: 455-460.
- Charleston, D. S., Rami, K.W., M. Dicke & L.E.M. Vet. 2006.** Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies. Biol. Control 39: 105-114.
- Faria, C.A., J.B. Torres, A.M.V. Fernandes & A.M.I. Farias. 2008.** Parasitism of *Tuta absoluta* (Meyrick) in tomato plants by *Trichogramma pretiosum* Riley in response to host density and plant structures. Rev. Cen. Ciên. Rural 38: (em impressão)
- Gingras D., P. Dutilleul, & G. Boivin. 2003.** Effect of plant structure on host finding capacity of lepidopterous pests of crucifers by two *Trichogramma* parasitoids. Biol. Control 27: 25-31.

- Gingras, D., & G. Boivin. 2002.** Effect of plant structure, host density and foraging duration on host finding by *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environ. Entomol.* 31: 1153-1157.
- Godin, C. & G. Boivin. 1998.** Lepidopterous pests of *Brassica* crops and their parasitoids in southwestern Quebec. *Environ. Entomol.* 27: 1157-1165.
- Hamilton A.J., N.M. Endersby, P.M. Ridland, J.Z. & M. Neal. 2005.** Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. *Aust. J. Entomol.* 44: 284-287.
- Hoffmann, M.P., M.G. Wright, A.P. Sylvie & J. Gardner. 2002.** Inoculative releases of *Trichogramma ostrinae* for suppression of *Ostrinia nubilalis* (European corn borer) in sweet corn: field biology and population dynamics. *Biol. Control* 25: 249-258.
- Holling, C.S. 1959.** Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Can. Entomol.* 91: 385-398.
- Ibrahim, A.M.A. & Y. Kim. 2006.** Parasitism by *Cotesia plutellae* alters the hemocyte population and immunological function of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Insect Physiol.* 52: 943-950.
- Kwon, D.H., B.R. Choi, H.M. Park, S.H. Lee, T. Miyata, J.M. Clark, & S.H. Lee. 2004.** Knockdown resistance allele frequency in field populations of *Plutella xylostella* in Korea. *Pestic. Biochem. Physiol.* 80: 21-30.
- Olson, D.M. & D.A. Andow. 2006.** Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on various surfaces. *Biol. Control* 39: 329-335.

- 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 biológico Aplicado*. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Pratissoli, D., J.R.P. Parra, O.A. Fernandes, R.C. Oliveira, H.B. Zago & F.F. Pereira. 2003.** Patron de ovoposicion de la polilla del tomate, *Tuta absoluta*, en tomates bajo diferentes densidades de poblaciones adultas en invernadero. *Rev. Agric. Chile* 19: 11-15.
- Reddy, G.V.P., E. Tabone & M.T. Smith. 2004.** Mediation of host selection and oviposition behavior in the diamondback moth *Plutella xylostella* and its predator *Chrysoperla carnea* by chemical cues from cole crops. *Biol. Control* 29: 270-277.
- Romeis, J., D. Babendreier, F.L. Wäckers & T.G. Shanower. 2005.** Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids-underlying mechanisms and implications. *Basic Appl. Ecol.* 6: 215-236.
- Schuler, T.H., I. Denholm, S.J. Clark, C.N. Stewart & G.M. Poppy. 2004.** Effects of Bt plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and Bt-resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Insect Physiol.* 50: 435-443.
- Shelton, A.M. & B.A. Nault. 2004.** Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* 23: 497-503.
- Shiojiri, K. & J. Takabayashi. 2003.** Effects of specialist parasitoids on oviposition preference of phytophagous insects: encounter–dilution effects in a tritrophic interaction. *Ecol. Entomol.* 28: 573-578.
- Suh, C.P.C., D.B. Orr & J.W. van Duyn. 2000.** *Trichogramma* releases in North Carolina cotton: why releases fail to suppress Heliothine pests. *J. Econ. Entomol.* 93: 1137-1145.

- Torres, J.B., F.S. Freitas & D. Pratissoli. 1995.** Avaliação de diferentes porcentagens da mistura de farinha de milho com farinha de trigo integral e levedura-de-cerveja na criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). Rev. Ciên. Prática 19: 365-368.
- SAEG. 1997.** SAEG - Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas. Manual do usuário, versão 7.1. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 150p.
- Vinson, S.B. 1997.** Comportamento de seleção hospedeira de parasitóides de ovos, com ênfase na família Trichogrammatidae, p. 67-119. In J.R.P Parra & R.A Zucchi (eds.), *Trichogramma* e o controle biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 324p.
- Waage, J.K. 2001.** Indirect ecological effects in biological control: the challenge and the opportunity, p. 1-12. In E. Wajnberg, J.K. Scott & P.C. Quimby (eds.), Evaluating indirect ecological effects of biological control. Wallingford, CABI publishing, 261p.
- Wang, B., D.N. Ferro & D.W. Hosmer. 1997.** Importance of plant size, distribution of egg masses, and weather conditions on egg parasitism of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* by *Trichogramma ostrinae* in sweet corn. Entomol. Exp. Appl. 83: 337-345.
- Zucchi, R.A. & R.C. Monteiro. 1997.** O gênero *Trichogramma* na América do Sul, 41-66. In J.R.P. Parra, P.S.M. Botelho, B.S.C. Ferreira & J.M.S. Bento (eds). Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores. São Paulo, Manole, 635p.

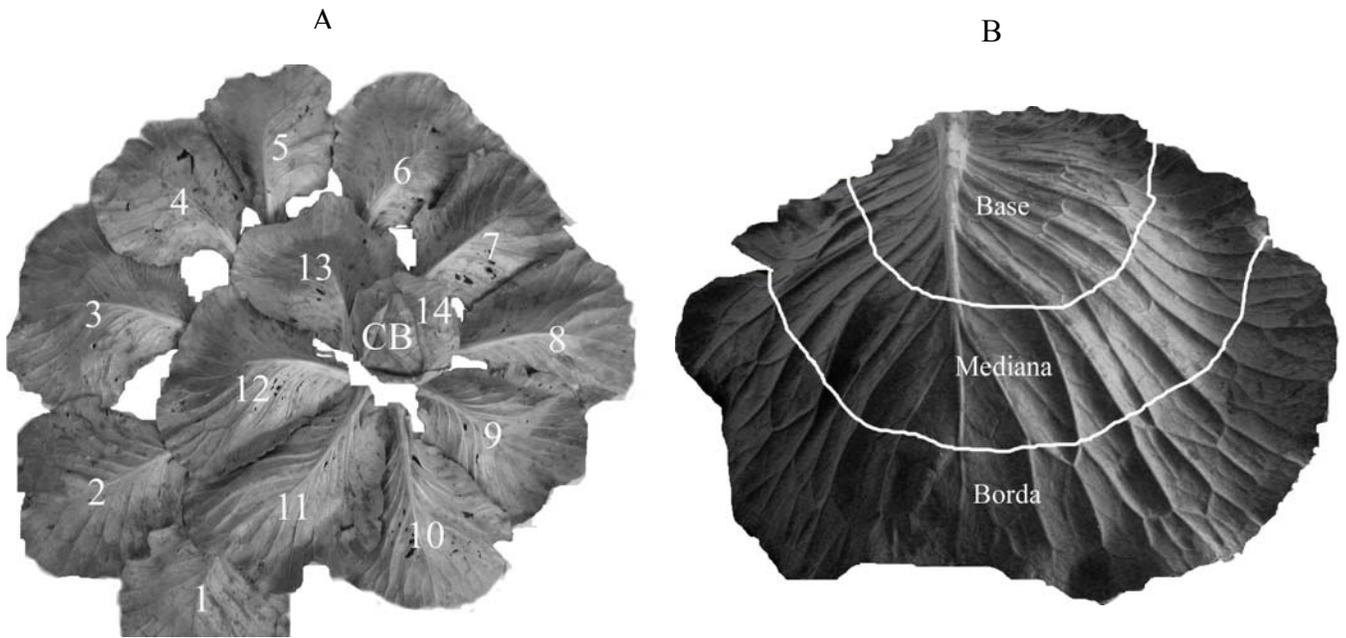


Figura 1. A - Distribuição das folhas entre a base (1) e a cabeça (CB) da planta de repolho e; B - regiões da folha (B) de Repolho, *B. oleracea* variedade capitata (Midori).

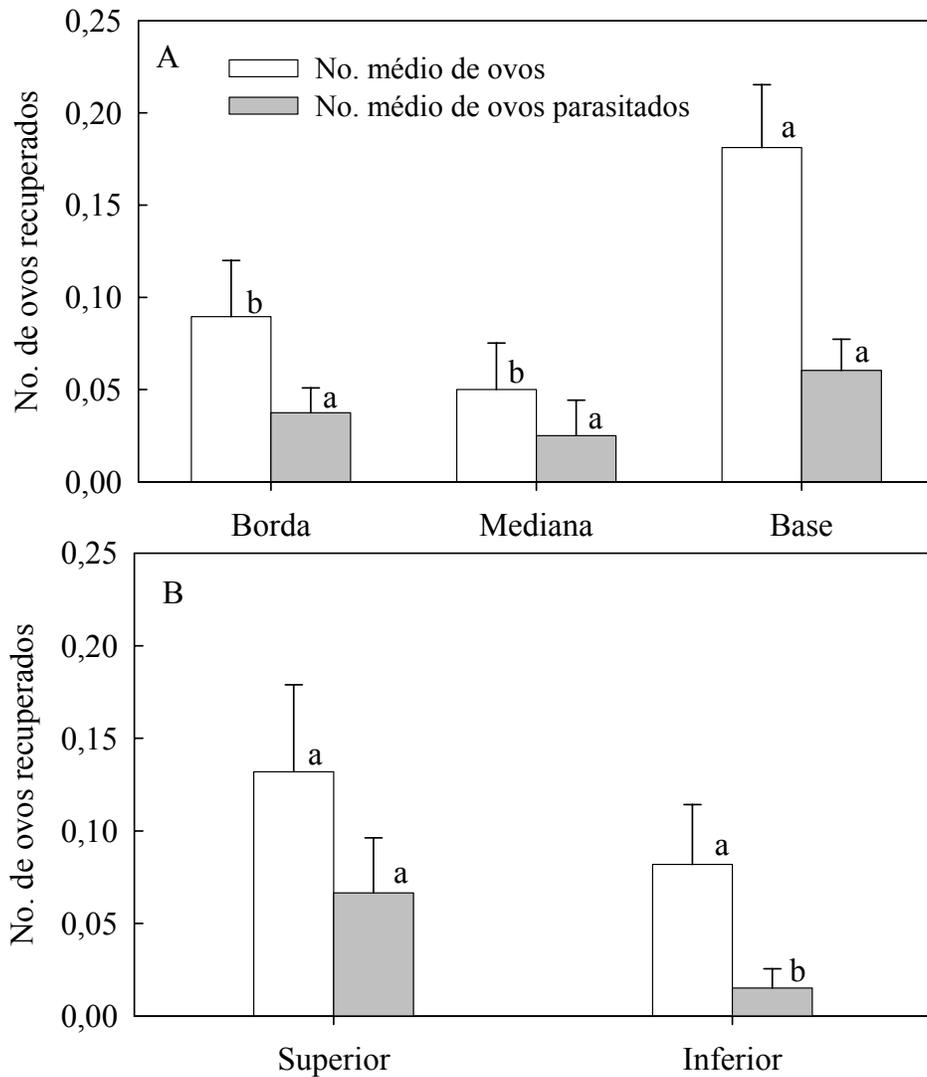


Figura 2. A - número de ovos de *P. xylostella* e número de ovos parasitados por *T. pretiosum* nas respectivas partes das folhas de repolho, *B. oleracea* var. *capitata* (Midori) com 30 dias após o transplante e; B - epiderme das folhas de plantas. As médias (+EP) seguidas de mesma letra na categoria, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

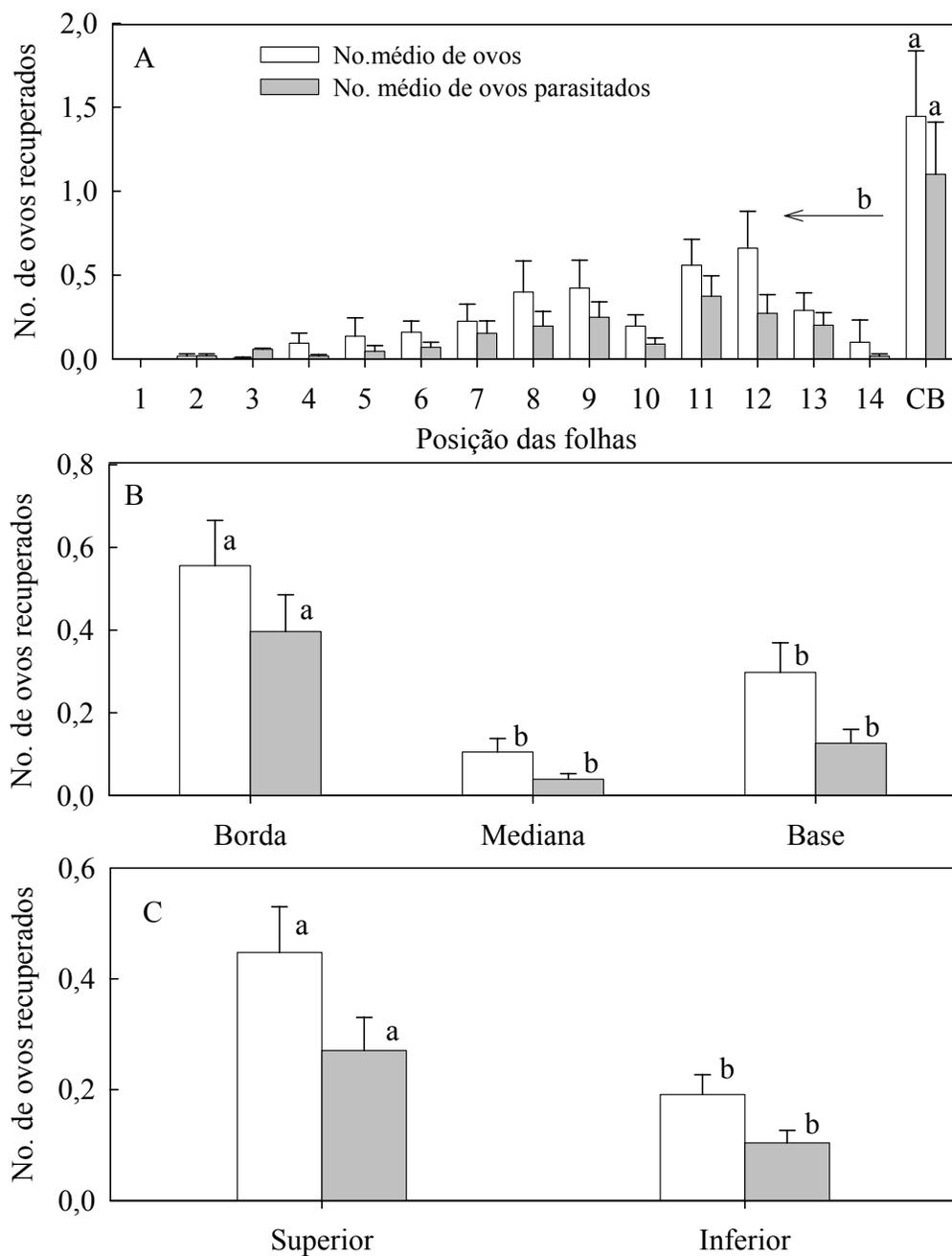


Figura 3. A - número médio de ovos de *P. xylostella* e ovos parasitados por *T. pretiosum* por folha e cabeça (CB) de plantas de repolho, *B. oleracea* var. capitata (Midori) com 60 dias após o transplante; B - partes da folha e; C - epiderme da folha. As médias (+EP) seguidas de mesma letra na categoria, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Seta em A, indica que todos os demais resultados das folhas diferiram da cabeça (CB).

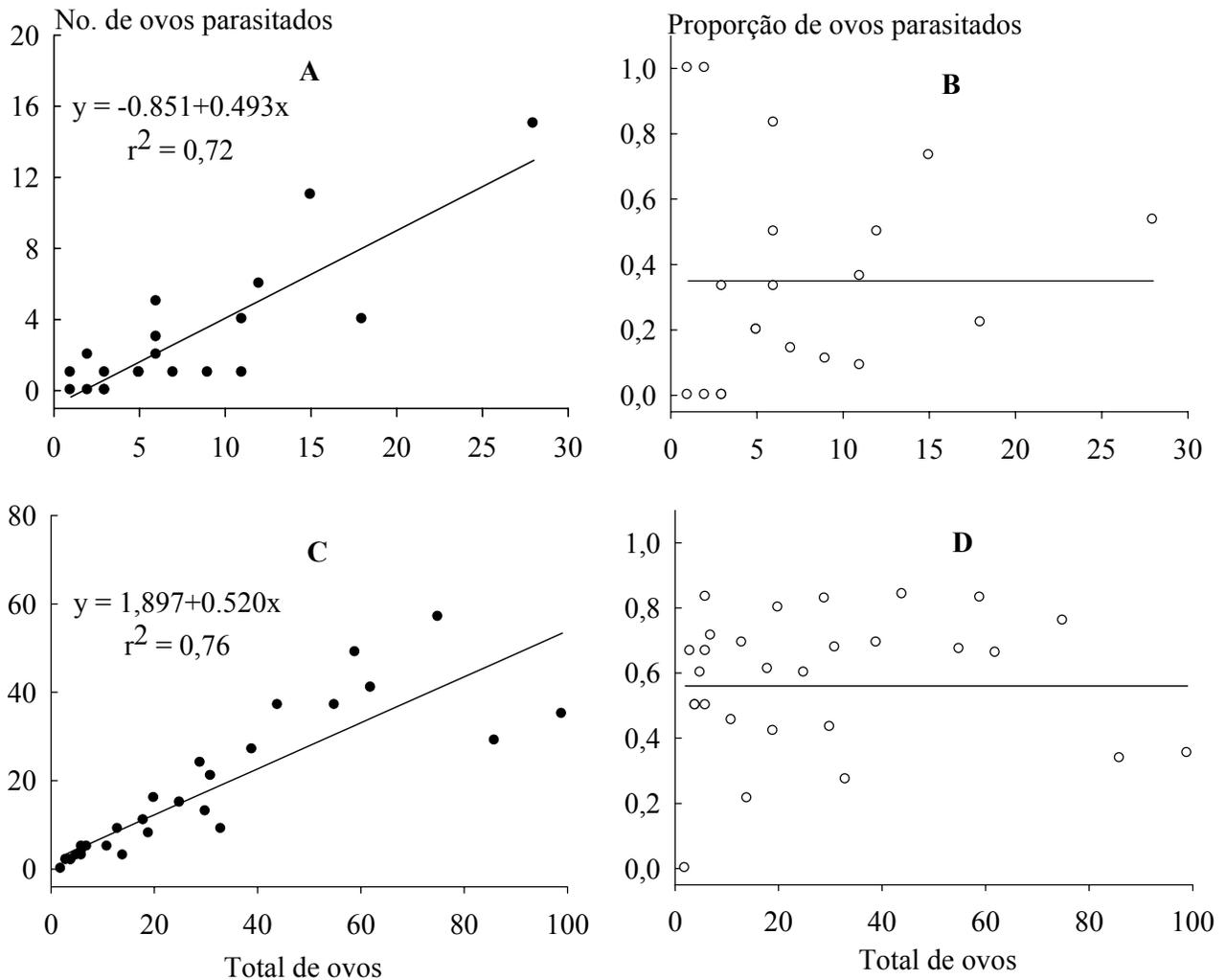


Figura 4. Número de ovos de *P. xylostella* parasitados por *T. pretiosum* em função do número de ovos recuperados por seis plantas (repetição) de repolho, *B. oleracea* var. capitata e proporção de ovos parasitados antes da formação da cabeça (A e B) e; após a formação da cabeça (C e D), respectivamente. Nota: valores dos eixos “x” e “y” diferem em função dos resultados e; a linhas em B e D correspondem às médias das proporções de ovos parasitados.

CAPÍTULO 4

SUCEPTIBILIDADE DA TRAÇA-DAS-CRUCÍFERAS, *Plutella xylostella* (L) (LEP.: PLUTELLIDAE), A INSETICIDAS A BASE DE *Bacillus thuringiensis* BERLINER

HUGO B. ZAGO¹, HERBERT A. A. SIQUEIRA¹, ELISEU J.G. PEREIRA², RAUL N.C.GUEDES² E

REGINALDO BARROS¹

¹DEPA-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Dom Manuel de Medeiros
s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

²Laboratório de Ecotoxicologia/Departamento Biologia Animal, Univ. Federal de Viçosa, Viçosa,
MG.

¹Zago, H.B., H.A.A. Siqueira, E.J.G. Pereira, R.N.C. Guedes & R. Barros. Suceptibilidade da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*(L) (Lep.: Plutellidae), a inseticidas a Base de *Bacillus thuringiensis*. A ser submetido.

RESUMO - A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) é a mais importante praga das brássicas em todo o mundo. Populações da traça-das-crucíferas têm apresentado resistência a inseticidas sintético usados em seu controle, incluindo formulados com *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), mas registros de resistência para populações no Brasil são escassos. Diversas variedades de brássicas são cultivadas no Brasil e largamente pulverizadas com Bt. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a susceptibilidade de populações de *P. xylostella*, às formulações comerciais de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®] WP) (Btk) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari[®] WG) (Bta), sua magnitude e comportamento. Populações de *P. xylostella* provenientes de diferentes regiões do Brasil foram estudadas. Os estudos focalizaram a susceptibilidade larval a ingestão de folha tratada, comportamento de caminhamento das larvas e a preferência de oviposição das fêmeas em superfícies tratadas e não tratadas. Os resultados indicaram níveis significativos de resistência da traça-das-crucíferas ao *B. thuringiensis*. A razão de resistência foi de 180 a 999 vezes para o Btk e o Bta, respectivamente. Na maioria das populações estudadas não foram observadas diferenças no comportamento de caminhamento das larvas em superfície tratada e não tratada, mas as fêmeas de todas as populações nestas condições colocaram menos ovos em folhas tratadas. Os resultados indicam que populações de *P. xylostella* estão apresentando resistência ao Bt. Os dados encontrados nesta pesquisa são apresentados e discutidos relativos à suas implicações para o controle da traça-das-crucíferas.

PALAVRAS-CHAVE: Resistência, inseticidas microbianos, repelência, falhas de controle

RESISTANCE OF DIAMONDBACK MOTH, *Plutella xylostella* (L) (LEP.:
PLUTELLIDAE), TO FORMULATIONS OF *Bacillus thuringiensis* BERLINER
INSECTICIDES

ABSTRACT – The diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* (L.) is the most important pest of *Brassica* worldwide. Populations of DBM resistant to synthetic insecticides used to their control have been reported including those formulated with *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), but information about DBM populations in Brazil are scarce. Several varieties of brassica are cultivated in Brazil and largely treated with Bt formulations against DBM. Thus, this work investigated the susceptibility of DBM populations relative to the commercial formulations of *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®] WP) (Btk) and *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari[®] WG) (Bta) regarding the resistance, magnitude and behavior. Ten different populations of DBM originated from different locations in Brazil were tested. The studies were conducted focused on larval susceptibility through ingestion of treated leaf surface, and the walking behavior of larvae and female oviposition preference to treated and untreated leaf surfaces. The results indicated significant levels of resistance for DBM to Bt. The resistance ratio was 180 and 999 times to Btk and Bta, respectively. In most populations studied no difference on larval walking behavior comparing treated and untreated surfaces was observed, but females from almost all populations exhibited significant avoidance to the treated surface to lay their eggs. The results indicated that the broad use of Bt have been inducing resistance selection in DBM. Furthermore, these results are presented and discussed regarding their implications for DBM control.

KEY WORDS: Resistance, microbial insecticide, repellence, control failure

Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) promove consideráveis perdas aos cultivos de brássicas, sendo considerada a mais importante praga desta cultura em todo o mundo (Godin & Boivin 1998, Castelo Branco 1999). Entre os vários fatores que contribuem para a ocorrência de *P. xylostella* em níveis elevados, há o plantio escalonado e simultâneo de várias crucíferas, características biológicas inerentes à praga, como o ciclo biológico curto, grande capacidade migratória e alto potencial biótico (Barros & Vendramim 1999), e o uso indiscriminado de inseticidas para seu controle (Castelo Branco 1999).

O controle de *P. xylostella* é caracterizado pela aplicação intensa de inseticidas, podendo ocorrer várias aplicações em uma única estação produtiva. O excesso de aplicações tem contribuído para a intoxicação dos agricultores (Araujo *et al.* 2000), produtos agrícolas com altos índices de resíduos químicos, poluição do meio ambiente e seleção de populações resistentes de *P. xylostella* (Kumaraswamia 2001, Dias *et al.* 2004, Kwon 2004, Baeka *et al.* 2005).

Dentre as alternativas de manejo, o uso de inseticidas microbianos a base de *B. thuringiensis* tem sido uma alternativa promissora utilizada a mais de 50 anos, principalmente para controle de lepidópteros-praga em diversas culturas de importância agrícola, incluindo *P. xylostella* em brássicas (Ferré *et al.* 1991, Tabashnik *et al.* 1994a, Cabrera *et al.* 2001, Medeiros *et al.* 2006, Heckel *et al.* 2007). O *B. thuringiensis* é uma bactéria gram-positiva que produz cristais protéicos durante a esporulação, que ao serem ingeridos por insetos susceptíveis são solubilizados no intestino médio (mesêntero), liberando as proteínas chamadas δ -endotoxinas. Estas proteínas são ativadas por proteinases do mesêntero, atravessam a membrana peritrófica e interagem com receptores específicos situados no epitélio do intestino médio, causando formação de poros iônicos na membrana das células epiteliais e desintegração dessas células. As larvas intoxicadas cessam a

alimentação 2-3 h após a ingestão das toxinas e por fim morrem por falta de absorção de nutrientes ou septicemia causada por bactérias da flora intestinal do inseto (Gill *et al.* 1992).

Os níveis de toxicidade de *B. thuringiensis* varia de acordo gene que codifica a proteína da estrutura primária das δ endotoxinas. Essas toxinas são codificadas e agrupadas de acordo com a ação biológica, havendo toxinas ativas resultando na atividade para larvas de lepidópteros (Cry1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 1F, 1L, 1J, 2A, 9A, 9B, 15A), larvas de coleópteros (Cry1B, 1L, 3A, 3B, 3C, 7A, 8A, 8B, 8C, 14A), larvas de dípteros (Cry4A, 4B, 10A, 11A, 2A) e nematóides (Cry5A, 6A, 6B, 12A, 13A) (Crickmore *et al.* 2007). Vale ressaltar, que diferentes isolados de *B. thuringiensis* podem produzir dezenas de diferentes tipos de δ -endotoxinas, resultando em raças e subespécies de *B. thuringiensis* (Tabashnik 1994) e mais de 295 genes codificando toxinas (Crickmore *et al.* 2007).

No entanto, aplicações intensivas de inseticidas formulados a partir das toxinas da família Cry1 de *B. thuringiensis* para controle de *P. xylostella* têm exercido fortes efeitos de pressão de seleção, resultando no aparecimento de populações resistentes em diversos locais do mundo (Ferré *et al.* 1991, Sayyed & Wright 2001, Heckel *et al.* 2007), além de casos de resistência cruzada entre raças e toxinas de *B. thuringiensis* como entre Cry1A e Cry1F (Tabashnik *et al.* 1994b). Estudos sobre resistência são importantes para adotar estratégias adequadas de manejo, evitando possíveis surtos de *P. xylostella* devido à resistência a inseticidas (Tabashnik 1994, Tabashnik *et al.* 1994b). Levantamentos de resistência a determinados grupos de inseticidas podem auxiliar não somente na escolha de produtos eficientes no controle de populações de insetos-praga (Cabrera *et al.* 2001), mas também auxiliar nas estratégias a serem adotadas para minimizar perdas nas lavouras por falhas no controle.

Desse modo, este trabalho teve como objetivo estudar a susceptibilidade de populações de *P. xylostella* às formulações comerciais de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel[®] WP) (Btk) e *B.*

thuringiensis var. *aizawai* (Xentari[®] WP) (Bta) bem, como avaliar o comportamento de caminhamento das larvas e de oviposição das fêmeas em superfícies tratadas com os inseticidas.

Material e Métodos

Obtenção e criação das populações de *P. xylostella*. Foram utilizadas 10 populações de *P. xylostella* coletadas em cinco estados brasileiros das regiões nordeste, sudeste e sul: Pernambuco (Garanhuns e Recife), Bahia (Vitória da Conquista), Espírito Santo (Alegre, Vargem Alta e Domingos Martins), Minas Gerais (Viçosa e São João Del Rei), São Paulo (Jaboticabal), e Paraná (Ponta Grossa). As populações foram multiplicadas no Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, a partir dos insetos coletados em cultivos de brássicas nestas regiões, seguindo procedimentos recomendados por Barros & Vendramim (1999).

Bioensaios detecção de resistência fisiológica. Os ensaios foram conduzidos em câmara climática sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h. O bioensaio foi conduzido em triplicata em duas diferentes datas utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado. A unidade experimental foi composta de uma placa de Petri contendo 10 larvas de *P. xylostella* sobre uma folha de repolho tratada com uma das sete concentrações dos inseticidas ou apenas água destilada (testemunha).

Foram utilizados os inseticidas Dipel[®] WP (*B. thuringiensis kurstaki*, Btk) em suspensão concentrada e Xentari[®] WG (*B. thuringiensis aizawai*, Bta) na formulação de grãos dispersíveis em água (ambos adquiridos da Sumitomo Chemical do Brasil, São Paulo). Para preparar uma solução estoque de Dipel[®] WP e Xentari[®] WG com concentração de 300 mg/L e 400 mg/L respectivamente, pesou-se, em balança de precisão, a massa dos produtos e adicionou a solvente água destilada (500 mL). A partir destas concentrações foram preparadas diluições seriadas,

obtendo-se assim, diferentes concentrações. Testes preliminares foram realizados para se determinar a faixa de resposta, ou seja, o intervalo de concentrações do inseticida que causa mortalidades superiores a zero, mas inferiores a 100%.

Discos de folhas, 8 cm de diâmetro, provenientes de plantas de couve, *Brassica oleracea* var. *acephala*, com 30 dias de idade foram imersos nas soluções por 10 seg. e, em seguida postos para secar a temperatura ambiente por 1h. Após a secagem, os discos foram transferidos individualmente para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo no fundo, disco de papel filtro embebido com água destilada. Por sobre o disco foliar foram colocadas com pincel 10 larvas de segundo ínstar de *P. xylostella*. As placas de Petri contendo as larvas foram armazenadas em uma câmara climatizada por 72h nas condições descritas anteriormente para avaliação da taxa de mortalidade. Em todos os bioensaios a mortalidade da testemunha foi inferior a 10%.

Os dados foram analisados por meio de regressão de Probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo PC (LeOra Software 1987). Foram determinadas as CL_{50} e CL_{90} (concentração que causa mortalidade de 50% e 90% da população teste respectivamente) e a razão de resistência das populações aos inseticidas com os intervalos de confiança a 95% de probabilidade (Robertson & Preisler 1991).

Bioensaios de resistência comportamental em larvas de *P. xylostella*. Para estudar a resistência comportamental de populações de *P. xylostella* aos inseticidas a base de Btk e Bta, foram utilizadas placas de Petri (9 cm de diâmetro), cujas paredes externas foram pintadas com tinta branca a base d'água para promover contraste entre a placa de Petri e a larva de segundo ínstar de *P. xylostella*. A parede interna da placa de Petri foi untada com gel hidrossolúvel (Gel KY, Johnson & Johnson[®]) para evitar a fuga das larvas. Discos de papel-filtro (9 cm de diâmetro) foram embebidos com 1mL de solução inseticida na concentração correspondente à dose de campo dos inseticidas Dipel (600 mg/L) e Xentari (500 mg/L). Os discos foram deixados por

cinco minutos sob uma capela de exaustão até a completa secagem. O controle foi feito com a adição de 1mL de água destilada por disco de papel-filtro. O disco usado para controle foi colado com cola branca (base de resina sintética e água) (Göller, China) no fundo da placa de Petri e metades do disco tratado com a solução inseticida foram coladas por cima do disco controle e mantida na metade da placa (Fig. 1). Este sistema foi levado ao Videomex-One (versão 2.43, Columbus Instruments, Ohio, EUA), aparelho que consiste de uma câmera, um sistema fechado de vídeo e um computador com o software Videomex-One para gravar as informações a serem obtidas. A placa de Petri foi deixada sob a câmera de vídeo, onde o centro da placa, dividida entre metade tratada e metade não tratada, foi alinhado de acordo com o mapa do software utilizado, convencionando-se o lado tratado de “T” e o lado não tratado de “NT”. Transferiu-se, então, uma larva de 2º instar de *P. xylostella*, à placa e a distância caminhada, o tempo de caminhar e o tempo de repouso em cada lado da arena (tratada – “T” e não tratada – “NT”) foram gravados por 15 minutos, em três sessões de 5 minutos. Antes de se iniciar a gravação, a larva foi colocada no centro da placa de Petri, entre as áreas T e NT, e esperava-se um minuto para iniciar o ensaio.

O experimento foi conduzido em sala com temperatura variando entre 22 e 28°C. O delineamento foi inteiramente casualizado com 20 repetições para cada população e para cada inseticida, onde cada repetição constituiu-se de um único inseto e a cada repetição a placa de Petri e os papéis-filtro foram substituídos. O lado tratado em cada repetição foi definido aleatoriamente.

Os dados das características comportamentais de caminhar na arena tratada, foram submetidas à análise variância multivariada (PROC GLM com a especificação MANOVA, SAS Institute 2002) e subsequentemente submetidos à análise de variância univariada e teste de média (teste da diferença mínima significativa de Fisher) (PROC GLM, SAS Institute 2002). As pressuposições de normalidade e homogeneidade de variâncias foram obedecidas (PROC

UNIVARIATE, PROC GPLOT, SAS Institute 2002), não sendo necessária transformação dos dados.

Deteção de resistência comportamental em adultos de *P. xylostella*. O experimento foi inteiramente casualizado com oito repetições sendo a unidade experimental composta por uma gaiola com quatro discos foliares contendo cinco casais de *P. xylostella*. Mariposas com, idade 0-24h, provenientes das 9 populações foram sexadas e formado grupos de cinco casais/gaiola. A gaiola foi confeccionada com potes plásticos translúcidos de forma cônica, cuja base fechada era de 17cm de diâmetro, a base aberta 22cm de diâmetro e altura 26cm (Fig. 2). Na região mediana dos potes foram abertos quatro furos de 5cm de diâmetro, equidistantes, cobertos com tecido organza, permitindo a circulação de ar e evitando a fuga dos insetos.

Para montagem da gaiola, cada pote foi colocado com a base aberta voltada para uma folha de papel filtro que recobria bancada e contia quatro copos plásticos (250mL), arranjados em grupos de dois, sendo possível fazer um circulo em volta dos mesmos. Por sobre os copos foram colocados discos de folhas, 8cm de diâmetro, provenientes de folha de repolho, *B. oleracea* var. capitata (Midori), com 30 dias de idade. Para cada inseticida e população de *P. xylostella* estudados, dois discos de folha de repolho foram imersos por 10 segundos em solução a 600 mg/L (Dipel[®] WP) ou 500 mg/L (Xentari[®] WG) e outros dois discos foram imersos em água destilada. Tais concentrações correspondem às dosagens recomendadas dos inseticidas para controle da praga em brássicas. Após imersão, os discos secaram a temperatura ambiente por 1h e em seguida foram colocados na gaiola sobre os copos plásticos, totalizando quatro discos por gaiola (dois tratados e dois não-tratados com inseticida). Foi adotada a disposição em cruz com um disco tratado alternado com um não-tratado com inseticida. Vale ressaltar que os discos foliares usados em cada repetição foram uniformes e provenientes de uma mesma folha. Na região central da base fechada da gaiola foi feito um orifício de 2cm de diâmetro por onde foram liberados os casais de

P. xylostella. Para evitar a fuga dos insetos, este orifício foi fechado com algodão embebido com solução de mel a 10% para alimentação dos adultos.

Decorridos 24h do início do ensaio foi contabilizado o número de os ovos presentes em discos tratados e não tratados e de posse do total de ovos em cada disco, foi calculada a porcentagem de ovos presentes nos discos tratados. Os dados de contagem e porcentagem foram submetidos ANOVA e as médias comparadas pelo teste *t* pareado utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute, 2002). Não foi necessária a transformação dos dados para atender as pressuposições da ANOVA como indicado por testes de normalidade e análise de resíduo (Proc Univariate, Proc Gplot, SAS institute, 2002).

Resultados

Bioensaios detecção de resistência fisiológica. Os resultados dos bioensaios de concentração-mortalidade com *B. thuringiensis kurstaki* (Dipel) estão apresentados na Tabela 1. Como indicado por valores de $P > 0,05$ na análise de qui-quadrado, o modelo de Probit ajustou-se satisfatoriamente aos dados de mortalidade sendo, portanto, válidas as estimativas obtidas. As estimativas da concentração que causou 50% de mortalidade (CL_{50}) variaram entre 0,37 e 66 mg/L, faixa essa que esteve entre 12 e 66 mg/L para a maioria das populações. Baseado nos valores de CL_{50} foi selecionado a população de Alegre como padrão de susceptibilidade (mais baixa CL_{50}), a qual foi utilizada como denominador nos cálculos da razão de resistência para indicar quantas vezes uma determinada população é mais resistente que a população de referência. Pelo critério de significância de não-inclusão do valor 1 no intervalo de confiança a 95% probabilidade para a razão de resistência (Robertson & Preisler 1991), apenas a população de Recife não apresentou nível de resistência significativo (1,2x). Todas as outras populações apresentaram reduzida susceptibilidade (i.e. significativa resistência) a Btk, com destaque para as

populações de Garanhuns e Vitória da Conquista, que apresentaram altos níveis de resistência (> 100 vezes).

As inclinações das curvas concentração-mortalidade variaram de $0,99 \pm 0,13$ (Garanhuns) a $1,75 \pm 0,14$ (Domingos Martins). Tais variações nas curvas promoveram diferenças na ordem de susceptibilidade das populações na CL_{50} e CL_{90} (Tabela 1).

Com relação aos bioensaios com *B. thuringiensis aizawai* (Xentari[®] WG), os resultados apresentaram algumas semelhanças aos bioensaios com *B. thuringiensis kurstaki*, sendo que modelo de Probit foi adequado para descrever os dados de concentração-mortalidade e a população de Alegre foi novamente considerada como padrão de susceptibilidade por apresentar menor CL_{50} (Tabela 2). Porém o valor da CL_{50} de Xentari[®] WG para essa população (0,07 mg/L) foi cerca de cinco vezes mais baixo que o valor de CL_{50} de Dipel[®] WP para a mesma (Tabelas 1 e 2) enquanto que para a maioria das populações, as estimativas de CL_{50} foram de 16 a 72 mg/L. Pelo critério de não-inclusão do valor 1 no intervalo de confiança a 95% probabilidade para a razão de resistência (Robertson & Preisler 1991), todas as populações de *P. xylostella* apresentaram resistência a *B. thuringiensis aizawai* com destaque para as populações de Vitória da Conquista e Vargem Alta, cujos níveis atingiram valores elevados como 888,6 e 999,1 vezes respectivamente (Tabela 2).

As inclinações das curvas concentração-mortalidade variaram de $1,17 \pm 0,13$ (Garanhuns) a $2,07 \pm 0,18$ (Viçosa), sendo responsáveis pelas diferenças na ordem de susceptibilidade das populações quando se considera a CL_{50} e CL_{90} (Tabela 2).

Bioensaios de resistência comportamental em larvas de *P. xylostella*. A análise de variância multivariada indicou diferença significativa entre as populações para as características de caminhamento de larvas de 2º ínstar na superfície tratada com Btk (Wilks' Lambda = 0,56; $F_{32, 606} = 43,21$; $P < 0,0001$) e Bta (Wilks' Lambda = 0,70; $F_{32, 592} = 1,89$; $P = 0,0025$).

Os resultados da análise de variância em cada uma das respostas comportamentais de caminhamento das larvas indicaram existir diferenças significativas entre as populações na distância caminhada ($F_{8, 171} = 5,45$; $P < 0,0001$), velocidade de deslocamento ($F_{8, 171} = 3,71$; $P = 0,0005$), mas não no tempo de repouso ($F_{8, 167} = 1,10$; $P = 0,3669$) e na porcentagem de tempo em que as larvas permaneceram na área tratada com Btk ($F_{8, 171} = 1,42$; $P = 0,1906$). Também na área tratada com Bta foram verificadas diferenças significativas na distância de caminhada ($F_{8, 171} = 2,04$; $P = 0,0447$), velocidade média de caminhamento ($F_{8, 165} = 2,36$; $P = 0,0200$) e tempo de repouso ($F_{8, 169} = 2,60$; $P = 0,0106$), mas não na porcentagem de tempo gasto no lado tratado da arena ($F_{8, 171} = 1,24$; $P = 0,2811$).

As médias das características comportamentais de caminhamento das larvas de cada população em superfície tratada com *B. thuringiensis kurstaki* estão apresentados na Tabela 3. Comparações múltiplas pelo teste da diferença mínima significativa de Fisher (teste *t*) indicaram que a maior distância caminhada foi das larvas de Vitória da Conquista, e a menor, da larvas provenientes de Viçosa, Garanhuns e Alegre (Tabela 3). As larvas das populações de Vitória da Conquista e São João Del Rei apresentaram maior velocidade de caminhamento, as de Garanhuns, a menor velocidade, enquanto que *P. xylostella* das demais populações caminharam em velocidades intermediárias na presença da formulação de Btk (Tabela 3). O tempo em repouso e a porcentagem de tempo permanecido no lado tratado da arena não variaram entre as populações estudadas como indicado pela ANOVA a 5% de significância.

Na Tabela 4 estão sumarizadas as respostas comportamentais de caminhamento de larvas de 2º instar das populações de *P. xylostella* em superfície tratada com *B. thuringiensis aizawai* (Bta). A maior distância caminhada foi da população de Ponta Grossa, enquanto que a população de São João Del Rei caminhou a menor distância como indicado pelo teste média. As populações de Viçosa e Jaboticabal apresentaram maior velocidade de caminhamento e a população de

Domingos Martins caminhou mais lentamente. O tempo em repouso na área tratada foi maior para população de Viçosa e menor para a população de Jaboticabal. A proporção de tempo na área tratada não variou entre as populações estudadas ($P > 0,05$) como indicado pela ANOVA.

Detecção de resistência comportamental em adultos de *P. xylostella*. Os resultados referentes à preferência de oviposição das mariposas de *P. xylostella* das diferentes populações em discos foliares de repolho, tratado e não tratado com formulações de Btk e Bta estão apresentados na Fig. 3. O número de ovos das populações de *P. xylostella* em discos foliares não tratados com Btk foi sempre superior quando comparado a discos foliares tratados com este inseticida, exceto para população de São João Del Rei, que não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) pelo teste *t* pareado (Fig. 3A). Comportamento semelhante foi observado na maioria das populações de *P. xylostella* com relação ao inseticida Bta, onde o número de ovos colocados em discos foliares não-tratados foi maior que em discos foliares tratados, com exceção das populações de Jaboticabal, Ponta Grossa, São João Del Rei e Viçosa, as quais não discriminaram o substrato com formulação de Bta para a oviposição (Fig. 3B).

Análise de variância indicou diferenças significativas entre as populações na porcentagem de postura em substrato tratado com Btk ($F_{8, 63} = 3,12$; $P = 0,0050$) e também com Bta ($F_{8, 63} = 15,35$; $P < 0,0001$), resultados que indicam haver diferenças significativas na magnitude da preferência de oviposição entre as populações estudadas.

As porcentagens médias de ovos das populações de *P. xylostella* colocados em discos foliares tratados com o inseticida estão apresentadas na Fig. 4. As fêmeas da população de São João Del Rei foram as que menos discriminaram a presença de formulação de *B. thuringiensis kurstaki* entre as populações como indicado pela maior proporção de ovos nos discos tratados. Por outro lado a população de Garanhuns apresentou maior discriminação do substrato tratado com Btk (Fig. 4A). Para a formulação de Bta, a maior proporção de ovos em discos foliares tratados foi

encontrada na população de Viçosa (Fig. 4B). As populações de Domingos Martins e Garanhuns apresentaram as menores proporções de ovos em discos foliares tratados com esse inseticida.

Discussão

Estudos relacionados a levantamento de populações de insetos resistentes a inseticidas são de fundamental importância para o manejo integrado de pragas, uma vez que o aparecimento de resistência pode comprometer o controle das populações das pragas e levar ao aumento da frequência de aplicações e da dose utilizada, assim causando problemas de ordem econômica, social e ambiental. A resistência de populações de *P. xylostella* a inseticidas microbianos a base de *B. thuringiensis* têm sido relatada em diversos estudos pelo mundo (Ferré *et al.* 1991, Tabashnik *et al.* 1994a e 1994b, Cabrera *et al.* 2001, Sayyed & Wright 2001, Heckel *et al.* 2007, Wang *et al.* 2007). No Brasil, ainda existem poucos estudos de resistência de populações de *P. xylostella* a *B. thuringiensis* (Castelo Branco 1999, Dias *et al.* 2004, Medeiros *et al.* 2006), justificando a necessidade de levantamentos mais detalhados de resistência a *B. thuringiensis*.

Os resultados dos biossaos concentração-mortalidade para os inseticidas *B. thuringiensis kurstaki* e *B. thuringiensis aizawai* demonstraram alto índices de resistência de algumas populações, principalmente a *B. thuringiensis aizawai*.

As diferenças nos níveis de resistência a *B. thuringiensis kurstaki* e *B. thuringiensis aizawai* aqui observada pode ser devida a diferentes quantidades de toxinas Cry e diferenças na formulação dos inseticidas e na variabilidade genética das populações de *P. xylostella*. Em particular, a população de Alegre (padrão de suscetibilidade) foi cerca de cinco vezes mais suscetível a Bta que a Btk e isso contribuiu para que os níveis relativos de resistência a Bta fossem maiores que a Btk. No entanto de modo geral, estudos tem revelado que os elevados níveis de resistência às formulações de Bt observados em algumas populações sugerem possíveis

alterações no (s) sítio (s) de ligação das toxinas presentes nas formulações de Bt, podendo-se manifestar por meio de falhas na interação das toxinas com seus receptores presente no intestino das larvas (Ferré *et al.* 1991, Gill *et al.* 1992, Tabashnik 1994).

As populações provenientes de Alegre e Recife, consideradas susceptíveis aos inseticidas, foram provenientes de laboratórios que as criam a mais de 40 gerações sem a pressão de seleção para resistência. Estudos ressaltam que a resistência de *P. xylostella* a *B. thuringiensis* é geralmente instável e não persistente na população, fato que pode explicar a grande susceptibilidade das populações provenientes de Alegre e Recife (Tabashnik 1994, Tabashnik *et al.* 1994a e 1994b). Para as demais populações, foram encontrados altos índices de resistência a Bt, principalmente naquelas provenientes de Garanhuns e Vargem Alta, o que pode ser resultado de intenso uso de inseticidas a base de Bt para controle de *P. xylostella* nesses locais.

De modo geral o comportamento de caminhamento de larvas de 2º ínstar de *P. xylostella* em superfície tratada com os inseticidas foi variável entre as populações, mas não foi constatada repelência significativa por parte dos inseticidas estudados. A resistência comportamental pode ser expressa de forma ao inseto evitar contato com a área tratada e tais modificações podem ser estímulos-dependentes, onde o inseticida provoca a irritação dos insetos, resultando na fuga da área tratada, como observado por Alzogaray *et al.* (2000) com ninfas de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) sobre superfície tratada com inseticida.

Com relação à preferência de oviposição de *P. xylostella* em discos foliares de repolho tratados e não-tratados com formulações comerciais dos inseticidas, essas promoveram repelência para oviposição de *P. xylostella* na maioria das populações estudadas, exceto na população de São João Del Rei para Dipel® WP e as populações de Jaboticabal, Ponta Grossa, São João Del Rei e Viçosa para Xentari® WG. Estudos de Sarfraz *et al.* (2005) investigando a preferência de oviposição de *P. xylostella* a cultivares de brássicas evidenciou a resistência comportamental de

P. xylostella para oviposição, pois os adultos preferiram colocar ovos em locais mais próximos do solo, onde não havia a presença de inseticida, independente da cultivar de brássica utilizada. A proporção de ovos colocados por *P. xylostella* em discos foliares tratados com os inseticidas diferiu significativamente entre as populações, mas não foi possível estabelecer uma relação com a resistência fisiológica encontrada nesta pesquisa. Algumas populações como Garanhuns e Domingos Martins preferiram ovipositar em locais isentos destes formulados, o que poderia ser interpretado como um comportamento para evitar o contato da larva de *P. xylostella* com a área tratada. Este fato pode estar aliado ao método de pulverização utilizado pelos produtores rurais, principalmente aqueles da região do agreste Pernambucano, os quais têm o hábito de pulverizar apenas a cabeça das plantas de repolho, promovendo assim descontinuidade na superfície com inseticida, o que pode selecionar insetos com a capacidade de discriminar tais superfícies (Gould 1991, Hoy *et al.* 1998).

Em conclusão, esse estudo identificou populações de traça-das-crucíferas com significativos níveis de resistência a formulações comerciais de *B. thuringiensis* e mostrou variações no comportamento de caminhamento das larvas das diferentes populações e na preferência de oviposição em discos foliares tratados com formulações dos inseticidas. Esses resultados revelam a importância do estabelecimento de estratégias de manejo da resistência em populações de *P. xylostella*, principalmente em regiões com alta intensidade de ataque da praga, como no nordeste brasileiro. Isso demandará futuros esforços para identificação do problema de resistência a outros inseticidas, estudos de herança e custo adaptativo da resistência temporária, os quais nortearão o delineamento de estratégias e táticas de manejo da resistência.

Agradecimentos

A Universidade Federal Rural de Pernambuco e a Universidade Federal de Viçosa por possibilitarem a realização desta pesquisa. A CAPES pela bolsa de estudos ao primeiro autor e ao Programa PROCAD CAPES no. 83054. Nossos sinceros agradecimentos às pessoas que nos enviaram insetos para condução dessa pesquisa, a saber: Wellington Garcia Campos, Marcos Rafael Gusmão, Robson Thuller, César Auguste Badji, Marcelo Picanço e Dirceu Pratisoli.

Literatura Citada

- Alzogaray, R.A., A. Fontan, E.N. Zerba. 2000.** Repellency of deet to nymphs of *Triatoma infestans*. Med. Vet. Entomol. 14: 6-10.
- Araújo, A.C.P., D.P. Nogueira & L.G.S. Augusto. 2000.** Impacto dos praguicidas na saúde: estudo da cultura de tomate. Rev. Saúde Publ. 34: 309-313.
- Baeka, J.H., J.I. Kima, D.W. Leea, B.K. Chungb, T. Miyatac & S.H. Leea. 2005.** Identification and characterization of ace1-type acetylcholinesterase likely associated with organophosphate resistance in *Plutella xylostella*. Pest. Biochem. Physiol. 81: 164 -175.
- Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizados para criação de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Pluellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Anais Soc. Entomol. Bras. 28: 469-476.
- Cabrera, J.G., S. Herrero, A.H. Sayyed, B. Escriche, Y.B. Liu, S.K. Meyer, D.J. Wright, B.E. Tabashnik, & J. Ferré. 2001.** Variation in Susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Toxins among Unselected Strains of *Plutella xylostella*. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4610-4613.
- Castelo Branco M. 1999.** Avaliação da eficiência de formulações de *Bacillus thuringiensis* para o controle de traça-dascrucíferas em repolho no Distrito Federal. Hortic. Bras. 17: 237-240.

- Crickmore, N., D.R. Zeigler, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, A. Bravo & D.H. Dean. 2007.** *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/
- Dias, D.G.S., C.M.S. Soares, R.G. Monnerat. 2004.** Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle de traça-das-crucíferas em couve-flor no Distrito Federal. *Hortic. Bras.* 22: 387-390.
- Ferré, J., M.D. Real, J. V. Rie, S. Jansens & M. Peferoen. 1991.** Resistance to the *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide in a field population of *Plutella xylostella* is due to a change in a midgut membrane receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 5119-5123.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis, Cambridge, Cambridge University Press, 215p.
- Gill, S.S., E.A. Cowles, & P.V. Pietrantonio. 1992.** The mode of Action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annu. Rev. Entomol.* 37:615-36.
- Godin, C. & G. Boivin. 1998.** Lepidopterous pests of *Brassica* crops and their parasitoids in southwestern Quebec. *Environ. Entomol.* 27: 1157-1165.
- Gould, F. 1991.** Sustainability of Transgenic Insecticidal Cultivars: Integrating Pest Genetics and Ecology. *Annu. Rev. Entomol.* 43:701-26.
- Heckel, D.G., L.J. Gahan, S.W. Baxter, J.Z. Zhao, A.M. Shelton, F.Gould & B.E. Tabashnik. 2007.** The diversity of Bt resistance genes in species of Lepidoptera. *J. Invertebr. Pathol.* 95: 192-197.
- Hoy, C.W., G.P. Head & F.R. Hall. 1998.** Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. *Annu. Rev. Entomol.* 43:571-594.
- Kumaraswamia, N. S., T. Maruyamab, S. Kurabea, T. Kishimotoa, T. Mitsuiia & H. Horia. 2001.** Lipids of brush border membrane vesiclesš BBMV/from *Plutella xylostella* resistant

and susceptible to Cry1Ac-endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. Comp. Biochem. Physiol. 129: 173-183.

Kwon, D. H., B. R. Choi, H. M. Park, S. H. Lee, T. Miyata, J. M. Clark, & S. H. Lee. 2004. Knockdown resistance allele frequency in field populations of *Plutella xylostella* in Korea. Pest. Biochem. Physiol. 80: 21-30.

LeOra Software. 1987. POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.

Medeiros P.T, E.H. Sone, C.M. S. Soares, J.M.C.S. Dias & R.G. Monnerat. 2006. Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. Horticult. Bras. 24: 245-248.

Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1991. Pesticide bioassays with arthropods. California, CRC Press, 127p.

Sarfraz, M., L.M. Dossall & B.A. Keddie. 2005. Evidence for behavioural resistance by the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). JEN 129: 340-341.

SAS Institute. 2002. SAS/Stat User's Guide. SAS, Cary, NC.

Sayye, D. A. & D.J. Wright. 2001. Fitness costs and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in a field population of the diamondback moth *Plutella xylostella* L. Ecol. Entomol. 26: 502-508.

Tabashnik, B. E., F.R. Groeters, N. Finson & M.W. Johnson. 1994a. Instability of resistance to *Bacillus thuringiensis*. Biocontrol Sci. Technol. 4: 419-426.

Tabashnik, B. E., N. Finson, F.R. Groeters, W. J. Moar, M. W. Johnson, K. Luo & M. J. Adang. 1994b. Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91: 4120-4124.

Tabashnik, B.E. 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.* 39:47-79.

Wang, L., X.F. Li, J. Zhang, J.Z. Zhao, Q.J. Wu, B. Xu & Y.J. Zhang. 2007. Monitoring of resistance for the diamondback moth to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry1Ba toxins and a Bt commercial formulation. *J. Appl. Entomol.* 131: 441-446.

Tabela 1. Susceptibilidade de 10 populações de *P. xylostella* a *B. thuringiensis kurstaki* (Btk).

| Populações | n ¹ | Inclinação ± EPM ² | CL ₅₀ (IC 95%) (mg/l) | ³ CL ₉₀ (IC 95%) mg/l | ^{4,5} Razão de resistência (IC 95%) | χ^2 | P |
|-------------------------|----------------|-------------------------------|-------------------------------------|--|---|----------|------|
| Alegre-ES | 603 | 1,46 ± 0,14 | 0,37 (0,3-0,4) | 2,75 (2,0-4,1) | 1,0 (0,7-1,5) | 1,78 | 0,88 |
| Recife-PE | 813 | 1,54 ± 0,12 | 0,45 (0,3-0,6) | 3,04 (1,8-6,8) | 1,2 (0,9-1,7) ^{ns} | 12,81 | 0,05 |
| Ponta Grossa-PR | 425 | 1,59 ± 0,16 | 11,61 (8,5-14,8) | 74,66 (55,4-111,2) | 31,7 (21,6-46,4)* | 3,44 | 0,63 |
| Viçosa-MG | 383 | 1,06 ± 0,14 | 11,97 (5,9-18,7) | 195,28 (110,3-539,5) | 32,6 (20,1-53,0)* | 5,06 | 0,41 |
| Jaboticabal-SP | 459 | 1,56 ± 0,14 | 20,41 (14,3-27,6) | 136,02 (90,3-249,9) | 55,7 (39,1-79,3)* | 5,70 | 0,34 |
| Domingos Martins-ES | 617 | 1,75 ± 0,14 | 23,85 (16,9-31,8) | 128,57 (90,5-209,6) | 65,1 (46,3-91,4)* | 6,61 | 0,25 |
| Vargem Alta-ES | 418 | 1,06 ± 0,13 | 32,35 (17,1-55,1) | 524,71 (232,6- 630,2) | 88,3 (15,2-513,2)* | 7,32 | 0,20 |
| São João Del Rei-MG | 437 | 1,23 ± 0,12 | 32,69 (23,3-45,3) | 363,26 (209,4-859,8) | 89,2 (61,9-128,5)* | 5,05 | 0,41 |
| Vitória da Conquista-BA | 433 | 1,53 ± 0,18 | 39,77 (24,6-56,7) | 272,98 (175,3-559,3) | 108,5 (72,4-162,6)* | 5,01 | 0,41 |
| Garanhuns-PE | 428 | 0,99 ± 0,13 | 66,28 (45,9-97,2) | 1315,33 (647,9-4095,5) | 180,8 (114,9-284,6)* | 1,50 | 0,91 |

¹Número total de insetos por bioensaio; ²EPM, Erro padrão da média; ³CL, Concentração letal e, IC 95%, Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; ⁴Razão de Resistência = CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população susceptível; χ^2 , Qui-quadrado; P, Probabilidade.

⁵Valores de razão de resistência seguidos de asterisco são significativos a $P < 0,05$ por não incluir o valor 1 no intervalo de confiança a 95% de probabilidade (Robertson & Priesler 1991).

Tabela 2. Susceptibilidade de 10 populações de *P. xylostella* a *B. thuringiensis aizawai* (Bta).

| Populações | n ¹ | Inclinação ± EPM ² | ³ CL ₅₀ (IC 95%) (mg/l) | CL ₉₀ (IC 95%) (mg/l) | ^{4,5} Razão de resistência (IC 95%) | χ ² | P |
|-------------------------|----------------|-------------------------------|--|-------------------------------------|---|----------------|------|
| Alegre-ES | 591 | 1,24 ± 0,13 | 0,07 (0,04-0,10) | 0,78 (0,5-1,2) | 1,0 (0,6-1,7) | 4,32 | 0,50 |
| Recife-PE | 790 | 1,52 ± 0,12 | 0,14 (0,08-0,19) | 0,94 (0,6-1,6) | 1,9 (1,2-2,9)* | 9,32 | 0,10 |
| Jaboticabal-SP | 467 | 1,32 ± 0,13 | 15,96 (9,9-22,7) | 149,17 (95,7-296,0) | 220,5 (138,1-352,1)* | 5,67 | 0,34 |
| São João Del Rei-MG | 423 | 1,61 ± 0,14 | 24,08 (19,2-29,5) | 151,28 (112,2-224,6) | 332,7 (217,3-509,4)* | 4,06 | 0,54 |
| Ponta Grossa-PR | 424 | 1,86 ± 0,18 | 26,82 (20,8-33,4) | 131,34 (100,2-186,7) | 370,6 (239,6-573,2)* | 1,15 | 0,95 |
| Domingos Martins-ES | 628 | 1,74 ± 0,14 | 33,15 (23,9-43,6) | 181,52 (130,8-283,4) | 458,1 (299,1-701,8)* | 5,46 | 0,36 |
| Viçosa-MG | 383 | 2,07 ± 0,18 | 42,85 (31,5-57,6) | 178,63 (120,3-33,1) | 592,1 (393,4-891,3)* | 8,00 | 0,16 |
| Garanhuns-PE | 431 | 1,17 ± 0,13 | 45,56 (24,8-75,9) | 73,80 (271,5-2479,1) | 629,6 (390,3-1015,4)* | 8,44 | 0,13 |
| Vitória da Conquista-BA | 422 | 1,47 ± 0,14 | 64,30 (49,9-82,3) | 477,10 (324,7-812,8) | 888,6 (570,2-1384,6)* | 3,37 | 0,64 |
| Vargem Alta-ES | 427 | 1,85 ± 0,32 | 72,29 (31,7-106,7) | 357,64 (230,1-1027,8) | 999,1 (607,5-1642,9)* | 6,35 | 0,27 |

¹Número total de insetos por bioensaio; ²EPM, Erro padrão da média; ³CL, Concentração letal e, IC 95%, Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; ⁴Razão de Resistência = CL₅₀ da população resistente/CL₅₀ da população susceptível; χ², Qui-quadrado; P, Probabilidade.

⁵Valores de razão de resistência seguidos de asterisco são significativos a $P < 0,05$ por não incluir o valor 1 no intervalo de confiança a 95% de probabilidade (Robertson & Priesler, 1991).

Tabela 3. Média das características comportamentais de caminhamento de larvas de 2º instar de 9 populações de *P. xylostella* em superfície tratada com *B. thuringiensis kurstaki* (Btk).

| Populações | Distância caminhada (cm) ¹ | Velocidade de caminhamento (mm/s) ¹ | Tempo em Repouso (s) ² | Porcentagem de tempo na área tratada ² |
|-------------------------|---------------------------------------|--|-----------------------------------|---|
| Vitória da Conquista-BA | 46,2 ± 10,3 a | 4,1 ± 0,9 a | 98,3 ± 22,5 | 52,4 ± 11,7 |
| Vargem Alta-ES | 38,3 ± 8,6 ab | 4,0 ± 0,9 ab | 117,1 ± 26,9 | 53,3 ± 11,9 |
| São João Del Rei-MG | 36,1 ± 8,1b | 4,1 ± 0,9 a | 97,2 ± 21,7 | 45,0 ± 10,1 |
| Ponta Grossa-PR | 35,6 ± 8,0 b | 3,8 ± 0,8 acb | 130,5 ± 29,9 | 53,5 ± 12,0 |
| Domingos Martins-ES | 33,6 ± 7,5 b | 4,0 ± 0,9 ab | 149,6 ± 33,4 | 54,3 ± 12,2 |
| Jaboticabal-SP | 29,9 ± 6,7 bc | 3,6 ± 0,8 acb | 134,5 ± 30,9 | 50,9 ± 11,4 |
| Alegre-ES | 23,4 ± 5,2 c | 3,3 ± 0,7 cd | 112,5 ± 25,1 | 39,1 ± 8,7 |
| Garanhuns-PE | 22,7 ± 5,1 c | 2,9 ± 0,6 d | 121,7 ± 27,2 | 42,5 ± 9,5 |
| Viçosa-MG | 21,4 ± 4,8 c | 3,5 ± 0,8 bcd | 125,4 ± 28,0 | 45,6 ± 10,2 |

¹Médias (± EPM) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pela diferença mínima significativa de Fisher, protegido pela ANOVA a 5% de significância;

²A ANOVA não indicou diferença significativa no tempo de repouso e porcentagem de tempo no lado tratado ($P > 0,05$) e assim não foram realizados testes de média.

Tabela 4. Média das características comportamentais de caminhada de larvas de 2º instar de 9 populações de *P. xylostella* em superfície tratada com *B. thuringiensis aizawai* (Bta).

| Populações | Distância caminhada (cm) ¹ | Velocidade de caminhada (mm/s) ¹ | Tempo em Repouso (s) ¹ | Porcentagem de tempo na área tratada ² |
|-------------------------|---------------------------------------|---|-----------------------------------|---|
| Ponta Grossa-PR | 42,9 ± 4,5 a | 4,0 ± 0,1ab | 96,8 ± 9,8 bc | 49,8 ± 3,4 |
| Vargem Alta-ES | 37,7 ± 3,9 ab | 3,9 ± 0,2 ab | 99,3 ± 14,7 bc | 44,1 ± 4,1 |
| Viçosa-MG | 37,5 ± 3,1abc | 4,1 ± 0,1 a | 147,6 ± 14,8 a | 57,0 ± 3,9 |
| Jaboticabal-SP | 36,5 ± 4,4 abc | 4,2 ± 0,1 a | 66,1 ± 11,2 c | 41,9 ± 5,1 |
| Garanhuns-PE | 35,8 ± 3,8 abc | 4,0 ± 0,1 ab | 103,1 ± 12,5 b | 46,2 ± 4,5 |
| Vitória da Conquista-BA | 32,0 ± 3,4 bc | 3,6 ± 0,2 bc | 102,4 ± 15,2 bc | 44,7 ± 4,9 |
| Domingos Martins-ES | 29,2 ± 4,5 bc | 3,4 ± 0,3 c | 92,9 ± 13,9 bc | 44,1 ± 5,4 |
| Alegre-ES | 27,2 ± 2,8 bc | 3,8 ± 0,2 abc | 94,8 ± 9,0 bc | 43,9 ± 3,4 |
| São João Del Rei-MG | 26,8 ± 3,9 c | 3,8 ± 0,2 abc | 98,6 ± 14,6 bc | 40,3 ± 5,0 |

¹Médias (± EPM) seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pela diferença mínima significativa de Fisher, protegido pela ANOVA a 5% de significância;

²A ANOVA não indicou diferença significativa no tempo de repouso e porcentagem de tempo no lado tratado ($P > 0,05$) e assim não foram realizados testes de média.

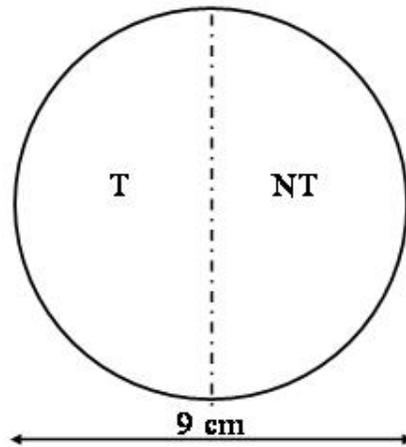


Figura 1. Arena de caminamento de larvas de *P. xylostella* em superfície com lado tratado (T) e não tratado (NT), no teste com o Videomex-One.

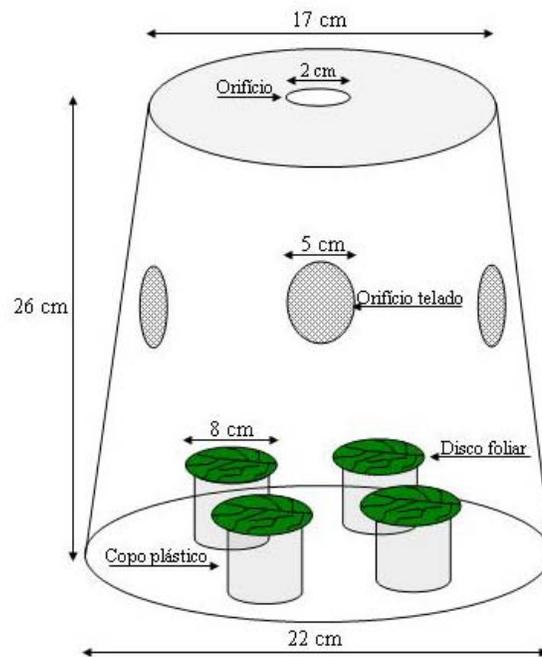


Figura 2. Gaiola utilizada para avaliar a postura de *P. xylostella* em discos foliares de repolho, *B. oleracea* var. capitata tratados e não-tratados com inseticidas a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e *B. thuringiensis* var. *aizawai*.

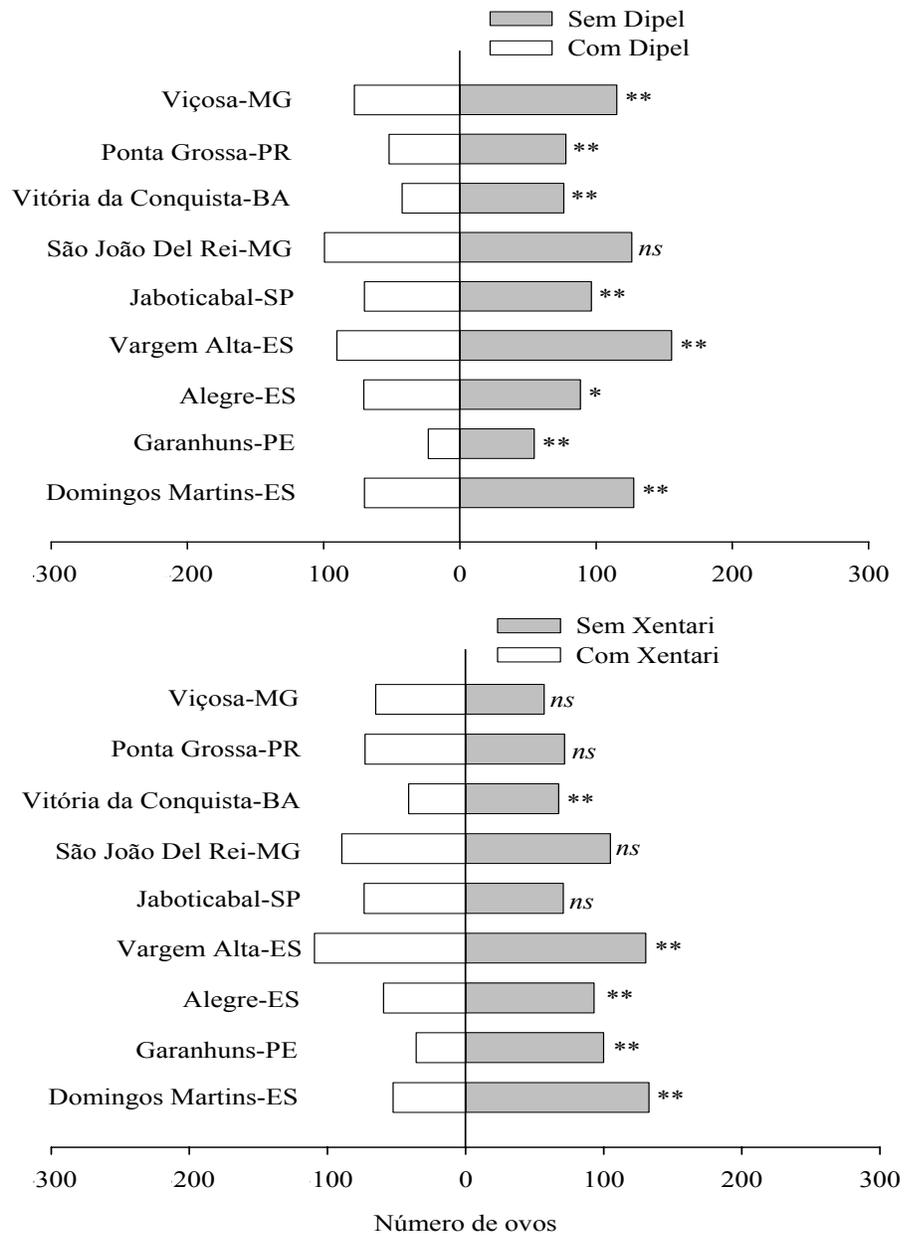


Figura 3. Número de ovos de *P. xylostella* em discos foliares de Repolho, *B. oleracea*, var. capitata (Midori) tratado e não-tratado com inseticidas a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (A) e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (B). Barras seguidas de “ns” são semelhantes pelo teste “t” pareado (n=8, P> 0,05).

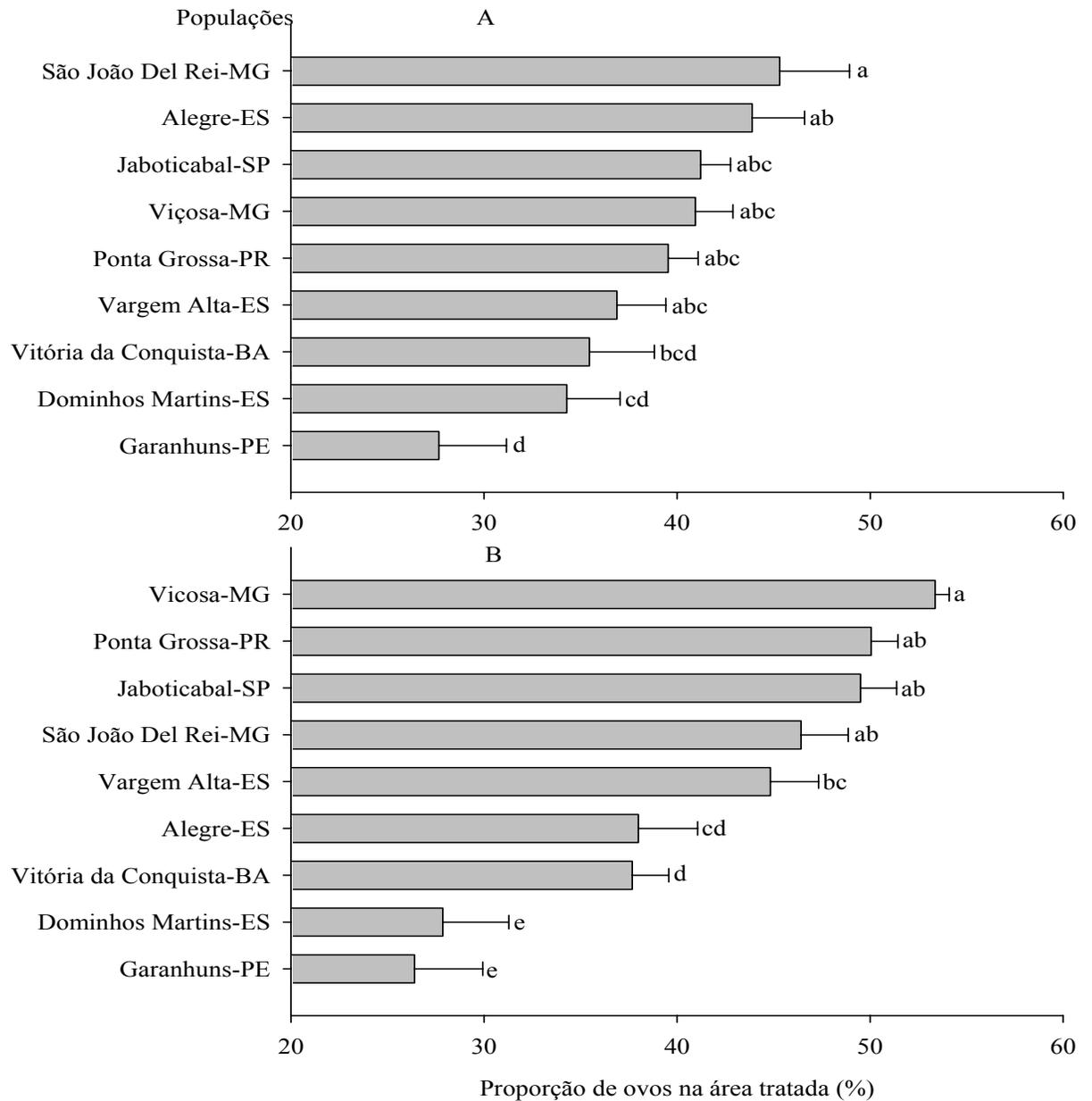


Figura 4. Porcentagem de postura de *P. xylostella* em discos foliares de repolho, *B. oleracea*, var. capitata (Midori) tratado com inseticidas a base de *B. thuringiensis kurstaki* (A) e *B. thuringiensis aizawai* (B). Barras de erro representam o erro padrão da média. As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste da diferença mínima de Fisher (LSD) protegido pela análise de variância a $P < 0,05$.