

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

HELTER CARLOS PEREIRA

**AVALIAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS E NIM SOBRE *Plutella*
xylostella (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2019

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

HELTER CARLOS PEREIRA

**AVALIAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS E NIM SOBRE
Plutella xylostella (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM
COUVE**

DISSERTAÇÃO

**PATO BRANCO
2019**

HELTER CARLOS PEREIRA

**AVALIAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS E NIM SOBRE
Plutella xylostella (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM
COUVE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade

Coorientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes
Pereira

PATO BRANCO

2019

P414a Pereira, Helter C.
Avaliação de agentes biológicos e Nim sobre *Plutella xylostella*
(Lepidoptera: Plutellidae) em couve / Helter Carlos Pereira. – 2019.
664 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade
Coorientador: Prof. Dr. Fabricio Fagundes Pereira
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR 2019.
Bibliografia: f. 53 – 62.

1. Controle biológico. 2. Pragas agrícolas. 3. Nim. I. Andrade, Gilberto. Santos, orient. II. Pereira, Fabricio, Fagundes, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD (22.ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por:
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação nº 06/2019

AVALIAÇÃO DE AGENTES BIOLÓGICOS E NIM SOBRE *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE

por

HELTER CARLOS PEREIRA

Dissertação apresentada às 14 horas 00 min. do dia 28 de 02 de 2018 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Éverton Lozano da Silva
UTFPR- Dois Vizinhos

Prof^a. Dra. Ioná Rech
Faculdade Mater Dei – Pato Branco

Prof. Dr. Jorge Jamhour
UTFPR – Pato Branco

Prof. Dr. Gilberto Santos Andrade
UTFPR – Pato Branco
Orientador

Prof. Dr. Alcir José Modolo
Coordenador do PPGA

Dedico à minha família, meu pai Horácio, mãe Nilva, Irmãos Héber e Henrique e suas respectivas esposas, obrigado pelo apoio e contribuição nesta trajetória. Dedico para meus sobrinhos Héber Jr. e Luis Henrique, que sirva de incentivo a vocês lutarem por seus sonhos e objetivos. E por último dedico a minha querida prima Flávia, Deus te levou consigo, mas nunca esquecerei o apoio e incentivo, obrigado por tudo.

AGRADECIMENTOS

Durante estes dois últimos anos muitas pessoas participaram de diferentes formas na minha vida. Algumas se tornaram muito especiais, cada uma com seu jeito particular, seja no meio acadêmico ou pessoalmente; e seria difícil não mencioná-las e agradecer a cada uma por todos os momentos compartilhados, por mais breve que tenham sido, com certeza, foram inesquecíveis.

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado capacidade em meio de dificuldades, conseguir concluir esta etapa tão importante na minha vida.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus Pato Branco. O Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pela oportunidade concedida para a realização do mestrado em Agronomia – Produção Vegetal.

Agradeço ao meu orientador Gilberto S. Andrade por me auxiliar e compartilhar seus conhecimentos.

Ao meu coorientador Fabricio Fagundes Pereira, por abrir as portas do seu laboratório para a realização da parte prática do meu trabalho. E por sua paciência, dedicação a pesquisa e entusiasmo na orientação dos experimentos.

Aos professores da banca examinadora, pelo tempo dedicado a leitura e sugestões dadas a esta pesquisa.

A secretaria do PPGAG, principalmente a Gisele D. S. Borges, por toda ajuda.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro com a concessão da bolsa de estudos.

A minha família e amigos de infância, amigos da biologia e da agronomia os quais sempre me apoiaram e torceram por mim.

Meus amigos Cléber, Eduardo, Richard, Renato e Rodrigo sei que mesmo longe sempre posso contar com vocês.

A minha amiga Fernanda que desde 2010 me atura. Passamos por muitas coisas juntos, alegrias e raivas, mas sobrevivemos. Obrigado por me incentivar a fazer este mestrado e por sua amizade.

Arison e Hevelin por dividirem o teto comigo, por aguentar meus dias de mau humor, por dividirem seus momentos comigo. Agradeço pela minha sorte de ter morado com pessoas incríveis como vocês.

Agradeço a Cássia, João Paulo e Linda. Deus colocou vocês na minha vida em um momento crucial, sem a ajuda de vocês não teria conseguido fazer agronomia.

Tive muita sorte de conhecer ao chegar em Pato Branco pessoas tão especiais como meus colegas, os alunos do PPGA. Foi muito bom compartilhar tantos momentos com vocês dividindo conhecimentos, interagindo, rindo, aprendendo. Agradeço os “Tiaguetes” (Débora, Vanessa, John, Suelen, Luciano Jéssica e Talita. Muito obrigado por me “adotarem” nas viagens, matérias e confraternizações. As pessoas que não tive tanto contato em sala de aula porém sempre encontrava nos corredores, festas etc, Bruna, Drielle, Felipe e Paula foi um prazer conhecer vocês. As amigas fofas que fiz, Anelise, Amanda, Débora e Melissa. Agradeço pelas caronas, pelas hospedagens, por se preocuparem comigo, por me fazer sentir bem, pelos lanchinhos e cafés. Em geral todos do PPGAG obrigado pelas conversas bobas, pelas risadas, por me tornarem uma pessoa melhor.

Não posso deixar de agradecer ao meu trio acadêmico. Maikely e Zenilda obrigado pela amizade, pela ajuda nas disciplinas, por compartilhar comigo algumas raivas e momentos festivos. Obrigado por estarem sempre a disposição quando eu preciso.

Minha irmã de orientação Zenilda, muito obrigado por ser a ponte entre Dourados e Pato Branco, sem sua ajuda certamente estaria perdido. Obrigado por sua amizade e paciência.

Agradeço todos os companheiros do LECOBIOLOGIA (Alex, Elison, Fihama, Flávio, Giovana, Jessica, Julio, Thamila Willian e Winnie), por me receberem tão bem em Dourados, por dividirem momentos de trabalho, estresse, cansaço e também de diversão. Em particular agradeço ao Eduardo, Jessica, Julio e Winnie pela ajuda na execução dos experimentos. Agradeço os amigos fora do laboratório, Elizete, Francisco (Diel), Marizete, Vinícius, pelas risadas e conversas produtivas.

Agradeço a Winnie que foi minha mãe, amiga, irmã aqui em Dourados, que me ensinou a prática do laboratório, vários conselhos sobre o meio acadêmico e sobre a vida. Muito obrigado por tudo que fez e faz por mim. Te adoro.

Agradeço pelos meus amigos do Sharakata. Obrigado pelas orações e palavras que precisava ouvir. Me ajudaram nos dias difíceis.

A cada pessoa que passou pela minha vida nesses 2 anos, que acompanham todos os desafios sempre com um abraço amigo ou palavra acolhedora, o meu mais profundo OBRIGADO! Pela paciência, amizade, companheirismo, sorrisos, lágrimas, medos e alegrias e acima de tudo AMOR!

“Tudo posso naquele que me fortalece.”

Filipenses.4:13

RESUMO

PEREIRA, Helter C. Avaliação de agentes biológico e Nim sobre *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. 61 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2019.

Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae) é um importante inseto-praga das Brássicas, especialmente de couve. Dentre seus métodos de manejo o controle com inseticidas sintéticos é o mais utilizado, porém existem outras formas de controle, tais como a utilização de bactérias entomopatogênicas, inseticidas botânicos e de insetos parasitoides. Dentre seus inimigos naturais, destaca-se o parasitoide de larva-pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae). Os objetivos deste trabalho foi avaliar o parasitismo e o desenvolvimento de *T. howardi* em lagartas de *P. xylostella* de quarto instar em semi-campo, em função da densidade desse parasitoide, verificar a mortalidade de *P. xylostella* utilizando *Bacillus thuringiensis*, *Azadirachta indica* e *T. howardi* e observar se a utilização do parasitoide *T. howardi* em conjunto com os outros controles, tem efeito aditivo ou pode afetar negativamente o desenvolvimento deste inimigo natural. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) e em casa de vegetação (-22.19806°, -54.93389°) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, na Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo o primeiro composto por sete tratamentos e uma testemunha, em que cada tratamento continha dez repetições. Fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de idade foram liberadas em vasos com mudas de couve em casa-de-vegetação, em diferentes densidades de parasitoide por lagarta de 4º instar (1:1, 3:1, 6:1, 9:1, 12:1, 15:1 e 18:1 hospedeiro). O segundo experimento foi composto de seis tratamentos, cada tratamento continha dez repetições com um disco de couve e cinco lagartas de 3º instar. Os tratamentos 1, 3 e 5 foram compostos pela imersão do disco de folha em água, solução de neem e solução com Bt respectivamente. Os tratamentos 2, 4 e 6 foram compostos pela combinação dos tratamentos 1, 3 e 5 adicionando-se fêmeas de 24 horas de idade de *T. howardi*, já alimentadas e acasaladas. Fêmeas de *T. howardi* parasitaram e se desenvolveram em larvas de 4º instar de *P. xylostella* em plantas de couve, em condições de semi-campo, em todas as densidades avaliadas, com maior parasitismo de 84% obtido na densidade de 9:1. De maneira geral, *T. howardi*, *B. thuringiensis*, Neem, isolados ou associados, causaram mortalidade de lagartas de 3º instar de *P. xylostella* acima de 65%, sendo que a bactéria e o inseticida botânico quando associados ao parasitoide foram mais eficazes no controle.

Palavras-chave: Controle biológico. Pragas agrícolas. Nim.

ABSTRACT

PEREIRA, Helter C. Evaluation of biological agents and Nim on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in kale. 61 f. Dissertation (Masters in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Crop), Federal University of Technology Paraná. Pato Branco, 2019.

Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae) is an important insect pest of the Brásicas, especially of cabbage. Among its management methods the control with synthetic insecticides is the most used, however there are other forms of control, such as the use of entomopathogenic bacteria, botanical insecticides and parasitoid insects. Among its natural enemies, the larval-pupa parasitoid *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) stands out. The objective of this work was to evaluate the parasitism and the development of *T. howardi* in *P. xylostella* larvae of the fourth instar in semi-field, as a function of the density of this parasitoid, to verify the mortality of *P. xylostella* using *Bacillus thuringiensis*, *Azadirachta indica* and *T. howardi* and to observe if the use of *T. howardi* parasitoid in conjunction with the other controls, has a synergistic effect or may negatively affect the development of this natural enemy. The experiments were carried out in the Laboratory of Biological Control of Insects (LECOBIOL) and greenhouse (-22.19806 °, -54.93389 °) of the Faculty of Biological and Environmental Sciences, Federal University of Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. The experiments were conducted in a completely randomized design (DIC), the first consisting of seven treatments and one control, in which each treatment contained ten replicates. Twenty-four-hour-old *T. howardi* females were released in pots with cabbage seedlings in greenhouse at different densities of parasitoid by 4th instar caterpillar (1:1, 3:1, 6:1, 9:1, 12:1, 15:1 and 18:1 host). The second experiment was composed of six treatments, each treatment contained ten replicates with one disc of cabbage and five caterpillars of 3rd instar. The treatments 1, 3 and 5 were composed by immersion of the leaf disc in water, neem solution and solution with Bt respectively. Treatments 2, 4 and 6 were composed by the combination of treatments 1, 3 and 5 with 24-hour old females of *T. howardi*, already fed and mated. *T. howardi* females parasitized and developed on *P. xylostella* 4^o instar larvae in cabbage plants, under semi-field conditions, at all evaluated densities, with a higher parasitism of 84% obtained at a density of 9: 1. In general, *T. howardi*, *B. thuringiensis*, Neem, isolated or associated, caused mortality of *P. xylostella* 3^o instar larvae above 65%, and the bacterium and the botanical insecticide when associated with the parasitoid were more effective in control.

Keywords: Biological control. Agricultural pests. Nim

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS... ..	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	38
5 CONCLUSÕES	51
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
REFERÊNCIAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (Lepidoptera: Plutellidae), conhecida como traça-das-crucíferas, é a principal praga de espécies cultivadas da família Brassicaceae. Uma importante característica da *P. xylostella* é o seu ciclo rápido com várias gerações anuais. As lagartas atacam as folhas e inflorescências, além de causar prejuízos por diminuir a área fotossintética da planta, e por depreciar os órgãos das plantas utilizados para comercialização. Este inseto causa grandes prejuízos à cultura, podendo causar 100% de perdas na produção de brássicas (BANDEIRA, 2009; BOIÇA-JÚNIOR et al., 2013; SOW, et al., 2013; CELESTINO et al., 2015). O principal método de controle de *P. xylostella* ainda é a utilização de inseticidas sintéticos, este uso começou no início do século XX e até hoje é comumente utilizado. Porém pelo uso indiscriminado de apenas um princípio químico causou a ineficácia de muitos produtos. Geralmente produtores fazem duas a quatro aplicações semanais de inseticidas, porém não trazem nenhum resultado. Através de estudos conclui-se que a *P. xylostella* é resistente a um ou mais ingredientes ativos, sendo que as populações de áreas diferentes possuem resistências diferentes (CASTELO-BRANCO et al., 2003. MAGALHÃES, 2016).

O controle de *P. xylostella* por meio de inseticidas sintético acabou selecionando populações resistentes, devido ao uso desses produtos, tornando-se cada vez mais difícil combater as infestações dessa praga (BOIÇA-JÚNIOR et al., 2015).

A alta pressão de seleção sobre esses insetos pode facilitar a propagação de alelos que atribuem adaptação a fatores de estresse do meio ambiente. A resistência adquirida por *P. xylostella* à diferentes classes químicas podem ser causadas por mecanismos como as enzimas de destoxificação do inseto causam o aumento da capacidade de metabolização do inseticida, devido à diminuição da sensibilidade do sítio alvo ou por reduzir a penetração cuticular/aumento da excreção (IRAC BR. 2016). No entanto, a resistência pelo inseto é um fenômeno genético provindo do aparecimento de mutações que acabam afetando os sítios de ligações das moléculas dos inseticidas ou até mesmo seu metabolismo. Aqueles indivíduos que contém mutações vantajosas, que lhes conferem resistência, apresentam maiores

chances de sobrevivência e reprodução mediante a exposição ao inseticida. Aumentando a frequência do gene resistente nas próximas gerações (DE-BORTOLI et al., 2014).

Boa parte dos mecanismos de resistência aos inseticidas, estão associados aos custos de aptidão, uma vez que as mudanças adaptativas em alguns casos apresentam efeitos mensuráveis sobre habilidades gerais de um inseto resistente em comparação com um inseto suscetível (IRAC B.R 2016; NANSEN et al. 2016).

Plutella xylostella foi o primeiro inseto a desenvolver resistência ao DDT, registrado apenas três anos após o início da sua utilização (NANSEN et al., 2016). Tornou-se, posteriormente, resistente a mais de 95 ingredientes ativos em todo o mundo. Atualmente, esta praga apresenta resistência a quase todos os grupos de inseticidas utilizados, incluindo novos compostos, como a classe química das diamidas antranílicas. As diamidas são um novo grupo de inseticidas, contendo um distinto mecanismo de ação, agindo na musculatura estriada do inseto enquanto que, a maioria dos inseticidas age no sistema nervoso do indivíduo (WANG; WU, 2012. IRAC, 2019).

Para diminuir a seleção de indivíduos resistentes o Programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP) propõem uma alternativa ambiental e econômica viável ao controle tradicional de pragas. O manejo integrado de pragas (MIP) utiliza de várias táticas e estratégias de controle. Uma alternativa é o controle biológico com parasitoides. Entre os parasitoides a ordem de insetos que é mais utilizada no controle biológico é a ordem Hymenoptera (PARRA et al., 2002).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um inseto da ordem Hymenoptera, subordem Apocrita, da superfamília Chalcidoidea, família Eulophidae e subfamília Tetrastichinae. É considerado um endoparasitoide gregário e polífago. Já se destacou como uma alternativa muito eficaz ao controle da broca-da-cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1974) (Lepidoptera: Pyralidae). *Tetrastichus howardi* consegue se desenvolver tanto em lagarta quanto pupas e já houve casos de natural, sendo assim ele pode ser alvo de estudos para tornar este um produto de combate às traças-das-crucíferas emergência deste parasitoide em insetos adultos. Em *P. xylostella* já foi registrado o parasitismo (VARGAS, et al., 2011).

PEREIRA, et al., 2015).

A utilização de inseticidas botânicos é outra alternativa para controlar a proliferação desta praga. São compostos feitos com partes de plantas como folhas, cascas, sementes e flores, os quais possuem substâncias bioativas que auxiliam no controle de insetos. O Neem (*Azadirachta indica* A. Juss. - Meliaceae) possui ação inseticida devido possuir dois grupos de moléculas: os triterpenos e os limonoides. A azadiractina é o limonoide com maior atividade inseticida presente no óleo. O Neem tem sido estudado e observou que esta planta consegue promover a inibição alimentar nos insetos, redução da motilidade intestinal, interferência na síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese da quitina, causou a deformação de pupas e adultos, reduziu a fecundidade, longevidade, e houve a mortalidade de insetos na forma imatura e adulta (MORDUE (LUNTZ); BLACKWELL, 1993. TORRES et al. 2006. DE BORTOLI; THULLER; LOPES, 2006; HOSSAIN, et al., 2013).

O controle biológico bacteriano é realizado através da utilização de bactérias entomopatogênicas, na qual as pesquisas são focadas principalmente *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1911) mais conhecido como bactérias Bt (PRÜTZ; BRINK; DETTNER, 2004).

Bacillus thuringiensis é uma bactéria Gram-positiva de solo, que forma esporos durante a fase estacionária do seu ciclo de desenvolvimento. Os esporos contêm cristais, que compreende predominantemente de uma ou mais proteínas. Estas proteínas são conhecidas como proteínas cristal ou Cry e/ou Cyt que possuem atividade inseticida potente e específica. Quando lagartas se alimentam dessas proteínas, inicia uma série de reações que culminam com a morte das mesmas. Apesar da imensa diversidade das cepas contendo diferentes genes de toxina cry apenas duas subespécies de Bt têm sido desenvolvidas em produtos pulverizáveis (kurstaki e aizawai) para o controle de lepidópteros pragas. A maioria dos produtos Bt são derivados de kurstaki como, por exemplo, as formulações Dipel e Agree (BRIGHENTI et al. 2005. SANAHUJA et al., 2011).

Apesar de estudos mostrarem que algumas populações de *P. xylostella* são resistentes a estas bactérias, Bt ainda é altamente eficiente principalmente em MIP pois diminui a seleção de insetos resistentes. Já foi descrito que Bt pode causar 100% de mortes de lagartas de *P. xylostella*, mostrando assim que ainda é uma forma

de controle deste inseto-praga (VIANA, et al. 2009. JIANG, et al., 2015. IRAC, 2019)

Objetivos

Determinar a densidade de fêmeas de *T. howardi* mais adequada para o controle de *P. xylostella* em condições de semi-campo.

Avaliar a porcentagem de mortalidade de *Plutella xylostella* por *Tetrastichus howardi*, *Bacillus thuringiensis* e *Azadirachta indica* em laboratório.

Hipóteses

1. *Tetrastichus howardi* consegue parasitar lagartas de 4º instar de *P. xylostella* em plantas de couve em condições de semi-campo;
2. A densidade de fêmeas de *T. howardi* interfere nas características biológicas do parasitoide em lagartas de 4º instar de *P. xylostella* em plantas de couve em condições de semi-campo;
3. A mortalidade de *P. xylostella* ocorrerá com a exposição aos tratamentos com *B. thuringiensis*, ou com *T. howardi* ou com *A. indica*;
4. A mortalidade de *P. xylostella* será maior com a utilização de *B. thuringiensis* + *T. howardi* ou com *A. indica* + *T. howardi*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A olericultura é uma fonte de sustento para agricultores paranaenses, principalmente pequenos agricultores familiares. A produção de hortaliças na região sudoeste do Paraná no ano de 2016 ocupou uma área de 7.499 hectares, apresentou produção de 179.501 toneladas, gerando um valor de aproximadamente 242 milhões de Reais. Dentre as 22 maiores regiões produtoras de hortaliças no Paraná, Pato Branco encontra-se na 14^a posição, com uma área cultivada de 2.099 hectares. Em relação à produção, Pato Branco apresenta-se na 15^a colocação, com 56.084 toneladas de produtos hortícolas, equivalente a 2% da produção do estado, gerando uma renda de 94.650.715,00 milhões de Reais. Dentre as principais culturas cultivadas na olericultura do Paraná, a produção de Couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) corresponde a uma área de 1.103 hectares, produzindo 27.051 toneladas, equivalente a 0,78% da produção de olerícolas no estado, a qual gerou uma renda de aproximadamente 56 milhões de reais (SEAB, 2017). No entanto, o sistema de produção destas olerícolas possui como desafio o controle de pragas, principalmente por meio de técnicas que minimizem os efeitos adversos que inseticidas sintéticos podem causar (SOW *et al.*, 2013).

A família Brassicaceae (crucíferas) engloba plantas de grande importância econômica mundial, utilizadas para os mais diversos fins, como alimentação, produção de óleos e ornamentação. A couve *Brassica oleracea* var. *acephala* (L.), pertencente a este grupo, destaca-se como uma variedade rica em minerais e vitaminas, considerada como importante fonte nutricional para a alimentação humana (ARVANITAKIS, 2013. CASSOL; LENHARDT; GABRIEL, 2017).

Brassicaceae compreende uma família com cerca de 338 gêneros e 3.709 espécies, entre plantas silvestres e cultivadas, possuindo características morfológicas tais como flores hipóginas, completas e cruciformes. Dentre as plantas deste grupo tão vasto, algumas se destacam como fonte de alimento e por possuírem grande importância econômica como o repolho, couve-flor, brócolis, couve-de-bruxelas, canola e a couve (CELESTINO *et al.*, 2015).

A couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), hortaliça anual ou bienal, pertencente à família Brassicaceae é originária do continente asiático e europeu.

Possui ampla utilização devido aos conhecimentos de suas propriedades nutricionais e medicinais. Portanto, destaca-se entre outras hortaliças folhosas pela sua quantidade elevada de carboidratos, proteínas, iodo, fibras, cálcio, ferro e vitaminas A e C (TRANI *et al.*, 2015).

Cultivos de couve são afetados devido ao ataque de diversas pragas, sendo as mais importantes *Ascia monuste orseis* (Godart) (Lepidoptera: Pieridae); *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1767) (Lepidoptera: Noctuidae), *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae), *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (CELESTINO, *et al.*, 2015).

Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), conhecida também como traça-das-crucíferas ou mariposa-diamante (diamondback moth), é um lepidóptero da superfamília Yponomeutoidea, pertencente à família Plutellidae. Seu registro foi realizado em cinco dos seis continentes, ausente somente na Antártida. Atualmente é descrita como *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758), porém também já foi descrita como *Cerostoma xylostella* (Linnaeus, 1777), *Cerostoma maculipennis* Curtis, 1832, *Plutella albovenosa* (Walsingham, 1907), *Plutella cruciferarum* Zeller, 1843, *Plutella brassicella* Fitch, 1856, *Plutella limbipennella* Clemens, 1860, *Plutella mollipedella* Clemens, 1860, *Gelechia cicerella* Rondani, 1876, *Tinea galeatella* Mabille, 1888, *Plutella dubiosella* Beutenmüller, 1889 e *Plutella dudiosalla* Moriuti, 1977 (BARANIAK, 2007).

A origem da espécie *P. xylostella* é controversa, porém supõe-se que tenha se originado em alguma região entre a Europa e a Ásia (HARDY, 1938). Esta espécie é uma praga cosmopolita, sendo umas das espécies de praga mais encontrada em todo o mundo. O seu sucesso principal se dá por possuir grande capacidade de deslocamento. A migração passiva ocorre em alimentos que são exportados de uma região para outra. São insetos que não são aptos ao voo, sendo assim se beneficiam de correntes de ar que as levam para áreas bem distantes, na qual há registros de deslocamento em distâncias maiores que 3.000 km (ARVANITAKIS, 2013).

Plutella xylostella causa danos aos cultivos da couve, repolho, brócolis, canola e outras brássicas, sendo considerada a principal praga desse grupo vegetal

(JESUS, *et al.*, 2011).

Uma característica que contribui para que esta praga tenha preferência por plantas da família Brassicacea, é devido presença do componente conhecido como isotiocianato, que é um composto formado a partir dos glucosinolatos (componente de uma cadeia de enxofre e nitrogênio). Os glucosinolatos são metabólitos secundários que atuam na defesa da planta e compostos são tóxicos para a maioria dos insetos, porém *P. xylostella* consegue desativar esta molécula graças as enzimas produzidas por seu organismo. Estes compostos estão em maior quantidade em plantas que possuem um alto teor de enxofre. As brássicas em geral, possuem uma grande quantidade de enxofre. O Isotiocianato serve como atrativo para a oviposição da *P. xylostella* (GUPTA; THORSTEINSON 1960; MUHAMED *et al.*, 1994; ARVANITAKIS 2013).

Várias pesquisas mostram que a *P. xylostella* é a principal praga da couve, devido ao seu apetite voraz durante a fase larval. Outro fator relevante para ser considerada praga-chave, é devido ao seu ciclo curto e por possuir alto potencial reprodutivo, resultando em maior número de gerações da praga dentro de um ano. Durante a fase larval, causa grandes prejuízos à cultura, podendo resultar em 100% de perdas na produção, devido a sua alimentação intensa de folhas (BOIÇA-JÚNIOR *et al.*, 2015; BANDEIRA 2009; ARVANITAKIS 2013; CELESTINO *et al.*, 2015).

Esse inseto tornou-se uma ameaça a diversas regiões produtoras de hortaliças por sua resistência a inseticidas e voracidade ao se alimentar. Os ataques mais rigorosos ocorrem preferencialmente nos períodos mais secos do ano e causam danos irreparáveis, pois se alimentam das folhas e inflorescências das plantas, podendo ocasionar a perda total dos campos de produção (MEDEIROS, 2003). É uma espécie cosmopolita, sendo registrada em regiões com diferentes condições climáticas. Acredita-se que a traça-das-crucíferas seja originária do Mediterrâneo, por ser o centro de origem das brássicas (MARCHIORO *et al.*, 2015).

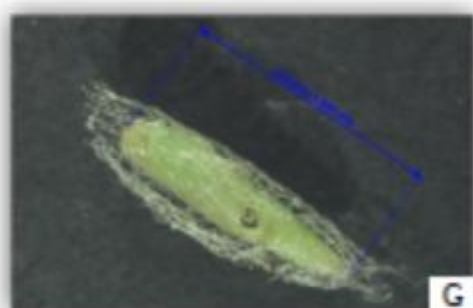
Essa praga está disseminada por todos os continentes, acompanhando a disseminação das culturas. No Brasil, o primeiro registro ocorreu na Bahia, período em que os ataques da praga prejudicavam os cultivos de repolho da região. Alguns dos resultados descritos quanto à resistência desses cultivares de repolho, foi baseado principalmente em dados biológicos da praga. Há ocorrência desta praga em

todas as regiões do país (THULER; BORTOLI; HOFFMANN-CAMPO; 2007).

Plutella xylostella é um inseto com período curto de desenvolvimento e alta fecundidade, e seu rápido crescimento e multiplicação populacional em temperaturas favoráveis de 17 °C a 25 °C acabam dificultando seu controle. O uso de inseticidas sintéticos é a principal forma de controle, no entanto o uso excessivo desses produtos tem selecionado populações resistentes da praga, e os produtos não seletivos prejudicam as espécies benéficas, além de ser extremamente tóxicos ao ambiente e seus integrantes (TORRES *et al.*, 2006). Estima-se que o custo médio do manejo desta praga somados aos prejuízos causados pela *P. xylostella* estão em torno de 4 a 5 bilhões de dólares por ano em todo o mundo (CELESTINO *et al.*, 2015). Para estimar o nível de dano que as lagartas estão causando deve se fazer um monitoramento pelo menos duas vezes por semana na área, amostrando-se 50 plantas observando se há a presença de lagartas. Destas se ocorrer a infestação de *P. xylostella* em mais de 5% das plantas, deve-se realizar o controle químico. Para o controle biológico utiliza-se uma porcentagem menor de plantas infestadas (ALFORD; KUHAR, 2018).

Os ovos de *P. xylostella* são encontrados geralmente na parte abaxial das folhas da cultura, sendo que as mariposas preferem ovipositar em folhas mais jovens. Os ovos são colocados individualmente ou em grupos, e possuem coloração amarelada, com tamanho inferior a 1 milímetro (FIGURA 1). A eclosão das lagartas ocorre entre três a quatro dias, quando as lagartas de primeiro instar penetram no mesófilo foliar (FIGURA 01 B). Ao alcançarem o segundo instar, as lagartas saem do mesófilo, e possuem tamanho de 2 a 3 mm (FIGURA 01 C). A duração da fase larval é de oito a dez dias, passando por quatro instares e findando o quarto instar, a lagarta produz um casulo. A fase de pré-pupa dura de 12 a 24 horas (FIGURA 01 F), depois se transforma em pupa (FIGURA 01 G). A pupa permanece protegida dentro do casulo até a emergência do adulto (FIGURA 01 H), que acontece de três a quatro dias (VACARI, 2009; MAGALHAES, 2016).

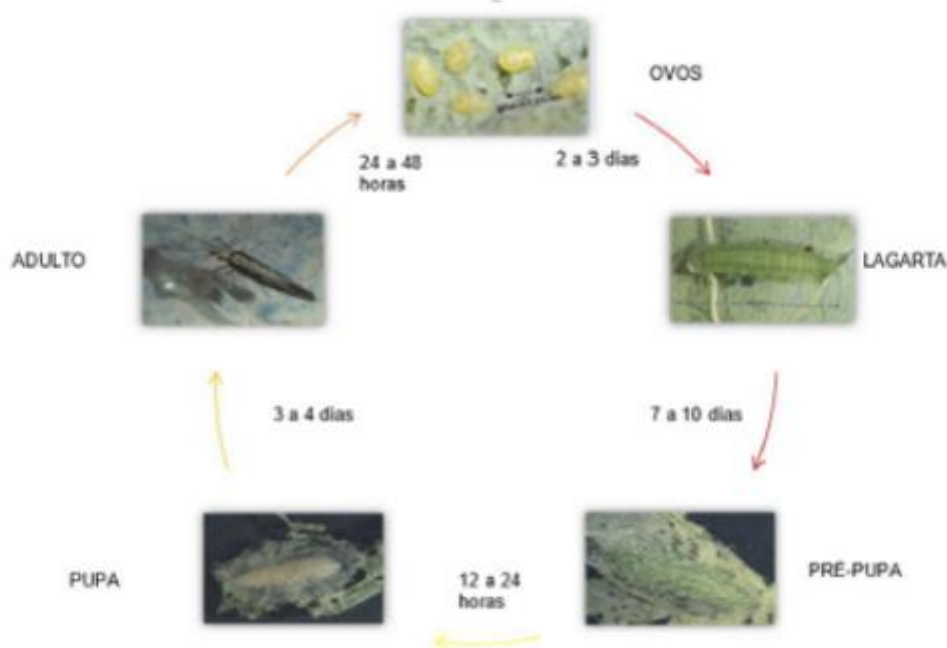
Figura 01: Tamanho dos instares de *Plutella xylostella* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)



A- Ovos com 1,026mm, B-Larva de 1º instar com 1,63mm C- Larva de 2º instar com 3,11mm D- Larva 3º instar com 5,96mm E- Larva 4º instar com 9,01mm F- Pré pupa com 6,17 mm G- Pupa com 5,50mm H- Adulto.

O ciclo do inseto está diretamente relacionado à temperatura, portanto, em temperaturas mais elevadas o ciclo da praga torna-se menor e em temperaturas mais baixas o ciclo se estende por mais tempo (FIGURA 02) (VACARI, 2009; MAGALHAES, 2016).

Figura 02: Ciclo de vida da *Plutella xylostella* (Linneu 1758) (lepidoptera: Plutellidae) em laboratório em condições controladas a 25°C e 70% de umidade.



As lagartas de 3º e 4º instar apresentam dimorfismo sexual, dado pela presença de estruturas esbranquiçadas no quinto segmento abdominal da larva, onde há a presença de gônadas, caracterizando a lagarta como sendo do sexo masculino. O inseto adulto apresenta cerca de 15 mm de envergadura, e as asas quando estão fechadas produzem um desenho semelhante a diamantes. As fêmeas adultas apresentam coloração mais clara, enquanto os machos possuem uma coloração mais escura. Outra forma de identificação sexual é analisando as genitálias do inseto (ARVANITAKIS, 2013).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) propõe uma alternativa ambiental e econômica viável ao controle tradicional de pragas, em que o uso de inseticidas sintéticos é predominante. O MIP consiste na ideologia que se baseia na utilização de diferentes técnicas para o controle de insetos considerados praga na agricultura. A base para esse manejo consiste no monitoramento constante da presença de insetos nocivos e benéficos na lavoura. Após o monitoramento, faz-se necessário realizar o

reconhecimento de qual inseto está causando o prejuízo e dessa forma observa-se o nível de dano causado, assim como se possui inimigos naturais presentes na área monitorada. Depois calcula-se o prejuízo causado para tal cultura e dessa forma, deve ser tomada a decisão de controle. Quando há a necessidade de controle, deve-se pensar qual estratégia será mais eficiente, utilizando táticas isoladas ou em conjunto. Prioriza-se por controles menos impactantes ao meio ambiente como: controle cultural, controle biológico, controle genético, controle comportamental e controle varietal. Caso não consiga o resultado esperado, utiliza-se o controle químico, como última opção (PANIZZI; PARRA, 2009; GALLO *et al.*, 2010; VAN-LENTEREN *et al.*, 2017).

O controle biológico tem uma grande importância em programas de manejo integrado de pragas. O controle biológico é um fenômeno natural que tem por finalidade diminuir a quantidade de plantas e animais com a utilização de inimigos naturais, sendo estes considerados como agentes de mortalidade biótica. Dentro do controle biológico inimigos naturais que se destacam são principalmente os insetos, ácaros, e os microrganismos tais como vírus, fungos, bactérias, nematoides e protozoários. O primeiro grande caso de sucesso de controle biológico foi em 1888, na Califórnia, quando introduziram o predador *Rodolia cardinalis* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae) de origem australiana, para controlar *Icerya purchasi* Maskell, 1879 (pulgão branco ou cochonilha australiana) (Hemiptera: Monophlebidae) (PARRA, *et al.* 2002; PARRA, 2014; VAN-LENTEREN *et al.*, 2017).

O controle biológico é categorizado de quatro formas diferentes: em controle biológico natural, controle biológico de conservação, controle biológico clássico e controle biológico aumentativo ou aplicado. O controle biológico natural consiste no controle do organismo-praga de forma natural no ambiente, sem que haja necessidade da interferência humana. No controle biológico conservacionista, o homem, através de ações conservativas estimula o desempenho dos inimigos naturais que ocorrem naturalmente em uma área. O controle biológico clássico foi a primeira forma de controle biológico descrita, na qual os inimigos naturais são coletados no mesmo centro de origem do organismo-praga, e posteriormente os inimigos naturais são soltos em outra região onde as pragas são encontradas. E por último o controle biológico aumentativo que consta na produção massiva de inimigos naturais que

podem ser microrganismos, predadores ou parasitoides. O intuito é a liberação destes agentes de controle em grande número a fim de se obter controle mais rápido da praga em uma cultura (inundativo), ou controle por várias gerações em uma cultura (inoculativo) (VAN-LENTEREN *et al.*, 2017).

Dentre os insetos parasitoides, as ordens mais utilizadas no controle biológico são a ordem Hymenoptera e, em menor quantidade a ordem Diptera. As principais famílias dos hymenópteros parasitoides são: Braconidae, Ichneumonidae, Eulophidae, Pteromalidae, Encyrtidae, Aphelinidae. Outra ordem conhecida por possuírem insetos parasitoides são os dípteros nesta ordem a família mais importante é a Tachinidae. Dentre os predadores destacam-se os parasitoides das famílias: Anthocoridae, Pentatomidae, Reduviidae, Carabidae, Coccinellidae, Staphylinidae, Chrysopidae, Cecidomyiidae, Syrphidae e Formicidae (PARRA *et al.* 2002).

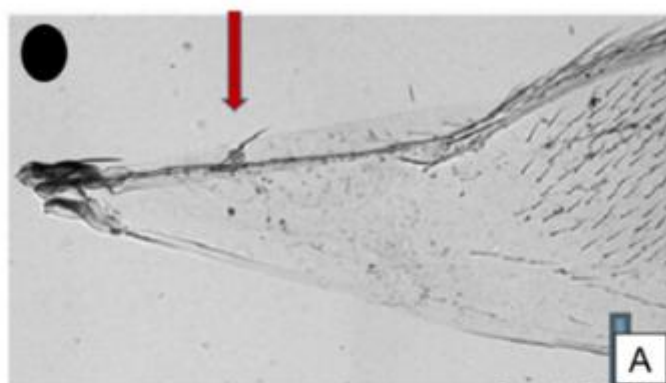
O controle biológico natural de *P. xylostella* por parasitoides tem sido registrado com frequência, sendo descritas várias espécies de parasitoides em *P. xylostella* em vários países. Na França foram encontrados *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912) (Hymenoptera: Eulophidae) e *Cotesia vestalis* (Haliday, 1834) (Hymenoptera: Braconidae). No Senegal *O. sokolowskii*, *C. vestalis*, *Apanteles litae* Nixon, 1972 (Hymenoptera: Braconidae), *Brachymeria citrea* Steffan, 1954 (Hymenoptera: Chalcididae) (SOW *et al.*, 2013). No Paquistão *Cotesia plutellae* (Kurdjumov, 1912) (Hymenoptera: Braconidae) *O. sokolowskii*, *Diadromus collaris* (Gravenhorst, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Brachymeria excarinata* Gahan 1925 (Hymenoptera: Chalcididae), *Diadegma semiclausum* (Hellen, 1949) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (SYED *et al.*, 2018). No Brasil, espécies de parasitoides já foram encontrados parasitando *P. xylostella* e algumas delas são: *C. plutellae*, *Conura pseudofulvovariegata* (Becker, 1989) (Hymenoptera: Chalcididae) e *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) (SILVA-TORRES *et al.* 2010a). Assim, a utilização dos parasitoides é uma forma para controlar este inseto-praga que causa inúmeros prejuízos para plantas e que possuem resistência a vários inseticidas.

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae) é um endoparasitoide gregário com potencial para controlar lepidópteros, pois atua parasitando tanto na fase larval, quanto em pré-pupa e pupa, havendo registros deste

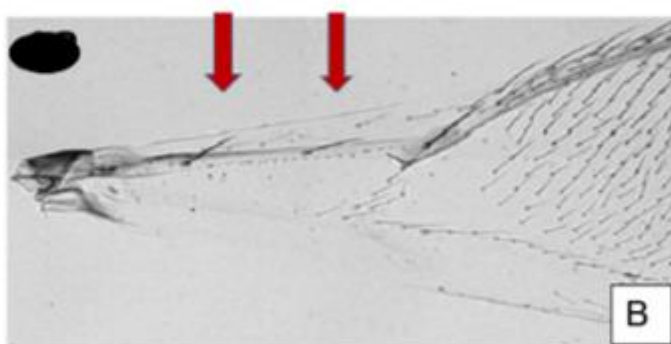
parasitoide emergindo de adultos de *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) (PEREIRA, *et al.*, 2015).

Tetrastichus howardi (Olliff, 1893) é um parasitoide da ordem Hymenoptera, subordem Apocrita, da superfamília Chalcidoidea, família Eulophidae e subfamília Tetrastichinae, sendo considerado um endoparasitoide gregário e polífago. Dentre outras espécies neste gênero este parasitoide se diferencia por duas características: uma carena em formato de Y invertido e uma seta dorsal na veia sub-marginal da asa (FIGURA 03 A e B). Seu primeiro registro foi no continente Asiático e no continente da Oceania. Foi introduzido na África para combater pragas do milho, onde houve registro do controle de *Busseola fusca* (Fuller, 1901) (Lepidoptera: Noctuidae) (LA SALLE; POLASZEK, 2007; VARGAS, *et al.*, 2011).

Figura 03: Diferença morfológica que diferencia duas espécies do gênero *Tetrastichus*:



Fonte: La Salle 2007



Fonte: La Salle 2007.

A- Uma seta dorsal na veia sub-marginal da asa. Característica presente em todas as espécies do gênero *Tetrastichus*. B- Duas setas dorsais na veia sub-marginal da asa. Característica única da espécie *Tetrastichus howardi*.

Na América este parasitoide foi introduzido em Trinidad para controlar pragas da cana-de-acúcar *Diatraea* sp. onde se adaptou muito bem. Em 1997 foi encontrado em Cuba parasitando naturalmente pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) (VARGAS, *et al.*, 2011). *T. howardi* foi registrado naturalmente pela primeira vez no Brasil, em hortas orgânicas de couve, em Pernambuco, em pupas de *P. xylostella* (SILVA-TORRES *et al.*, 2010a), e em 2011 foi registrado em pupas de *D. saccharalis* em milho a presença do *T. howardi* (CRUZ *et al.*, 2011). Também em 2011 foi registrado a presença deste parasitoide naturalmente em Dourados MS, parasitando pupas de *Diatraea* sp., em plantio de cana-de-açúcar (VARGAS, *et al.*, 2011).

Esse parasitoide já demonstrou sua eficácia em laboratório e semi-campo, no controle de *D. saccharalis* (VARGAS, *et al.*, 2011; COSTA, *et al.*, 2014; PEREIRA, *et al.*, 2015), *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: *Sphingidae*) (BARBOSA, *et al.*, 2015), *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (LUCCHETTA, 2016) *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae) (FERNANDES *et al.*, 2018).

O dimorfismo sexual em *T. howardi* é evidente (FIGURA 04 A e B). Nas fêmeas, suas antenas possuem funículo pigmentado e com três segmentos e não possuem placa sensorial na margem ventral (FIGURA 04 C). Nos machos, o funículo apresenta quatro segmentos e somente a clava pigmentada (FIGURA 04 D) e diferente da fêmea, o escapo possui uma placa sensorial na margem ventral. Outro critério que ajuda a diferenciar machos e fêmeas são as cores dos fêmures e coxas das pernas anteriores, que em machos possuem uma coloração amarela clara e nas fêmeas, uma coloração de mogno (FIGURA 04 E e F) (LA SALLE; POLASZEK, 2007).

Figura 04: Dimorfismo sexual de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae).



A

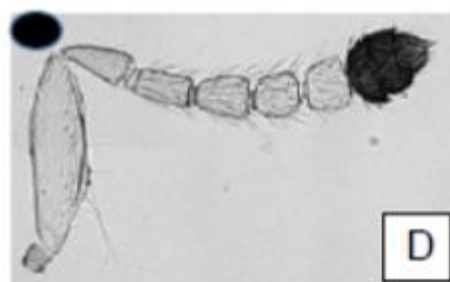


B



C

Fonte: La Salle 2007.



D

Fonte: La Salle 2007.



E

Fonte: Fernandes 2018.



F

Fonte: Fernandes 2018.

A- Fêmea de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) B- Macho de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) C- Antenas da fêmea D- antenas do macho E- coloração escura do fêmur nas pernas anteriores da fêmea F- Coloração clara do fêmur nas pernas anteriores do macho. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

O controle biológico bacteriano é realizado com bactérias entomopatogênicas, com grande ênfase em *Bacillus thuringiensis* (BERLINER, 1911) mais conhecido como bactérias Bt. *Bacillus thuringiensis* é uma bactéria gram-positiva de solo, que forma esporos durante a fase estacionária do seu ciclo de desenvolvimento. Os esporos contêm cristais, que compreende predominantemente de uma ou mais proteínas. Estas proteínas são conhecidas como proteínas cristal ou Cry e/ou Cyt que possuem atividade inseticida eficaz e específica. Quando lagartas se alimentam dessas proteínas, inicia uma série de reações que culminam com a morte das mesmas. Apesar da imensa diversidade das cepas contendo diferentes genes de toxina cry, apenas duas subespécies de Bt têm sido desenvolvidas em produtos comerciais (*kurstaki* e *aizawai*) para o controle de lepidópteros praga. A maioria dos produtos Bt são derivados de *kurstaki* como, por exemplo, as formulações Dipel WG e Agree. (BRIGHENTI *et al.*, 2005. SANAHUJA *et al.*, 2011).

Bt é ativo contra as fases larvais de diferentes espécies de insetos, em insetos adultos possui pouco resultado e em ovos não possui eficácia. Quando a lagarta ou larva se alimenta do Bt contendo o esporo e o cristal proteico, dentro deste cristal possui a toxina. No intestino do inseto por causa do pH alto dissolve este cristal e libera a toxina, a toxina se liga na membrana do tecido do intestino médio. Esta toxina causa a ruptura do tecido do intestino médio seguido por septicemia causada provavelmente por Bt e por outras espécies bacterianas (BRAVO; GILL; SOBERÓN, 2005).

A utilização de inseticidas botânicos compreende outra alternativa para controlar a proliferação desta praga. Consistem em compostos feitos de partes de plantas como folhas, cascas, sementes e flores, os quais possuem substâncias bioativas que auxiliam no controle de insetos (TORRES *et al.*, 2006).

O Neem ou Nim (*Azadirachta indica* A. Juss. - Meliaceae) possui ação inseticida. A azadiractina é o composto com maior atividade inseticida presente. Os diferentes efeitos sob as pragas são relatados com a inibição da alimentação dos insetos, redução da motilidade intestinal, interferência na síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese da quitina e causa a deformação de pupas e adultos, redução da fecundidade, longevidade, promovendo a morte de insetos imaturos e adultos

(MORDUE (LUNTZ); BLACKWELL, 1993; DE BORTOLI; THULLER; LOPES, 2006; HOSSAIN, *et al.* 2013).

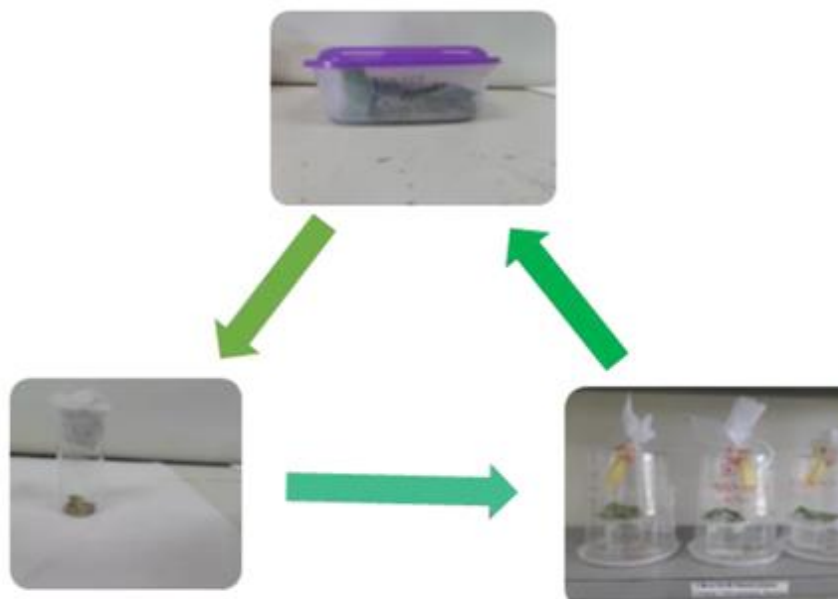
3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Controle Biológico de Insetos (LECOBIOL) e em casa de vegetação (22°19'80"S, 54°93'38"W) da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Criação do hospedeiro para condução dos experimentos

Plutella xylostella utilizada nos bioensaios foi proveniente de criação do LECOBIOL, conduzida em sala climatizada, mantida a temperatura de 25 ± 2 °C, $70 \pm 10\%$ de umidade e um fotoperíodo de 12 h. Adultos foram confinados em gaiolas plásticas circulares transparentes 30 cm de altura e 20 cm de diâmetro, com uma abertura retangular lateral, vedada com malha fina de náilon, para circulação de ar. Uma solução de mel a 10 mg junto com 100 ml de água destilada, foi fornecida como fonte de alimento para os adultos, disponibilizado pela parte superior da gaiola através de uma esponja 10 cm de comprimento e 2 cm de largura. Discos de folhas de couve *Brassica oleracea* var. *acephala* providas de produção orgânica de produtores locais, medindo 8,0 cm de diâmetro, foram distribuídos sobre um recipiente plástico de 12 cm de altura contendo papel filtro umedecido em água destilada, e foram disponibilizados como substrato para postura da mariposa. Logo após as posturas no disco foliar foram retiradas e depositadas em um recipiente com uma folha nova de couve, e a manutenção foi realizada diariamente retirando as folhas antigas e trocando por folhas novas, até a lagarta se transformar-se em pupa, onde posteriormente as pupas são retiradas das folhas com o auxílio de um pincel, e foram colocados nas gaiolas (FIGURA 05) (BARROS; THULER; PEREIRA, 2012).

Figura 05: Método de criação de *Plutella xylostella* (Lineu, 1758) (Lepidoptera – Plutellidae) em laboratório.



Esquema de criação da traça-das-crucíferas, baseado na metodologia desenvolvida por BARROS (2012) adaptada no LECOBIO. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

Criação do parasitoide para a condução dos experimentos

O parasitoide foi coletado na Fazenda experimental da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) (22°13'16"S, 54°48'2"W, 530 m), em pupa de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) em colmo de cana-de-açúcar, em dezembro de 2010. Os "espécimes vouchers" estão depositados na Coleção Entomológica da UFES, Departamento de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Fernando Ferrari, 514, Prédio Ciências Biológicas, Bloco a, sala 216-215, 29.075-919, Vitória, ES, Brasil. Tombos: 150792 a 150816 a 157187, dados disponíveis on-line no Splink. O parasitoide foi identificado pelo Prof. Dr. Marcelo Teixeira Tavares.

Adultos de *T. howardi* foram mantidos em tubos de vidro (15 × 2 cm) tampados com algodão e contendo uma gotícula de mel, que serviu como alimento para os insetos. Pupas de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), com 24 a 48 h de idade, foram expostas ao parasitismo por cinco 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. Depois de ± 20 dias há a emergência dos

parasitoides os quais foram alimentados com uma gotícula de mel e deixados por 24 horas para que os insetos se acasalem, logo após foi realizado a sexagem dos insetos e separado as fêmeas para os experimentos ou para manter a criação (FIGURA 06) (VARGAS *et al.*, 2011).

Figura 06: Métodos de criação de *Tetrastichus howardi* (Olliff, 1893) (Hymenoptera: Eulophidae)



A- Emergência do parasitoide *Tetrastichus howardi* em hospedeiro alternativo *Diatraea sacchari* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae). B- Fêmeas já acasaladas e alimentadas separadas para o parasitismo. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD, Dourados-MS 2018

Desenvolvimento experimental do Primeiro Experimento

Para o desenvolvimento do bioensaio em semi-campo, mudas de *B. oleracea* foram adquiridas de uma revenda local em Dourados-MS, no segundo estágio fenológico de desenvolvimento, caracterizadas por possuírem menos de cinco folhas verdadeiras (CASSOL; LENHARDT; GABRIEL, 2017) produzidas em bandejas de 128 células. As mudas de couve foram individualizadas em vasos com volume de 1 L, os quais estavam com substrato provido de uma composição de adubo orgânico e solo (Latossolo vermelho distroférrico) na proporção uma parte de adubo orgânico e duas partes de solo (FIGURA 07 A). As mudas foram dispostas em casa-de-vegetação até que atingissem o terceiro estágio fenológico (FIGURA 07 B), de seis a oito folhas verdadeiras (CASSOL; LENHARDT; GABRIEL, 2017).

O experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente

casualizado (DIC), composto por sete tratamentos e uma testemunha, sendo que cada tratamento foi composto por dez repetições. A repetição constou de uma planta de couve e cinco lagartas de *P. xylostella* de quarto instar. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação, tendo como temperatura média 27,67 °C e umidade média de 54,2 %, no período de 19/07/2018 ao dia 24/07/2018. Foram utilizados 80 vasos contendo uma planta de couve em estágio fenológico III. Os vasos foram separados em grupos com 10 unidades, e em cada unidade experimental foi colocada cinco lagartas de quarto instar. Colocaram-se estacas de madeira em cada extremidade do vaso (FIGURA 07 C) e por fim, foi utilizado tecido voil, para que as lagartas não escapassem deste vaso, permanecendo desta forma por 24 horas (FIGURA 07 D).

Depois de 24 horas, colocou-se em cada repetição, uma densidade diferente de parasitoides (FIGURA 07 E e F) por lagarta de quarto instar. Dez repetições foram separadas para constatar determinar a mortalidade natural de larvas nesse bioensaio, sem parasitoides (testemunha). Fêmeas de *T. howardi* com 24 horas de idade, já acasaladas e alimentadas, foram liberadas nos vasos, nas densidades de parasitoide por lagarta de quarto instar (1:1, 3:1, 6:1, 9:1, 12:1, 15:1 e 18:1 hospedeiro), correspondendo a quantidade de 5:5, 15:5, 30:5, 45:5, 60:5, 75:5 e 90:5 fêmeas por vaso, de acordo com o tratamento, os quais foram selecionados aleatoriamente, já que as condições eram as mesmas em todos os vasos. As densidades de lagartas por plantas e de parasitoides por lagarta foram estipuladas através de pré-testes realizados no laboratório.

Diariamente foi realizada a medição da temperatura e umidade relativa medidos com termômetro digital com sensor externo e após 96 horas de parasitismo permitido, as pupas e as lagartas de *P. xylostella* foram coletadas com ajuda de um pincel e individualizadas em placas de Petri e tubos de vidro de 15 cm tampado com algodão, (no caso das lagartas foi colocado um pedaço da folha de couve até se transformarem em pupas), e os indivíduos foram colocados em incubadora B.O.D. com temperatura, umidade e fotoperíodo controlados, a 25 °C, 70% e 12 horas.

Figura 07: Experimento em semi-campo utilizando *Brassica oleracea* L. var. *acephala*.

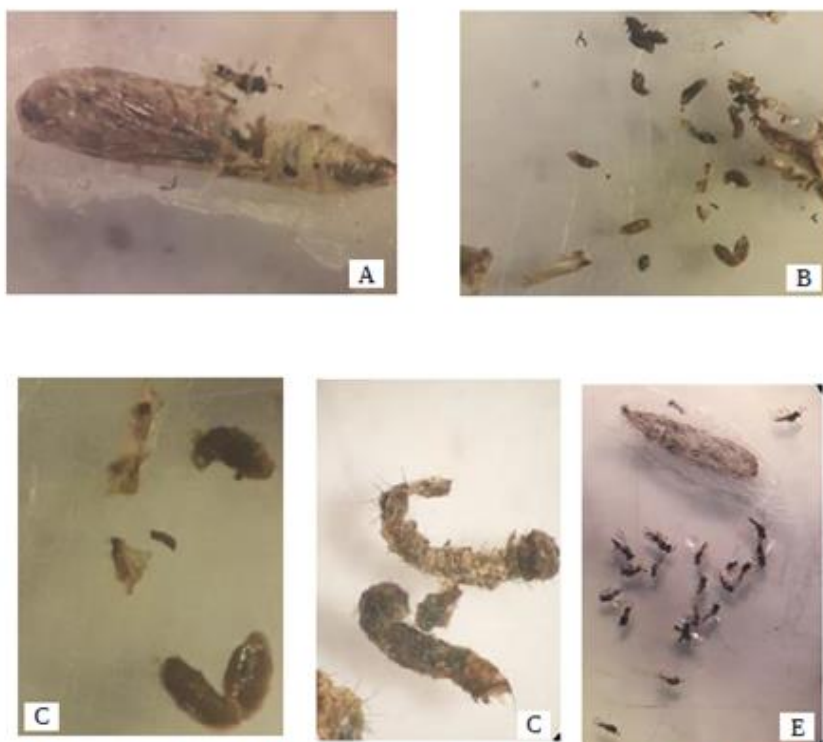


A- Plantio de mudas estágio fisiológico II proveniente de revenda local. B- Mudanças de couve em estágio fisiológico III. C- mudas preparadas para adicionar as lagartas. D- tratamentos com as

As características biológicas avaliadas foram: porcentagem de parasitismo (%P) [(número de lagartas de *P. xylostella* com emergência de parasitoides + lagartas sem emergência de adultos de *P. xylostella*) / (número total de lagartas) × 100]; porcentagem de emergência (%E) [(número de lagartas de *P. xylostella* com emergência de adultos dos parasitoides)/(número de lagartas parasitadas) × 100]; a duração do ciclo de vida (tempo de desenvolvimento do parasitoide imaturo contado a partir do dia do parasitismo até a emergência do adulto); a progênie total (número de parasitoides emergidos por hospedeiro parasitado); a progênie por fêmea (progênie de fêmeas em função do número de fêmeas utilizada em casa densidade avaliada); e a razão sexual (número de fêmeas/número de total de adultos emergidos).

As características sintomatológicas das lagartas e pupas parasitadas foram: corpo da lagarta com perda de coloração verde brilhante, secamento e rigidez com posterior coloração marrom, aspecto mumificado e o tegumento com coloração marrom (FIGURA 08- D). As pupas se encontravam ocas, com a presença de imaturos do parasitoide e coloração marrom caramelo (FIGURA 08- A,B,C).

Figura 08: Parasitismo de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)



A- Presença de parasitoides formados dentro da pupa. B- Imaturos e adultos mortos dentro da pupa. C- Imaturos do parasitoide encontrado dentro da pupa. D- Lagarta morta com sintomatologia de parasitismo. E- Parasitoides emeraldos de uma pupa. Local: Universidade Federal da Grande

Os dados das características biológicas avaliadas de cada tratamento, foram submetidas à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade. Os valores quando significativos foram submetidos à análise de regressão. O melhor ajuste da equação para os parâmetros avaliados teve como base o modelo que apresentasse todos os coeficientes significativos, ajustando-se melhor aos dados, com base no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão (β_i) e da regressão pelo teste F ($p \leq 0,05$), além de se adequar ao fenômeno biológico estudado. Para os dados não significativos fez uma média geral dos dados.

Desenvolvimento experimental do Segundo Experimento

O parasitoide *T. howardi* consegue parasitar pupas e lagartas em vários instares de *P. xylostella*, porém o melhor desenvolvimento foi em pupas e lagartas de 4 instar (TIAGO, *et al.*, 2018) no quarto instar a lagarta se alimenta pouco e na utilização de BT e inseticidas botânico, a lagarta tem que se alimentar para que ocorra a mortalidade. Então optou-se para utilização de lagartas de 3 instar (TORRES *et al.*, 2006; SANAHUJA, *et al.*, 2011).

Para a solução de Neem, utilizou-se o produto comercial Óleo de Neem (*Azadiracht indica*) da marca Mundo dos Óleos (FIGURA 09 A). Este produto é um óleo 100% puro e natural extraído de sementes de *Azadiracht indica* mediante prensagem a frio e filtração. Adicionou-se 5ml deste óleo em 1L de água destilada de acordo com a recomendação do fabricante e 2ml de detergente neutro, agitou até a mistura ficar homogênea.

Para a solução de Bt (*Bacillus thuringiensis* var. kurstaki) se utilizou o produto comercial Dipel WP (FIGURA 09 B). Adicionou-se 0,6g do produto em 1L de água destilada de acordo com a recomendação do fabricante, agitou-se até a mistura ficar homogênea.

Figura 09: produtos utilizados no experimento.



Fonte: mundodoseleios.com

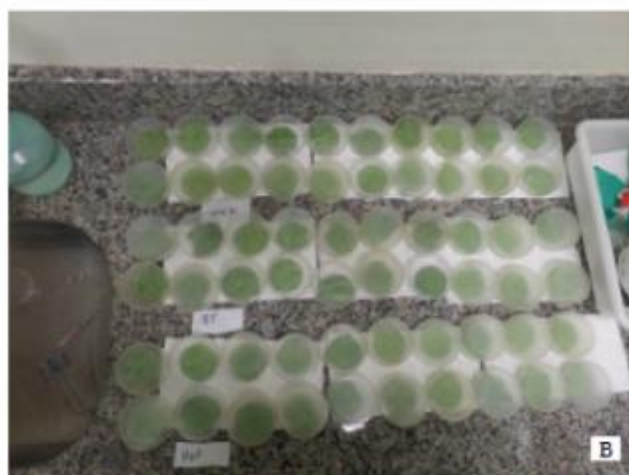


A- Óleo extraído a frio de sementes de *Azadirachta indica*. B- Produto formulado de *Bacillus thuringiensis*. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD, Dourados-MS 2018.

Após a preparação dos extratos, discos de folhas de couve *Brassica oleracea* Var *acephala* de 8 cm de diâmetro foram imersos em cada extrato por um período de 30 segundos (JESUS *et al.*, 2011). O tratamento um e dois foi imerso somente em água destilada, o tratamento três e quatro foi imerso na solução contendo Bt, as folhas foram imersas na solução com óleo de neem. Decorrido tempo de imersão, os discos foram colocados sobre papel toalha e deixado para secagem por cerca de duas horas, sendo em seguida transferidos para placa de Petri. Em cada placa de Petri foram confinadas cinco lagartas de 3º instar, no tratamento dois, quatro e seis foram inclusos cinco fêmeas de *T. howardi* de 24 horas já acasaladas e

alimentadas. As placas foram colocadas em Estufa incubadora BOD com temperatura e umidade controlada a 25 °C e 70% (FIGURA 10 A e B).

Figura 10: Tratamento com *Bacillus thuringiensis*, *Azadirachta indica* e água.



A- Disco de folhas de couve 8cm de diâmetro secando naturalmente depois de terem sido imersas em soluções. B- Discos de folhas acondicionados em placa de Petri com as lagartas dentro. Local Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado composto de seis tratamentos, cada tratamento era composto por dez repetições com um disco de couve e cinco lagartas de terceiro instar.

No tratamento 1, o disco de couve foi imerso somente em água destilada e liberado cinco lagartas em cada placa de Petri, no tratamento 2 os discos de couve foram imerso em água destilada, liberados cinco lagartas e cinco fêmeas de *T. howardi*. No tratamento 3, os discos de couve foram imersos na solução de BT e foi liberado 5 lagartas. No tratamento 4, os discos de couve foram imersos na solução de

BT, foi liberado 5 lagartas e cinco fêmeas de *T. howardi*. No tratamento 5 os discos de couve foram imersos na solução de Neem e foi liberado 5 lagartas. No tratamento 6 os discos de couve foram imersos na solução de neem, foi liberado 5 lagartas e cinco fêmeas de *T. howardi*.

Depois de 24 horas foram retiradas os parasitoides e depois de 72 horas as pupas e lagartas de *P. xylostella* foram coletadas e individualizadas. E mantidos em Estufa incubadora BOD com temperatura e umidade controlada a 25 °C e 70%.

A mortalidade de lagartas e pupas de *Plutella xylostella* foi avaliada os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade de erro, e quando significativos ao teste Tukey a $p \geq 5\%$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Resultados e discussão do primeiro experimento

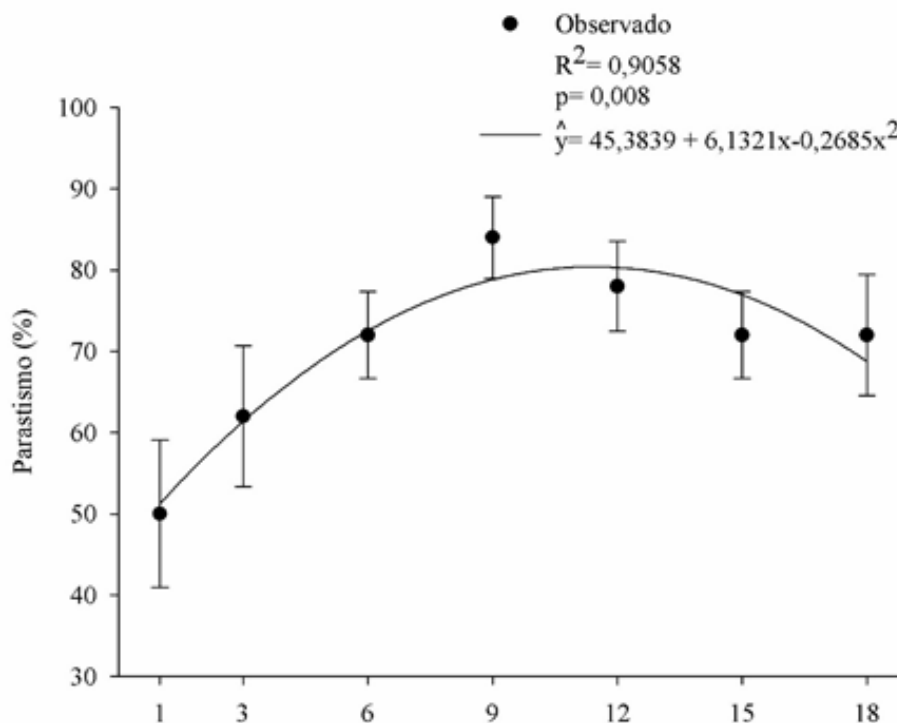
O parasitismo de lagartas de quarto instar de *P. xylostella* por fêmeas de *T. howardi* foi constatado em todas os tratamentos. Apenas uma fêmea de *T. howardi* após ter sido criada em laboratório e liberada em condições de semi-campo foi capaz de encontrar, parasitar e se desenvolver em lagartas de *P. xylostella* em plantas de couve. Isto nos permite estimar o número de indivíduos a serem utilizados por planta de acordo com a densidade do hospedeiro.

Nestas mesmas condições esta fêmea realizou uma porcentagem média de parasitismo de 50% (GRAFICO 1). Já em laboratório observou-se que uma fêmea possui capacidade de parasitar aproximadamente 80% de lagartas de 4º instar (TIAGO, 2018). Esta diferença na taxa de parasitismo pode ser devido a diversos fatores, principalmente relacionados com a capacidade de localização e reconhecimento do hospedeiro os quais são estimulados por sinais químicos, voláteis, estímulos visuais ou físicos (forma, textura ou movimento do hospedeiro) entre outros fatores abióticos do meio (VINSON, 1990).

Observou-se que com o aumento da densidade de fêmeas de *T. howardi* houve um aumento na porcentagem de parasitismo até a densidade de 9:1. Considerou-se a densidade ótima o intervalo correspondente entre as densidades 9:1 e 12:1, seguida de queda da porcentagem de parasitismo (GRÁFICO 1). Já em *S. frugiperda* o aumento da densidade de *T. howardi* não interferiu na porcentagem de parasitismo (LUCCHETTA, 2016), diferindo de *A. gemmatalis* que houve o aumento proporcional deste parâmetro em função do aumento da densidade de *T. howardi* (FERNANDES, *et al.*, 2018). Utilizando uma densidade específica de parasitoides gregários pode se obter um melhor desempenho dos mesmos, podendo ocorrer acima ou abaixo deste intervalo um declínio na taxa de parasitismo (BARBOSA; COURI; COELHO, 2008).

Gráfico 1 – Porcentagem de parasitismo de lagartas de quarto instar de *Plutella xylostella* em função da

densidade de fêmeas de *Tetrastichus howardi*, em condições de semi-campo.



O declínio após a faixa ótima do parasitismo provavelmente pode ser devido algumas fêmeas de parasitoides distinguirem hospedeiros parasitados de outros não parasitados, realizando a regulação da postura nestas condições (GODFRAY, 1994).

A porcentagem de emergência de *T. howardi* (FIGURA 08 E) nas densidades propostas não apresentou significância ($p > 0,05$). Apresentando uma emergência média de $15,87 \pm 4,79\%$ (TABELA 01). Apesar de não haver diferença significativa entre as densidades testadas, o maior valor observado de porcentagem de emergência foi de $41,67 \pm 7,47\%$, quando uma lagarta de *P. xylostella* foi exposta a seis fêmeas de *T. howardi* (TABELA 1).

Tabela 01. Médias (\pm Erro padrão) das características biológicas de diferentes densidades de fêmeas de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) por lagartas de quarto ínstar de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Características Biológicas	Densidade de Parasitoides (♀) por Lagarta							Média Geral	
	01:01	03:01	06:01	09:01	12:01	15:01	18:01		
Emergência (%)	4,00 \pm 4,00	12,50 \pm 5,10	41,67 \pm 7,47	9,52 \pm 5,26	12,86 \pm 5,73	8,33 \pm 4,24	22,22 \pm 6,93	n.s	15,87 \pm 4,79
Ciclo de desenvolvimento*	21,00 \pm 0,00	22,75 \pm 0,83	20,29 \pm 0,35	20,67 \pm 0,18	22,00 \pm 0,45	20,67 \pm 0,37	20,75 \pm 0,16	n.s	21,33 \pm 0,33
Progenie Total	3,00 \pm 0,00	6,00 \pm 1,48	6,60 \pm 0,85	10,00 \pm 2,24	8,75 \pm 2,59	2,33 \pm 0,73	7,00 \pm 0,94	n.s	6,52 \pm 1,11
Progenie/fêmea	3,00 \pm 0,00	2,00 \pm 0,49	1,11 \pm 0,12	1,28 \pm 0,20	0,72 \pm 0,26	0,16 \pm 0,05	0,39 \pm 0,05	n.s	1,42 \pm 0,38
Razão Sexual**	1,00 \pm 0,00	0,96 \pm 0,02	0,69 \pm 0,11	0,71 \pm 0,05	0,67 \pm 0,15	0,53 \pm 0,16	0,84 \pm 0,04	n.s	0,78 \pm 0,06

n.s= Não significativo ($p>0,05$). *n° de dias. ** (n° de fêmeas / (n° de fêmeas + n° de machos)).

Os menores valores de porcentagem de emergência podem sugerir que possivelmente durante o processo de parasitismo, através da inserção de vírus, polidnavírus e componentes semelhantes a venenos, liberados na hemolinfa juntamente com os ovos, desencadeou uma resposta as barreiras imunológicas do hospedeiro, provavelmente diminuindo a defesa imunológica da *P. xylostella*, através da fagocitose e encapsulamento do organismo estranho que neste caso é o parasitoide imaturo (FIGURA 08 C) (IBRAHIM; KIM, 2006; ANDRADE, et. al. 2010; HARVEY; POELMAN; TANAKA, 2013).

Na emergência de parasitoides gregários como o *T. howardi*, as características morfológicas do como tamanho da lagarta ou da pupa, instar larval e idade do hospedeiro, interferem diretamente no número de ovos do parasitoide, no tamanho do parasitoide e a progênie de parasitoides que irão emergir deste hospedeiro. Isto porque a quantidade de nutrientes do hospedeiro tem que ser suficiente e adequada para o ciclo de desenvolvimento do parasitoide (HARVEY; POELMAN; TANAKA, 2013. HARVEY; MALCICKA, 2016).

Não houve diferença estatística em relação a progênie total apresentando a média de 6,52 indivíduos por hospedeiro (TABELA 1). Pupas de *P. xylostella* possuem menos que 10 mm de comprimento, porém foi possível contatar a adequação do hospedeiro e o desenvolvimento de progênie de *T. howardi*, mesmo ocorrendo ocorreu em menor quantidade comparada com outras pupas testadas com este parasitoide. Além disto observou-se que o tamanho do *T. howardi* emergido de *P. xylostella* apresentou um tamanho corporal diminuto. Segundo pesquisas pupas maiores oferecem mais recursos nutricionais para o desenvolvimento de uma progênie maior de parasitoides (PIÑEYRO, et al 2016). Observou-se que o tamanho

do parasitoide é inversamente proporcional à quantidade de indivíduos da progênie, isto quer dizer que progênies com muitos descendentes possuem indivíduos de menor tamanho corporal.

Ao comparar diferentes hospedeiros, observa-se que utilizando sete fêmeas de *T. howardi* por pupa de *D. saccharalis* obteve-se uma média de 70,44 parasitoides (PEREIRA, *et al.*, 2015), já com cinco fêmeas de *T. howardi* por pupas de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidae) obteve-se uma média de 196,8 parasitoides (FERNANDES *et al.* 2018), com dez fêmeas de *T. howardi* por pupa de *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Sphingidae) obteve uma média de 466 parasitoides (BARBOSA *et al.*, 2015), colocando-se sete fêmeas de *T. howardi* por pupa de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) obteve-se uma progênie de 430 parasitoides (LUCCHETTA, 2016). A pupa de *P. xylostella* é uma pupa pequena, possuindo cerca de 6 mm de comprimento (CELESTINO *et al.*, 2015), na qual a progênie registrada de *T. howardi* foi de 4 a 28 parasitoides, sendo a média geral de 13 parasitoides por pupa (KARINDAH, *et al.*, 2005).

A duração do ciclo de vida, progênie por fêmea e a razão sexual de *T. howardi* em larvas de *P. xylostella* não diferiu em todas as densidades avaliadas com média geral de 21,33, $6,52 \pm 1,42$ respectivamente (TABELA 01).

Não houve diferença significativa quanto a razão sexual tendo como média $1,42 \pm 0,38$ (TABELA 01). A razão sexual (predominância de fêmeas em relação a população de parasitoides total) da progênie de *T. howardi* em lagartas de *P. xylostella* é um parâmetro muito relevante para designar uma espécie como agente de controle biológico, pois as fêmeas parasitoides são as que realizam o processo parasitismo, controlando os níveis de infestação do inseto-praga em condições de campo (FERNANDES *et al.* 2018). Na densidade 1:1 a razão sexual foi de 1,00, significando que todos os parasitoides emergidos eram fêmeas. O parasitoide na hora da oviposição consegue determinar o sexo da progênie (PASTORI, *et al.*, 2012; COSTA, *et al.*, 2014) a fêmea pode ter ovipositado poucos ovos no hospedeiro, porém ovipositou somente ovos que resultariam em outros parasitoides fêmeas. Apesar de uma menor produção de indivíduos, todos desenvolveram-se em fêmeas, sendo de grande valia para dar continuidade ao processo de parasitismo futuro.

A duração do ciclo de vida e progênie por fêmea e *T. howardi* em larvas de *P. xylostella* foi semelhante em todas as densidades avaliadas com média geral de 21.33 ± 0.33 , 6.52 ± 1.11 , respectivamente (TABELA 01).

Este é o primeiro trabalho com lagartas de *P. xylostella*, no qual avaliou-se diferentes densidades de fêmeas de *T. howardi* por hospedeiro, em semi-campo. Este parasitoide oferece novas perspectivas para os programas de controle biológico desta espécie em agroecossistemas de cultivo de hortaliças no Brasil. Dessa forma, novos estudos devem ser conduzidos para verificar a capacidade e eficiência de *T. howardi* como parasitoide em condições de campo, tendo em vista que os cultivos de Brassicas se caracterizam por áreas em pequenas propriedades, as quais podem ser positivas para o forrageamento de fêmeas de *T. howardi*.

Resultados e discussão do segundo experimento

No tratamento somente com água como previsto a mortalidade foi baixa menos de 10 % (TABELA), mostrando que a *P. xylostella* se desenvolve bem em laboratório. Como o experimento foi em ambiente controlado, se tornou propício para o desenvolvimento deste inseto (ARVANITAKIS et al 2013. SILVA-TORRES et al., 2010b).

Tetrastichus howardi causou 76% de mortalidade de *P. xylostella* (TABELA 1). *Tetrastichus howardi* é um parasitoide de lagartas e pupas e por ser polifágo, atua no controle de populações de várias espécies de insetos-praga, parasitando lagartas e pupas (PEREIRA et al. 2015).

A morte das lagartas pode ter sido causada por venenos que são liberados na hemolinfa junto com os ovos durante a oviposição por parasitoides (HARVEY; POELMAN; TANAKA, 2013).

Tabela 01 — Porcentagem de mortalidade de lagartas de terceiro instar e pupas de *Plutella xylostella* em função da utilização de *Bacillus thuringiensis*, *Azadirachta indica* e *Tetrastichus howardi*, em condições de laboratório.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Água	08,00 ± 3,27c
<i>Tetrastichus howardi</i>	76,00 ± 6,53a
<i>Bacillus thuringiensis</i>	84,00 ± 4,00a
<i>Bacillus thuringiensis</i> + <i>Tetrastichus. howardi</i>	92,00 ± 4,42a
<i>Azadirachta indica</i>	50,00 ± 5,37b
<i>Azadirachta indica</i> + <i>Tetrastichus howardi</i>	88,00 ± 8,00a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Lagartas que não resistiram ao processo de parasitismo, apresentaram um aspecto mumificado de coloração marrom porém não deformadas (FIGURA 11 A). Pupa com características de parasitismo, oca e coloração mais clara. As pupas depois de abertas, observou-se a presença de imaturos (FIGURA 11 B).

A utilização de parasitoides para o controle de um inseto-praga é vantajosa porque além de causar a mortalidade da espécie alvo, no final do ciclo, descendentes são gerados e estes poderão atuar no combate de outros insetos-praga (PARRA *et al.* 2002). *Tetrastichus howardi* é um parasitoide de lagartas e pupas e por ser polífago, atua no equilíbrio de populações de várias espécies de insetos-praga, parasitando lagartas e pupas (PEREIRA *et al.*, 2015).

Figura 11: Tratamento II lagartas e pupa de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) com sintomatologia de parasitismo por *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae).



A - Lagarta mumificada, sem a presença da coloração verde que é característica da espécie. Pupa com características de parasitismo, oca por dentro. Local: Universidade Federal da Gra Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

A utilização de Bt causou a mortalidade de 84% das lagartas de terceiro instar de *P. xylostella* (TABELA 1). Estudos mostram que a utilização de Bt pode ocasionar a morte de 100% das lagartas. Porém outros estudos mostraram que algumas populações de *P. xylostella* já adquiriram resistência a estas bactérias, podendo então explicar porque não houve a mortalidade total das lagartas (KIRSCH; SCHUMUTTERER, 1988; VIANA *et al.*, 2009; JIANG *et al.*, 2015; IRAC 2019).

A sintomatologia causada pela morte influenciada pelo Bt foi de perda do apetite, diminuição dos movimentos, paralização da lagarta, sem reação ao toque como acontece quando a lagarta está sadia (VIANA, *et al.*, 2009). A coloração do tegumento mudou de verde brilhante para amarelo, e depois ficou marrom escura,

sem brilho (FIGURA 12 A). Em pupas houve a deformação das pupas (FIGURA 12 B).

Figura 12: Tratamento III lagarta e pupa de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) com sintomatologia de morte por *Bacillus thuringiensis*.



A- Lagarta sem a presença da coloração verde que é característica da espécie, aspecto mumificado de tamanho reduzido. B - Pupa ressecada, com deformação e tamanho reduzido. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

O tratamento Bt+*T.howardi* demonstrou que a associação de dois tipos de controle causou a mortalidade de mais de 90% das lagartas de *P. xylostella* (TABELA 1), sendo assim o tratamento pode não ter influenciado negativamente no processo de parasitismo, isto pode ser devido ao modo de ação do Bt que precisa ser ingerido e para cada ordem de inseto são utilizados um conjunto de cepas contendo diferentes genes de toxina Cry. No caso o *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* possui toxinas Cry que são especializadas no controle de lagartas, não causando danos ao parasitoides (MEDEIROS, *et al.*, 2003; SANAHUJA, *et al.*, 2011).

Mesmo sendo estudados e utilizados no controle biológico de insetos pragas há mais de meio século e com claras indicações de serem menos impactantes ao meio ambiente do que os inseticidas sintéticos e não prejudiciais ao ser humano, os produtos à base de *B. thuringiensis* (Bt) nunca ocuparam um lugar expressivo no mercado de vendas de inseticidas, principalmente por problemas relacionados à perda de estabilidade, não possui efeito sistêmico nas plantas, ao espectro limitado de ação e à degradação rápida pela ação da luz ultravioleta (NAVON, 2000).

As lagartas que não morreram ingerindo o Bt podem ter sido mortas pelo parasitismo. Lagarta com aspecto mumificada, coloração escura sem deformações, aspecto de parasitismo (FIGURA 13 A). Lagarta deformada, mumificada e tamanho reduzido, aspecto de morte por Bt (FIGURA 13 B). Pupa oca, aspecto de pupa parasitada (FIGURA 13 c). Imaturos encontrados dentro da pupa (FIGURA 13 D).

Extrato de Neem (*Azadirachta indica*) foi menos eficaz dentre os controles utilizados com a mortalidade de 50% de lagartas de 3º instar. Observa-se em resultados de outros trabalhos que a mortalidade de *P. xylostella* chega a 90%. A diferença entre a mortalidade verificada (TABELA 1) e a de outros estudos pode ser devido ao instar larval utilizado, pois lagartas de 1º e 2º instar são mais sensíveis a Azadirachtina, principal composto com princípios inseticida presente nos derivados do Neem. Podemos também explicar a mortalidade observada, porque Azadirachtina muitas vezes não mata a lagarta, pode agir na fertilidade do adulto e pode influenciar na má formação de adultos deformados e estes critérios de adultos não foram analisados (DE BORTOLI; THULLER; LOPES, 2006. TORRES *et al.*, 2006, BOIÇA-JUNIOR *et al.*, 2015).

Figura 13: Tratamento IV lagarta e pupa de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) com sintomatologia de morte por *Bacillus thuringiensis* e *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae).



A- Lagarta com aspecto mumificada, coloração escura sem deformações. Aspecto de parasitismo. B- Lagarta deformada, mumificada e tamanho reduzido. Aspecto de morte por Bt. C- Pupa oca. Aspecto de pupa parasitada. D- Imaturos encontrados dentro da pupa. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

A utilização desse produto no manejo de pragas lepidópteras nos agroecossistemas com olerícolas é vantajoso pois, eles não persistem no ambiente, têm modos de ação específicos, apresenta uma baixa toxicidade em mamíferos, e podem ser potencialmente compatível com inimigos naturais. Os dados deste experimento corroboram com o no qual os autores concluem que os extratos de Neem parecem ser adequados para a combinação com o controle biológico, pois apresentam efeito negativo no peso, oviposição e eclosão dos ovos, além de possuir efeito antialimentar nas lagartas de *P. xylostella* de 3º e 4º instar (HASSAN; ZADA; AHMAD, 2018).

As características morfológicas que demonstraram a morte causada por Neem foi que as lagartas depois que se alimentaram da folha com extrato diminuíram o tamanho, causou deformação e morte das mesmas, lagartas que sobreviveram formaram pupas defeituosas as quais não emergiram adulto (FIGURA 14 A e B).

Figura 14: lagarta e pupa de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) com sintomatologia de morte por *Azadirachta indica*.



A- Pupa deformada e mumificada. Características do neem. B- Lagartas deformadas pequenas e coloração enegrecida. Características do neem. Local: Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD. Dourados-MS 2018.

A mortalidade de *P. xylostella* foi maior ao se utilizar Neem + *T. howardi*, o que nos permite evidenciar o efeito aditivo. No tratamento só com o parasitoide teve 76% de mortalidade e só com neem 50% (TABELA 1). Porém quando se associou o

parasitoide e o inseticida botânico, observou-se uma mortalidade de 88%. O neem não interferiu no parasitismo. Pelo contrário, quando as lagartas não foram mortas pelo extrato de neem, elas foram parasitadas pelo parasitoide. Certificou-se que as mesmas estavam parasitadas ao abrir as pupas e constatar a presença de imaturos. Encontrou-se também lagartas deformadas, que pode ser efeito da ingestão do inseticida botânico e pupas deformadas sem sinal de parasitismo (FIGURA 15 A, B e C) (TORRES *et al.*, 2006).

Figura 15: Tratamento VI lagarta e pupa de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) com sintomatologia de morte por por *Azadirachta indica* e *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae).



A e B- Lagartas deformadas escurecidas com características de morte por neem. C- pupa oca com aspecto de parasitada. Local: Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD. Dourados-MS 2018.

Estudos com o parasitoide *Oomyzus sokolowki* (KURDJUMOV, 1912) (Hymenoptera: Eulophidae) associado com *A. Indica*, demonstram que houve a mortalidade de quase 100% de lagartas de *P. xylostella*. Além disto os autores

observaram que não houve interferência na taxa de emergência do parasitoide estudado (BOIÇA-JUNIOR, *et al.*, 2015).

Aleloquímicos extraídos de plantas possuem características insetistáticas, podendo não apresentar ação drástica contra insetos-praga igual inseticidas sintéticos, porém há a redução de insetos pragas, sendo uma forma de controle útil, podendo ser utilizada em consorcio com outras formas de controle para a eliminação da inseto praga (TORRES *et al.* 2006) este efeito insetistático pode ter acarretado a paralisia temporária das lagartas de *P. xylostella*, favorecendo o parasitismo por fêmeas de *T. howardi*.

Este é o primeiro trabalho com a utilização destes três tratamentos para o controle de *P. xylostella*, principal praga das Brassicaceae. O próximo passo é testar estes tratamentos em semi-campo e em campo, para averiguar se a eficiência é a mesma, bem como seu custo.

5 CONCLUSÕES

Fêmeas de *t. howardi* parasitaram e se desenvolveram em larvas de 4^o instar de *p. xylostella* em plantas de couve, em condições de semi-campo, em todas as densidades avaliadas, sendo o maior parasitismo obtido na densidade de 9:1.

De maneira geral, *T. howardi*, *B. thuringiensis*, Neem, isolados ou associados causaram mortalidade de lagartas de 3^o instar de *P. xylostella* acima de 65%.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa pesquisa permite estimar a quantidade de parasitoides que se desenvolvem em uma dada densidade de fêmeas de *T. howardi* sob a fase larval de *P. xylostella*. A evidência de que apenas um indivíduo de *T. howardi* tenha capacidade de parasitar uma lagarta de quarto instar de *P. xylostella* tem relevante importância para o manejo integrado de pragas da couve.

A tendência futura é corroborar para a implementação de bases em um programa de controle biológico desse lepidóptero-desfolhador da couve, ajustando a quantidade de parasitoides a serem liberados por unidade de área ou em função da população da praga-alvo, realizando pesquisas sobre a dispersão desses parasitoides, para se obter maior êxito em programas de controle biológico. Dessa forma, novos estudos devem ser conduzidos para verificar a capacidade e eficiência de fêmeas de *T. howardi* em condições de campo.

A utilização de solução contendo *A. indica* e *B. thurigiensis* não interferiu no parasitismo do *T. howardi*. Houve um acréscimo na porcentagem de mortalidade de *P. xylostella*. Estudos futuro tem o objetivo de testar estes mesmos produtos em casa de vegetação e a campo.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE Gilberto.S.; Serrão José E.; Zanuncio José C.; *et al.*, Immunity of an alternative host can be overcome by higher densities of its parasitoids *Palmistichus elaeisis* and *Trichospilus diatraeae*. **Plos One**, Viçosa, v. 05, 2010. Disponível em: <DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013231>> Acesso em: 27 maio 2018.
- ALFORD, Adam M.; Kuhar, Thomas P.; Diamondback Moth. **Virginia Cooperative Extension**. Virginia, v. 444, n. 07, 2018. Disponível em: <<http://pubs.ext.vt.edu/444/444-007/444-007.html>> Acesso em 12 jan. 2019
- ARVANITAKIS, Laurence. **Interaction entre la teigne du chou *Plutella xylostella* (L.) et ses principaux parasitoïdes en conditions tropicales : approche éthologique, écologique et évolutive**. Sciences agricoles.Université Paul Valéry - Montpellier III, 2013. Disponível em: <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00984578>> Acesso em: 12 jan. 2018.
- BANDEIRA, Gustavo N. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009. Disponível em: <<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/5977>> Acesso em: 27 nov. 2017.
- BARANIAK, Edward. Taxonomic revision of the genus *Plutella* SCHRANK, 1802 (Lepidoptera: Plutellidae) from the Palaearctic region with notes on its phylogeny. **Polish Entomological Society**, Bydgoszcz, v.76, p.1-122, 2007. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20073285996>> Acesso em 12 jan. 2019.
- BARBOSA, Rogerio H.; Pereira, Fabricio F.; Motomiya, Anamari.V.A. *et al.* *Tetrastichus howardi* density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer, **Neotropical Entomology**, Dourados, 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13744-018-0646-z#citeas>> acesso em 05 fev. 2019
- Barbosa, Leandro S.; Couri, Márcia S.; Coelho, Valéria M. A.; Desenvolvimento de *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae) em pupas de *Cochliomyia macellaria* (Fabricius, 1775) (Diptera: Calliphoridae), utilizando diferentes densidades do parasitóide. **Biota Neotropica**. Campinas v. 8, n. 1, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-06032008000100005&script=sci_arttext&tIng=pt> Acesso em: 17 jan 2019.
- BARBOSA, Rogério H.; Kassab, Samir O.; Pereira, Fabricio F.; *et al.*, Parasitism and biological aspects of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Erinnyis ello* (Lepidoptera: Sphingidae) pupae. **Ciência Rural**, Dourados-MS, v. 45, n. 2, p.185-188, 2015. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782015000200185> Acesso em: 11 jan. 2018

BARROS, Reginaldo; Thuler, Robson T.; Pereira, Fabricio F.; Técnica de criação de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: Pratisoli, D.; Técnicas de criação de pragas de importância agrícolas, em dietas naturais. EDUFES, Vitória, 2012.

BRAVO, Alejandra; Gill, S.Sarjeet; Soberón, Mario. *Bacillus thuringiensis* mechanisms and use. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S.S. (Eds.), **Molecluar Insect Science**, p. 175 - 206, México 2005. Disponível em : < <https://aem.asm.org/content/71/9/5391.short>> acessado em 12 fev 2019.

BOIÇA-JÚNIOR, Arlindo L.; Janini, Julio C.; Souza, Bruno H. S.; *et al.*, Efeito de cultivares de repolho e doses de extrato aquoso de nim na alimentação e biologia de *Plutella xylostella* (Linnaeus)(Lepidoptera: Plutellidae) **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 1, p. 22-31, 2013. Disponível em:< <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/12492>>. Acesso em 09 abr. 2018.

BOIÇA-JÚNIOR, Arlindo L.; Torres, Adalci L.; Souza, Bruno H. S.; *et al.*, Combination of resistant cultivars, botanical insecticides and biological control for *Plutella xylostella* management on cabbage. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n.7, p. 588-595, 2015.Disponível em: < <https://academicjournals.org/journal/AJAR/article-abstract/2A369FA50324>> Acesso em: 12 jan. 2019.

BRIGHENTI, Deodoro M.; Carvalho, César F.; Carvalho, Geraldo A.; *et al.*, Eficiência do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) no controle da Traça da Cera *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 60-68, 2005. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542005000100007&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em 27 nov. 2018.

CASSOL Silmara P.; Lenhardt, Enéias R.; Gabriel, Vilson J.;Caracterização dos estádios fenológicos e a exigência de adubação do repolho. **Ciências Agroveterinárias e Alimento**. Itapiranga, n. 02, 2017. Disponível em: <<http://revista.faiacademias.edu.br/index.php/cava/article/view/389>> Acesso em 12 jan. 2019.

CASTELO-BRANCO, Marina; França, Félix H.; Villas-Boas, Geni L. *et al.*, Traça-das-Crucíferas *Plutella xylostella*. Artrópodes de importância econômica. **Comunicado Técnico (CNPq)**, Brasília, 1997. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/759559>>Acesso em: 23 out. 2017

CASTELO BRANCO, Marina; França, Félix H; Pontes, Ludmilla A. *et al.*, Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.

CHAGAS-FILHO, Norton R.; Boiça-Junior, Arlindo; Alonso, Tania F., *Biologia de Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em Cultivares de Couve-Flor.

Neotropical Entomology, *Jaboticabal*, v. 39, n. 2, p.253 - 259, 2010. Disponível em:< http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2010000200017>. Acesso em: 25 abr. 2018

CELESTINO, Flávio N.; Souza, Lauana P.; Valbon, Wilson R.; *et al.*, Traça-das-Crucíferas (*Plutella xylostella*). In: **Pragas das brássicas / Anderson Mathias Holtz, Vando Miozzi Rondelli, Flávio Neves Celestino, Luziani Rezende Bestete e José Romário de Carvalho**. Colatina 2015

COSTA, Daniele P.; Pereira, Fabricio F.; Kassab, Samir O. *et al.* *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in different densities and periods of parasitism on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Caterpillars. **Entomological Society of America**, Dourados-MS, v. 107, n. 5, p 961-967, 2014. <Disponível em: <https://bioone.org/journals/annals-of-the-entomological-society-of-america/volume-107/issue-5/AN14014/iTetrastichus-howardi-i-Hymenoptera--Eulophidae-in-Different-Densities-and/10.1603/AN14014.pdf>> Acesso em: 11 jan. 2018.

CRUZ, Ivan; REDOAN, Ana C.; SILVA, Rafael B.; *et al.* New record of *Tetrastichus howardi* (Olliff) as a parasitoid of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) on maize. **Scientia Agricola**, Sete Lagoas, v. 68, n. 2, p. 252-254, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162011000200017 >. Acesso em: 05 abr. 2018.

CZEPAK, Cecilia; Fernandes, Paulo M.; Santana, Hellen G. *et al.* Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Samambaia-GO v.35, p. 129-131, 2005. Disponível em: < <https://revistas.ufg.br/pat/article/view/2261>> acesso em: 1 abr. 2018.

DE-BORTOLI, Caroline P.; Polanczyk, Ricardo A.; Crickmore, Neil; *et al.*, *The investigation of factors potentially affecting the susceptibility of native Plutella xylostella populations to Bacillus thuringiensis cry toxins*. International Journal of Agriculture Innovations and Research, Jaboticabal, v.3, n.3. p. 823-832, 2014. Disponível em: < sro.sussex.ac.uk/53245/> Acesso em: 19 jan. 2019.

DE-BORTOLI, Sergio A.; THULER, Robson T.; LOPES, Brunno S. Effects of lufenuron and azadiractina on adults of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera:Plutellidae). **Científica**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 53-58, 2006. Disponível em: <<http://www.cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/view/29>> Acesso em: 20 nov. 2017.

FAVERO, Kellen; Pereira, Fabricio F.; Torres, Jorge Braz; *et al.*, Reproduction of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) in *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) Pupae at Different Temperatures. **Florida Entomologist**, v.98, p.865-869, Dourados-MS, 2015. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/282326148_Reproduction_of_Tetrastichus_howardi_Hymenoptera_Eulophidae_in_Diatraea_saccharalis_Lepidoptera_Crambidae_Pupae_at_Different_Temperatures> Acesso em: 11 jan. 2018

FERNANDES, Winnie C.; Rodrigues Augusto; Pereira Helter C.; *et al.*, Desempenho biológico de *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae) na lagarta-da-soja em laboratório e semi-campo. **Anais eletrônico, XXVII Congresso Brasileiro de Entomologia e X Congresso Latino-Americano de Entomologia**. Gramado, 2018. Disponível em: < <https://www.cbe2018.com.br/images/cbe2018/docs/anais/anais-cbe-2018-v2.pdf>> Acesso 10 Out. 2018.

GALLO, Domingos; Nakano, Octavio; Silveira-Neto, Sinval; *et al.*, Entomologia agrícola. **FEALQ**, Piracicaba, 2002.

GODFRAY, Hugh.C.J. Parasitoids, behavioral and evolutionary ecology. Princeton: **Princeton University Press**, 1994. Disponível em: < <https://books.google.com.br/books?id=B1ZxjLyGQiQC&printsec=frontcover&hl=pt-PT#v=onepage&q&f=false>> Acessado 12 fev. 2019.

GUPTA, P D.; Thorsteinson, Ásgeir J.; Food plant relationship of the Diamond-back moth (*Plutella maculipennis* (Curt.)). I. Gustation and Olfaction in Relation to Botanical Specificity of the Larva. **Entomologia Experimentalis et Applicata** v. 3 p 305-314, 1960. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1570-7458.1960.tb00454.x>> Acesso em: 19 dez. 2018.

HARDY, Eliot. *Plutella maculipennis*, Curt.,. Its natural and biological control in England. **Bulletin of entomological research**, England, v. 29, n. 4, p. 343-372, 1938. Disponível em:< https://www.researchgate.net/publication/231832931_Plutella_maculipennis_Curt_its_natural_and_biological_Control_in_England> Acessado em : 25 nov. 2018.

HARVEY, Jeffrey, A.; POELMAN, Erik, H.; TANAKA, Toshiharu. Intrinsic Inter- and Intraspecific Competition in Parasitoid Wasps, **Annual Review of Entomology**, Wageningen, v. 58, p. 333-351, 2013. Disponível em: < <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-ento-120811-153622>> Acesso : 22 nov. 2018.

HARVEY, Jeffrey; MALCICKA, Miriama. Nutritional integration between insect hosts and koinobiont parasitoids in an evolutionary framework. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 159, 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/eea.12426>> Acesso em: 26 nov. 2018.

HOSSAIN, Mohammad, A.; AL-TOUBIA,Wafa A.S.; WELI, Afaf, M. *et al.* Identification and characterization of chemical compounds indifferent crude extracts from leaves of Omani neem. **Journal of Taibah University for Science**, Nizwa, v.07, 2013. Disponível em: < <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1016/j.jtusci.2013.05.003>> acesso em: 24 nov. 2017.

IBRAHIM, Ahmed M.A.; KIM, Yonggyun. **Parasitism by *Cotesia plutellae* alters the hemocyte population and immunological function of the diamondback moth, *Plutella xylostella*.** *Journal of Insect Physiology*, Andong, v.52, p. 943-950, 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022191006001107>> Acessado em 28 out. 2017.

IRAC -BR, Comitê de ação a resistência a inseticidas. Traça-das-crucíferas consegue detectar a presença de inseticidas na planta, 2016. Disponível em: <<http://www.irc-br.org/single-post/2016/03/30/Tra%C3%A7adascruc%C3%ADferas-consegue-detectar-a-presen%C3%A7a-de-inseticidas-na-planta>> Acesso em 22 nov. 2017.

IRAC, Michigan State University, Pesticide resistance, 2019. Disponível em: <<https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=571>> Acesso em 29 jan. 2019.

JESUS, Flávio. G.; Paiva, Lígia A.; Gonçalves, Verônica C.; *et al.* Efeito de Plantas Inseticidas no Comportamento e Biologia de *Plutella Xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Arquivos do Instituto. Biológico, Urutaí*, v. 78, n.2, p. 279-285, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/275337194_efeito_de_plantas_inseticidas_no_comportamento_e_biologia_de_plutella_xylostella_lepidoptera_plutellidae> Acesso em 25 ago. 2017.

JIANG, Tiantian; Wu, Shunfan; Yang, Tingting; *et al.*, Monitoring Field Populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) for Resistance to Eight Insecticides in China. *Florida Entomologist*, Nanjing, v. 98, n. 1, p. 65-73, 2015. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/24364175?seq=1#page_scan_tab_contents> Acesso em 28 jan. 2019.

KARINDAH, Sri; Sutanto, Sutanto; Siswanto, Edi; Parasitoid larva-pupa *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) pada *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) di pertanaman kubis kecamatan batu dan poncokusumo, kabupaten malang. *Jurnal Entomologi Indonesia*, Indonesia, v.1, n.2 p. 61-68, 2005. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/321968286_Parasitoid_larva-pupa_Tetrastichus_howardi_Hymenoptera_Eulophidae_pada_Plutella_xylostella_L_Lepidoptera_Yponomeutidae_di_pertanaman_kubis_kecamatan_batu_dan_poncokusumo_kabupaten_malang> Acesso 05 out. 2017

KIRSCH, K.; Schumutterer, Heinz; Low efficacy of a *Bacillus thuringiensis* (Berl.) formulation in controlling the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in the Philippines. *Journal of Applied Entomology*. v. 105, p. 249-255, 1988. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/249450049_Low_efficacy_of_a_Bacillus_thuringiensis_Berl_formulation_in_controlling_the_diamondback_moth_Plutella_xylostella_L_in_the_Philippines> Acesso em: 29 Nov. 2018

LA SALLE, Jonh. POLASZEK, Andrew. Afrotropical species of the *Tetrastichus howardi* species group (Hymenoptera: Eulophidae). **African Entomology**, Southern Africa. V. 15, n. 1, 2007. Disponível em: < <https://bioone.org/journals/african-entomology/volume-15/issue-1/1021-3589-15.1.45/Afrotropical-species-of-the-span-classgenus-speciesTetrastichus-howardi-span-species/10.4001/1021-3589-15.1.45.short>> Acesso em: 11 set. 2018

LUCCHETTA, Jéssica T.; **Parasitismo e desenvolvimento de *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Dourados 2016.

MAGALHÃES, Gustavo. O.; **Aspectos biológicos de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) e estratégias para o manejo da praga**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Jaboticabal, 2016. Disponível em <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/142829>> Acesso em: 12 jan. 2019.

MARCHIORO Cesar A.; Krechemer, Flavia S.; de Moraes, Carla P.; *et al.* Reliability of Degree-Day Models to Predict the Development Time of *Plutella xylostella* (L.) under Field Conditions. **Neotrop Entomol**, v. 44, n. 6, p. 574-579, 2015. Disponível em:< <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13744-015-0331-4>> Acesso em: 19 abr. 2018

MARSARO-JÚNIOR, Alberto L.; De-Mori, Claudia; Silva, Paulo R. V.; *et al.*, Índice multicritério para análise comparativa de inseticidas para controle da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*. IN: **simpósio brasileiro de canola**, Passo Fundo. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2017 Disponível em : <<https://www.embrapa.gov.br/trigo/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1084127/indice-multicriterio-para-analise-comparativa-de-inseticidas-para-controle-da-traca-das-cruciferas-plutella-xylostella>> Acesso em 19 jan. 2019.

MORDUE (LUNTZ), Jennifer A.; BLACKWELL, Alison. Azadiractin: an update. **Journal of Insect Physiology**. Aberdeen, v.39, p.903-924, 1993.

MEDEIROS, Patrícia T.; Dias, José M. C. S.; Monnerat, Rose G. *et al.* Instalação e Manutenção de Criação Massal da Traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). **Circular Técnica**, Brasília, v. 29, 2003. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/185217>> Acesso em 25 out. 2017.

MUHAMAD, Omar; Tsukuda, Ritsuko; Oki, Yoko; *et al*; Influences of Wild Crucifers on Life History Traits and Flight Ability of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Population Ecology**, Okayama, v. 36, n. 53, 1994. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02515085>> Acesso em 31 out. 2018.

NANSEN, Christian; Baissac, Olivier; Nansen, Maria; *et al.*, Behavioral Avoidance - Will Physiological Insecticide Resistance Level of Insect Strains Affect Their

Oviposition and Movement Responses? **PLoS ONE**, Davis, v. 11, n. 3, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0149994>> Acesso em: 19 jan. 2019.

PANIZZI, Antônio R.; Parra, José R. P.; Introdução à bioecologia e nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas. In: **PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Informação Tecnológica; Londrina: Embrapa Soja, 2009.** Londrina p. 21-35, 2009.

PARRA, José R. P.; Botelho, Paulo S. M.; Correa-Ferreira, Beatriz S.; *et al.*, Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores. **Manole**, São Paulo, 2002

PARRA, José R.P.; 2014. Biological Control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**. São Paulo, V.71, n.5 p.345-355, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162014000500012> Acesso em: 12 jan. 2019.

PASTORI, Patrik. L.; PEREIRA, Fabricio. F.; ANDRADE, Gilberto. S.; *et al.*, Reproduction of *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) in pupae of two lepidopterans defoliators of eucalypt. **Revista Colombiana de Entomología**, Fortaleza, v. 38, n. 1, p. 91-93, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/261796362_Reproduction_of_Trichospilus_diatraeae_Hymenoptera_Eulophidae_in_pupae_of_two_lepidopterans_defoliators_of_eucalypt> Acesso em: 12 dez. 2018

PEREIRA, Fabricio F.; Kassab, Samir O.; Ferreira, Vanessa R.; Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. **Florida Entomologist**, Dourados v. 98, n. 1, 2015. Disponível em: <<https://bioone.org/journals/Florida-Entomologist/volume-98/issue-1/024.098.0164/Parasitism-and-Emergence-of-iTetrastichus-howardi-i-Hymenoptera-Eulophidae/10.1653/024.098.0164.full>>. Acesso em: 11 jan. 2018.

PRATISSOLI, Dirceu; Lima, Victor L.S.; Pirovani, Victor D. *et al.* Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. **Horticultura Brasileira**, Alegre, v. 33, p. 101-105, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362015000100101&script=sci_abstract> Acesso em: 16 ago. 2018.

PRÜTZ, Gernot; Brink, Andreas; Dettner, Konrad. Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: effects of *Bacillus thuringiensis*-corn on the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi*. **Naturwissenschaften**, Bayreuth v. 91, p. 451–454, 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15338032>> Acesso em: 19 jul. 2018.

PYÑERO, Nahara G.; Pereira, Fabricio F.; Gomes-Borges, Felipe L.; et al, ¿Multiplicar *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: eulophidae) en la oruga de la seda afecta su biología? **Acta Biológica Colombiana**, Colombia, v. 21, n. 1, p 186-193, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.15446/abc.v21n1.47999>> Acesso em 12 jan. 2019.

SANAHUJA, Georgina; BANAKAR, Raviraj; TWYMAN, Richard, M. *et al.*, *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and comercial applications. **Plant Biotechnology Journal**, v. 9, n. 3, p. 283-300, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21375687>> Acesso em: 12 jan. 2019.

SANTOS, Vanessa C.; Siqueira, Herbert A. A.; Silva, Jefferson E.; *et al.*, Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil.

Neotropical Entomology, Recife, v. 40. n. 2 p. 264-270, 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2011000200017> Acesso em: 28 out. 2017

SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Aspectos da olericultura paranaense. **Boletim**, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2018/Olericultura_2017_18.pdf> Acesso em: 12 jan. 2019.

SILVA-TORRES, Christian S. A.; Pontes, Itlillio V. A. F.; Torres, Jorge B.; Barros, Reginaldo. New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L) (lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology**, Recife. V. 39, N. 5, 2010a. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-566X2010000500028> Acesso em: 09 abr. 2018

SILVA-TORRES, Christian S. A.; Torres, Jorge B.; Barros, Reginaldo; *et al.*, Parasitismo de traca-das-cruciferas por *Oomyzus sokolowskii*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Recife, v. 45, n. 7, 2010b. Disponível: <<http://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/7440>> Acesso em: 06 jun. 2018.

SOW, Gallo; Diarra, Karamoko; Arvanitakis, Laurence; *et al.*, The relationship between the diamondback moth, climatic factors, cabbage crops and natural enemies in a tropical area. **Folia Horticulturae**, Senegal, v. 25, n. 1, 2013. Disponível em: <<https://content.sciendo.com/view/journals/fhort/25/1/article-p3.xml>> Acesso em 12 jan. 2019.

SYED, Sultana T.; Kalhor, Aijaz N.; Abro, Ghulam H. *et al.*, Parasitism of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in Southern Pakistan **Florida Entomologist**, Tandojam, v. 101, p. 172-178, 2018. Disponível em: <<https://bioone.org/journals/Florida-Entomologist/volume-101/issue-2/024.101.0204/Parasitism-of-iPlutella-xylostella-i-Lepidoptera--Plutellidae-in-Southern/10.1653/024.101.0204.full>> Acesso em: 14 jan. 2019.

TRANI, Paulo E.; Tivelli, Sebastião W.; Blat, Sally F.; *et al.*, Couve de folha: do plantio à pós-colheita. **Boletim técnico IAC**, Campinas, v. 214, 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/278404322_Couve_de_folha_do_plantio_a_pos-colheita> Acesso em: 25 set. 2017.

TIAGO, Elison F.; Pereira Fabricio F.; Rodrigues, Augusto; *et al.*; Biologia reprodutiva de *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae) em lagartas e pupas de *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae). **Anais eletrônico, XXVII Congresso Brasileiro de Entomologia e X Congresso Latino-Americano de Entomologia**. Gramado, 2018. Disponível em: <<https://www.cbe2018.com.br/images/cbe2018/docs/anais/anais-cbe-2018-v2.pdf>> Acesso em: 10 Out. 2018.

TORRES, Adalci L.; Boiça-Júnior, Arlindo L.; Medeiros, Cesar A. M.; *et al.* Efeito de Extratos Aquosos de *Azadirachta Indica*, *Melia Azedarach* e *Aspidosperma Pyrifolium* no Desenvolvimento e Oviposição De *Plutella Xylostella*. **Bragantia**, Jabotical, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0006-87052006000300011> Acesso em: 25 maio 2018

THULER, Robson T.; Bortoli, Sergio A.; Hoffmann-Campo, Clara B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 467-474, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2007000400003&script=sci_abstract&tlng=pt> Acesso em 23 out. 2017

URANO, Satoru; Abeb, Junichiro; Uefunec, Masayosh; *et al.* Analytical model to predict the number of parasitoids that should be released to control diamondback moth larvae in greenhouses. **Journal of Plant Interactions**, Japan v. 6, p. 151 – 154, 2011. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17429145.2011.555007>> Acesso em 25 nov. 2018.

VARGAS, Elizangela L.; Pereira, Fabricio F.; Tavares, Marcelo T. Record of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitizing *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane crop in Brazil. **Entomotropica**, Dourados-MS v. 26, p. 143-146, 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Marcelo_Tavares4/publication/289748009_Record_of_Tetrastichus_howardi_Hymenoptera_Eulophidae_parasitizing_Diatraea_sp_Lepidoptera_Crambidae_in_sugarcane_crop_in_Brazil/links/56de21e008ae46f1e99f955e.pdf> Acesso em: 11 jan. 2018.

VACARI, Alessandra M.; **Caracterização biológico-comportamental de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) predando *Plutella xylostella* (L., 1758)**. Tese apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP. Jaboticabal, 2009. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/102291>> Acesso em: 05 maio 2018.

VAN-LENTEREN, Joop C.; Bolckmans, Karel; Jürgen Köhl; *et al.*, Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, Wageningen, v. 63, p. 39-59, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-017-9801-4>> Acesso em 20 jan. 2019.

VIANA, Cácia L. T. P.; De-Bortoli, Sergio A.; Thuler, Robson T.; *et al.*, Efeito de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Científica**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 22 - 31, 2009. Disponível em: < <http://cientifica.org.br/index.php/cientifica/article/view/261>> Acesso em: 12 jan. 2019.

VINSON, Bradleigh. (1990). How parasitoids deal with the immune system of their host: An overview. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, v. 13, p. 3–27, 1990. Disponível em: < DOI: 10.1002/arch.940130103> Acesso em 01 fev. 2019.

VILLAS-BÔAS, Geni.L.; Castelo-Branco, Marina; Medeiros, Maria.A.; *et al.*, Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas e impactos sobre a população natural de parasitóides. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 4, p. 696-699, 2004. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362004000400006&script=sci_abstract&lng=pt> Acesso em: 21 maio 2018.

ZALUCKI, Myron P.; Shabbir, Asad; Silva, Rehan; *et al.*, Estimating the Economic Cost of One of the World's Major Insect Pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Just How Long Is a Piece of String? **Journal of Economic Entomology**, Brisbane, v. 105, n. 4, p. 1115-1129, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22928287>> Acesso em 19 set. 2018.

ZHENG, Yihua; ZHENG, Lixia; LIAO, Yonglin *et al.* Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of a pupal endoparasitoid *Tetrastichus howardi* (Olliff) (hymenoptera: eulophidae). **Microscopy Research and Technique**. Guangzhou, v. 79, p. 374-384, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26919727>> Acessado em: 10 dez. 2018.