

Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

**BIOLOGIA DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879  
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E  
*Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA:  
EULOPHIDAE) ALIMENTADOS COM PÓLEN DE  
MILHO**

Maria Freire de Sousa

Dourados-MS  
Outubro/2015

Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Maria Freire de Sousa

**BIOLOGIA DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879  
(HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E *Tetrastichus*  
*howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)  
ALIMENTADOS COM PÓLEN DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Entomologia e Conservação da Biodiversidade.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes  
Co-orientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira

Dourados-MS  
Outubro/2015

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

S239b Sousa, Maria Freire de.  
Biologia de *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) e *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) alimentados com pólen de milho. / Maria Freire de Sousa. – Dourados, MS: UFGD, 2015.  
61f.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes.  
Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Controle biológico. 2. Parasitoides. 3. Milho Bt. I.  
Título.

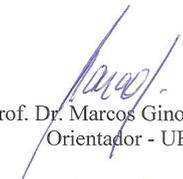
CDD – 632.96

**“BIOLOGIA DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA:  
TRICHOGRAMMATIDAE) E *Tetrastichus howardi* (OLLIFF, 1893) (HYMENOPTERA:  
EULOPHIDAE) ALIMENTADOS COM PÓLEM DE MILHO BT”**

Por

**MARIA FREIRE DE SOUSA**

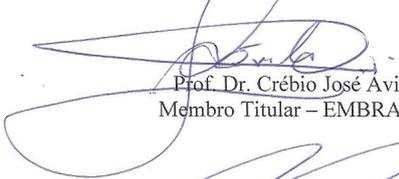
Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),  
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de  
MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE  
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes  
Orientador - UFGD



Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira  
Membro Titular - UFGD



Prof. Dr. Crébio José Avila  
Membro Titular - EMBRAPA



Prof. Dr. Ronaldo Pavarini  
Membro Titular - UNESP

Aprovada em: 09 de março de 2015.

## Biografia

Maria Freire de Sousa, filha de José Pereira de Souza e Jesuíta Freire de Souza, nasceu na cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no dia 19 de outubro de 1988.

Cursou todo o ensino Fundamental e Médio na rede pública.

Em março de 2009, ingressou no curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal da Grande Dourados, Dourado-MS, concluindo-o em 2013.

Durante a Graduação participou de três iniciações científicas, sendo em um projeto como voluntária na área da educação com o livro didático: O conteúdo de Química no enredo dos Livros Didáticos de Ensino Fundamental; e em outros dois outros projetos com Plantas Geneticamente Modificadas e Controle Biológico. O primeiro projeto foi financiado pela Fundect (Interações tritróficas entre plantas de algodão Bt, o fitófago *Aphis gossypii* Glover e o predador *Chrysoperla externa*). O segundo projeto foi financiado pelo CNPq (Interação Tritrófica dos Parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley e *Cotesia flavipes* Cam em Milho Geneticamente Modificado Resistente a Insetos).

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela oportunidade a qual sem fé não conseguiria completar esta etapa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado.

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

A todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Ao Prof. Dr. Marcos Gino Fernandes pelo apoio e incentivo na orientação e pela confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. Fabrício Fagundes Pereira, meu co-orientador, pela orientação e auxílio nas análises estatísticas.

Aos funcionários da Fazenda Experimental da UFGD, em especial ao Sr. Jesus e todos os outros que trabalham no campo e que apoiaram nas coletas.

A todos que trabalham no (LECOBIOL), Laboratório de Entomologia/Controle Biológico, Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados, tais como: Camila Rossoni, Samir Oliveira Kassab, Antonio Souza Silva e Rogério Hidalgo Barbosa pela convivência e apoio.

Ao Dr. Thiago Alexandre Mota pelo tempo de convivência e pelos ensinamentos ao longo do meu aprendizado.

Ao secretário da Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade Marcelo Cardoso Oliveira por sua eficiência e dedicação nos serviços prestados.

Aos colegas da Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade pela convivência e ensinamentos.

A estagiária Alessandra Canuto pelo auxílio nos experimentos.

As colegas Jéssica Lucchetta Trilli e Ana Carla Moraes pelo apoio, incentivo e ajuda nos momentos difíceis.

A minha família, meu pai José, a minha mãe Jesuíta e ao meu irmão Jordão por todo o amor, carinho e apoio incondicional.

Aos meus padrinhos João e Cida pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos Rennan Oliveira Meira, Hallana Herrera, Antônio Robis pelo carinho, força e apoio. Em especial a minha amiga Patrícia Santos dos Reis pela amizade, carinho, apoio e ajuda nos momentos mais difíceis.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigada!

**Aos meus pais José e Jesuíta**

Que me educaram com muito amor

Á quem devo tudo que sou.

Dedico

## SUMÁRIO

RESUMO.....	09
ABSTRACT.....	10
INTRODUÇÃO GERAL.....	11
REVISÃO DE LITERATURA.....	13
OBJETIVO GERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
HIPÓTESE.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
CAPÍTULO 1. Características biológicas de <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de milho	
Resumo.....	26
Abstract.....	27
1. Introdução.....	28
2. Material e Métodos.....	29
3. Resultados.....	31
4. Discussão.....	36
5. Conclusão.....	37
6. Agradecimentos.....	38
7. Referências.....	38

## CAPÍTULO 2. Biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893)

(Hymenoptera: Eulophidae) alimentados com pólen de milho

Resumo.....	43
Abstract.....	44
1. Introdução.....	45
2. Material e Métodos.....	46
3. Resultados.....	49
4. Discussão.....	54
5. Conclusão.....	56
6. Agradecimentos.....	56
7. Referências.....	56

## RESUMO GERAL

SOUSA, M.F. Universidade Federal da Grande Dourados, Outubro de 2015. **Biologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:Trichogrammatidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff,1893) (Hymenoptera: Eulophidae) alimentados com pólen de milho.** Orientador: Marcos Gino Fernandes.

Parasitoides fazem parte do complexo de inimigos naturais utilizados em programas de controle biológico. Com o advento da biotecnologia, a área cultivada com transgênicos aumentou o que tornou as cultivares transgênicas à tecnologia agrícola mais adotada na história moderna. No entanto, as culturas Bt podem apresentar efeitos diretos e indiretos sob os organismos não-alvo. O objetivo geral, deste trabalho, foi avaliar os efeitos do pólen de milho Bt sobre os parasitoides *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff,1893) (Hymenoptera: Eulophidae). Para isso foram desenvolvidos os seguintes trabalhos: Características Biológicas de *T. pretiosum* alimentados com pólen de milho e Biologia Reprodutiva de *T. howardi* alimentados com pólen de milho. O parasitismo de *T. pretiosum* apresentou diferenças na primeira geração no tratamento Bt e mel, a terceira geração apresentou diferenças entre os mesmos tratamentos e a quarta geração apresentou diferenças entre o tratamento Bt e não Bt. A viabilidade do parasitismo apresentou diferenças na segunda geração entre o tratamento Bt e não Bt. O parasitismo de *T. howardi* em pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera – Crambidae) apresentou diferenças significativas na primeira geração entre o tratamento Bt e mel. A progênie apresentou diferenças na quarta geração no tratamento mel. A razão sexual apresentou diferenças significativas na terceira geração no tratamento Bt. Essas informações são importantes por contribuírem para o conhecimento dos impactos que as culturas transgênicas podem vir a causar nos inimigos naturais.

Palavras-chave: controle biológico, parasitoides, milho Bt.

## ABSTRACT

SOUSA, M.F. Universidade Federal da Grande Dourados, October 2015. **Biology of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Tetrastichus howardi* (Olliff,1893) (Hymenoptera: Eulophidae) fed with corn pollen.** Advisor: Marcos Gino Fernandes.

Parasitoids are part of the complex of natural enemies used in programs of biologic control. With the advent of biotechnology, the crop areas cultivated with transgenics have risen, which made the transgenic cultivars the most adopted agricultural technology in modern history. However, the Bt crops may present direct and indirect effects on the non-target organisms. The general objective of this research, was to evaluate the effects Bt corn pollen on *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoids. With that aim, the following experiments were developed: Biological characteristics of *T. pretiosum* fed with corn pollen and reproductive biology of *T. howardi* fed with corn pollen. The parasitism of *T. pretiosum* presented differences in the first generation fed with Bt pollen and honey treatment, the third generation presented differences between Bt pollen and honey and the fourth generation presented differences between the Bt and non-Bt treatment. The viability of parasitism presented differences in the second generation between Bt and non-Bt. The parasitism of *T. howardi* in *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera – Crambidae) pupae presented significant differences in the first generation between the treatment with Bt and honey. The progeny presented differences in the fourth generation of the honey treatment. The sexual proportion presented significant differences in the third generation of the Bt pollen treatment. This information contribute to the knowledge about the impacts that transgenic crops may cause in the natural enemies.

Keywords: biologic control, parasitoids, Bt corn.

## INTRODUÇÃO GERAL

A necessidade de alimentar a crescente população mundial, aliado à proximidade do fim das fronteiras agrícolas no mundo, faz com que seja necessária a utilização de novas técnicas de cultivos. Nesse cenário se encontram as plantas contendo as proteínas de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt). A utilização dessas plantas se tornou uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas (MIP), em especial de lagartas, se mostrado eficiente em diversas culturas (Yu et al., 2011).

A área mundial cultivada com variedades transgênicas teve um aumento de mais de cem vezes, passando de 1,7 milhões de hectares em 1996 para mais de 181 milhões de hectares em 2014 o que torna as cultivares transgênicas a tecnologia agrícola mais adotada na história moderna (James, 2014). O Brasil é o segundo país em área ocupada com cultivares transgênicas sendo 42,2 milhões de hectares entre soja, milho e algodão (James, 2014).

Os inimigos naturais desempenham importante papel na regulação de populações dos insetos que atacam as culturas agrícolas, utilizando como hospedeiros ovos, lagartas, pupas e adultos de outros insetos (Pereira et al., 2008a, 2008b; Zanuncio et al., 2008).

Devido ao importante papel que os inimigos naturais desempenham nos agroecossistemas, tem se discutido quais os efeitos que as plantas geneticamente modificadas podem vir a causar nos organismos não-alvo, pois no campo não se encontram somente pragas, mas também insetos benéficos, como predadores e parasitoides, que desempenham um importante papel na regulação das populações de herbívoros. Em termos ecológicos, essa hierarquia é denominada interação tritrófica, onde a planta representa o primeiro nível trófico, o inseto- praga, o herbívoro ou a presa representa o segundo nível trófico e os inimigos naturais, o terceiro nível (De Moraes et al., 2000).

Nesse sentido, há uma crescente preocupação sobre as possíveis consequências da alimentação dos insetos parasitoides nas plantas geneticamente modificadas. Sabe-se que esses agentes de controle natural alimentam-se de pólen e néctar das plantas, o que aumenta sua longevidade e fertilidade quando comparado com os indivíduos privados dessa alimentação (Wang et al., 2007).

A presente dissertação encontra-se dividida em dois capítulos, onde no primeiro capítulo foi realizado o estudo das características biológicas de *Trichogramma*

*pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) com fêmeas adultas alimentadas com pólen de milho.

No segundo capítulo foi realizado o estudo da biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) com fêmeas adultas alimentadas com pólen de milho.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Plantas Geneticamente Modificadas

A bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) é um dos agentes microbianos mais estudados no controle de pragas podendo ser encontrada no solo, água, insetos mortos e algumas plantas (Bravo et al., 2011).

Plantas geneticamente modificadas (Bt) que apresentam resistência a insetos são obtidas através de uma modificação genética com a introdução de um gene obtido de uma bactéria do solo *B. thuringiensis* que produz uma proteína inseticida (Polanczyk et al., 2008).

O uso de plantas geneticamente modificadas traz algumas vantagens dentre as quais podemos destacar: aumento da produção agrícola (Betz et al., 2000); níveis menores de micotoxinas que são compostos tóxicos produzidos por fungos (Dowd, 2000) e redução na aplicação de inseticidas (Romeis et al., 2006).

As culturas Bt podem apresentar efeitos de maneira direta e indireta sobre os organismos não-alvo (Lovei et al., 2009; Naranjo, 2009). Efeitos diretos podem ocorrer pela ingestão de tecidos de plantas por organismos não-alvo, já os efeitos indiretos podem ocorrer por interações multitróficas que são as diferentes inter-relações que ocorrem entre os organismos que estão presentes no ambiente (Craig et al., 2008).

### 1.2 Cultura do milho

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é uma importante cultura na alimentação humana e animal, sendo, no Brasil, esse cereal é cultivado na safra de verão e na safrinha. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho com uma área de quase 15 milhões de hectares (Conab, 2015).

Diversos fatores podem comprometer a produção, como a incidência de pragas, que podem causar prejuízos e importante impacto econômico. A cultura possui um amplo complexo de pragas e dentre estas se destaca a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), um inseto que ataca diversas espécies vegetais em diferentes famílias botânicas é considerada a principal praga da cultura do milho, no Brasil (Lima Jr et al., 2012).

Outro inseto-praga de importância econômica na cultura do milho é *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) considerado praga de grande importância econômica para a cultura do milho. As lagartas recém eclodidas alimentam-se do tecido foliar da planta, e, posteriormente penetram no interior do colmo,

construindo galerias e causando a obstrução de seiva nos vasos condutores da planta (Cruz et al., 2011). Como a lagarta completa o seu desenvolvimento no interior da planta o que acaba dificultando o controle químico deste inseto, a utilização do controle biológico se torna de grande importância, especialmente o uso de parasitoides, para o manejo desta praga.

Os inimigos naturais, insetos predadores e parasitoides são de suma importância para os agroecossistemas, pois além de desempenharem um papel ecológico no ambiente, os mesmos podem ser associados a métodos alternativos de controle de pragas-alvo através da criação massal em laboratório (Gallo et al., 2002).

Os inimigos naturais exercem o papel de reguladores das populações de insetos pragas. O controle biológico é uma das ferramentas do Manejo Integrado de Pragas (MIP), pois atende aos pré-requisitos básicos de eficiência em campo e de biossegurança, além de ser compatível com outras estratégias empregadas no MIP, de custo relativamente baixo e ecologicamente adequado.

### **1.3 Inimigos naturais**

Dentre os inimigos naturais destacam-se os parasitoides, insetos que têm pelo menos uma fase de seu desenvolvimento associada ao hospedeiro, do qual se alimenta e completa seu ciclo de vida. São estimadas aproximadamente 200 mil espécies de parasitoides, que ocupam principalmente as ordens Hymenoptera e Díptera (Parra et al., 2002).

Dentre eles, destacam-se os parasitoides de ovos por apresentarem a característica de eliminar a praga em seu primeiro estágio de desenvolvimento, antes mesmo de causarem qualquer injúria às plantas. Outro aspecto que faz dos parasitoides de ovos bons agentes de controle é o fato de que podem alcançar a praga em todas as regiões da planta, diferentemente dos inseticidas, que muitas vezes não são eficientes por não atingirem as pragas protegidas no dossel da planta entre as folhas (Bueno et al., 2012).

Himenópteros parasitoides são importantes inimigos naturais de insetos-praga utilizados em larga escala em programas de controle biológico devido a sua especificidade e facilidade de criação (Van Lenteren, 2012).

Os parasitoides de ovos são parte do complexo de inimigos naturais que estão presentes no ambiente, sendo muitos deles utilizados no controle biológico de pragas como as espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). As espécies

do gênero *Trichogramma* são as mais estudadas e utilizadas atualmente no mundo pela eficiência e fácil manutenção em laboratório (Parra & Zucchi, 2004). Esses parasitoides de ovos são importantes, pois impedem que seus hospedeiros principalmente da Ordem Lepidoptera, atinjam a fase larval na qual causam prejuízos à cultura (Olson & Andow, 2006), dispensando assim medidas de controle.

*Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário com potencial pra utilização como alternativa para o controle de lepidópteras-pragas (La Salle e Polaszek, 2007). Este parasitoide possui a capacidade de parasitar duas fases (lagartas e pupas) do seu hospedeiro natural *D. saccharalis* (Pereira et al., 2015).

#### **1.4 Impacto das plantas geneticamente modificadas sobre organismos não-alvo**

Vários estudos têm sido realizados com espécies não alvos para demonstrar os possíveis efeitos da toxina Bt sobre estes organismos, desde estudos com predadores, polinizadores e parasitoides. Dequech et al. (2005) estudou a interação entre o parasitoide *Campoletis flavicineta* (Ashmead, 1890) e *B. thuringiensis aizawai* em lagartas de *S. frugiperda* em condições de laboratório. Neste trabalho, foi avaliado o consumo alimentar e a mortalidade de lagartas parasitadas, infectadas pela bactéria, e parasitadas e infectadas, além da biologia dos parasitoides que emergiram a partir de lagartas infectadas e não infectadas pela bactéria. O menor consumo foliar e a maior taxa de mortalidade foram observadas em lagartas afetadas pelos dois agentes de controle biológico. Já no caso do parasitoide, não se verificou alterações nas características biológicas dos seus descendentes que emergiram de lagartas infectadas com *B. thuringiensis*.

Vojtech et al. (2005) estudando o efeito do milho Bt sobre o herbívoro não-alvo *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) observou efeitos negativos no desenvolvimento deste lepidóptero; este efeito foi observado também no parasitoide *Cotesia marginiventris* (Cresson, 1865) quando este se desenvolvia em hospedeiros oriundos de alimentação com milho Bt.

Ramirez-Romero et al. (2007) avaliaram o efeito da toxina Cry1Ab sobre o parasitoide *C. marginiventris* mediados pelo hospedeiro *S. frugiperda* através de dois experimentos. Um com a liberação da toxina purificada via dieta artificial e outro com a liberação da toxina via tecido foliar de milho Bt. No primeiro experimento não foram verificados efeitos da toxina sobre o parasitoide. Todavia, quando Cry1Ab foi liberada

via tecido foliar foram afetados o tempo de desenvolvimento, tamanho do adulto e fecundidade do parasitoide.

Li et al. (2008) estudando o efeito do pólen de milho Bt sobre adultos do predador *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836) concluíram que este predador não foi afetado pela toxina Bt.

Santos et al. (2011) investigando os efeitos do uso da toxina de *B. thuringiensis* sobre o parasitoide *T. pretiosum*, verificou que os parâmetros biológicos como a capacidade de parasitismo, a viabilidade do parasitismo bem como a razão sexual não foram afetados.

Perry et al. (2012) desenvolveu um modelo matemático que estimou os efeitos do pólen de milho Bt expressando a proteína Cry1F sobre cinco espécies de lepidópteros não-alvo e através do mesmo propôs medidas para mitigação. Holst et al (2013) utilizando-se também de um modelo matemático mostrou que larvas da borboleta *Inachis io* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae) correm um risco real de exposição à toxina presente no milho Bt (MON 810).

Mota et al. (2013) estudando a distribuição espacial do predador *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus 1763) (Coleoptera: Coccinellidae) em campo de milho Bt e não-Bt, observou que as suas densidades não foram afetadas pelo milho Bt.

## OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar a biologia de fêmeas adultas de *Trichogramma pretiosum* e *Tetrastichus howardi* alimentadas com pólen de milho Bt (MON 89034), comparados com os parasitoides alimentados com o pólen das cultivares convencionais. Para isso, foram desenvolvidos os seguintes trabalhos:

1. Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) com fêmeas adultas alimentadas com pólen de milho.
2. Biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) com fêmeas adultas alimentadas com pólen de milho.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a duração do período de desenvolvimento de ovo até a fase adulta, porcentagem de emergência, número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo, número de adultos emergidos por ovo, longevidade das fêmeas e razão sexual de *T.pretiosum*.
  
- b) Avaliar o parasitismo, emergência, ciclo de vida (ovo-adulto) (dias), número de fêmeas emergidas, número de machos emergidos, o total de parasitoides emergidos (machos e fêmeas), razão sexual, progênie das fêmeas e a longevidade dos descendentes provenientes de cada geração de *T. howardi*.

### **HIPÓTESE**

O consumo de pólen de milho Bt (MON 89034) não afeta as características biológicas dos parasitoides *T. pretiosum* e *T. howardi*.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BETZ, F. S., HAMMOND, B. G., FUCHS, R. L. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 32, p. 156-173, 2000.

BRAVO, A., LIKITVIVATANAVONG, S., GILL, S.S., SOBERÓN, M. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford, v. 41, p.423-431, 2011.

BUENO, A.F.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F.; BUENO, R.C.O.F. Inimigos naturais das pragas de soja. In: Soja, Manejo Integrado de Insetos e outros Artropodes-Praga: Hoffman-Campo, C.B., Corrêa-Ferreira, B.S., Moscardi, F. Embrapa Soja. Londrina-PR. 859p. 2012.

Disponível em:<  
[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_08\\_18\\_10\\_30\\_18\\_boletim\\_graos\\_agosto\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf)> Acesso em: 17 de agosto de 2015.

CRAIG, W., TEPFER, M., DEGRASSI, G., RIPANDELLI, D. An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. *Euphytica*, Wageningen, v. 164, p. 853-880, 2008.

CRUZ, I., A. C. REDOAN., R. B. SILVA., M. L. C. FIGUEIREDO., A. M.PENTEADO-DIAS. New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. *Scientia Agricola* 68: 252-254. 2011.

DE MORAES, C. M. DE., LEWIS, W. J., TUMLINSON, J. H. Examining plant-parasitoid interaction in tritrophic systems. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 29, n.2, p.189-203, 2000.

DEQUECH, S.T.B., SILVA, R.F.P. DA., FIUZA, L. M. Interação entre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), *Campoletis flavicincta* (Ashmead) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Bacillus thuringiensis aizawai*, em laboratório. *Neotropical Entomology*. 34(6): 937-944. 2005.

DOWD, P. F. Indirect reduction of ear molds and associated mycotoxins in *Bacillus thuringiensis* corn under controlled and open field conditions: utility and limitations. *Journal of Economic Entomology*, v. 93, n. 6, p. 1669-1679, 2000.

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

HOLST, N., LANG, A., LÖVEI, G., OTTO, M. Increased mortality is predicted of *Inachis io* larvae caused by Bt-maize pollen in European farmland. *Ecological Modelling* 250: 126-133.2013.

JAMES, C. *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2014*. ISAAA Brief No. 49. 2014. ISAAA: Ithaca, NY.

LA SALLE, J., POLASZEK, A. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *African Entomology*, v. 15, p. 45-56, 2007.

LIMA JR IS., DEGRANDE PE., MELO EP., BERTONCELLO TF & SUEKANE R. Infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. *Revista Agrarian*, 5:14-19.2012.

LI Y., MEISSLE M., ROMEIS J. Consumption of Bt maize pollen expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 does not harm adult green lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *PLOS One* 3:e 2909. 2008.

LOVEI, G. L., ANDOW, D. A., ARPAIA, S. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a Detailed Review of Laboratory Studies. *Environmental Entomology*, College park, v. 38, n.2, p. 293-306, 2009.

MOTA T.A., FERNANDES M.G., ALEGRE E.A., SOUSA M.F., TIAGO E.F., & LOURENÇÃO A.L.F. Can Bt maize change the spatial distribution of predator *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinelidae)? *African Journal of Biotechnology* 12: 6086–6090.2013.

NARANJO, S. E. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, v. 11, p. 1-11, 2009.

OLSON, D. M., ANDOW, D. A. Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle e Davis (Hymenoptera; Trichogrammatidae) on various surfaces. *Biological Control*, v. 39, n. 3, p. 329-335, 2006.

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

PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* no Brasil: viabilidade de uso após vinte anos de pesquisa. *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 33, n. 3, p. 271-282, 2004.

PERRY, J. N., DEVOS, Y., ARPAIA, S., BARTSCH, D., EHLERT, C., GATHMANN, A., S.HAILS, R., B. HENDRIKSEN, N., KISS, J., MESSEAN, A., MESTDAGH, S., NEEMANN, G., NUTI, M., B. SWEET, J., & C. TEBBE, C. Estimating the effects of Cry1F Bt maize pollen on non-target Lepidoptera using a mathematical model of exposure, *Journal of Applied Ecology* 49. 29–37. 2012.

PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, J.C., TAVARES, M.T., PASTORI, P.L., JACQUES, G.C., VILELA, E.F. New record of *Trichospilus diatraeae* as a parasitoid of the eucalypt defoliator *Thyrintea arnobia* in Brazil. *Phytoparasitica*, v. 36, n. 03, p. 304-306, 2008a.

PEREIRA, F.F., ZANUNCIO, T.V., ZANUNCIO, J.C., PRATISSOLI, D., TAVARES, M.T. Species of Lepidoptera defoliators of eucalypt as new hosts for the polyphagous parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 51, n. 02, p. 259-262, 2008b.

PEREIRA, F. F., KASSAB, S. O., CALADO, V. R. F., VARGAS, E. L., OLIVEIRA, H.N., ZANUNCIO, J. C. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. *The Florida Entomologist JCR*, v. 98, p. 384-387, 2015.

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

RAMIREZ-ROMERO, R., BERNAL, J.S., CHAUF AUX, J.; KAISER. L. Impact assessment of Bt-maize on a moth parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae), via host exposure to purified Cry1Ab protein or Bt-plants. *Crop Protection, Guildford*, v. 26, p. 953-962, 2007.

ROMEIS, J., MEISSLE, M., BIGLER, F. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology*, v. 24, n. 1, p. 63-71, 2006.

SANTOS, JR H.J.G., MARQUES, E.J., PRATISSOLI, D., KLOSS, T.G., MACHADO, L.C., ANDRADE G.S. Efeito de *Bacillus thuringiensis* (Bacillaceae) sobre parâmetros biológicos do parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae). *Natureza On Line (Espírito Santo)*, v. 9, p. 1-6.2011.

VAN LENTEREN, J.C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, v. 57, p. 1-20, 2012.

VOJTECH, E., MEISSLE, M., POPPY, G.M. Effects of Bt maize on the herbivore *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). *Transgenic Research* 14:133–144. 2005.

WANG, Z.Y., WU, Y., K.L. HE & S.X. BAI. Effects of transgenic B.t maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. *Bulletin of Insectology* 60: 49-55. 2007.

YU, H.L., YUN, H.L., KONG, M.W. Risk assessment and ecological effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* crops on non-target organisms. *Journal of Integrative Plant Biology*. 53: 520-538. 2011.

ZANUNCIO, J. C., PEREIRA, F. F., JACQUES, G. C., TAVARES, M.T., SERRÃO, J.E. *Tenebrio molitor* Delvare & LaSalle (Coleoptera: Tenebrionidae), a new alternative host to rear the pupae parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). *The Coleopterists Bulletin*, v. 62, p. 64-66, 2008.

## CAPÍTULO 1

**Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:  
Trichogrammatidae) alimentados com pólen de milho**

\*Artigo preparado de acordo com as normas do periódico BioControl

Maria Freire de Sousa<sup>1</sup>; Marcos Gino Fernandes<sup>2</sup>;

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados-Itahum, Km 12. 79804-970 Dourados-MS, Brasil. E-mail:marialuz1920@hotmail.com; marcosfernandes@ufgd.edu.br

RESUMO- Parasitoides de ovos são parte do complexo de inimigos naturais que estão presentes no ambiente, os quais podem ser afetados pela toxina Bt amplamente utilizada no Brasil. O objetivo foi avaliar o efeito do pólen de milho Bt sobre o parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). Foram realizadas três combinações de tratamentos (dietas): pólen de milho Bt, pólen de milho não Bt e solução de mel a 10%. Em cada tratamento foram utilizadas 50 fêmeas recém emergidas e acasaladas (entre 24 e 36 h de idade). As características biológicas do parasitoide foram avaliadas por quatro gerações. Os resultados, desse estudo, sugerem que o consumo de pólen não afetou de maneira significativa as características biológicas do parasitoide avaliadas por quatro gerações, tendo em vista que apenas alguns parâmetros da biologia do inseto apresentaram variação ao longo das gerações.

Palavras chave: MIP, Interação inseto- planta, parasitoide de ovos, Cry1Ab

ABSTRACT- egg parasitoids are part of the natural enemies complex that are present in the agricultural environment, which may be affected by the Bt toxin widely used in Brazil. The aim was to evaluate the effect of the Bt corn pollen on the parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the eggs of the alternate host *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). Three combinations of treatments (diets) were made: Bt corn's pollen, pollen of non-Bt corn and a honey solution at 10%. In each treatment were utilized 50 females, freshly emerged and mated (between 24 and 36 hours age). The biological features of the parasitoid were evaluated for four generations. The results of this study suggest that the consumption of pollen did not affect in a significant way the biological characteristics of the parasitoid evaluated for four generations, considering that only some parameters of the insect's biology presented variation along the generations.

Keywords: IPM, Insect-plant interaction, parasitoid eggs, Cry1Ab

## Introdução

A cultura do milho *Zea mays* L. é umas das mais importantes no mundo no contexto social e econômico. O Brasil é o terceiro maior produtor de milho com uma área plantada de quase 15 milhões de hectares (Conab, 2015).

Diversos fatores podem comprometer a produção, como a incidência de pragas, que pode determinar prejuízos na produção, com importante impacto econômico. A cultura possui um amplo complexo de pragas e, dentre estas, se destaca a lagarta do cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), um inseto que ataca diversas espécies vegetais de diferentes famílias botânicas, sendo considerada a principal praga da cultura do milho, no Brasil (Lima Jr et al., 2012).

Os parasitoides de ovos são parte do complexo de inimigos naturais que estão presentes no ambiente, sendo muitos deles utilizados no controle biológico de pragas como é o caso das espécies de *Trichogramma* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). Esses parasitoides são usados no controle de pragas em diferentes culturas pelo mundo (Consoli et al., 2010). Uma das vantagens da sua utilização é a facilidade de criação em laboratório, o que torna possível o sucesso da sua produção e comercialização quando criado em hospedeiro alternativo (Wang et al., 2013).

Esses parasitoides de ovos são importantes, pois impedem que seus hospedeiros principalmente da Ordem Lepidoptera, atinjam a fase larval na qual causam prejuízos à cultura (Olson & Andow, 2006), dispensando assim medidas de controle.

O pólen de milho é uma importante fonte de recurso alimentar para os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* (Wang et al., 2007).

Apesar dos benefícios, existem possíveis riscos relativos às plantas geneticamente modificadas. Entretanto, adultos de parasitoides de ovos têm possibilidade de exposição direta a proteínas de plantas geneticamente modificadas

quando em contato com néctar extrafloral, pólen e outros fluidos de plantas, tais como seivas (xilema, floema) e fluídos provenientes de tecidos danificados (Cônsoli et al., 2010).

O uso de métodos integrados de controle constitui-se um dos princípios básicos do manejo integrado de pragas (MIP). Juntamente com o controle biológico, a utilização de plantas geneticamente modificadas resistentes a insetos tornou-se uma importante ferramenta no manejo integrado de pragas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do pólen de milho sobre as características biológicas de fêmeas adultas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

## **Material e Métodos**

### **Origem dos parasitoides**

Os parasitoides adultos de *T. pretiosum* utilizados no estudo foram provenientes de criação mantida em câmara climatizada tipo B. O. D. sob temperatura constante de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de 70% e fotofase de 14 horas, no Laboratório de Criação de Insetos (LCI) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). A metodologia usada na criação e multiplicação do parasitoide *T. pretiosum* baseou-se na metodologia descrita por Parra (1997).

### **Ovos do hospedeiro**

Foram utilizados ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), provenientes de criação mantida no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). A metodologia empregada na criação do hospedeiro alternativo *A. kuehniella* foi à desenvolvida por Parra (1997), porém adaptada às condições do laboratório. Os ovos utilizados para a realização dos experimentos eram retirados no dia.

### **Fonte de Pólen**

O pólen do milho utilizado no experimento foi obtido a partir do milho transgênico Bt (MON 89034) expressando a proteína Cry1A105 e Cry2Ab2 e do milho convencional DKB177. O pólen do milho Bt e não Bt foi coletado diretamente das plantas de milho na Fazenda Experimental da UFGD. A área de plantio era de 0,5 hectares e foi cultivada sob sistema de plantio convencional, sem aplicação de inseticidas durante o período de coleta de pólen.

Para a coleta do pólen foram colocados sacos de papel no pendão da planta durante a antese os quais foram devidamente grampeados e recolhidos após 48h. Os sacos de papel contendo pólen foram coletados e levados ao Laboratório LCI, onde foi peneirado, colocado em frascos plásticos e armazenados em geladeira na temperatura de 4° C, segundo metodologia adaptada de Wang et al. (2007).

### **Bioensaios**

Foram realizados três tratamentos (dietas): pólen de milho Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), pólen de milho não Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%) e solução de mel a 10% (controle), segundo metodologia adaptada de Wang et al. (2007). Para cada tratamento foram utilizadas 50 fêmeas recém emergidas e acasaladas (entre 24 e 36 h de idade) individualizadas em microtubos tipo eppendorf (4,5 cm) contendo uma cartela de (4,5 x 0,9 cm) com 30 ovos de *A. kuehniella* e uma gota da respectiva fonte alimentar. O parasitismo foi permitido por 24h, depois disso, as fêmeas foram mortas e as cartelas com ovos parasitados transferidas para sacos plásticos (23 x 4 cm) fechados e mantidos em câmara climatizada a temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 70% e fotofase de 14 horas, até a emergência dos descendentes. Este procedimento foi repetido até a quarta geração.

Após a emergência dos descendentes, foi montado o experimento de longevidade dos mesmos, sendo utilizadas 50 fêmeas recém emergidas e acasaladas (entre 24 e 36h de idade) e individualizadas em microtubos tipo eppendorf (4,5 cm) com uma gota de cada respectiva fonte alimentar.

As variáveis analisadas foram: duração do período de desenvolvimento de ovo até a fase adulta (duração do ciclo em dias), porcentagem de emergência (número de indivíduos emergidos por ovo), número de ovos parasitados (ovos com orifício) porcentagem de parasitismo (número de ovos parasitados dividido pelo número de ovos ofertados para o parasitismo vezes 100), número de adultos emergidos por ovo (número de indivíduos emergidos dividido por número de ovos com orifício), longevidade das fêmeas (duração em dias) e razão sexual (divisão do número de fêmeas pelo total de indivíduos emergidos) sendo estas fêmeas sexadas de acordo com Querino & Zucchi (2011).

### **Análise Estatística**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e 50 repetições avaliadas por quatro gerações. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

### **Resultados**

O parasitismo de *T. pretiosum* apresentou altas porcentagens ao longo das gerações variando entre 52% e 92%. A primeira geração apresentou diferença entre o tratamento Bt e mel sendo que este apresentou o menor valor. A segunda geração não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. A terceira geração apresentou diferença entre o tratamento Bt e mel sendo que este apresentou o menor valor. Na

quarta geração houve diferenças entre o tratamento Bt e não Bt, sendo que o tratamento Bt apresentou o menor valor (Tabela I).

A viabilidade do parasitismo alcançou valores superiores a 70% em todos os tratamentos. Na primeira geração não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Na segunda geração ocorreu diferenças entre o tratamento Bt e não Bt. Na terceira e quarta geração não ocorreu diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela I).

Os valores obtidos para a razão sexual não diferiram estatisticamente entre as gerações e os tratamentos analisados, com índices de 0,82 a 0,93 (Tabela I).

Os valores obtidos para o número de indivíduo por ovo variou de 0,95 a 1,58 sendo que nas três primeiras gerações não houve diferenças entre os tratamentos analisados, já a quarta geração o tratamento mel diferiu dos demais (Tabela I).

A longevidade dos descendentes não apresentou diferenças significativas na primeira, segunda e quarta geração. Na terceira geração verificou-se maior longevidade das fêmeas no tratamento Bt, entretanto os demais não diferiram estatisticamente (Tabela I).

O parasitismo de *T. pretiosum* comparando-se as gerações apresentou diferenças no tratamento Bt na segunda geração. O tratamento não Bt apresentou diferença na segunda geração. O tratamento mel apresentou diferença na quarta geração (Tabela II).

A viabilidade comparando-se as gerações apresentou diferenças no tratamento Bt na quarta geração. O tratamento não Bt apresentou diferença na primeira geração. O tratamento mel não apresentou diferenças ao longo das gerações (Tabela II).

A razão sexual não apresentou diferenças entre os tratamentos ao longo das gerações o que também ocorreu em relação ao número de indivíduos por ovo (Tabela II).

A longevidade dos descendentes comparando-se as gerações apresentou diferença no tratamento Bt na quarta geração. O tratamento não Bt não apresentou diferenças ao longo das gerações. O tratamento mel apresentou diferença na quarta geração (Tabela II).

**Tabela I.** Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentados com pólen de milho

1ª Geração	Parasitismo (%)	Viabilidade do parasitismo	Razão Sexual	Nº de Indivíduos / ovo	Longevidade Fêmeas (Dias)
Mel + pólen de milho Bt	75,45 ± 3,34 a	0,71 ± 0,02 a	0,93 ± 0,02 a	1,04 ± 0,03 a	10,42 ± 0,32 a
Mel+ pólen de milho convencional	72,66 ± 4,19 ab	0,78 ± 0,03 a	0,87 ± 0,03 a	0,96 ± 0,05 a	9,90 ± 0,39 a
Mel	61,59 ± 4,15 b	0,78 ± 0,04 a	0,86 ± 0,03 a	1,02 ± 0,04 a	10,66 ± 0,35 a
2ª Geração					
Mel + pólen de milho Bt	56,06 ± 3,71 a	0,75 ± 0,03 b	0,89 ± 0,02 a	1,07 ± 0,05 a	10,52 ± 0,20 a
Mel+ pólen de milho convencional	57,52 ± 2,78 a	0,88 ± 0,01 a	0,83 ± 0,02 a	0,95 ± 0,02 a	10,44 ± 0,27 a
Mel	52,83 ± 2,64 a	0,83 ± 0,03 ab	0,82 ± 0,03 a	0,96 ± 0,03 a	10,60 ± 0,26 a
3ª Geração					
Mel + pólen de milho Bt	76,99 ± 3,10 a	0,78±0,02 a	0,91± 0,02a	1,06 ± 0,04 a	11,76 ± 0,35a
Mel+ pólen de milho convencional	75,46 ± 3,53 ab	0,85±0,02 a	0,86 ± 0,03 a	1,01± 0,03 a	10,16 ± 0,28 b
Mel	64,59 ± 3,66 b	0,82±0,02 a	0,88 ± 0,02 a	1,59 ± 0,58 a	9,22 ± 0,32 b
4ª Geração					
Mel + pólen de milho Bt	84,06 ± 3,06 b	0,91 ± 0,01 a	0,90 ± 0,01 a	0,98 ± 0,01 b	10,68 ± 0,32 a
Mel+ pólen de milho convencional	92,26 ± 1,99 a	0,93 ± 0,01 a	0,91 ± 0,01 a	1,00 ± 0,008 b	10,04 ± 0,41 a
Mel	91,99 ± 2,11 ab	0,89 ± 0,02 a	0,89 ± 0,01 a	1,58 ± 0,57 a	10,24 ± 0,37 a

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela II.** Características biológicas das gerações de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) alimentadas com pólen de milho

Mel + pólen de milho Bt	Parasitismo (%)	Viabilidade do parasitismo	Razão Sexual	Nº de Indivíduos / ovo	Longevidade Fêmeas (Dias)
1ª Geração	74,46 ± 3,34 b	0,72 ± 0,02 b	0,93 ± 0,02 a	1,04 ± 0,03 a	10,42 ± 0,32 b
2ª Geração	56,06 ± 3,71c	0,75 ± 0,03 b	0,89 ± 0,02 a	1,07 ± 0,05 a	10,52 ± 0,20 b
3ª Geração	76,99 ± 3,10 ab	0,78 ± 0,02 b	0,91 ± 0,02 a	1,06 ± 0,04 a	11,76 ± 0,35 a
4ª Geração	87,66 ± 3,06 a	0,91 ± 0,01 a	0,90 ± 0,01 a	0,98 ± 0,01 a	10,58 ± 0,32 ab
<hr/>					
Mel+ pólen de milho convencional					
1ª Geração	72,66 ± 4,19 b	0,78 ± 0,03 b	0,87 ± 0,03 a	0,96 ± 0,05 a	9,90 ± 0,39 a
2ª Geração	57,52 ± 2,78 c	0,88 ± 0,01 a	0,83 ± 0,02 a	0,95 ± 0,02 a	10,44 ± 0,27 a
3ª Geração	75,46 ± 3,53 b	0,85 ± 0,02 ab	0,86 ± 0,03 a	1,01 ± 0,03 a	10,16 ± 0,28 a
4ª Geração	92,26 ± 1,99 a	0,93 ± 0,01 a	0,91 ± 0,01 a	1,00 ± 0,008 a	10,04 ± 0,41 a
<hr/>					
Mel					
1ª Geração	61,59 ± 4,15 b	0,78 ± 0,04 a	0,86 ± 0,04 a	1,02 ± 0,04 a	10,66 ± 0,35 a
2ª Geração	52,86 ± 2,64 b	0,83 ± 0,03 a	0,82 ± 0,03 a	0,96 ± 0,03 a	10,60 ± 0,26 a
3ª Geração	64,59 ± 3,66 b	0,82 ± 0,02 a	0,88 ± 0,02 a	1,59 ± 0,58 a	9,22 ± 0,32 b
4ª Geração	91,99 ± 2,11 a	0,89 ± 0,02 a	0,89 ± 0,01 a	1,58 ± 0,57 a	10,24 ± 0,37 ab

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Discussão

O presente estudo demonstrou que as características biológicas do parasitoide *T.pretiosum* foram pouco alteradas mediante o fornecimento de pólen de milho transgênico.

O parasitismo pode ser afetado por vários fatores como, por exemplo, hospedeiro natural do parasitoide, geração de laboratório, hospedeiro alternativo utilizado para a multiplicação das criações como citado por Pratissoli e Oliveira (1999). Além disso, outros fatores podem estar relacionados ao potencial de parasitismo, destacando-se fatores do próprio hospedeiro utilizado (Pratissoli et al., 2004a).

A viabilidade alcançou altos valores demonstrando que a alimentação e a qualidade do hospedeiro não interferiram neste parâmetro. Nicoli et al., (2004) estudando a viabilidade de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *A. uehniella* obteve altos índices de parasitismo.

A razão sexual foi alta o que é bastante desejável em programas de controle biológico, pois quanto maior o número de fêmeas maior o potencial de controle (Pratissoli et al., 2004b; Wakeil et al., 2008).

O volume do ovo é o principal fator que influencia o número de parasitoides emergidos por ovo do hospedeiro, o que também influencia o tamanho do adulto de *Trichogramma* dependendo dos recursos nutricionais disponíveis para o seu desenvolvimento (Nava et al., 2007; Dias et al., 2008).

A longevidade é importante para programas de controle biológico, pois parasitoides que tem uma longevidade maior podem ter uma maior eficiência no campo e serem capazes de parasitar por mais tempo.

A maioria dos trabalhos evidencia o efeito direto de *Bacillus thuringiensis* na alimentação da fase adulta dos inimigos naturais de pragas agrícolas, e não sobre a qualidade de seus hospedeiros quando tratados com produtos a base desta bactéria. Nesse sentido Pratissoli et al., (2006) fornecendo suspensões de *B. thuringiensis*, via alimento, para adultos de *Trichogramma pratissoli* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) relata que a bactéria não afeta o parasitismo, todavia, em alguns tratamentos, foi constatado efeito indireto sobre a emergência da progênie.

Outro estudo indicando o efeito direto na alimentação do parasitoide na fase adulta com pólen de plantas de milho, sobre fêmeas adultas de *Trichogramma ostrinae* Peng & Chen Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) mostra que o efeito do pólen na alimentação é pouco expressivo ou inexistente (Wang et al., 2007). Esses autores não verificaram quaisquer alterações na longevidade, número de ovos parasitados, viabilidade e razão sexual dos parasitoides alimentados com solução de pólen oriundos de milho transgênico e não transgênico.

Santos et al. (2011) investigando o efeito do uso da toxina de *B. thuringiensis* sobre o parasitoide *T. pretiosum*, verificou que os parâmetros biológicos como a capacidade de parasitismo, a viabilidade do parasitismo, bem como a razão sexual, não foi afetada.

Nesse contexto, o presente trabalho demonstra que a utilização do milho Bt é compatível com o emprego de *T. pretiosum* no controle biológico, pois o pólen de milho Bt não afetou apenas algumas das características biológicas deste parasitoide de ovos.

### **Conclusão**

O consumo de pólen de milho Bt via alimento não afetou de maneira significativa as características biológicas do parasitoide *T. pretiosum* avaliadas por

quatro gerações, tendo em vista que apenas alguns parâmetros da biologia do inseto apresentaram variação ao longo das gerações.

### **Agradecimentos**

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor.

### **Referências Bibliográficas**

Companhia Nacional de Abastecimento. In: Acompanhamento da Safra Brasileira.

Disponível em:

<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_08\\_18\\_10\\_30\\_18\\_boletim\\_graos\\_agosto\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf)> Acesso em: 17 de agosto de 2015.

Cônsoli FL, Parra JRP, Zucchi RA (2010) Progress in biological control egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*. Piracicaba: ESALQ, 465 p.

Dias NS, Parra JRP, Lima TCC (2008) Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramatídeos neotropicais. *Pesqu. Agropec. Bras.* 43:1467-1473.

Lima JR IS, Degrande PE, Melo EP, Bertoncetto TF, Suekane R (2012) Infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho nas condições de sequeiro e irrigado. *Rev. Agrarian.* 5:14-19.

Nava DE, Takahashi KM, Parra JRP (2007) Linhagens de *Trichogramma* e *Trichogrammatoidea* para o controle de *Stenoma catenifer*. *Pesq. Agropec. Bras.* 42:9-16.

Nicoli EM, Pratisoli D, Reis EF, Santos HS (2004) Viabilidade e razão sexual de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) sob influência do hospedeiro *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera, Pyralidae) em condições de laboratório. *Entomologia y Vecterinaria.* 11:521-533.

Olson DM, Andow DA (2006) Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle e Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on various surfaces. *Biol. Control.* 39: 329-335.

Parra JRP (1997) Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba:FEALQ. 324 p.

Pratisoli D, Oliveira HN (1999) Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley. *Pesq. Agropec. Bras.* 34: 891- 896.

Pratisoli D, Zanuncio JC, Vianna UR, Andrade JS, Guimarães E, Espindula MC (2004a) Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* on eggs of *Anagasta Kuehniella* at different temperatures. *Pesq. Agropec. Bras.* 39:193-196.

Pratissoli D, Oliveira HN, Gonçalves JR, Zanuncio JC, Holtz AM (2004b) Changes in biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) reared on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae) for 23 generations. *Biocontrol. Sci. Tech.*14:313-319.

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

Querino RB, Zucchi RA (2011) Guia de identificação para o Brasil. 1 ed. Brasília, DF/Embrapa Informações Tecnológica, 103p.

Santos JR HJG, Marques EJ, Pratissoli D, Kloss TG, Machado LC, Andrade GS Andrade. (2011) Efeito de *Bacillus thuringiensis* (Bacillaceae) sobre parâmetros biológicos do parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae). *Natureza On Line* (Espírito Santo) 9:1-6.

Wang ZY, Wu Y, He KL, Bai SX (2007) Effects of transgenic Bt maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. *B. Insectol.* 60: 49-55.

Wang ZY, He KL, Zhang F, Lu Xin, Babendreier D (2013) Mass rearing and release of *Trichogramma* for biological control of insect pests of corn in China. *Biol. Control*.67.

Wakeil NE, Farghaly HT, Ragab ZA (2008) Efficacy of inundative releases of *Trichogramma evanescens* in controlling *Lobesia botrana* in vineyards in Egypt. *J. Pest Sci.* 81:49-55.

## CAPÍTULO 2

**Biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera:  
Eulophidae) alimentados com pólen de milho Bt**

\*Artigo preparado de acordo com as normas do periódico BioControl

Maria Freire de Sousa<sup>1</sup>; Marcos Gino Fernandes<sup>2</sup>;

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA), Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados-Itahum, Km 12. 79804-970 Dourados-MS, Brasil. E-mail:marialuz1920@hotmail.com; marcosfernandes@ufgd.edu.br

RESUMO- Himenópteros parasitoides são importantes inimigos naturais de insetos pragas utilizados em larga escala em programas de controle biológico devido a sua especificidade e facilidade de criação. No entanto, o consumo de pólen de plantas transgênicas pode afetar a biologia desses inimigos naturais. O objetivo foi avaliar os efeitos do pólen de milho Bt nas características biológicas do parasitoide *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições, sendo cada uma representada por um grupo de cinco pupas de *D. saccharalis* individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento. As características biológicas do parasitoide foram avaliadas por quatro gerações. Os resultados, desse estudo, sugerem que o consumo de pólen não afetou de maneira significativa as características biológicas do parasitoide avaliadas por quatro gerações, tendo em vista que apenas alguns parâmetros da biologia do inseto apresentaram variação ao longo das gerações.

Palavras chave: controle biológico, características biológicas, parasitoide pupal, cultivar transgênica

ABSTRACT- Hymenoptera parasitoids are important natural enemies of pests and they are utilized in large scale in programs of biologic control due to their specificity and facility to reproduce. However, the consumption of transgenic plant's pollen may affect the biological parameters of these natural enemies. The aim was to evaluate the effects of Bt corn pollen on the biological characteristics of parasitoid *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893). The experiment was conducted in randomized design, with three treatments and ten replicates, being each one represented by a group of five pupae of *D. saccharalis* individualized, making a total of 50 pupae per treatment. The biological features of the parasitoids were evaluated for four generations. The results of this study suggests that the consumption of pollen did not affect in a significant way the biological features of the parasitoid evaluated for four generations, considering that only a few parameters of the insect's biology presented variation along the generations.

Keywords: biologic control, biological characteristics, parasitoid pupae, transgenic cultivar

## Introdução

O milho, *Zea mays* L., é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo tendo em vista que o mesmo é utilizado tanto na alimentação humana quanto animal (Santos, 2002). O Brasil é o terceiro maior produtor de milho com uma área plantada de quase 15 milhões de hectares (Conab, 2015).

*Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é um dos insetos considerados praga de importância econômica para a cultura do milho. As lagartas recém eclodidas alimentam-se do tecido foliar da planta, e, posteriormente penetram no interior do colmo, construindo galerias e causando a obstrução de seiva nos vasos condutores da planta (Cruz et al., 2011). Como o desenvolvimento da lagarta ocorre no interior da planta o que acaba dificultando o controle químico, o controle biológico se torna de grande importância, especialmente o uso de parasitoides, para o manejo desta praga.

Himenópteros parasitoides são importantes inimigos naturais de insetos-praga utilizados em larga escala em programas de controle biológico devido a sua especificidade e facilidade de criação (Van Lenteren, 2012).

*Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário com potencial pra utilização como alternativa para o controle de lepidópteros-pragas (La Salle e Polaszek, 2007). Este parasitoide possui a capacidade de parasitar duas fases (lagartas e pupas) do seu hospedeiro natural *D. saccharalis* (Pereira et al., 2015).

A proteína Bt é expressa em todos os tecidos da planta, incluindo pólen, em que a concentração da toxina é altamente variável (Szekacs et al., 2010). Organismos não-alvo que possam ingerir a toxina contida no pólen podem sofrer efeitos tóxicos. Estudo realizado por Holst et al., 2013 utilizando um modelo matemático mostrou que larvas da

borboleta *Inachis io* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae) corre um risco real de exposição à toxina presente no pólen milho Bt (MON 810).

O efeito do milho Bt sobre parasitoides pode ser negativo ou positivo, sendo direto ou indireto, sendo os efeitos diretos através da alimentação de partes da planta que expressam as proteínas como o pólen (Fontes et al., 2002), já os efeitos indiretos estão relacionados à qualidade do hospedeiro utilizado que vai refletir nos parâmetros biológicos, como período de desenvolvimento, menor taxa de emergência entre outros (Poppy e Sutherland, 2004; Romeis et al., 2006).

Portanto, é necessário o conhecimento sobre o comportamento dos insetos em culturas transgênicas Bt, para que se tenham informações que contribuam para o entendimento de como esta tecnologia pode impactar os inimigos naturais. Sabendo que o pólen é um recurso alimentar utilizado por diversos insetos, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do pólen de milho Bt sobre as características biológicas de fêmeas adultas de *Tetrastichus howardi*.

## **Material e Métodos**

### **Local de Condução dos Experimentos**

O experimento foi realizado no Laboratório de Criação de Insetos (LCI) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) da Universidade Federal Grande Dourados (UFGD).

### **Origem dos Insetos**

As pupas do hospedeiro *D. saccharalis* e o parasitoide *T. howardi*, utilizados no experimento foram provenientes de criação mantida no Laboratório de Entomologia/Controle Biológico (LECOBIOL), Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

### **Fonte de Pólen**

O pólen do milho utilizado no experimento foi obtido a partir do milho transgênico Bt (MON 89034) expressando a proteína Cry1A105 e Cry2Ab2 e do milho convencional DKB177. O pólen do milho Bt e não Bt foi coletado diretamente das plantas de milho na Fazenda Experimental da UFGD. A área de plantio era de 0,5 hectares e foi cultivada sob sistema de plantio convencional, sem aplicação de inseticidas durante o período de coleta de pólen.

Para a coleta do pólen foram colocados sacos de papel no pendão da planta durante a antese os quais foram devidamente grampeados e recolhidos após 48h. Os sacos de papel contendo pólen foram coletados e levados ao Laboratório LCI, onde foi peneirado, colocado em frascos plásticos e armazenados em geladeira na temperatura de 4° C segundo metodologia adaptada de Wang et al. (2007).

### **Criação do Hospedeiro *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**

Ovos viáveis de *D. saccharalis* foram acondicionados em frascos de vidro contendo dieta artificial e as lagartas recém – eclodidas permaneceram neste recipiente até o último instar. Em seguida as mesmas foram transferidas para placas de Petri com um pequeno quadrado de realimentação, onde foram mantidas até a formação das pupas (Parra, 2007).

### **Criação de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae)**

Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro vedados com algodão e com uma gotícula de mel puro. Pupas de *D. saccharalis* de 24-48 h foram expostas ao parasitismo por fêmeas de *T. howardi* durante 24 h a 25±2 °C, umidade relativa (UR) de 70±10% e fotofase de 14 h, em câmara climatizada (Vargas et al.,2011).

### **Desenvolvimento Experimental**

Foram realizados três tratamentos (dietas): pólen de milho Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%), pólen de milho não Bt (20 mg de pólen dissolvido em solução de mel a 10%) e solução de mel a 10% (controle). Pupas de *D. saccharalis* com 24-48h de idade foram acondicionadas em tubos de vidro e expostas ao parasitismo por uma fêmea de *T. howardi* por 24 h.

Após este período, a fêmea de *T. howardi* foi retirada e as pupas permaneceram individualizadas em tubos de vidro e mantidas em câmara climatizada à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  e fotofase de 14h até a emergência dos adultos de *T. howardi*. Esse procedimento foi repetido até a quarta geração de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis*.

As características biológicas avaliadas para cada uma das gerações foram: parasitismo, emergência, ciclo de vida (ovo-adulto) (dias), número de fêmeas emergidas, número de machos emergidos, o total de parasitoides emergidos (machos e fêmeas), razão sexual, progênie das fêmeas e a longevidade dos descendentes provenientes de cada geração.

Para avaliar a longevidade (dias) dos descendentes provenientes de cada geração foram selecionadas 20 fêmeas de cada tratamento. Fêmeas com 24 h foram individualizadas em tubos de vidro contendo uma gotícula de mel (tratamentos), onde permaneceram até sua morte.

O sexo dos parasitoides adultos foi determinado de acordo com as características morfológicas da antena (La Salle e Polaszek, 2007). A mortalidade natural do hospedeiro foi corrigida pela fórmula de Abbott (1925) com pupas de *D. saccharalis* individualizadas em tubos de vidro sem parasitoides.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e dez repetições, sendo cada um representada por um grupo de cinco pupas

de *D. saccharalis*, individualizadas, totalizando 50 pupas por tratamento avaliadas por quatro gerações. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

### Resultados

O parasitismo de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* foi afetado na primeira geração com diferenças significativas entre o tratamento Bt e mel (Tabela I).

A porcentagem de emergência dos parasitoides não foi afetada ao longo de quatro gerações, sendo a emergência de 100% (Tabela I).

A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. howardi* criado por quatro gerações em pupas de *D. saccharalis* apresentou uma pequena variação. Na terceira geração o tratamento Bt diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, pois neste tratamento o tempo de desenvolvimento dos parasitoides foi de 16,10 dias, estando acima dos demais tratamentos (Tabela I).

A progênie de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* na primeira geração apresentou progênie menor em relação às gerações seguintes, apresentando na quarta geração diferenças significativas no tratamento mel (Tabela I).

A razão sexual apresentou diferenças significativas na terceira geração no tratamento Bt em relação aos demais tratamentos, ocorrendo, neste tratamento, o valor mais baixo observado no experimento (Tabela I).

A progênie por fêmea apresentou diferenças significativas na terceira geração, sendo menor no tratamento Bt quando comparada aos demais tratamentos. Na quarta geração o tratamento com mel diferiu estatisticamente dos demais apresentando valor inferior (Tabela I).

A longevidade das fêmeas de *T. howardi* foi menor na primeira geração nos tratamentos Bt e não Bt, sem diferirem estatisticamente. Porém, estes diferiram do

tratamento com mel puro que apresentou longevidade maior em relação aos demais (Tabela I).

O parasitismo de *T. howardi* comparando-se as gerações apresentou diferenças no tratamento Bt na primeira geração. O tratamento não Bt apresentou diferença na primeira geração. O tratamento mel não apresentou diferenças ao longo das gerações (Tabela II).

A porcentagem de emergência dos parasitoides ao longo de quatro gerações não foi afetada sendo a emergência de 100% (Tabela II).

A duração do ciclo (ovo-adulto) de *T. howardi* comparando-se as gerações não apresentou diferenças no tratamento Bt. O tratamento não Bt apresentou diferença na quarta geração. O tratamento mel apresentou diferença na quarta geração (Tabela II).

A progênie de *T. howardi* em pupas de *D. saccharalis* comparando-se as gerações apresentou diferenças no tratamento Bt na primeira geração. O tratamento não Bt apresentou diferença na primeira geração. O tratamento mel não apresentou diferenças ao longo das gerações (Tabela II).

A razão sexual comparando-se as gerações apresentou diferença no tratamento Bt na quarta geração. O tratamento não Bt não apresentou diferenças entre as gerações. O tratamento mel apresentou diferença na segunda geração (Tabela II).

A progênie por fêmea comparando-se as gerações apresentou diferença no tratamento Bt na segunda geração. O tratamento não Bt apresentou diferença na primeira geração. O tratamento mel não apresentou diferenças ao longo das gerações (Tabela II).

A longevidade das fêmeas de *T. howardi* comparando-se as gerações não apresentou diferenças no tratamento Bt. O tratamento não Bt não apresentou diferenças

ao longo das gerações. O tratamento mel apresentou diferença na primeira geração (Tabela II).

**Tabela I.** Biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) alimentados com pólen de milho

1ª Geração	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração (Ciclo)	Progênie	Razão Sexual	Progênie /Fêmea	Longevidade Fêmeas (Dias)
Mel + pólen de milho Bt	56,00 ± 7,55 b	100% ± 0,00 a	16,64 ± 0,17 a	65,84 ± 5,6 a	0,87 ± 0,04 a	54,46 ± 3,85 a	14,10 ± 0,95 b
Mel+ pólen de milho convencional	64,50 ± 6,16 ab	100% ± 0,00 a	16,85 ± 0,26 a	51,54 ± 4,22 a	0,95 ± 0,004 a	49,30 ± 4,11 a	15,05 ± 1,36 b
Mel	84,00 ± 4,98 a	100% ± 0,00 a	16,82 ± 0,24 a	64,96 ± 3,37 a	0,86 ± 0,039 a	55,67 ± 3,88 a	22,20 ± 1,64 a
2ª Geração							
Mel + pólen de milho Bt	88,00 ± 4,42 a	100% ± 0,00 a	17,52 ± 0,61 a	86,60 ± 5,84 a	0,74 ± 0,07 a	66,27 ± 7,80 a	17,80 ± 1,37 a
Mel+ pólen de milho convencional	92,00 ± 3,26 a	100% ± 0,00 a	16,75 ± 0,44 a	87,64 ± 4,19 a	0,79 ± 0,07 a	72,63 ± 5,57 a	18,35 ± 1,58 a
Mel	92,00 ± 4,42 a	100% ± 0,00 a	16,75 ± 0,56 a	96,53 ± 4,02 a	0,69 ± 0,07 a	64,98 ± 8,40 a	16,70 ± 1,00 a
3ª Geração							
Mel + pólen de milho Bt	92,00 ± 3,26 a	100% ± 0,00 a	16,10 ± 0,20 a	99,76 ± 2,82 a	0,41 ± 0,07 b	41,34 ± 6,98 b	18,30 ± 1,28 a
Mel+ pólen de milho convencional	96,00 ± 4 a	100% ± 0,00 a	15,41 ± 0,05 b	92,52 ± 3,90 a	0,74 ± 0,05 a	71,10 ± 6,39 a	19,85 ± 1,52 a
Mel	98,00 ± 2 a	100% ± 0,00 a	15,30 ± 0,1 b	98,80 ± 3,22 a	0,91 ± 0,01 a	91,25 ± 4,06 a	20,25 ± 1,67 a
4ª Geração							
Mel + pólen de milho Bt	92,00 ± 3,26 a	100% ± 0,00 a	16,39 ± 0,17 a	83,92 ± 2,25 a	0,94 ± 0,005 a	79,64 ± 2,05 a	18,65 ± 1,79 a
Mel+ pólen de milho convencional	94,00 ± 3,05 a	100% ± 0,00 a	16,01 ± 0,05 a	80,49 ± 2,94 a	0,94 ± 0,005 a	76,89 ± 2,73 a	15,45 ± 1,26 a
Mel	92,00 ± 4,42 a	100% ± 0,00 a	16,17 ± 0,096 a	69,28 ± 2,23 b	0,95 ± 0,003a	66,61 ± 2,22 b	19,45 ± 1,04 a

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela II.** Biologia reprodutiva das gerações de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) alimentadas com pólen de milho

Mel + pólen de milho Bt	Parasitismo (%)	Emergência (%)	Duração (Ciclo)	Progênie	Razão Sexual	Progênie /Fêmea	Longevidade Fêmeas (Dias)
1ª Geração	56,00 ± 7,55 b	100% ± 0,00 a	13,31 ± 0,17 a	52,71 ± 5,6 b	0,70 ± 0,04 ab	43,67 ± 3,85 b	14,10 ± 0,95 a
2ª Geração	88,00 ± 4,42 a	100% ± 0,00 a	17,52 ± 0,61 a	86,60 ± 5,84 a	0,74 ± 0,07 ab	66,27 ± 7,80 ab	17,80 ± 1,37 a
3ª Geração	92,00 ± 3,26 a	100% ± 0,00 a	16,10 ± 0,20 a	86,60 ± 2,82 a	0,41 ± 0,07 b	41,34 ± 6,98 b	18,30 ± 1,28 a
4ª Geração	92,00 ± 3,26 a	100% ± 0,00 a	16,39 ± 0,17 a	83,92 ± 2,25 a	0,94 ± 0,005 a	79,64 ± 2,05 a	18,65 ± 1,79 a
<hr/>							
Mel+ pólen de milho convencional							
1ª Geração	64,50 ± 6,16 b	100% ± 0,00 a	16,82 ± 0,26 a	51,54 ± 4,22 b	0,95 ± 0,004 a	49,38 ± 4,11 b	15,05 ± 1,36 a
2ª Geração	92,00 ± 3,26 a	100% ± 0,00 a	16,75 ± 0,44 a	87,64 ± 4,19 a	0,79 ± 0,07 ab	72,63 ± 5,57 a	18,35 ± 1,58 a
3ª Geração	96,00 ± 4 a	100% ± 0,00 a	15,41 ± 0,05 b	92,52 ± 3,90 a	0,74 ± 0,05 b	71,10 ± 6,39 a	19,85 ± 1,52 a
4ª Geração	94,00 ± 3,05 a	100% ± 0,00 a	16,01 ± 0,05 ab	80,49 ± 2,94 a	0,94 ± 0,005 a	76,89 ± 2,73 a	15,45 ± 1,26 a
<hr/>							
Mel							
1ª Geração	84,00 ± 4,98 a	100% ± 0,00 a	16,82 ± 0,24 a	64,96 ± 3,37 b	0,86 ± 0,039 a	55,87 ± 3,88 b	22,20 ± 1,64 a
2ª Geração	92,00 ± 4,42 a	100% ± 0,00 a	16,75 ± 0,56 a	96,53 ± 4,02 a	0,69 ± 0,07 b	64,98 ± 8,40 b	16,70 ± 1,00 b
3ª Geração	98,00 ± 2 a	100% ± 0,00 a	15,30 ± 0,1 b	98,80 ± 3,22 a	0,91 ± 0,01 a	91,25 ± 4,06 a	20,25 ± 1,67 ab
4ª Geração	92,00 ± 4,42 a	100% ± 0,00 a	16,17 ± 0,096 ab	69,28 ± 2,23 b	0,95 ± 0,003 a	66,61 ± 2,22 b	19,45 ± 1,04 ab

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## Discussão

A porcentagem de parasitismo na primeira geração apresentou diferença significativa entre o tratamento Bt e não-Bt, o que não ocorreu nas gerações que se seguem, demonstrando que o alimento fornecido à fêmea não afetou esta característica. Estudo realizado por Prutz et al (2004a) entre níveis tróficos observou efeito negativo da toxina Cry1Ab no parasitismo, emergência e no peso das fêmeas do parasitoide *T. howardi*.

O número de pupas com emergência de *T. howardi* não foi influenciado ao longo das gerações sendo de cem por cento. Altas porcentagens de emergência é uma característica favorável em liberações massais, principalmente quando associadas a um bom parasitismo (Dias et al., 2008). Estudo de Prutz et al (2004b) com a toxina Cry1Ab observaram uma redução da taxa de alimentação do hospedeiro, o que resultou na redução do sucesso de emergência do parasitoide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891).

O período de desenvolvimento dos parasitoides não apresentou grandes alterações, o que demonstra a qualidade do hospedeiro e também que a fonte de alimentação utilizada pela fêmea do parasitoide não interferiu nas características biológicas dos seus descendentes.

O período de desenvolvimento deste parasitoide em diferentes hospedeiros é variável, mas, em geral, o ciclo tem a duração de 14 a 17 dias, como no presente estudo. A variação no período de desenvolvimento pode ser devido à disponibilidade nutricional, a resposta do hospedeiro e tamanho da pupa, onde o parasitoide se desenvolveu (Favero et al., 2013).

A progênie de *T. howardi* apresentou um aumento após a primeira geração em laboratório. A progênie do parasitoide depende dos recursos disponíveis e da qualidade do hospedeiro (Barbosa et al., 2008, 2010).

A razão sexual apresentou alteração em sua terceira geração no tratamento Bt e não-Bt, ocorrendo, nestes tratamentos, os valores mais baixos. Nas demais gerações não houve diferenças entre os tratamentos, fato este que evidencia importante fator de qualidade, pois são as fêmeas que exercem o controle dos insetos pragas na cultura. A eficiência do controle de pragas no campo e a retenção de parasitoides na cultura dependem da proporção entre os sexos (Vacari et al., 2012).

A razão sexual em *T. howardi* maior que 0,87 é ideal para a multiplicação em laboratório e liberações em campo, pois são as fêmeas as responsáveis pela próxima geração (Rodrigues et al., 2013). No entanto, uma razão sexual baixa pode comprometer a eficiência do parasitismo de *T. howardi* devido ao menor número de fêmeas (Pereira et al., 2009a, b, 2010a, b, 2011).

A longevidade das fêmeas apresentou variação no tratamento não-Bt entre a primeira e a terceira geração, apresentando longevidade menor que a terceira geração. A longevidade é importante para programas de controle biológico, pois, faz com que os inimigos naturais permaneçam na cultura por mais tempo (Sorensen et al., 2012).

Belloti et al., 2012 observou que a longevidade das fêmeas de *T. howardi* é maior do que a de outros parasitoides como *Trichogramma* sp. e *Cotesia* sp). Isso demonstra que as fêmeas de *T. howardi* têm mais tempo para localizar e parasitar o hospedeiro no campo, o que é uma vantagem importante, porque, em condições de campo, o parasitismo sozinho pode ser suficiente para prevenir a continuação do ciclo da praga.

O fato do pólen de milho Bt alterar apenas algumas das características biológicas do inseto ao longo das gerações estudadas indica que os cultivos de milho transgênico não alteram a potencialidade de ação desse importante agente de controle. Essas informações confirmam que o uso de plantas transgênicas pode ser mais uma

ferramenta dentro das várias estratégias utilizadas pelo MIP, desde que utilizada de maneira consciente para que não se perca o valor desta tecnologia.

### **Conclusão**

O consumo de pólen de milho Bt via alimento não afetou de maneira significativa as características biológicas do parasitoide *T. howardi* avaliadas por quatro gerações, tendo em vista que apenas alguns parâmetros da biologia do inseto apresentaram variação ao longo das gerações.

### **Agradecimentos**

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor.

### **Referências Bibliográficas**

Abbott WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.

Barbosa LS, Couri MS, Coelho VMA (2008) Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomya macellaria* (Fabricius, 1758) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitoide. Biota Neotrop. 8:49-54.

Barbosa LS, Couri MS, Coelho VMA (2010) Desempenho do parasitoide *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae) utilizando como hospedeiro

*Cochliomyia macellaria* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae), sob diferentes tempos de exposição. Rev. Bras. Entomol. 54:125-129.

Bellotti A, Campo BVH, Hyman G (2012) Cassava production and pest management: present and potential threats in a changing environment. Tropical Plant Biology, 5:39-72.

Companhia Nacional de Abastecimento. In: Acompanhamento da Safra Brasileira. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_08\\_18\\_10\\_30\\_18\\_boletim\\_graos\\_agosto\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_08_18_10_30_18_boletim_graos_agosto_2015.pdf)> Acesso em: 17 de agosto de 2015.

Cruz I, Redoan AC, Silva RB, Figueiredo MLC, Penteado-Dias AM (2011) New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. Sci. Agric. 68: 252-254.

Dias NS, Parra JRP, Lima TCC (2008) Seleção de hospedeiro alternativo para três espécies de tricogramatídeos neotropicais. Pesqu. Agropec. Bras. 43:1467-1473.

Fávero K, Pereira FF, Kassab SO, Oliveira HN, Costa DP, Zanuncio JC (2013) Biological characteristics of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) are influenced by the number of females exposed per pupa of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Fla. Entomol. 96:583-589.

Fontes EMG, Pires CSS, Sujji ER, Panizzi AR (2002) The environmental effects of genetically modified crops resistant to insects. *Neotrop. Entomol.* 31: 497-513.

Holst N, Lang A, Lövei G, Otto M (2013) Increased mortality is predicted of *Inachis io* larvae caused by Bt-maize pollen in European farmland. *Ecol. Modell.* 250: 126-133.

La salle J, Polaszek A (2007) Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). *Afr. Entomol.* 15: 45-56.

Parra JRP (2007) Técnicas de Criação de Insetos para Programa de Controle Biológico. 6. ed. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, p. 134.

Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Oliveira HN, Fávero K, Grance ELV (2009a) Progenie de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) parasitando pupas de *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) de diferentes idades. *Neotrop. Entomol.* 38: 660-664.

Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Pastori PL, Ramalho FS (2009b) Reproductive performance of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) with previously refrigerated pupae of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Braz. J. Biol.* 69: 865-869.

Pereira FF, Zanuncio JC, Pastori PL, Pedrosa AR, Oliveira HN (2010a) Parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) em hospedeiro alternativo sobre plantas de eucalipto em semi-campo. *Rev. Ciênc. Agron.* 41: 715-720.

Pereira FF, Zanuncio JC, Serrão JE, Zanuncio TV, Pratisoli D, Pastori PL (2010b) The density of females of the *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera:Bombycidae). An. Acad. Bras. Ciênc.81: 323-331.

Pereira FF, Zanuncio JC, Oliveira HN, Grance ELV, Pastori PL, Gava-Oliveira MD (2011) Thermal requirements and estimate number of generations of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) in different Eucalyptus plantations regions. Braz. J. Biol. 71:431-436.

Pereira FF, Kassab SO, Calado VRF, Vargas EL, Oliveira HN, Zanuncio JC (2015) Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. Fla. Entomol. 98: 384-387.

Poppy GM, Sutherland JP (2004) Can biological control benefit from genetically-modified crops ? Tritrophic interactions on insect resistant transgenic plants. Physiol. Entomol. 29:257-268.

Prutz G, Brink A, Dettner K (2004a) Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: Effects of *Bacillus thuringiensis*-corn on the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi*. Naturwissenschaften 91(9): 451-454.

Prutz G, Dettner K (2004b) Effect of Bt corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. *Entomol. Exp. Appl.* 111(3): 179–187.

Rodrigues MAT, Pereira FF, Kassab SO, Pastori PL, Glaeser DF, Oliveira HN, Zanuncio JC (2013) Thermal requirements and generation estimates of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera:Eulophidae) in sugarcane Producing regions of Brazil. *Fla.Entomol.* 96:154-159.

Romeis J, Meissle M, Bigler F (2006) Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nat. Biotechnol.* 24: 63-71.

Szekacs A, Lauber E, Juracsek J, Darvas B (2010) Cry1Ab toxin production of MON810 transgenic maize. *Environ. Toxicol. Chem.* 29: 182–190.

Santos AO, Prado H (2002) Análise de interações sol-planta clima em zonas diferenciadas de área de cultivo milho. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Ambient.*6: 101-106.

Sorensen JG, Addison MF Terblanche JS (2012) Mass-rearing of insects for pest management: Challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. *Crop. Prot.*38: 87-94.

Van Lenteren JC (2012) The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *Bio.Control.* 57:1-20.

Vargas EL, Pereira FF, Tavares MT, Pastori PL (2011) Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. *Entomotropica*. 26: 135-138.

Vacari AM, Bortoli SA, Borba DF, Martins MIEG (2012) Quality of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) reared at different host densities and the estimated cost of its commercial production. *Biol. Control*. 63:102-106.