



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE MESTRADO EM AGRONOMIA
CAMPUS LUIZ MENEGHEL

NATHÁLIA COSTALONGA ANDRADE

**BASES BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) E NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE
Rachiplusia nu (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NA CULTURA DA
SOJA**

BANDEIRANTES, PR, BRASIL
2024

NATHÁLIA COSTALONGA ANDRADE

**BASES BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) E NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE
Rachiplusia nu (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NA CULTURA DA
SOJA**

Trabalho apresentado como parte das exigências
para defesa no Programa de Mestrado em Agro-
nomia da Universidade Estadual do Norte do Pa-
raná, *Campus* Luiz Meneghel.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Viviane Sandra Alves
Coorientador: Prof. Dr. Adeney de Freitas Bueno

**BANDEIRANTES, PR, BRASIL
2024**

FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A5537	Andrade, Nathália Costalonga Bases biológicas de <i>Trichogramma pretiosum</i> (Riley, 1879) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e nematoides entomopatogênicos sobre <i>Rachiplusia nu</i> (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura da soja / Nathália Costalonga Andrade. – 2024. 74 f. : il. ; 30 cm. Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Viviane Sandra Alves. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, <i>Campus</i> Luiz Meneghel, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Agronomia, 2024. 1. Heterorhabditidae - Dissertação. 2. Falsa-medideira - Dissertação. 3. Manejo integrado de pragas - Dissertação. 4. Parasitoide - Dissertação. I. Alves, Viviane Sandra. II. Universidade Estadual do Norte do Paraná. <i>Campus</i> Luiz Meneghel. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-graduação em Agronomia. III. Título. CDD: 632 (22. ed.)
-------	---

Catálogo na Publicação

Bibliotecário responsável pela elaboração:
Elisio Custodio Brentan Junior (CRB-9 PR n.º 1955/O).

NATHÁLIA COSTALONGA ANDRADE

BASES BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE *Rachiplusia nu* (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NA CULTURA DA SOJA

Trabalho apresentado como parte das exigências para defesa no Programa de Mestrado em Agronomia da Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dr^ª. Gabriela Vieira Silva - UENP

Prof^ª. Dr^ª. Vanessa A. M. de Carvalho - UFU

Prof. Dr. Adeney de Freitas Bueno
Coorientador – Embrapa Soja

Dedico esse trabalho aos meus amados pais,
Acir e Josiane, por todo apoio, incentivo,
amor, dedicação e principalmente por
acreditarem em mim incondicionalmente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, São Miguel Arcanjo, Nossa Senhora Aparecida e São Bento por todas as graças recebidas.

Aos meus amados pais, Acir e Josiane, por serem meus exemplos de vida, minha base, por acreditarem em mim e sempre se esforçarem para que eu pudesse ter uma boa educação. A vocês, minha eterna gratidão e amor.

Ao meu irmão por me incentivar e pela paciência.

Ao meu melhor amigo e companheiro Arthur, que me apoia nas dificuldades, me incentiva a continuar e se faz presente nos momentos bons e ruins.

À minha orientadora Vivi, por me ensinar tanto, estar sempre presente e disposta a me ajudar, apoiando cada passo meu. Obrigada por tudo. Todos esses anos de graduação e mestrado que passamos juntas foram melhores e mais leves, graças a você e ao LECOM.

Ao meu coorientador Adeney, pela ajuda e apoio, por me aceitar como orientanda mesmo sem me conhecer previamente, por ter disponibilizado toda a estrutura da Embrapa para a realização do meu trabalho.

A Universidade Estadual do Norte do Paraná, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e o Programa de Pós-Graduação em Agronomia – UENP pela oportunidade, estrutura e por ajudarem a desenvolver meus aspectos profissionais.

As professoras Jael, Laila, Gabriela e Vanessa por estarem presentes nas minhas bancas, me ajudando desde o começo com o projeto e dissertação.

Ao Miguel, Serginho e Mari, por terem me ensinado tantas coisas novas, me ajudando sempre que necessário.

A todos os profissionais que me auxiliaram nas compras e doações de insetos.

A minha amiga de turma Millena, por ser minha parceira nas aulas, trabalhos, eventos e nos mais diversos momentos do mestrado, levarei você no coração, com muito carinho.

Ao meu antigo LECOM e hoje Laboratório de Ensaios com Inimigos Naturais de Praga, por ter mudado minha vida.

A técnica de laboratório mais dedicada que eu conheço Paula, por toda ajuda e preocupação comigo.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Epígrafe

“Faça sempre o que você tem medo de
fazer.”

R. W. Emerson, Ensaaios

ANDRADE, N. C. BASES BIOLÓGICAS DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) E NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS SOBRE *Rachiplusia nu* (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) NA CULTURA DA SOJA. 2024. Dissertação de Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2024.

RESUMO

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de soja (*Glycine max*) e conta com altos níveis de utilização de soja *Bt*, que fornece controle sobre diversas lagartas que atacam esta cultura, como a espécie *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae). Contudo, a ocorrência desta espécie tem sido relatada em alguns estados brasileiros em soja *Bt* (Cry1Ac) o que pode indicar resistência, aumentando sua importância como inseto praga. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar as bases biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e de nematoides entomopatogênicos (NEP) dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* visando o controle de *R. nu*, separadamente. Para isso, foram realizados testes com o parasitoide *T. pretiosum* avaliando suas características biológicas e capacidade de parasitismo em ovos de *R. nu* nas temperaturas 20, 25 e 30°C. Os parâmetros avaliados nos testes de biologia foram: duração do desenvolvimento (ovo-adulto); porcentagem de emergência (viabilidade); número de indivíduos por ovo e razão sexual. Foi também avaliada a capacidade de parasitismo nas mesmas temperaturas, e foram observados os parâmetros biológicos: número de ovos parasitados diariamente; porcentagem acumulada de parasitismo; número total de ovos parasitados por fêmea e longevidade das fêmeas. Para os NEP, foram realizados experimentos de seleção dos isolados (patogenicidade e virulência), eficiência de diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100 JI/cm²) e ensaios sobre produção (produção total, produção por lagarta, produção por grama de lagarta de *R. nu*). Quanto aos dados referentes a ação do parasitoide, nos experimentos sobre a biologia, os parâmetros porcentagem de emergência e número de parasitoide por ovo não foram afetados pelas condições estudadas. Já na razão sexual, os resultados obtidos a 25 e 30°C e a duração do desenvolvimento (ovo-adulto) apresentou diferença entre as três temperaturas. Nos bioensaios sobre capacidade, o ritmo de parasitismo de *T. pretiosum* foi diretamente influenciado pelas temperaturas, e a longevidade foi maior à medida que a temperatura decresceu enquanto a porcentagem acumulada de parasitismo variou de 6 a 10 dias, da maior temperatura para a menor, respectivamente. O maior número de ovos parasitados foi 46 ovos por fêmea. Já como resultado da seleção de NEP foram selecionados os isolados UEL07 e UENP06, ambos *Heterorhabditis amazonenses*, que apresentaram mortalidade de 100% em *R. nu*. Em todas as concentrações os nematoides foram patogênicos sobre *R. nu*, com resultados de 98 a 100% de mortalidade na maior concentração utilizada para os isolados UENP 06 e UEL07, respectivamente. Por fim, a produção média total de NEP foi de $2,9 \times 10^4$ para UENP 06 e $3,9 \times 10^4$ para UEL 07.

Palavras-chave: Heterorhabditidae; falsa-medideira; manejo integrado de pragas; parasitoide; Steinernematidae.

ANDRADE, N. C. **BIOLOGICAL BASIS OF *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) AND ENTOMOPATHOGENIC NEMATOIDES ON *Rachiplusia nu* (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN SOYBEAN CROPS.** 2024. Dissertação de Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2024.

ABSTRACT

Brazil is considered the world's largest producer of soybeans (*Glycine max*) and has high levels of use of *Bt* soybeans, which provide control over various caterpillars that attack this crop, such as the species *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae). However, the occurrence of this species has been reported in some Brazilian states on *Bt* soybeans (Cry1Ac), which may indicate resistance, increasing its importance as a pest insect. Therefore, the aim of this work was to evaluate the biological bases of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and entomopathogenic nematodes (NEP) of the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* with a view to controlling *R. nu*, separately. To this end, tests were carried out with the parasitoid *T. pretiosum* to assess its biological characteristics and parasitism capacity on *R. nu* eggs at temperatures of 20, 25 and 30°C. The parameters evaluated in the biology tests were: duration of development (egg-adult); percentage of emergence (viability); number of individuals per egg and sex ratio. The parasitism capacity was also assessed at the same temperatures, and the following biological parameters were observed: number of eggs parasitized daily; cumulative percentage of parasitism; total number of eggs parasitized per female and female longevity. For the NEP, experiments were carried out on the selection of isolates (pathogenicity and virulence), the efficiency of different concentrations (0, 25, 50, 75 and 100 JI/cm²) and tests on production (total production, production per caterpillar, production per gram of *R. nu* caterpillar). As for the data on parasitoid action, in the experiments on biology, the parameters percentage emergence and number of parasitoids per egg were not affected by the conditions studied. As for the sex ratio, the results obtained at 25 and 30°C and the duration of development (egg-adult) showed differences between the three temperatures. In the capacity bioassays, the parasitism rate of *T. pretiosum* was directly influenced by temperature, and longevity was greater as the temperature decreased, while the accumulated percentage of parasitism varied from 6 to 10 days, from the highest temperature to the lowest, respectively. The highest number of parasitized eggs was 46 eggs per female. As a result of the NEP selection, isolates UEL07 and UENP06 were selected, both *Heterorhabditis amazonenses*, which showed 100% mortality in *R. nu*. At all concentrations, the nematodes were pathogenic on *R. nu*, with results of 98 to 100% mortality at the highest concentration used for isolates UENP 06 and UEL07, respectively. Finally, the average total production of NEP was 2.9 x 10⁴ for UENP 06 and 3.9 x 10⁴ for UEL 07.

Key-words: parasitoid; integrated pest management; false-midworm; Heterorhabditidae; Steinernematidae.

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Consumo interno e externo de subprodutos a partir da soja brasileira em 2023....	16
Tabela 2.2 Produtos comerciais de <i>Trichogramma pretiosum</i> disponíveis no mercado brasileiro.....	25
Tabela 3.1 Características biológicas da fase imatura de <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos de <i>Rachiplusia nu</i> em diferentes temperaturas de desenvolvimento. UR $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 h de claro e 12 h de escuro.....	35
Tabela 3.2 Valores médios ($\pm$ D.P.) do número de ovos parasitados por fêmea e da longevidade de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> em diferentes temperaturas sobre ovos de <i>Rachiplusia nu</i>	37
Tabela 4.1 Porcentagem média ($\pm$ D.P.) de mortalidade de <i>Rachiplusia nu</i> causada por nematoides entomopatogênicos em condições de laboratório.....	47
Tabela 4.2 Porcentagem média ($\pm$ D.P.) de mortalidade de <i>Rachiplusia nu</i> causada por diferentes concentrações dos isolados UEL 07 e UENP06.....	48
Tabela 4.3 Número médio ($\pm$ D.P.) de juvenis infectantes de <i>Heterorhabditis amazonensis</i> (isolados UEL07 e UENP06) produzidos <i>in vivo</i> em lagartas de <i>Rachiplusia nu</i>	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Ação da proteína Cry presente em soja <i>Bt</i> nos insetos.....	18
Figura 2.2 Semelhanças entre as espécies <i>Chrysodeixis includens</i> e <i>Rachiplusia nu</i>	20
Figura 2.3 Ciclo de vida da espécie <i>Rachiplusia nu</i>	20
Figura 2.4 Ciclo biológico de <i>Trichogramma pretiosum</i>	23
Figura 2.5 Imagem microscópica do nematoide entomopatogênico da espécie <i>Steinernema puertorisens</i> : (A) Macho e (B) Fêmea.....	26
Figura 3.1 Taxa média de parasitismo diário e acumulado do parasitoide <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos de <i>Rachiplusia nu</i> em diferentes temperaturas.....	36
Figura 4.1 Taxa média de mortalidade de <i>Rachiplusia nu</i> em diferentes concentrações.....	48
Figura 4.2 Produção total de Juvenis Infectantes de <i>Heterorhabditis amazonensis</i> (isolados UENP06 e UEL07 em lagartas de último instar de <i>Rachiplusia nu</i>	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Soja.....	15
2.2 Soja <i>Bt</i>	16
2.3 Lepidópteros praga da cultura da soja	18
2.3.1 <i>Rachiplusia nu</i>	19
2.4 Controle biológico.....	21
2.4.1 <i>Trichogramma pretiosum</i>	22
2.4.2 Nematoides Entomopatogênicos	25
3. ARTIGO A.....	29
Resumo e Abstract	29
3.1 Introdução.....	30
3.2 Materiais e Métodos	32
3.2.1 Criação dos Insetos.....	32
3.2.2 Testes com o parasitoide <i>Trichogramma pretiosum</i>	33
3.3 Resultados	35
3.4 Discussão.....	37
3.5 Conclusão	40
4. ARTIGO B.....	41
Resumo e Abstract	41
4.1 Introdução.....	42
4.2 Materiais e Métodos	44
4.2.1 Criação dos Insetos e multiplicação dos nematoides entomopatogênicos	44
4.2.2 Nematoides entomopatogênicos.....	45
4.3 Resultados	47
4.4 Discussão.....	50
4.5 Conclusão	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1. INTRODUÇÃO

A produção de soja (*Glycine max*) no Brasil ultrapassou 154 milhões de toneladas na safra 2022/23, com a região Sul sendo responsável por cerca de 24% deste valor (CONAB, 2023). A ascendência deste cultivo na agricultura brasileira está relacionada principalmente com o retorno econômico e versatilidade que este grão apresenta (ORLANDI et al., 2012) além da constante busca por inovações no manejo da cultura. Já no âmbito mundial, a produção de soja no ano de 2023 totalizou mais de 373 milhões de toneladas (USDA, 2023) e a estimativa para a safra de 2023/2024 é que esse número aumente, podendo chegar a 403 milhões de toneladas produzidas (AMIS, 2023).

Devido a importância da soja no Brasil e no mundo, estudos visando melhorias na sua produtividade são constantes, envolvendo desde a busca por novas tecnologias para plantio, manejo do solo, melhoramento genético da planta, assim como controle de pragas e doenças. Entre as inovações mais recentes desta cultura, o desenvolvimento da soja com tecnologia *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) merece destaque, pois a planta teve seu código genético modificado para expressar a proteína Cry1Ac (na soja *Bt* de primeira geração), atuando como método de controle para algumas das principais lagartas que atacam esta leguminosa como, por exemplo, a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatilis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Erebidæ) e a lagarta-falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidæ) (Walker, 1858) (BLANCO et al., 2016; BROOKES & BARFOOT et al., 2020).

Essa tecnologia demandou muitas pesquisas e investimentos, e trouxe vantagens que proporcionaram redução do uso de inseticidas e, conseqüentemente, a redução de custos com a utilização dos mesmos, contribuindo com o ambiente e economia (ROGGIA et al., 2013; HORIKOSHI et al., 2022).

No entanto, outra espécie de lagarta também conhecida como falsa-medideira, *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidæ), vem chamando a atenção por estar ocorrendo em soja *Bt* que expressa exclusivamente a proteína inseticida Cry1Ac, que até então controlava esta espécie de lagarta, sendo considerado o primeiro caso relatado na literatura de resistência de lagartas à esta tecnologia (NARDON et al., 2021).

Esta observação tem preocupado, produtores e pesquisadores, pois o desenvolvimento de resistência de *R. nu* à Cry1Ac, que até então é considerada como uma praga secundária na cultura, pode facilmente, elevá-la a condição de praga de maior importância. Como consequência, pode haver um aumento no uso de inseticidas no manejo da cultura, perdendo-se muito dos benefícios da adoção da soja *Bt* que incluem, justamente, a menor utilização de

químicos sintéticos no controle de pragas para a produção desta leguminosa. Dessa forma, torna-se necessário reavaliar os métodos e estratégias utilizadas para o manejo de *R. nu*, na busca por alternativas de manejo mais sustentáveis.

Uma opção para mitigar este problema é a adoção do controle biológico aumentativo que lança mão do uso aplicado de inimigos naturais da praga como uma alternativa para o controle da população da mesma, e apresenta inúmeras vantagens, como por exemplo a ausência de efeitos colaterais negativos para o solo, água e na saúde da população, redução na utilização de produtos químicos, e consequentemente, menor poluição ambiental (PARRA et al., 2002).

Entre os inimigos naturais com potencial de uso aplicado para o manejo de *R. nu*, os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* merecem atenção devido sua eficiência, disponibilidade de produtos comerciais e segurança ao homem e ao ambiente (OLIVEIRA & ÁVILA, 2010). Devido a esses pontos, entre os parasitoides de ovos, *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) destaca-se como o de maior potencial, com eficiência comprovada sobre outras espécies de lagartas pragas da soja, como *C. includens*, uma espécie muito semelhante a *R. nu*, contra a qual *T. pretiosum* já foi estudado determinando-se a devida recomendação de sua utilização em programas de controle em campo (BUENO et al., 2012; PARRA et al., 2014).

Assim como *Trichogramma* spp. e outros bioinsumos, os nematoides entomopatogênicos (NEP) vem sendo cada vez mais estudados no Brasil apesar de ainda não haver produtos comerciais disponíveis ao produtor para a cultura da soja. A eficiência desses entomopatógenos é comprovada em outras espécies de lagartas como *A. gemmatilis* e *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1809) (Lepidoptera: Noctuidae) (ANDALÓ et al., 2009) indicando que estes agentes também podem ser utilizados com sucesso no manejo de *R. nu*. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as bases biológicas de *T. pretiosum* e nematoides entomopatogênicos sobre *R. nu*, de forma isolada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Soja

A soja é uma das culturas de maior consumo e produção mundial, classificada como dicotiledônea, pertencente à família Fabaceae, que concentra plantas oleaginosas como o feijão, lentilha e ervilha. A soja possui um ciclo com duração média entre 90 e 150 dias, com altura variando de 60 a 110 centímetros (SEIXAS et al., 2020).

Os primeiros registros do cultivo e utilização desse grão aconteceram no período de 2883 a.C, na Ásia. No Brasil, a soja foi introduzida no ano de 1882, na Bahia através de embarcações oriundas do exterior (BONATO, 1987) mas o primeiro relato oficial de produção aconteceu no estado do Rio Grande do Sul, em 1941, onde também se instalou a primeira fábrica de processamento deste grão (ROESSING et al., 2005).

Desde então, o cultivo vem sendo modificado e introduzido em diversos países ao redor do mundo, alvo de diversos estudos e hoje se tornou um produto amplamente utilizado, em diversos aspectos. A produção de soja no mundo é de 369.029 milhões de toneladas, totalizando 136.029 milhões de hectares de área plantada (USDA/PSD, 2023). O Brasil é responsável por 154.566,3 milhões de toneladas desse total, apresentando uma área de cultivo de 44.062,6 milhões de hectares, com produtividade média de 3.508 Kg/ha (CONAB, 2023).

O estado brasileiro responsável pela maior produção de soja atualmente é o Mato Grosso com uma produção de 45.600,5 milhões de toneladas, cultivados em mais de 12.000 milhões de hectares, com produtividade média de 3.773 kg/ha seguido pelo estado do Paraná com produção de 22.384,9 milhões de toneladas, em área plantada de 5.799,2 milhões de hectares e produtividade de 3.860 kg/ha na safra 2022/23 (CONAB, 2023).

Esses números, só são possíveis graças aos avanços tecnológicos e investimentos em pesquisas, no âmbito mundial e nacional, desenvolvidas por instituições como a Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, cujos estudos, serviços, produtos e consequentemente, conhecimento, promoveram e promovem inovações principalmente em melhoramento genético. Como resultado, o complexo soja, constituído pelos grãos, óleo e farelo, passou a ser um produto de grande importância comercial, indispensável para a alimentação humana e o principal cultivo alvo de exportação (Tabela 2.1), tornando-se a maior commodity cultivada no Brasil (CÂMARA, 2011; SANTOS, 2012; CONAB, 2022).

Tabela 2.1 Consumo interno e exportação de subprodutos a partir da soja brasileira em 2023.

Discriminação	Exportação	Consumo	Exportação	Consumo	Exportação
	Mil Ton	Mil Ton	%	%	Milhões US\$
Soja em grão	78.730	50.932	60,7%	39,3%	46.664
Farelo de soja	20.353	18.661	52,2%	47,8%	10.336
Óleo de soja	2.597	7.342	26,1%	73,9%	3.927
Total	101.680	76.935			60.927

Fonte: Abiove e Ministério da Economia/Secex (2023).

Tamanha produção se deve ao fato da soja ser matéria prima de diversos setores industriais, como: alimentício, nutrição animal, cosméticos, farmacêutico, química, plásticas, tintas e biodiesel (COSTA NETO & ROSSI, 2000; GAZZONI, 2012).

2.2 Soja *Bt*

Devido à enorme relevância da soja no Brasil e no mundo, altos investimentos em pesquisas foram realizados e proporcionaram melhorias tanto nas sementes como na planta, tornando-as mais resistentes a temperaturas e intempéries, com maior produção graças ao uso de tecnologias de plantio e de correção de solo, e resistência a doenças e insetos, devido ao melhoramento genético.

Uma das inovações presentes nessa cultura são as plantas transgênicas, cujo material foi modificado geneticamente, e recebeu genes específicos isolados através de técnicas bioquímicas e que, após serem adicionados a planta, passam a apresentar características que não são originais, tornando-as modificadas (VALICENTE et al., 2015).

A primeira soja transgênica desenvolvida na década de 1990 continha um gene capaz de torná-la tolerante ao efeito de um herbicida, o glifosato, e posteriormente outras tecnologias foram sendo desenvolvidas e, atualmente, existem genótipos resistentes a herbicidas, resistente a insetos, plantas tolerantes à seca e modificadas para produzir maior quantidade de óleo com melhor qualidade (CROPLIFE, 2020).

Entre os cultivos transgênicos, a implementação da soja *Bt*, merece destaque, pois, foi desenvolvida para expressar proteínas Cry da bactéria *Bacillus thuringiensis*, sintetizada durante a esporulação das bactérias (ALLENDE et al., 2016). Essas proteínas são capazes de proteger as plantas do ataque de pragas, causando a morte das mesmas e como consequência

disso, reduzindo o uso de inseticidas, melhorando a rentabilidade para os produtores (BERNARDI et al., 2016; DIVELY, 2018). No Brasil, a implementação dessa tecnologia aconteceu em 2010 (CNTBio, 2010) e na safra de 2020/21 contou com mais de 30 milhões de hectares cultivados de soja com tecnologia *Bt* (RR2 PRO®) expressando a proteína inseticida Cry1Ac (HORIKOSHI et. al., 2021).

O modo de ação dessas proteínas acontece no trato digestório do inseto que ingeriu tecido foliar da soja *Bt*, de maneira semelhante ao processo que acontece quando os insetos ingerem bactérias da espécie *B. thuringiensis*. O pH alcalino do intestino do inseto, solubiliza as proteínas Cry, que se ligam a receptores presentes no epitélio intestinal, resultando no rompimento da parede do intestino e, conseqüentemente, no extravasamento do material presente na luz intestinal para o resto da cavidade corporal, levando a uma infecção generalizada, causando a morte do inseto por septicemia (Figura 2.1) (POGETTO et al., 2017).

A alta taxa de adoção da soja *Bt* foi impulsionada pelos altos níveis de proteção contra as pragas-chaves da cultura no Brasil, pois o Cry1Ac fornece proteção eficaz contra lagartas das espécies *A. gemmatilis*, *C. includens*, *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781) e *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) (BERNARDI et al., 2014; DOURADO et al., 2016; BACALHAU et al., 2020). Contudo, a baixa adoção das áreas de refúgio estruturado e as aplicações de inseticidas sem levar em consideração os níveis de ação em áreas que não adotam o Manejo Integrado de Pragas (MIP) vem resultando em seleção de populações de pragas resistentes nesses cultivos as principais estratégias de manejo adotadas (SOSA-GÓMEZ et al., 2012; BUENO & SILVA, 2021).

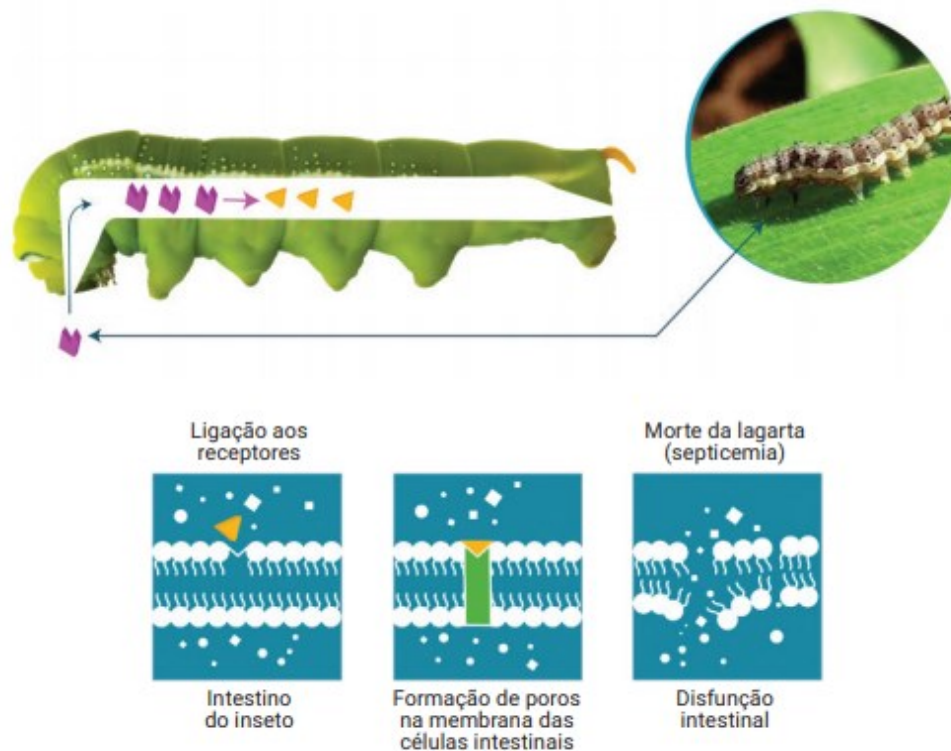


Figura 2.1 Ação da proteína Cry presente em soja *Bt* nos insetos.

Fonte: Pogetto et al., 2017.

2.3 Lepidópteros praga da cultura da soja

A soja é a oleaginosa mais produzida no mundo (CONAB, 2023). Durante todo processo de desenvolvimento, do plantio a colheita, as plantas ficam sujeitas a ataques de insetos, que se instauram nas áreas de cultivo, se alimentando das plantas e causando prejuízos na produção. Entre os insetos pragas, o grupo das lagartas merecem destaque por englobarem as principais espécies de importância econômica (HOFFMANN-CAMPO et al., 2012).

Anticarsia gemmatilis, conhecida popularmente como lagarta-da-soja, é uma das principais desfolhadoras dessa cultura (MOSCARDI et al., 2002), contudo, atualmente, sabe-se que esta espécie possui um fácil controle com as ferramentas disponíveis, se comparada as demais espécies. Com seu aparelho bucal mastigador, é capaz de perfurar e se alimentar de toda a folha, causando perda de área foliar, responsável pela fotossíntese, e consequentemente afetando a produção de grão (SOSÁ-GOMEZ et al., 2014). Esta espécie, pode ocorrer também no feijoeiro, arroz, alfafa, trigo e outros (PRATISSOLI, 2002).

As lagartas de *H. armigera* podem atacar a cultura da soja nos estágios vegetativos (hastes, cotilédones, brotos) e nos estágios reprodutivos (vagem, grãos e folhas) (GUAZINA

et al., 2019), pode também ocorrer em outras culturas de importância agrônômica como algodoeiro, milho e feijoeiro, por exemplo.

Chrysodeixis includens, conhecida por lagarta-falsa-medideira, consome o parênquima foliar, deixando as folhas com aspecto rendilhado, restando apenas as nervuras. Comparada as demais espécies, pode ser considerada de difícil controle e está presente em mais de 70 espécies de plantas (BERNARDI et al., 2012).

Na safra 2021/2022 da soja (88% *Bts* e 12% não *Bts*), o percentual de ocorrência da subfamília Heliothinae no estado do Paraná foi de 6% durante o ciclo total da cultura. Já para *A. gemmatilis* a porcentagem foi ainda maior, totalizando 26% de ocorrência, ficando atrás apenas das lagartas da subfamília *Plusiinae*, que corresponde as espécies de *C. includens* e *R. nu* que apresentaram uma porcentagem de 42% de ocorrência, demonstrando a importância dessas lagartas para a soja (CARNEVALLI et al., 2022).

2.3.1 *Rachiplusia nu*

Lepidóptero considerado praga secundária na cultura da soja, esta espécie era controlada pela soja *Bt*, é conhecido como falsa-medideira, *R. nu*. Essa espécie ocupa o grupo de lagartas desfolhadoras, causando um aspecto de rendilhado no folíolo da soja, afetando grande parte do parênquima e deixando exposta as nervuras da folha, podendo causar sérios danos a lavoura da soja (SOSA-GOMEZ et al., 2014).

As lagartas e mariposas desta espécie se assemelham muito às de *C. includens*, tornando a identificação difícil (Figura 2.2) (SOSA-GÓMEZ et al., 2014), sendo que a principal diferença entre elas é observada na região interna da mandíbula, onde *C. includens* apresenta dois dentes internos, enquanto *R. nu* possui carenas que atingem a margem da mandíbula, ou seja, sem a presença de dentes (SOSA-GÓMEZ et al., 2014).

Essa espécie possui cinco instares larvais, podendo medir até 27 mm no último instar. Em todos os instares apresentam cor verde com linhas brancas no sentido longitudinal e pontuações em branco e preto, com três pares de pernas torácicas, dois pares de pernas abdominais e um par de pernas anais (MOREIRA et al., 2009).

É no estágio larval, que dura em torno de 25 dias, que o inseto é responsável por prejuízos nas culturas, e uma única lagarta pode consumir, em média, 1074 mg de folhas. Já a pupa dura em média 12 dias dando origem ao inseto adulto alado de cor castanho-escuro com manchas brancas. As fêmeas, dias após a cópula realizam a oviposição depositando os ovos de forma isolada no substrato (Figura 2.3) (MOSCARDI et al., 2013).

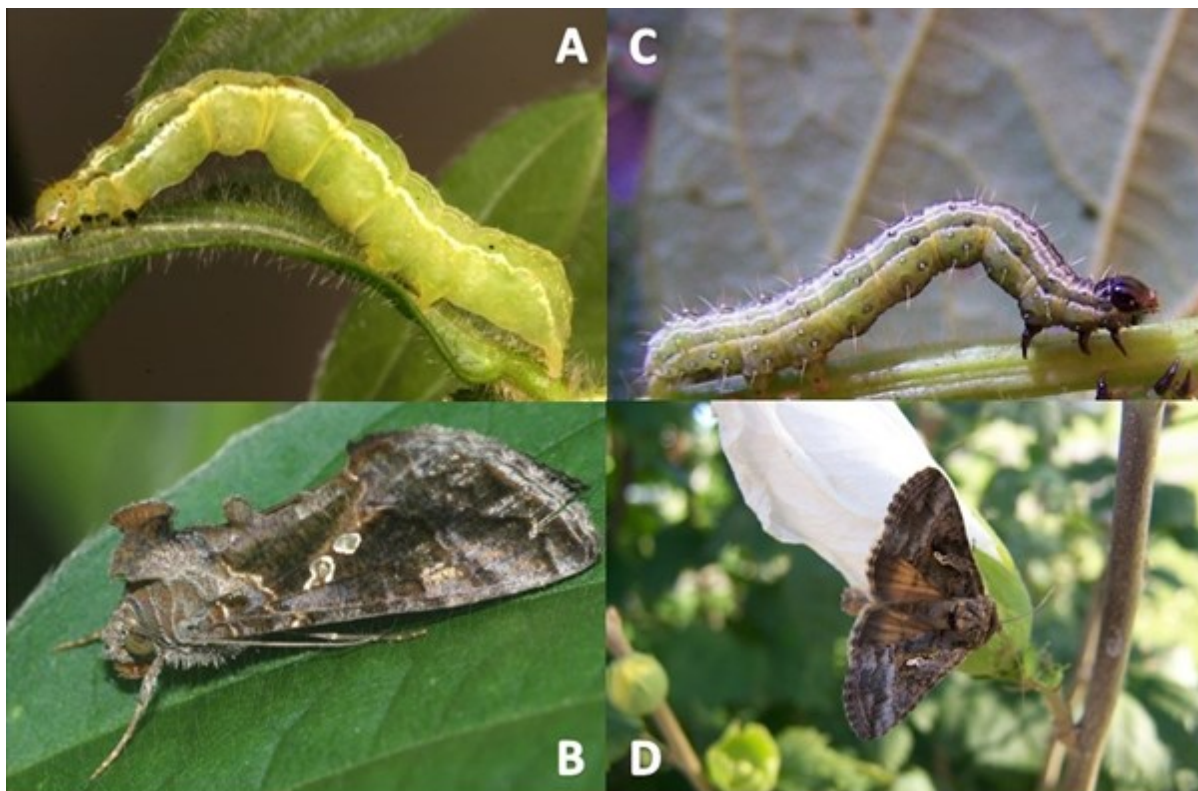


Figura 2.2 Semelhanças entre as espécies *Chrysodeixis includens* e *Rachiplusia nu*. (A) Lagarta de *Chrysodeixis includens*; (B) Adulto de *Chrysodeixis includens*; (C) Lagarta de *Rachiplusia nu*; (D) Adulto de *Rachiplusia nu*.

Fotos: (A) Sosa-Gómez; (B) Silva; (C e D) Flores.

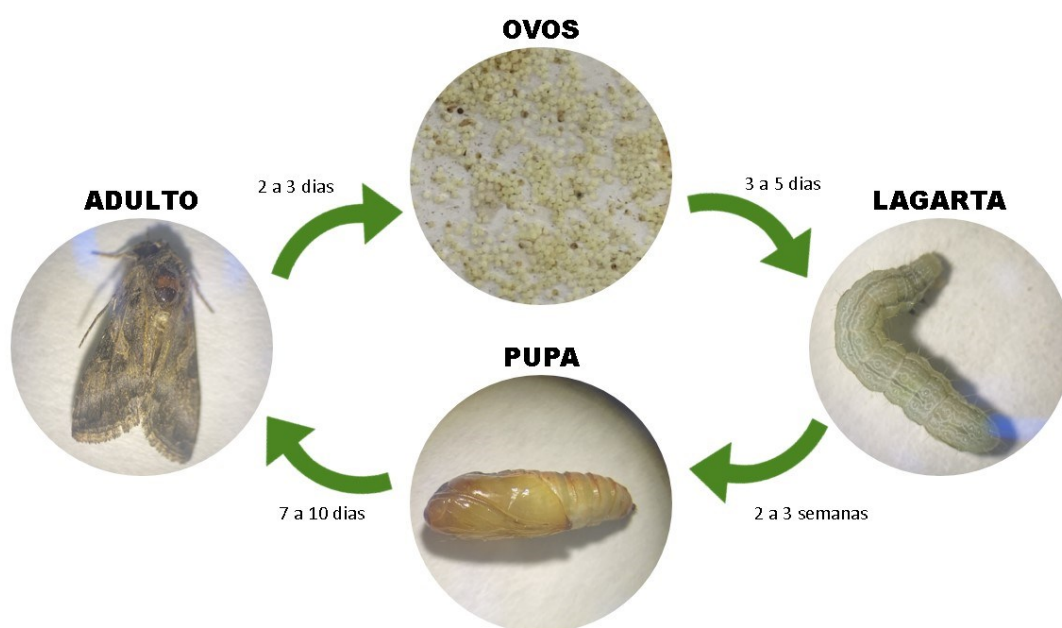


Figura 2.3 Ciclo de vida da espécie *Rachiplusia nu*.

Considerada uma espécie polífaga, *R. nu* pode estar presente em cultivos de girassol, tabaco, algodoeiro, feijoeiro e outros (PASTRANA, 2004; BETANCOURT & SCATONI, 2006), porém, sua ocorrência causa maiores prejuízos principalmente em soja, especificamente com tecnologia *Bt* (RR2 PRO®) que expressa a proteína inseticida Cry1Ac (HORIKOSHI et al., 2021), devido aos altos índices populacionais observados, indicando resistência, o que aumenta sua importância como inseto-praga (BUENO et al., 2021; RICCIETTO et al., 2022).

A resistência se confirma através de trabalhos realizados por NARDON et al. (2021), que apontaram *R. nu* sobrevivendo na cultura da soja *Bt* no Brasil (proteína Cry1Ac). Nesse estudo foram coletadas falsa-medideiras e plantas de soja *Bt* e soja convencional (não *Bt*) de 12 locais diferentes do País, entre os estados do Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná e São Paulo, assim como os municípios escolhidos. As lagartas passaram por testes laboratoriais e as plantas foram submetidas a teste de verificação comprovando a transgenia. Após a realização dos experimentos detectou-se de fato que a lagarta *R. nu* está se adaptando a soja *Bt* sendo selecionada para resistência à proteína Cry1Ac, alertando que é necessário buscar alternativas de métodos e estratégias de controle da espécie na cultura.

2.4 Controle biológico

O uso massivo de inseticidas na soja *Bt* para controle de *R. nu* é um retrocesso a todo avanço obtido com o desenvolvimento e adoção da tecnologia *Bt* para a redução do uso de inseticidas (BUENO et al., 2021), sinalizando que é necessário o estudo de métodos mais sustentáveis e eficientes no controle da praga em relação ao controle químico (NARDON et al., 2021; CROSARIOL NETTO et al., 2019).

Entre os métodos mais sustentáveis de manejo de pragas, o controle biológico aumentativo se destaca pela sua eficiência e disponibilidade de produtos para serem utilizados no campo. O controle biológico utiliza inimigos naturais da praga como uma alternativa para o controle da população da mesma, e apresenta inúmeras vantagens, como por exemplo a ausência de efeitos colaterais negativos para o solo, água e na saúde da população humana, redução na utilização de produtos químicos, e consequentemente, menor poluição ambiental (BERTI FILHO & MACEDO, 2010; VAN LENTEREN et al., 2018).

Além disso, os inimigos naturais se reproduzem e podem estabelecer-se no ambiente, o que pode ou não manter o controle ativo por um período maior quando comparado ao método químico tradicional. Outro aspecto importante é que os insetos-pragas não são selecionados para resistência aos inimigos naturais com tanta rapidez quanto ao que ocorre

com inseticidas químicos, pois como esses agentes são organismos vivos, eles também sofrem ações evolutivas constantes, visando driblar mecanismos de defesa de seus hospedeiros (GALLO et al., 2002; PARRA et al., 2002).

Com isso, com os diversos estudos citados anteriormente que destacam que a lagarta *R. nu* se adaptou a soja *Bt* e foi selecionada para resistência à proteína Cry1Ac, é necessário reavaliar os métodos e estratégias utilizadas para o controle da espécie na cultura da soja, como por meio da utilização de agentes de controle biológico.

2.4.1 *Trichogramma pretiosum*

Insetos parasitoides, são aqueles que requerem um inseto hospedeiro para completar seu ciclo de vida causando, conseqüentemente, a morte desse hospedeiro. Dentro do ovo ou do hospedeiro o desenvolvimento do parasitoide é dividido em ovo, larva e pupa (endoparasitoide), resultando em um adulto de vida livre (PARRA et al., 2021). Na cultura da soja, os parasitoides que são amplamente utilizados, pertencem principalmente a ordem Hymenoptera (BUENO et al., 2021).

Para lepidópteros, os parasitoides de ovos possuem resultados mais promissores, pois, são capazes de controlar a praga, antes que qualquer injúria seja causada às plantas (COELHO JR, 2019). Entre os parasitoides de ovos estão as microvespas do gênero *Trichogramma*, que incluem 210 espécies descritas, com inúmeros hospedeiros descritos (PINTO et al., 2006), dos quais 26 ocorrem no Brasil (MONTEIRO, 2010).

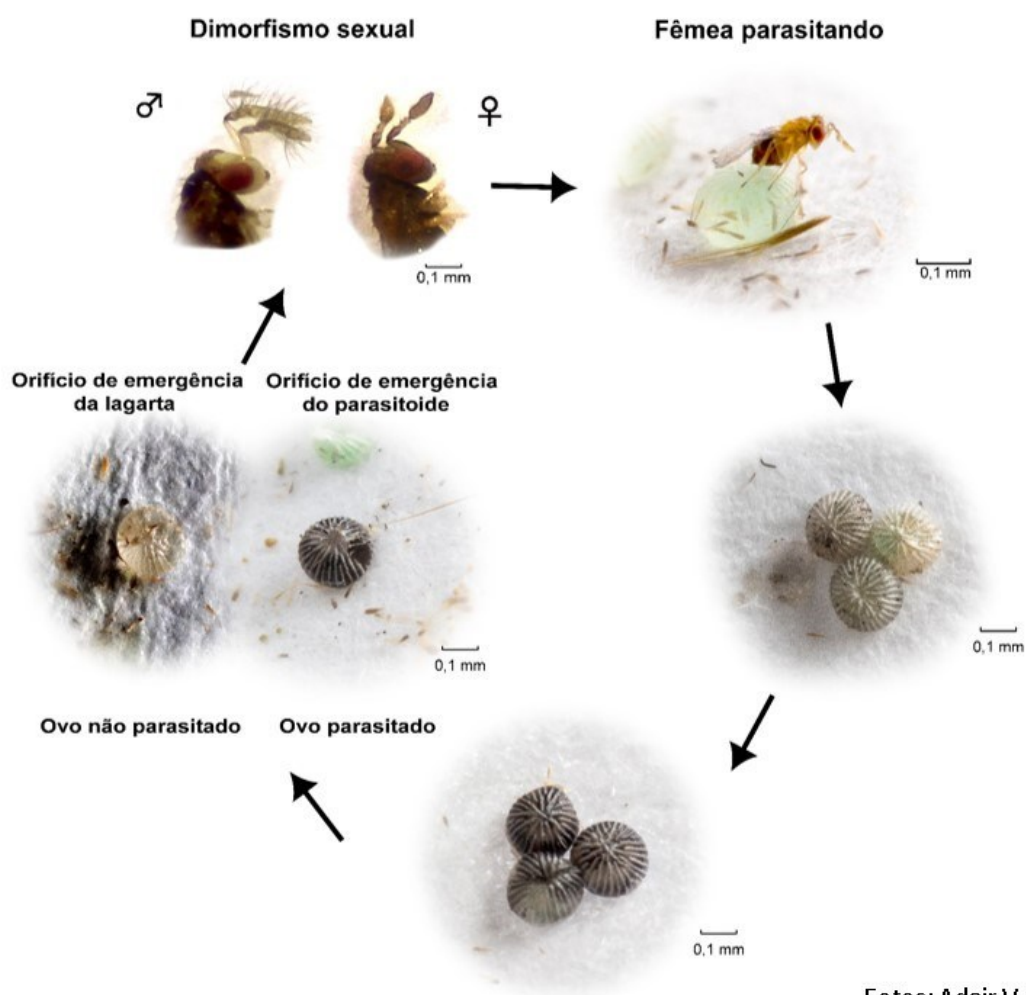
Classificados como idiobiontes solitários ou gregários e holometábolos, a larva do parasitoide conta com uma fonte de alimento de fácil acesso, se nutrindo do conteúdo interno do ovo parasitado (VOLKOFF et al., 1995; DOYON & BOIVIN, 2005). No estágio pupal, a coloração escura é uma característica específica dessa etapa do desenvolvimento, graças a presença de urato no abdômen, e é por esse atributo de coloração que podemos identificar os ovos parasitados (CÔNSOLI et al., 1999).

Os adultos emergem após a ruptura do cório, formando um orifício de passagem no ovo parasitado (GOULART, 2009). Os adultos possuem dimorfismo sexual (Figura 2.4), podendo ser reconhecidos através das antenas, pois as fêmeas apresentam clava no ápice do flagelo, já os machos possuem cerdas no flagelo, se assemelhando a pelos (Figura 2.4) (QUERINO & ZUCCHI, 2012).

A reprodução, acontece na maioria das espécies do gênero *Trichogramma* por partenogênese arrenótoca, onde os ovos não fertilizados resultam em machos haploides, enquanto os ovos fertilizados produzem fêmeas diploides. Contudo, também é possível

ocorrer a partenogênese telítica em outras espécies, onde as fêmeas produzem outras fêmeas, sem cópula, através da associação com a bactérias do gênero *Wolbachia* (ALMEIDA, 2004).

A procura de ovos acontece através de feromônios. Quando localizado a fêmea utiliza suas antenas para tocar a superfície do ovo do hospedeiro, avaliando o tamanho do ovo, idade e saúde. Quando aceito, a fêmea busca a região entre o cório e o oócito para então ovopositar (SMITH, 1986).



Fotos: Adair V. Carneiro

Figura 2.4 Ciclo biológico de *Trichogramma pretiosum*

Fonte: Bueno et al. (2022).

Vários aspectos influenciam na biologia dos parasitoides do gênero *Trichogramma*, podendo ser fatores bióticos e abióticos (PRATISSOLI et al., 2002). O número de ovos do parasitoide depositado depende proporcionalmente à disponibilidade de nutrientes do ovo hospedeiro e da idade do mesmo (COLAZZA et al., 2010). Outra característica importante é a

temperatura, pois esta determina o tempo de desenvolvimento ovo-adulto, longevidade das fêmeas e machos, razão sexual, fecundidade e outros (PARRA, 2002).

Dentre os parasitoides de ovos desse gênero, a espécie *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), está distribuída amplamente no território brasileiro e presente também em outros países da América do Sul, com tamanho entre 0,2 mm e 1,5 mm (QUERINO & ZUCCHI, 2012). Além disso, é a espécie mais empregada na cultura da soja no Brasil e no mundo, graças a facilidade de estabelecer criação em vários hospedeiros alternativos e sua agressividade em parasitar diversas espécies de lepidópteros, por ser generalista (PARRA & ZUCCHI, 2004).

Quando parasitando ovos de *C. includens* o tempo de desenvolvimento do período ovo-adulto de *T. pretiosum* a 25°C, foi de 10 dias, já em ovos de *A. gemmatalis* este estágio estendeu-se por 10,3 dias (BUENO et al., 2009). Como citado acima, várias características podem influenciar os aspectos biológicos de *T. pretiosum*, o que ressalta a importância de pesquisas que trabalhem em diferentes frentes e com esses resultados, consequentemente teremos um melhor uso e desempenho desses parasitoides em campo.

Com produtos em comercialização de eficácia comprovada (Tabela 2.2), *T. pretiosum* já é utilizado como agente de controle para lagartas na cultura da soja como a lagarta-da-soja *A. gemmatalis*, a lagarta-falsa-medideira *C. includens* e *H. armigera*. No entanto, não há estudos relatando a eficiência deste parasitoide sobre *R. nu*, e tendo em vista que este inimigo natural já é comercializado e conhecidamente utilizado para controle de outras lagartas pragas na cultura da soja, seria interessante do ponto de vista econômico e prático, se fosse possível sua utilização também no controle de *R. nu*.

Tabela 2.2 Produtos comerciais de *Trichogramma pretiosum* disponíveis no mercado brasileiro.

Produto comercial	Alvos registrados
Bioin-Tricho-P (Bioln)	<i>Anticarsia gemmatalis</i> ; <i>Helicoverpa zea</i> ; <i>Spodoptera frugiperda</i> ; <i>Tuta absoluta</i> e <i>Pseudoplusia uncluden</i>
PretioIN	
Tricho-Vit	<i>Anticarsia gemmatalis</i> ; <i>Helicoverpa zea</i> ; <i>Spodoptera frugiperda</i> ; <i>Tuta absoluta</i> ; <i>Cryptoblabes gnidiella</i> e <i>Lasiothyris luminosa</i> .
Hunter	
Pretiobug	
TrichoAgri	<i>Anticarsia gemmatalis</i> ; <i>Helicoverpa zea</i> ; <i>Spodoptera frugiperda</i> e <i>Tuta absoluta</i> .
Trichobiogramma	
Trichogramma pretiosum	
Trichobio-P	
Trichomip-P	
Trichosul	
Trilag	
Bioprecioso	<i>Anticarsia gemmatalis</i> ; <i>Chrysodeixis includens</i> ; <i>Helicoverpa zea</i> ; <i>Spodoptera frugiperda</i> ; <i>Tuta absoluta</i> ; <i>Pseudoplusia uncluden</i> ; <i>Cryptoblabes gnidiella</i> e <i>Lasiothyris luminosa</i> .

Fonte: Agrofít (2023).

2.4.2 Nematoides Entomopatogênicos

Os nematoides entomopatogênicos (NEP) são vermes de corpo cilíndrico, pertencentes ao Filo Nematoda (DELEY, 2006) capazes de parasitar insetos. Estão classificados na ordem Rhabdita, divididos em duas famílias: Steinernematidae, com os gêneros *Neosteinerinema* e *Steinerinema*, e na família Heterorhabditidae, com o gênero *Heterorhabditis* (DOLINSKI & MOINO JR, 2006).



Figura 2.5 Imagem microscópica do nematoide entomopatogênico da espécie *Steinernema puertorisense*: (A) Macho e (B) Fêmea.

Fotos: Paula S. Taguti (2023).

Os gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* compreendem as espécies mais utilizadas como agentes de controle biológico. Isso se deve a associação com bactérias simbiotas que promovem a morte rápida dos insetos, facilitam a alimentação dos NEP e os protegem de outras infecções (ALMENARA et al., 2012). O nematoide, por sua vez, apresenta capacidade de locomoção, localização e invasão dos hospedeiros, tornando-os juntos, muito eficientes na infecção e morte de isolados (ALVES et al., 2022).

O termo entomopatogênicos se deve ao fato desses indivíduos possuírem a capacidade de infectar e matar insetos, pois são parasitas obrigatórios, e quando adentram em seus hospedeiros liberam as bactérias simbiotas que são as responsáveis por causar septicemia, ou seja, desencadeiam uma infecção generalizada que causa a morte dos mesmos em um período de 24 a 72 horas (FERRAZ, 1998; VOSS, 2009; SHAPIRO-ILAN et al., 2017). Para o gênero *Steinernema* as bactérias simbiotas geralmente são do gênero *Xenorhabdus* (POINAR & THOMAS, 1979), e em *Heterorhabditis* (POINAR, 1975), são as bactérias do gênero *Photorhabdus* (THOMAS & POINAR, 1979) (ANDALÓ et al., 2009).

O desenvolvimento dos NEP é dividido em três estágios, sendo eles: ovo, quatro estágios juvenis, denominados J1, J2, J3 e J4, e por último a fase adulta (ALMENARA, 2012).

O ciclo da vida desses vermes começa na infecção do hospedeiro pelos juvenis infectantes (JI), que carregam as bactérias simbiotas na parte anterior dos seus intestinos, podendo entrar no inseto através dos espiráculos traqueais, cavidade oral ou ânus, para os NEP de ambos os gêneros, e em *Heterorhabditis* também pode acontecer via penetração do

tegumento, pois possuem dente córneo que possibilita a entrada através de áreas mais moles do exoesqueleto (WANG & GAUGLER, 1998).

Dentro do hospedeiro, se locomovem até a hemocele onde liberam uma cutícula extra e as bactérias, que fazem o processo de infecção, se multiplicam rapidamente e provocam a morte dos hospedeiros (CICHE & ENSIGN, 2003; LOPES, 2012; SHAPIRO-ILAN et al., 2017). A liberação das bactérias simbiotes pelos JI ocorre através da defecação para os NEP dos gêneros *Steinernema*, enquanto os NEP de *Heterorhabditis*, ocorre por regurgitação (CICHE & ENSIGN, 2003).

Após a morte do hospedeiro, os nematoides se alimentam das bactérias que se multiplicaram no corpo do inseto, tornando-se adultos de primeira geração, podendo ser machos ou fêmeas nas espécies do gênero *Steinernema* ou hermafroditas com morfologia de fêmeas em *Heterorhabditis*. Com fêmeas do gênero *Steinernema*, após a cópula ocorre a oviposição, e dos ovos eclodem as larvas na fase J1, que se desenvolvem sofrendo mudas da cutícula, transformando-se em J2, J3 e J4, e por fim no adulto, dando origem a segunda geração (DOLINSKI et al., 2008).

Em *Heterorhabditis*, por serem hermafroditas, mesmo que aconteça a penetração de um único indivíduo, a reprodução torna-se possível, pois não ocorre cópula, e as fêmeas se autofecundam, gerando ovos que eclodem em J1 ainda no interior do corpo da hermafrodita. Em seguida, os juvenis rompem a cutícula do corpo materno, em um processo conhecido com endotoquia matricida (POINAR, 1990; DOLINSKI & MOINO JUNIOR, 2006).

Quando as fontes de nutrientes se esgotam dentro do hospedeiro, os indivíduos que se encontram na fase J2 ingerem as bactérias, passam para J3 e retém o exoesqueleto da fase anterior, e saem do cadáver do hospedeiro para o solo em busca de novos insetos (JI).

As espécies dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, são capazes de se deslocarem no solo através de lâmina d'água, característica que deve ser destacada em relação aos demais entomopatógenos (FUGA et al., 2012). Lewis et al. (2006), classificaram em duas as estratégias de busca do NEP, como: “cruiser” (rastreamento) no qual, ao identificar o hospedeiro, o nematoide se desloca em sua direção, e “ambusher” (emboscada), na qual o nematoide espera pelo inseto fazendo movimento de nictação para assim penetrar o corpo do hospedeiro.

Tais atributos os tornam uma ferramenta promissora em programas de manejo integrado de pragas (MIP), representando uma parte importante dos agentes de controle biológico. Diferentes estudos e trabalhos realizados confirmam que NEP tem eficácia comprovada no controle de diversos lepidópteros como por exemplo a lagarta-do-cartucho

Spodoptera frugiperda (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), a lagarta elasmó *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae), *Agrotis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) (ALVES et al., 2022). Contudo, não há registros da utilização de NEP sob *R. nu*, o que destaca a importância de se estudar se estes agentes podem ser utilizados no manejo desta praga.

3. ARTIGO A

POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE *Trichogramma pretiosum* RILEY, 1879 (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) NO MANEJO DE *Rachiplusia nu* (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Resumo

O Brasil é considerado o maior produtor mundial de soja e conta com altos níveis de utilização de soja *Bt*, que fornece controle sobre diversas lagartas que atacam esta cultura, entre elas a espécie *Rachiplusia nu*. No entanto, *R. nu* tem sido relatada em alguns estados brasileiros em soja *Bt* (Cry1Ac) o que pode indicar resistência, aumentando sua importância como inseto-praga e evidenciando a necessidade de buscar alternativas para controle. Este trabalho teve como objetivo avaliar as características biológicas e a capacidade de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* visando o controle de *R. nu* em 20, 25 e 30°C para ambos os experimentos. Os parâmetros avaliados nos testes de biologia foram: duração do desenvolvimento (ovo-adulto), porcentagem de emergência (viabilidade), número de indivíduos por ovo e razão sexual. Já nos bioensaios de capacidade, em cada temperatura, foram observados os parâmetros: número de ovos parasitados diariamente, porcentagem acumulada de parasitismo, número total de ovos parasitados por fêmea e longevidade das fêmeas. Nos experimentos de biologia, os parâmetros porcentagem de emergência e número de parasitoide por ovo não foram afetados pelas condições estudadas. Já na razão sexual, os resultados obtidos a 25 e 30°C e a duração do desenvolvimento (ovo-adulto) apresentou diferença entre as três temperaturas. Nos bioensaios de capacidade, o ritmo de parasitismo de *T. pretiosum* foi diretamente influenciado pelas temperaturas, e a longevidade foi maior à medida que a temperatura decresceu enquanto a porcentagem acumulada de parasitismo variou de 6 a 10 dias, da maior temperatura para a menor, respectivamente. O maior número de ovos parasitados foi 46 ovos por fêmea.

Palavras-Chave: falsa-medideira; manejo integrado de pragas; parasitoide.

Abstract

Brazil is considered the world's largest producer of soybeans and has high levels of use of *Bt* soybeans, which provide control over various caterpillars that attack this crop, including the species *Rachiplusia nu*. However, *R. nu* has been reported in some Brazilian states on *Bt* soybeans (Cry1Ac), which may indicate resistance, increasing its importance as a pest insect and highlighting the need to seek alternatives for control. The aim of this study was to evaluate the biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* with a view to controlling *R. nu* at 20, 25 and 30°C for both experiments. The parameters evaluated in the biology tests were: duration of development (egg-adult), percentage of emergence (viability), number of individuals per egg and sex ratio. In the capacity bioassays, the following parameters were observed at each temperature: number of eggs parasitized daily, cumulative percentage of parasitism, total number of eggs parasitized per female and female longevity. In the biology experiments, the parameters percentage emergence and number of parasitoids per egg were not affected by the conditions studied. On the other hand, the sex ratio results obtained at 25 and 30°C and the duration of development (egg-adult) differed between the three temperatures. In the capacity bioassays, the parasitism rate of *T.*

pretiosum was directly influenced by the temperatures, and longevity was greater as the temperature decreased while the accumulated percentage of parasitism varied from 6 to 10 days, from the highest temperature to the lowest, respectively. The highest number of parasitized eggs was 46 eggs per female.

Key-Words: false-midworm; integrated pest management; parasitoid.

3.1 Introdução

A primeira soja geneticamente modificada expressando genes de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), denominada de soja *Bt*, foi inicialmente cultivada em 1,2 milhão de hectares, mas devido à alta adoção pelos agricultores, rapidamente o patamar de mais 30 milhões de hectares cultivados com esta tecnologia foi alcançado na safra 2020/21 no país (SPARK, 2021; HORIKOSHI et al., 2022).

O cultivo da soja *Bt* (Cry1Ac) vem sendo uma importante ferramenta para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) no controle das principais lagartas que atacam a cultura da soja como *Anticarsia gemmatilis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Erebidæ), *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858), *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781), *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1809) (Lepidoptera: Noctuidæ) e *Crociosema aporema* (Walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidæ) (MACRAE et al., 2005; BERNARDI et al., 2012; BERNARDI et al., 2014; DOURADO et al. 2016; BUENO & SILVA, 2021).

A adoção dessa tecnologia tem trazido vários benefícios como o manejo eficaz das lagartas, redução do uso de inseticidas químicos e com isso preservação dos inimigos naturais, aumento da produtividade devido à redução de perdas causadas pelas pragas e consequentemente aumento da renda dos agricultores (BROOKES, 2018). Entretanto, devido principalmente a baixa adoção de área de refúgio estruturado e as aplicações de inseticidas sem levar em consideração os níveis de ação em áreas que não adotam o MIP, os primeiros casos de lagartas resistentes a Cry1Ac foram relatados (BUENO & SILVA, 2021; NARDON et al., 2021).

A partir da safra 2019/20 foram reportados ataques de lagartas de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidæ), causando desfolha em lavouras de soja *Bt* (Cry1Ac) inicialmente nas regiões norte do estado do Paraná e sudoeste e centro do estado de São Paulo (BUENO & SILVA, 2021), cuja ocorrência vem ano a ano se expandindo para outras localidades como a primeira espécie de pragas com resistência comprovada a Cry1Ac em soja (NARDON et al., 2021).

A ocorrência dessa espécie resistente a Cry1Ac tem preocupado, produtores que estão usando inseticidas químicos como a principal ferramenta para seu controle, muitas das vezes de forma abusiva (BUENO & SILVA, 2021), sem mesmo respeitar os níveis de ação recomendados para o seu controle, que são de 30% de desfolha durante o período vegetativo da soja ou 15% de desfolha durante o período reprodutivo (HAYASHIDA et al., 2020).

Apesar de sua importância para a produção de alimentos quando utilizado corretamente, o uso abusivo de inseticidas traz inúmeras consequências indesejáveis ao homem e ao meio ambiente (JACQUET et al., 2022) entre os quais podemos destacar a seleção de insetos resistentes (SOSA-GOMEZ & OMOTO, 2012), a redução do controle biológico natural (TORRES & BUENO, 2018) e a ressurgência de pragas (BUENO et al., 2021) entre outras. Diante desse cenário, a busca por alternativas sustentáveis para o manejo de *R. nu* é de grande interesse teórico e prático que visa beneficiar centenas de agricultores que precisam manejar os mais recentes surtos dessa praga que vem ocorrendo, principalmente em soja *Bt* de primeira geração (Cry1Ac).

Entre as ferramentas de manejo de pragas mais sustentáveis atualmente disponíveis, o controle biológico aumentativo (CBA) destaca-se como um método que tem sido aplicado há mais de 100 anos em milhões de hectares em todo o mundo (VAN LENTEREN et al., 2018). Entre os diferentes agentes de controle biológico que podem ser utilizados no CBA, os parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (PARRA & COELHO JR, 2019) têm sido amplamente utilizados, pois já possuem metodologia de criação eficiente estabelecida em hospedeiros alternativos além de serem agressivos no parasitismo dos ovos hospedeiros, incluindo espécies de importância econômica na cultura da soja como *C. includens* e *A. gemmatilis* (BUENO et al., 2012; BUENO et al., 2022).

Em soja, a espécie do gênero *Trichogramma* mais utilizada é *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (HOHMANN et al., 1989), responsável por mais de 90% do parasitismo de ovos de lepidópteros observados na cultura (FOERSTER & AVANCI, 1999). *Trichogramma pretiosum* é uma espécie comercialmente utilizada na cultura no Brasil para controle de diferentes espécies de lepidópteros (BUENO et al. 2022). Entretanto, o sucesso das liberações de *T. pretiosum*, depende do conhecimento das características bioecológicas do parasitoide e sua interação com a espécie do hospedeiro alvo (BLEICHER & PARRA, 1989; BOURCHIER & SMITH, 1996; PRATISSOLI & PARRA, 2001).

Portanto, para validar o uso de *T. pretiosum* no controle de *R. nu* em liberações comerciais, são necessários estudos laboratoriais que investiguem a biologia e capacidade de

parasitismo de *T. pretiosum* neste hospedeiro alvo potencial (HASSAN, 1997; SCHOLLER & HASSAN, 2001), pois a eficiência de parasitismo provou ser diferente entre diferentes espécies de *Trichogramma* (SCHOLLER & HASSAN, 2001).

Os parâmetros biológicos do parasitoide podem ser influenciados por fatores abióticos, como umidade, luz e temperatura (NOLDUS, 1989) e hospedeiro avaliado (PIZZOL et al., 2010). O estudo do parasitismo em diferentes temperaturas fornece informações importantes para o estabelecimento de programas de controle biológico *R. nu* destinados a áreas que se enquadrem nessas temperaturas testadas. Assim, o presente estudo, objetivou avaliar a biologia e capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *R. nu* a 20, 25 e 30°C para adquirir informações necessárias para posterior desenvolvimento de programas de controle biológico de *R. nu* em soja utilizando esse parasitoide.

3.2 Materiais e Métodos

3.2.1 Criação dos Insetos

Criação de *Trichogramma pretiosum*

O parasitoide *T. pretiosum* foi criado em condições controladas de laboratório, em sala climatizada com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e umidade relativa de $70\pm 10\%$ conforme detalhado por PARRA (1997) e brevemente descrito a seguir.

Os parasitoides adultos foram acondicionados em gaiolas (potes plásticos transparentes de um litro, tampados com filme de PVC) com gotas de mel de abelha puro para alimentação. Para manutenção das gerações foram confeccionadas cartelas com ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) previamente esterilizados sob luz ultravioleta (STEIN & PARRA, 1987). Os ovos foram fixados com cola branca em cartelas de cartolina (12x10 cm). Após 24 horas de exposição ao parasitismo, as cartelas foram retiradas das gaiolas e acondicionadas em novas gaiolas até a emergência dos adultos, os quais utilizados para os experimentos ou para manutenção da criação.

Criação de *Rachiplusia nu*

A criação de *R. nu* foi iniciada a partir de lagartas coletadas em lavouras de soja do estado de São Paulo nos anos de 2022 e 2023 e identificadas morfológicamente através do Manual de Identificação de Insetos e Outros Invertebrados da Cultura da Soja (SOSA-

GOMEZ et al., 2014). As lagartas foram inicialmente mantidas no laboratório de criação de insetos da Bayer CropScience (Santa Cruz das Palmeiras, SP) e posteriormente transferidas para o laboratório de criação de lagartas da Embrapa Soja (Londrina, PR).

A criação foi mantida conforme metodologia proposta por ANDRADE et al. (2016) em condições controladas de laboratório em sala climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e umidade relativa de $60\pm 10\%$ em dieta artificial descrita por GREENE et al. (1976) e modificada por HOFFMANN CAMPO et al. (1985) em copos de plástico de 50 mL até a fase de pupa. As pupas foram separadas e acondicionadas em gaiolas de acrílico 50 cm x 50 cm, forradas de papel para servir de substrato para oviposição na fase adulta e facilitar a coleta de ovos. Os ovos foram coletados diariamente e utilizados para os experimentos ou para manutenção da criação que foi mantida por até 10 gerações em laboratório.

3.2.2 Testes com o parasitoide *Trichogramma pretiosum*

Os ensaios foram realizados a partir de adaptação da metodologia de Bueno (2008) conforme descrito a seguir:

Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Rachiplusia nu* em diferentes temperaturas

Antes da instalação dos experimentos, a espécie de *T. pretiosum* foi mantida, por uma geração, em ovos de *R. nu* a fim de se eliminar um possível condicionamento pré-imaginal pela criação no hospedeiro alternativo (*A. kuehniella*).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos, constituídos pelas temperaturas (20, 25 e 30°C) e cada tratamento foi repetido 20 vezes, onde cada repetição correspondia a uma fêmea do parasitoide.

Para a montagem do ensaio, fêmeas de *T. pretiosum*, com até 24 horas de idade foram individualizadas em tubos de vidro (12 mm de diâmetro e 75 mm de altura), onde foi oferecido, para cada fêmea, 20 ovos da praga. Estes ovos tinham no máximo, 24 horas de idade. Como alimento para os adultos do parasitoide foi oferecida uma gotícula de mel puro de abelhas. O parasitismo foi permitido por 24 horas em câmaras climatizadas, reguladas a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 h de escuro. Após este período, os parasitoides foram retirados dos tubos e os ovos transferidos para câmaras climatizadas reguladas com temperaturas pré-selecionadas ($20, 25 \text{ e } 30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), com UR $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 h de escuro.

Em cada temperatura, foram observados os seguintes parâmetros biológicos: duração do desenvolvimento (ovo-adulto); porcentagem de emergência (viabilidade); número de indivíduos por ovo hospedeiro e razão sexual, dada pela fórmula:

$$rs = \frac{\text{número de fêmeas}}{\text{número de (fêmeas + machos)}}$$

Para a determinação da duração do desenvolvimento (ovo-adulto), foram realizadas observações diárias. A avaliação da emergência dos parasitoides foi realizada sob microscópio estereoscópico, contando-se os ovos parasitados do hospedeiro que apresentaram orifício de saída dos adultos dos parasitoides. Os dados foram submetidos à análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($p>0,05$).

Capacidade de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *R. nu* em diferentes temperaturas

Foram individualizadas fêmeas de *T. pretiosum* em tubos de vidro (12 mm de diâmetro e 75 mm de altura) tampados com filme plástico de PVC com mel para alimentação dos adultos. Utilizou-se 20 tubos (repetições) por tratamento em delineamento inteiramente casualizado, que foram mantidos em câmaras climatizadas reguladas nas temperaturas de 20, 25 e 30°C $\pm$ 2°C, umidade relativa de 70 $\pm$ 10% e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 h de escuro. Diariamente, no mesmo horário, as cartelas com ovos foram trocadas até a morte das fêmeas. As cartelas contendo ovos parasitados foram mantidas em câmara climatizada 25 $\pm$ 2°C, umidade relativa de 70 $\pm$ 10% e fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 h de escuro até a emergência dos parasitoides. Os parâmetros avaliados foram: número de ovos parasitados diariamente; porcentagem acumulada de parasitismo; número total de ovos parasitados por fêmea, emergência dos parasitoides (viabilidade do parasitismo %) e longevidade das fêmeas parentais.

Análise dos resultados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (SHAPIRO & WILK, 1965) homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo (BURR & FOSTER, 1972), para permitir a aplicação da ANOVA. Em seguida, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5%

probabilidade de erro, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS INSTITUTE, 2009).

3.3 Resultados

Características biológicas de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Rachiplusia nu* em diferentes temperaturas

As temperaturas estudadas (20, 25 e 30°C) não impactaram no número de parasitoides emergidos por ovo hospedeiro que variou de 1,3 a 1,4 parasitoides, além de também não impactar na sobrevivência da fase larval, com emergência (%) de 100% em todas as temperaturas avaliadas. Diferentemente, o período ovo-adulto (dias) e a razão sexual diferiram dependendo da temperatura na qual o parasitoide se desenvolveu. O período ovo-adulto foi inversamente proporcional ao incremento da temperatura, observando-se 20,3; 10,0 e 8,0 dias para as temperaturas de 20, 25 e 30°C, respectivamente. Assim, verifica-se que o aumento da temperatura de 20°C para 30°C resultou na redução do período de ovo à adulto de 20,3 dias no desenvolvimento de *T. pretiosum*. A razão sexual foi semelhante nas temperaturas de 25 e 30°C (0,6666 e 0,6524, respectivamente) enquanto a emergência de um menor número de fêmeas (razão sexual de 0,4947) foi observada na temperatura de 20°C (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 Características biológicas da fase imatura de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Rachiplusia nu* em diferentes temperaturas de desenvolvimento. UR 70 ± 10% e fotoperíodo de 12 h de claro e 12 h de escuro.

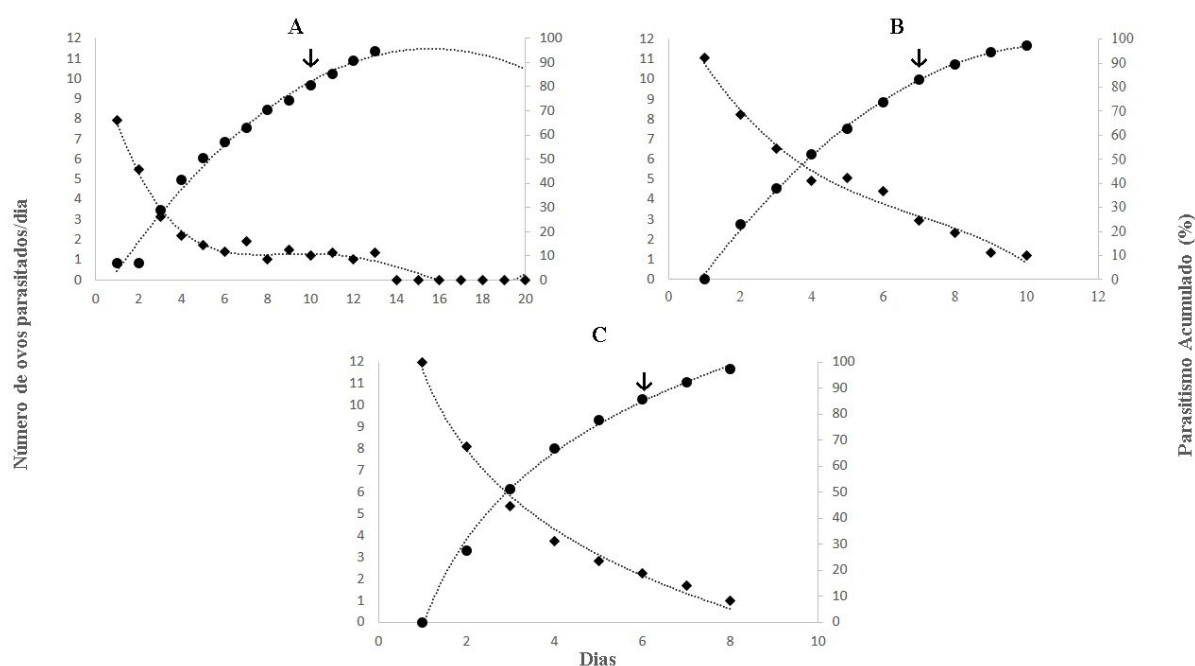
Temperatura (°C)	Emergência (%)	Parasitoide/ovo	Período ovo- adulto (dias)	Razão Sexual
20	100,0±0,0a	1,3±0,2a	20,3±1,0a	0,4947±0,09b
25	100,0±0,0a	1,4±0,3a	10,0±0,0b	0,6666±0,09 ^a
30	100,0±0,0a	1,3±0,2a	8,0±0,0c	0,6524±0,06 ^a

Médias (±EPM) seguidas de mesma letra na coluna não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Capacidade de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *R. nu* em diferentes temperaturas

O parasitismo de *T. pretiosum* diferiu entre as temperaturas testadas (Figura 3.1). O número de ovos parasitados por dia variou nas temperaturas, sendo os maiores parasitismos sempre observados nos primeiros dias. A fêmea do parasitoide teve o maior parasitismo sempre nas primeiras 24 horas de parasitismo, sendo o número médio de ovos parasitados de 7,95; 11,05 e 12 ovos por fêmea nas temperaturas de 20, 25 e 30°C, respectivamente. Em seguida, o número de ovos colocados diariamente (parasitismo diário) diminui em todas as temperaturas avaliadas (20, 25 e 30°C), mostrando que o parasitismo tende a decrescer com o passar do tempo de vida do parasitoide adulto. O parasitoide alcançou 80% do parasitismo total aos 10, 7 e 6 dias nas temperaturas de 20, 25 e 30°C, respectivamente (Figura 3.1).

Figura 3.1 Taxa média de parasitismo diário e acumulado do parasitoide



Trichogramma pretiosum em ovos de *Rachiplusia nu* em diferentes temperaturas.

Legenda: (A) 20°C; (B) 25°C e (C) 30°C; As setas indicam 80% de parasitismo; ● ovos; ◆ % acumulada.

A temperatura afetou a longevidade das fêmeas parentais de *T. pretiosum* inversamente proporcional ao aumento da temperatura. A maior longevidade das fêmeas parentais de *T. pretiosum* foi de 16,8 dias a 20°C, decrescendo para 10,5 e 8,0 dias nas temperaturas de 25°C e 30°C, respectivamente. O número total de ovos parasitados por fêmea

ao longo do seu desenvolvimento também variou com as temperaturas. O maior número de ovos parasitados (46,4 ovos) ocorreu a 25°C, que foi reduzido para 34,4 e 24,9 ovos a 30 e 20°C, respectivamente. Apesar do impacto da temperatura na longevidade das fêmeas parentais e do número de ovos parasitados totais, a emergência dos parasitoides foi de 100% em todas as temperaturas avaliadas (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 Valores médios ($\pm$ D.P.) do número de ovos parasitados por fêmea e da longevidade das fêmeas de *Trichogramma pretiosum* em diferentes temperaturas sobre ovos de *Rachuplusia nu*.

Temperaturas	Parasitismo total	Emergência (Viabilidade)	Longevidade das fêmeas parentais (dias)
20°C	24,9 $\pm$ 7,0c	100,0 $\pm$ 0,0a	16,8 $\pm$ 4,8a
25°C	46,4 $\pm$ 5,6a	100,0 $\pm$ 0,0a	10,5 $\pm$ 3,0b
30°C	34,4 $\pm$ 8,1b	100,0 $\pm$ 0,0a	8,0 $\pm$ 2,4c
C.V.(%)	19,9	-	10,3

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

3.4 Discussão

Trichogramma pretiosum é classificado como um parasitoide generalista, entretanto, são necessários avaliações biológicas detalhadas com diferentes espécies de hospedeiros para determinar sua capacidade de parasitismo e assim o real potencial desse inimigo natural no controle de diferentes espécies de lepidópteros em programas de controle biológico aumentativo. Diversos fatores bióticos e abióticos exercem influência sobre os aspectos biológicos dos parasitoides, interferindo em sua eficiência (MCDOUGALL & MILLS, 1997; THOMSON & HOFFMANN, 2002).

Entres esses fatores destacam-se: preferência por ovos de diferentes espécies de hospedeiros, características nutricionais, tamanho e forma do ovo, espessura e rigidez do cório e respostas a condições ambientais (HASSAN, 1997) além da temperatura (PRATISSOLI et al., 2004; MOEZIPOUR, 2006). Sendo assim, apesar de *T. pretiosum* ter sido o primeiro macrobiológico registrado para uso comercial no manejo de lepidópteros pragas da soja no Brasil com eficiência comprovada no manejo de *A. gemmatilis* e *C. includens* (BUENO et al., 2022), este é o primeiro trabalho realizado que quantifica o

potencial de *T. pretiosum* no manejo de *R. nu*, outra espécie de lepidóptero praga de importância crescente na cultura da soja devido a ocorrência de populações resistentes em campo da mesma a soja *Bt* expressando o Cry1Ac (NARDON et al., 2021).

O parasitismo total de *T. pretiosum* em ovos de *R. nu* é semelhante ao parasitismo deste agente de controle biológico em ovos de outros hospedeiros importantes na cultura da soja como *A. gemmatilis* e *C. includens* (BUENO et al., 2009; BUENO et al., 2012) cuja os quais o parasitoide é recomendado para ser usado na quantidade de 500.000 parasitoides/ha na fase vegetativa da soja ou 750.000 parasitoides/ha se esta cultura estiver na fase reprodutiva, divididos em três liberações em pelo menos 50 pontos por hectare, com intervalos de quatro dias (BUENO et al., 2022) o que pode sugerir que estas recomendações determinadas para esses outros hospedeiros pragas da soja possam ser também adotados para *R. nu*.

A oscilação no ritmo de parasitismo observado nas diferentes temperaturas está relacionada com a espécie do parasitoide assim como também com a espécies do hospedeiro avaliado (PRATISSOLI & PARRA, 2000; 2001; PRATISSOLI et al., 2004). O parasitismo concentrado observado nos primeiros dias de parasitismo é uma característica bastante positiva quando visamos a liberação massal do parasitoide em campo. Desta forma, há um controle rápido do hospedeiro, além de permitir que os produtores sigam aplicando outros produtos necessários para a cultura, sem prejudicar a eficiência do parasitoide (PIZZOL et al., 2010).

Resultados semelhantes com *T. pretiosum* em ovos de *A. gemmatilis* e *C. includens* (BUENO et al., 2009; BUENO et al., 2012) além de *P. xylostella* também apresentaram a mesma tendência de concentração de parasitismo nos primeiros dias de vida das fêmeas (PRATISSOLI et al., 2004). RESENDE & CIOCIOLLA (1996) obtiveram resultados em que o período de parasitismo em ovos de *H. zea* por *T. atopovirilia*, variou de 4 a 12 dias, com maior concentração de postura nas primeiras 24 horas, nas temperaturas de 15, 20, 25 e 30°C.

Apesar de confirmar a elevada capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *R. nu*, é importante ressaltar que o período-ovo adulto observado nas diferentes temperaturas neste trabalho é significativamente superior a resultados prévios reportados na literatura para *T. pretiosum* em ovos de *A. gemmatilis* e *C. includens* (BUENO et al., 2009). A duração do período ovo-adulto (dias) pode indicar melhor ou pior qualidade de uma respectiva temperatura ou hospedeiro.

Temperaturas ou hospedeiros mais adequados, geralmente, proporcionam um desenvolvimento mais rápido da fase larval do parasitoide (YEARGAN, 1980; SUJII et al., 2002). Enquanto, a maior duração do período ovo-adulto é descrita por alguns autores como

uma ação compensatória de sobrevivência dos insetos apesar dos hospedeiros não atenderem satisfatoriamente as exigências nutricionais das espécies (SILVEIRA et al., 1997; MACHADO et al., 1999).

A pior qualidade de *R. nu* pode estar relacionada ao seu desenvolvimento em soja *Bt* que apesar de não estar mais matando as lagartas devido a seleção de populações resistentes, essa seleção pode apresentar custos adaptativos relacionados. Vale, entretanto ressaltar, que 100% de viabilidade do parasitismo foi observada em todos os experimentos realizados. Esses resultados são semelhantes com os resultados de PRATISSOLI & OLIVEIRA (1999) que avaliaram a viabilidade de *T. pretiosum* em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) mostrando boa adaptação de *T. pretiosum* aos ovos de *R. nu* mesmo que esses possam ter qualidade nutricional reduzida por serem provenientes de lagartas que se alimentaram de soja *Bt* que expressava Cry1Ac.

O presente estudo traz também um importante entendimento da influência da temperatura sobre as características biológicas de *T. pretiosum* parasitando *R. nu*. De acordo com CHAPMAN (1998), os insetos reagem às mudanças térmicas, provocando alterações no metabolismo, que varia de espécie para espécie. Com relação ao parasitoide *T. pretiosum*, os resultados confirmaram que a temperatura afeta o desenvolvimento de *T. pretiosum* de forma significativa.

A redução na duração do desenvolvimento de *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Platygasteridae) devido à elevação da temperatura é consequência do aumento da atividade metabólica dos parasitoides quando desenvolvidos em temperaturas mais elevadas (OLIVEIRA et al., 2010; HERNÁNDEZ & DIÁZ, 1996; PRATISSOLI, 1995; ZAGO et al., 2006). Para *T. pretiosum*, a melhor temperatura para parasitismo foi de 25°C seguido de 30°C que apresentaram os dois maiores índices. Resultados semelhantes foram também reportados por ZACHRISSON (1997) e por BUENO et al. (2009) que também verificaram as maiores taxas de parasitismo em ovos de *A. gemmatilis* e ovos de *C. includens*, respectivamente por *T. pretiosum* ocorreram na faixa entre 25 e 28°C.

Com relação a longevidade das fêmeas do parasitoide, esta característica biológica apresenta ligação com o número de ovos por ela parasitados. Assim, esse resultado pode indicar maior ou menor gasto energético no parasitismo e deste modo separar hospedeiros ou temperaturas mais ou menos favoráveis ao parasitoide (PACHECO & CORRÊA-FERREIRA, 1998). As fêmeas de *T. pretiosum* tiveram maior gasto energético na temperatura de 25 e 30°C o que provavelmente reduziu a sua longevidade. Isso pode ser consequência de um maior

parasitismo de *T. pretiosum* nessas temperaturas, o que precisa ser mais bem estudado e confirmado em pesquisas futuras.

Esses resultados demonstram que em regiões de temperaturas elevadas, a longevidade média de inimigos naturais pode ser reduzida em liberações de campo, indicando, que em programas de controle biológico que visem a utilização *T. pretiosum*, será exigida maior frequência de liberação à medida que aumenta a temperatura média da região. Além disso, é conveniente salientar que a temperatura, embora seja considerada um fator de extrema importância, não é o único responsável pela alteração no desenvolvimento e sobrevivência dos insetos benéficos, uma vez que outros fatores abióticos como fotoperíodo, umidade relativa e bióticos como competição inter e intraespecífica, podem interferir nas características biológicas dos insetos pertencentes a esse grupo (PRATISSOLI 1995, PARRA 1997).

A razão sexual ideal deve ser superior a 0,5, para criação massal e liberação de vespas do gênero *Trichogramma* (NAVA et al., 2008), totalizando pelo menos uma fêmea para cada macho. Por tanto, é possível afirmar que os resultados obtidos nesse parâmetro são positivos já que o nascimento de mais fêmeas é importante para liberações em programas de controle biológico (PRATISSOLI et al., 2004; WAKEIL et al., 2008). Além disso a temperatura foi um fator determinante pelos mesmos motivos citados anteriormente.

3.5 Conclusão

Conclui-se que as características biológicas e a capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* em ovos de *R. nu* foram afetadas diretamente pelas temperaturas estudadas. Porém, pode-se afirmar que *T. pretiosum* apresenta um potencial alto para controle da falsa-medideira nas diferentes temperaturas testadas, já que apresentou resultados semelhantes a outras espécies de lepidópteros que já são registrados para utilização em produtos comerciais com essa espécie de parasitoide.

Contudo, sabe-se que em condições controladas a ação do inimigo natural é beneficiada, e muitas vezes embora eficiente em laboratório, os dados não se confirmam no campo. Sendo assim, é necessário que estes estudos sejam complementados com ensaios que simulem de maneira mais fiel às condições de campo, possibilitando assim, validar o uso destes inimigos naturais como agentes de controle de *R. nu* na cultura da soja.

4. ARTIGO B

POTENCIAL DE UTILIZAÇÃO DE NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS NO MANEJO DE *Rachiplusia nu* (GUENÉE, 1852) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Resumo

O Brasil conta com altos níveis de utilização de soja *Bt*, que fornece controle sobre diversas lagartas que atacam esta cultura, entre elas a espécie *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae). Contudo, a ocorrência de *R. nu* tem sido relatada em alguns estados brasileiros em soja *Bt* evidenciando resistência. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de nematoides entomopatogênicos (NEP) visando o controle de *R. nu*. Para isso, foram realizados testes de seleção dos isolados, com NEP dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*, entre eles: *H. bacteriophora* (HP88), *H. amazonensis* (UEL08, UENP03, NEPET11, UENP06, UEL07), *S. feltiae* (IBCB47) e *S. carpocapsae* (All) os quais foram avaliados com refação a patogenicidade e virulência sobre as lagartas de *R. nu*. Os dois isolados com melhores resultados no teste de seleção foram testados nos experimentos para avaliar a eficiência de diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100 JI/cm²). Por último, foram feitos bioensaios sobre a produção total de NEP, produção por lagarta e produção por grama de lagarta de *R. nu*. Todos os isolados avaliados foram patogênicos sobre *R. nu*, e os isolados UEL07 e UENP06, ambos com 100% de mortalidade e nativos da região norte do Paraná, foram escolhidos para os testes subsequentes. No teste de concentrações, a mortalidade foi diretamente influenciada pela concentração de JI aplicado, alcançando valores de 98 e 100% de mortalidade na maior concentração utilizada para os isolados UENP06 e UEL07, respectivamente. Por fim, a produção média total de NEP foi de $2,9 \times 10^4$ para UENP06 e $3,9 \times 10^4$ para UEL07.

Palavras-Chave: Heterorhabditidae; lagarta falsa-medideira; manejo integrado de pragas; Steinernematidae.

Abstract

Brazil has high levels of use of *Bt* soybeans, which provide control over various caterpillars that attack this crop, including the species *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae). However, the occurrence of *R. nu* has been reported in some Brazilian states on *Bt* soybeans, showing resistance. The aim of this study was to evaluate the potential of entomopathogenic nematodes (NEP) to control *R. nu*. To this end, tests were carried out to select isolates with NEP from the *Heterorhabditis* and *Steinernema* genera, including: *H. bacteriophora* (HP88), *H. amazonensis* (UEL08, UENP03, NEPET11, UENP06, UEL07), *S. feltiae* (IBCB47) and *S. carpocapsae* (All), which were evaluated for pathogenicity and virulence on *R. nu* caterpillars. The two isolates with the best results in the selection test were tested in experiments to evaluate the efficiency of different concentrations (0, 25, 50, 75 and 100 JI/cm²). Finally, bioassays were carried out on total NEP production, production per caterpillar and production per gram of *R. nu* caterpillar. All the isolates evaluated were pathogenic on *R. nu*, and isolates UEL07 and UENP06, both with 100% mortality and native to the northern region of Paraná, were chosen for the subsequent tests. In the concentration test, mortality was directly influenced by the concentration of JI applied, reaching values of 98 and 100% mortality at the highest concentration used for isolates UENP06 and UEL07,

respectively. Finally, the average total NEP production was 2.9×10^4 for UENP06 and 3.9×10^4 for UEL07.

Key-Words: integrated pest management; false-midworm caterpillar; Heterorhabditidae; Steinernematidae.

4.1 Introdução

O Brasil atualmente conta com uma produção de soja (*Glycine max*) que ultrapassa 154 milhões de toneladas, com a região Sul sendo responsável por cerca de 24% deste valor (CONAB, 2022). Devido a importância dessa cultura, estudos visando melhorias na produtividade são constantes e entre as inovações, o desenvolvimento da soja com tecnologia *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) merece destaque, pois a cultura teve seu código genético modificado para expressar algumas proteínas por *B. thuringiensis*, entre elas a Cry1Ac, atuando como método de controle para lagartas que atacam esta cultura, como por exemplo a lagarta falsa-medideira, *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852) (Lepidoptera: Noctuidae).

Contudo, mesmo com essa tecnologia, trabalhos realizados por diversos pesquisadores demonstram que essa e outras espécies de lagartas vem se adaptando a soja *Bt*, que até então controlava essas pragas (CASTELLS & BERENBAUM, 2008; NARDON et al., 2021; BUENO, 2021).

Rachiplusia nu é uma praga desfolhadora, responsável por causar aspecto rendilhado nas folhas das plantas e que, devido ao hábito alimentar polífago, foi registrada ocorrendo em culturas de brássicas, fumo e tomate, mas está intrinsicamente ligada a cultura da soja (JANMAAT & MYERS, 2007; SOSA-GOMEZ et al., 2014). No entanto, a ocorrência desta espécie em soja *Bt*, e o surgimento de resistência foi confirmado em trabalho realizado por NARDON et al. (2021), que comprovam que a lagarta *R. nu* está se adaptando a soja *Bt* (proteína Cry1Ac), alertando que é necessário buscar alternativas de métodos e estratégias de controle da espécie na cultura.

Por outro lado, os nematoides entomopatogênicos (NEP) (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) possuem uma combinação de atributos que permitem sua utilização como alternativa para o controle de insetos (ANDALÓ et al., 2009). Dentre eles se destacam a capacidade de locomoção, dispersão no solo e consequentemente a busca por insetos hospedeiros, facilidade de multiplicação em sistemas laboratoriais (MEDEIROS et al., 2005), a permanência no ambiente através da reprodução, morte rápida do hospedeiro (FERRAZ, 1998; VOSS, 2009).

Tais atributos os tornam uma ferramenta promissora em programas de manejo integrado de pragas (MIP), representando uma parte importante dos agentes de controle biológico (GUIDE et al., 2019). Os principais gêneros destes entomopatógenos são *Heterorhabditis* Poinar, 1976 e *Steinernema* Travassos, 1927, espécies que se associam simbioticamente com bactérias dos gêneros *Photorhabdus* e *Xenorhabdus*, respectivamente (GREWAL et al., 2005).

No Brasil, várias pesquisas foram realizadas em diferentes regiões nas últimas décadas, no intuito de conhecer as espécies de NEP que ocorrem em seu território e, como resultado, 11 diferentes espécies foram registrados (DOLINSKI et al., 2017; SAN BLAS et al., 2019), das quais duas foram identificadas como novas espécies nativas, uma encontrada no Amazonas, e identificado como *Heterorhabditis amazonensis* Andaló et al. (2006) e outra em Mato Grosso, identificado como *Steinernema braziliense* Nguyen et al. (2010).

Os conhecimentos sobre as diferentes espécies de NEP, as descobertas de seus aspectos biológicos e os estudos sobre suas bactérias simbioses podem expandir ou melhorar o uso desses organismos em programas de controle biológico. Isso permite uma maior eficácia de controle de pragas que possuem hábitos similares e se encontram na mesma região dos NEP, tornando os estudos desses aspectos de grande importância (ANDALÓ et al., 2009; KAMITANI, 2010; GUIDE et al., 2019).

Esses entomopatógenos vem sendo amplamente utilizados para controlar diversas populações de lepidópteros, em diferentes culturas e agrossistemas (BRUCK et al., 2008). Entre os lepidópteros que ocorrem na soja, há estudos sobre a eficiência de NEP sob espécies como *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae), *Elasmopalpus lignosellus* Blanchard 1852 (Lepidoptera: Pyralidae), lagartas do complexo *Agrotis* spp. e *Spodoptera* spp.

Para a espécie *H. armigera* são encontrados dados sobre eficiência de isolados (SEENIVASAN & SIVAKUMAR, 2014; CAOILI et al., 2018), efeito de diferentes concentrações (KARY et al., 2012) e diferentes estádios do inseto (BANU et al., 2007), testes com diferentes formulações de NEP sobre o inseto (NAVON et al., 2002; DIVYA et al., 2011) e testes de eficiência em condições de campo (ANDALÓ et al., 2021).

Embora seja uma espécie de maior importância para a cultura do milho, mas com ocorrência em soja vários trabalhos visando o uso de NEP para *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) foram desenvolvidos com destaque para os estudos realizados por Andaló, que avaliaram a eficiência de isolados (ANDALÓ et al., 2010), capacidade de busca do nematoide (ANDALÓ et al., 2012) e atratividade do nematoide frente

a liberação de compostos pela planta atacada por *S. frugiperda* (ANDALÓ et al., 2017). Além destes, trabalhos que descrevam o efeito de tecnologias de aplicação na eficiência de NEP sobre *S. frugiperda* (GARCIA et al., 2008) e a compatibilidade destes com produtos químicos (NEGRISOLI JR et al., 2010; SOUZA et al., 2012) e com outros agentes de controle (MERTZ et al., 2015; VITERI et al., 2018).

Contudo não há registros científicos sobre a aplicação de NEP sobre a *R. nu*, e diante da necessidade de estudo de novas estratégias para o controle dessa espécie na cultura da soja, o objetivo deste trabalho foi avaliar a patogenicidade e virulência de diferentes NEP, a melhor concentração a ser utilizada e a capacidade de produção de nematoides em *R. nu*.

4.2 Materiais e Métodos

4.2.1 Criação dos Insetos e multiplicação dos nematoides entomopatogênicos

Os trabalhos de laboratório foram realizados no Laboratório de Entomologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – Soja) e no Laboratório de Ensaios com Inimigos Naturais de Pragas (LabINP) da Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP.

Criação de *Galleria mellonella* e multiplicação dos NEP

Para a multiplicação dos isolados pelo método *in vivo*, foram utilizadas lagartas de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae), cuja criação foi conduzida no laboratório em temperatura ambiente e a alimentação feita com dieta artificial adaptada de PARRA (1998).

Para manutenção e multiplicação dos nematoides visando a realização de bioensaios, foi utilizado o método *in vivo*, conforme descrito por MOLINA & LOPES (2001), utilizando lagartas de último instar de *G. mellonella*. Depois de confirmada a infecção das lagartas pelos nematoides, os cadáveres foram transferidos para câmara seca e mantidas em câmara de germinação (BOD) a $23\pm1^{\circ}$ C no escuro por cinco dias. Após este período, as lagartas passaram para armadilhas de White para coleta dos juvenis infectantes (JI), e mantidas sob as mesmas condições mencionadas acima. Os JI em suspensão aquosa (água destilada + juvenis infectantes) foram coletados diariamente, armazenados em Erlenmeyer com aeração por um período máximo de sete dias após a produção, para serem utilizados nos bioensaios.

Criação de *Rachiplusia nu*

A criação de *R. nu* foi iniciada a partir de lagartas coletadas em lavouras de soja do estado de São Paulo nos anos de 2022 e 2023 e identificadas morfológicamente através do Manual de Identificação de Insetos e Outros Invertebrados da Cultura da Soja (SOSA-GOMEZ et al., 2014). As lagartas foram inicialmente mantidas no laboratório de criação de insetos da Bayer CropScience (Santa Cruz das Palmeiras, SP) e posteriormente transferidas para o laboratório de criação de lagartas da Embrapa Soja (Londrina, PR).

A criação foi mantida conforme metodologia proposta por ANDRADE et al. (2016) em condições controladas de laboratório em sala climatizada a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e umidade relativa de $60\pm 10\%$ em dieta artificial descrita por GREENE et al. (1976) e modificada por HOFFMANN CAMPO et al. (1985) conforme metodologia proposta por ANDRADE et al. (2016) em copos de plástico de 50 mL até a fase de pupa. As pupas foram separadas e acondicionadas em gaiolas de acrílico 50 cm x 50 cm, forradas de papel para servir de substrato para oviposição na fase adulta e facilitar a coleta de ovos. Os ovos foram coletados diariamente e utilizados para os experimentos ou para manutenção da criação que foi mantida por até 10 gerações em laboratório.

4.2.2 Nematoides entomopatogênicos

Os isolados usados nos ensaios foram fornecidos pelo Laboratório de Ensaios com Inimigos Naturais de Pragas (LabINP) da Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP e pelo Instituto Biológico de Campinas, SP.

Seleção dos Isolados

Foram utilizados oito isolados de NEP dos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema*: *H. bacteriophora* (HP88), *H. amazonensis* (isolados UEL08, UENP03, NEPET11, UENP06, UEL07), *S. feltiae* (IBCB47) e *S. carpocapsae* (All), os quais foram avaliados quanto a patogenicidade e virulência sobre lagartas de último instar de *R. nu*.

Para utilização nos ensaios, os isolados foram multiplicados pelo método *in vivo* e cada isolado foi considerado um tratamento, conduzido com cinco repetições. Cada parcela consistiu em uma placa de Petri de sete cm de diâmetro contendo dois discos de papel filtro no fundo, nas quais foram adicionadas dez larvas de *R. nu*. A inoculação do NEP foi feita com auxílio de micropipeta na concentração de 100 JI/cm^2 e a diferença para 2mL completada com água destilada. O experimento foi mantido em câmara de germinação a $24\pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 12h. O ensaio contou com um controle, onde foi aplicado apenas água

destilada. Após cinco dias os tratamentos foram avaliados, e a mortalidade confirmada por meio de dissecação.

Ao final do ensaio, os dados foram submetidos a testes de normalidade, e se atendidos os pressupostos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey pelo programa estatístico SISVAR ($p \leq 5\%$).

Eficiência de diferentes concentrações de Juvenis Infectantes (JI) de NEP em *Rachiplusia nu*

A metodologia utilizada, consistiu na mesma do experimento de seleção de isolados, e foram utilizados os isolados UEL07 e UENP06 que apresentaram mortalidade de 100% e que são isolados nativos da região norte do Paraná. Neste ensaio, os nematoides foram testados nas concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100 (JI)/cm². Os dados foram submetidos à análise de regressão pelo programa estatístico SISVAR, para estimar a concentração letal máxima a partir da equação de regressão derivada.

Avaliação da produção *in vivo* de *Heterorhabditis amazonensis* sobre *Rachiplusia nu*

Para avaliação da produção *in vivo*, também foram utilizados os isolados UEL07 e UENP06. Para tanto, 10 lagartas de *R. nu* foram pesadas e, posteriormente, colocadas em placas de Petri com dois discos de papel filtro ao fundo, por placa. Cada tratamento foi repetido cinco vezes, totalizando 50 insetos/tratamento.

Os nematoides foram inoculados na concentração de 50 (JI)/cm² e a diferença para 2mL foi completada com água destilada. Durante a condução do experimento, as placas foram mantidas em câmara de germinação a $24 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 12 horas, por um período de dois dias para verificação da sintomatologia.

Após esse período, as lagartas infectadas foram transferidas para câmara seca, onde permaneceram por mais cinco dias, para completar o ciclo dos NEP. Em seguida, as lagartas mortas, foram transferidas para armadilhas de White para que ocorresse a emergência dos JI na água. As coletas de JI aconteceram diariamente, até o esgotamento dos cadáveres. Foi avaliada a produção diária, assim como a produção total de JI/lagarta e JI/g de lagarta.

Os dados obtidos, foram submetidos a análise para determinação da curva de produção, bem como da equação referente a produção. Os dados estatísticos foram analisados no teste de médias Tukey, no programa Sisvar, a 0,05% de significância.

4.3 Resultados

Seleção de Isolados

Todos os isolados testados foram patogênicos sobre *R. nu* e apresentaram virulência acima de 40%, sendo que dos oito isolados avaliados, *H. bacteriophora* foi o único que diferiu dos demais, causando 44% de mortalidade. Os outros sete isolados foram altamente virulentos, e não diferiram entre si, com mortalidade acima de 84% (Tabela 4.1). Assim, os isolados UENP06 e UEL07, ambos da espécie *H. amazonensis* e com porcentagem de mortalidade de 100%, nativos da região norte do Paraná, foram os escolhidos para serem usados nos testes subsequentes.

Tabela 4.1. Porcentagem média ($\pm$ D.P.) de mortalidade de *Rachiplusia nu* causada por nematoides entomopatogênicos.

Tratamentos	% Mortalidade*
Controle	2,0 $\pm$ 0,4c
HP88 (<i>H. bacteriophora</i>)	44,0 $\pm$ 13,4b
UEL08 (<i>H. amazonensis</i>)	84,0 $\pm$ 15,1a
IBCB47 (<i>S. feltiae</i>)	94,0 $\pm$ 8,9a
UENP03 (<i>H. amazonensis</i>)	96,0 $\pm$ 5,4a
All (<i>S. carpocapsae</i>)	98,0 $\pm$ 4,4a
UENP06 (<i>H. amazonensis</i>)	100 $\pm$ 0a
UEL07 (<i>H. amazonensis</i>)	100 $\pm$ 0a
NEPET11 (<i>H. amazonensis</i>)	100 $\pm$ 0a

C.V. (%) = 9,89. *Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Eficiência de diferentes concentrações de Juvenis Infectantes (JI) de NEP em *Rachiplusia nu*

Todas as concentrações testadas foram patogênicas sobre *R. nu*, apresentando diferenças significativas do tratamento controle (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 Porcentagem média ($\pm$ D.P.) de mortalidade de *Rachiplusia nu* causada por diferentes concentrações dos isolados UEL07 e UENP06.

Tratamentos/Concentrações	% de Mortalidade*	
	UEL 07	UENP 06
0 (JI)/cm ²	2,0 $\pm$ 0,4d	4,0 $\pm$ 0,5d
25 (JI)/cm ²	40,0 $\pm$ 7,0c	34,0 $\pm$ 5,4c
50 (JI)/cm ²	88,0 $\pm$ 8,3b	86,0 $\pm$ 5,4b
75 (JI)/cm ²	96,0 $\pm$ 5,4ba	96,0 $\pm$ 5,4ba
100 (JI)/cm ²	100 $\pm$ 0a	98,0 $\pm$ 4,4a
C.V.(%)	8,94	8,32

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

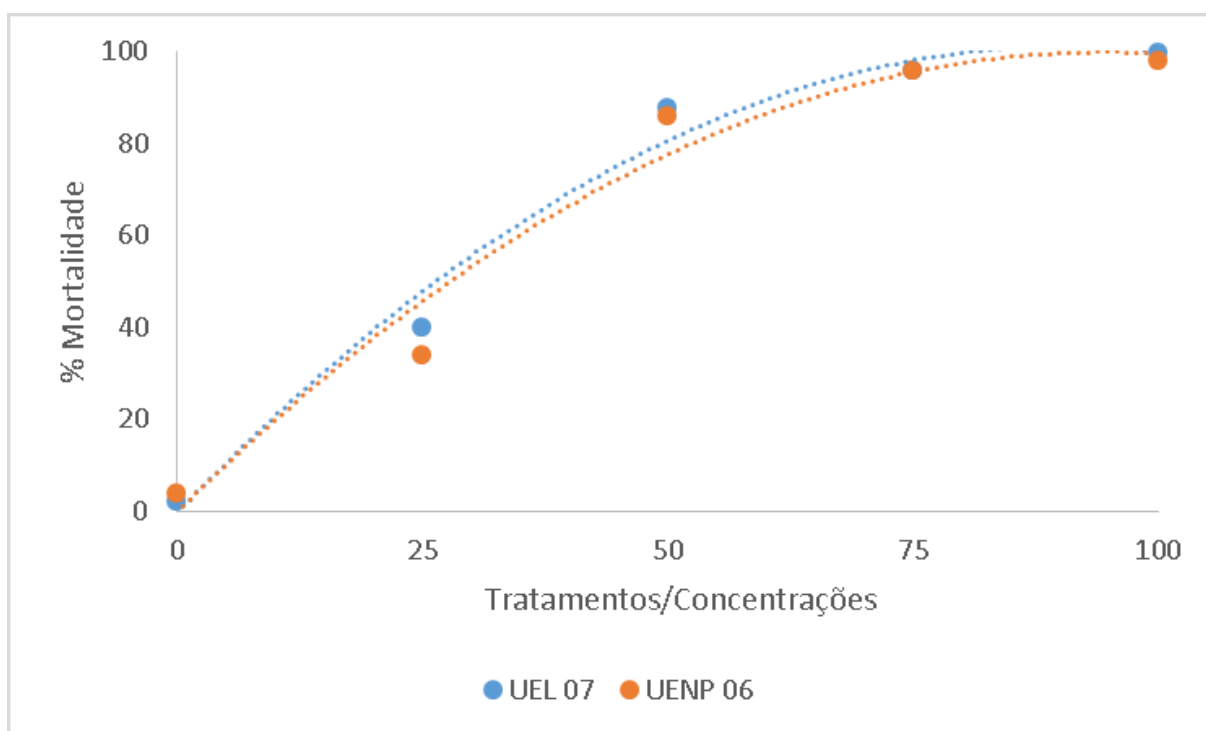


Figura 4.1 Taxa média de mortalidade de *Rachiplusia nu* em diferentes concentrações.

UENP06: $y = -0,0112x^2 + 2,12x - 0,4$ - $R^2 = 0,9683$

UEL07: $y = -0,0123x^2 + 2,2423x - 0,6286$ - $R^2 = 0,9829$

A porcentagem de mortalidade foi de 34 e 40% na menor concentração estudada e de 98 e 100% na maior concentração para os isolados UENP06 e UEL07, respectivamente (Figura 4.1), o que comprova que a mortalidade é dependente da concentração utilizada. No entanto, a partir de 75JI/cm² os dados de mortalidade não diferiram da concentração mais alta (100 JI/cm²), indicando que acima desta concentração não houve acréscimo na porcentagem de mortalidade.

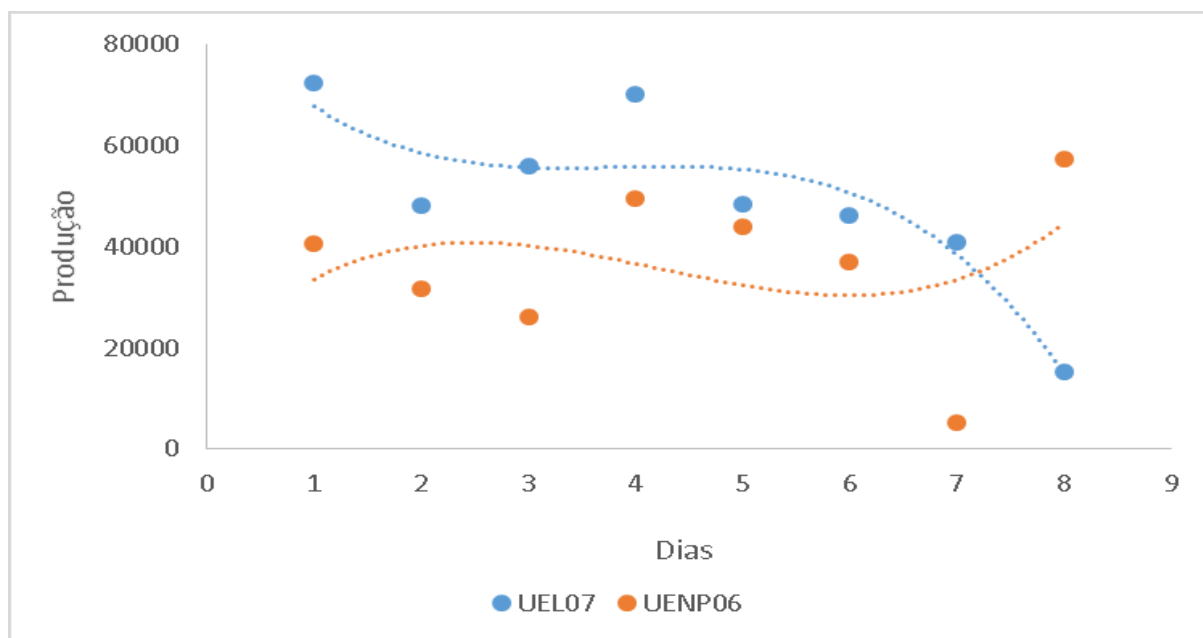
Avaliação da produção *in vivo* de *Heterorhabditis amazonensis* sobre *Rachiplusia nu*

A emergência de JI nos dois isolados testados em lagartas de *R. nu* se deu ao longo de oito dias, com as maiores concentrações de produção no primeiro dia para UEL07 e no último dia para UENP06 (Figura 4.2), e a média de produção total foi de 2,9x10⁴ para UENP06 e 3,9x10⁴ para UEL07.

Figura 4.2 Produção total de Juvenis Infectantes de *Heterorhabditis amazonensis* (isolados UENP06 e UEL07) em lagartas de último instar de *Rachiplusia nu*.

$$\text{UENP06: } y = 487,6x^3 - 6191,6x^2 + 21721x + 17660 - R^2 = 0,0932$$

$$\text{UEL07: } y = -586,65x^3 + 6741,6x^2 - 25385x + 87085 - R^2 = 0,818$$



Comparando as médias da produção dos dois isolados de *H. amazonensis* por lagarta e produção por grama de lagarta não houve diferença significativa (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 Número médio ($\pm$ D.P.) de juvenis infectantes de *Heterorhabditis amazonensis* (isolados UEL07 e UENP06) produzidos *in vivo* em lagartas de *Rachiplusia nu*.

Isolados	Produção por Lagarta	Produção por grama de Lagarta*
UEL 07	$4,5 \times 10^4 \pm 5,7 \times 10^3$ a	$2,9 \times 10^5 \pm 5,2 \times 10^4$ a
UENP 06	$3,4 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^4$ a	$2,2 \times 10^5 \pm 6,8 \times 10^4$ a
C.V. (%)	24,77	23,86

*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4.4 Discussão

Na seleção dos isolados, a variabilidade de virulência entre diferentes espécies de nematoides entomopatogênicos ou mesmo de isolados de uma mesma espécie, é esperada (LEWIS et al., 2006). Entre os fatores que podem contribuir para a diferença na virulência interespecífica podem ser citadas as diferenças morfológicas, hábitos comportamentais (estratégia de forrageamento), co-evolução com o inseto hospedeiro, bem como os vários fatores que envolvem o complexo simbiótico nematoide-bactéria durante o processo de infecção (SIMOES & ROSA, 1996; SHAPIRO-ILAN et al., 2017; ALONSO et al., 2018).

Além dos fatores intrínsecos dos nematoides, outro fator que influencia a patogenicidade e virulência dos NEP é a resposta imunológica do inseto hospedeiro. Logo após a entrada dos mesmos na hemolinfa o sistema imune lida, inicialmente, apenas com o nematoide em si, até que ele libere suas bactérias simbiontes em um período que varia de 30 minutos para *Heterorhabditis*, a seis horas para *Steinernema* (LI et al., 2009). Com as bactérias liberadas, o sistema de proteção do inseto passa a operar de outra forma, tentando combater um tipo diferente de organismo (VALLET-GELY et al., 2008). Para ambas as situações os NEP possuem estratégias que driblam as respostas imunológicas do hospedeiro (DABORN et al., 2002).

Com relação aos dados de mortalidade observados em *R. nu* causados por nematoides, observamos que a maior parte dos isolados/espécies avaliados mostraram-se altamente virulentos sobre o inseto, o que pode indicar que por ser uma praga que ocorre na parte superior da planta (folhas) e longe do solo, *R. nu* possui raro contato com NEP, já que estes ocorrem predominantemente no solo. Assim, podemos dizer que o sistema imune da lagarta

possivelmente não está acostumado a lidar com a infecção do verme em conjunto com as bactérias simbiotes e, por isso, a patogenicidade é possível e a porcentagem de virulência é alta.

Outro aspecto significativo, definido em pesquisas, indicam que a suscetibilidade de insetos, especificamente de lepidópteros a NEP está diretamente ligada ao tamanho do inseto, idade, espessura do exoesqueleto, espécie do entomopatógeno, concentração utilizada, hábitos e comportamentos (MOLINA-OCHOA et al., 1996; FUXA et al., 1988).

A lagarta-falsa-medideira, em seu último instar larval mede de três a quatro cm de comprimento, possuindo exoesqueleto que não é rígido e espesso (CAPINERA, 2005). Essas características podem favorecer os NEP, já que o corpo desse inseto fornece um ambiente favorável para alimentação e multiplicação deles dentro do cadáver. Com isso, a espécie *R. nu* pode possuir combinações de características que a torna mais suscetíveis aos NEP.

Em pesquisas feitas por Andaló et al. (2009) e Feaster & Steinkraus (1996) utilizando diferentes NEP no controle de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae), e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), os isolados avaliados também demonstram uma porcentagem elevada de mortalidade, corroborando este argumento, já que estes insetos também têm pouco ou nenhum contato com o solo.

Contudo, NEP são comprovadamente eficientes sobre insetos que passam parte do ciclo de vida associados ao solo, já que este ambiente é mais favorável a sobrevivência do nematoide. No entanto, o desenvolvimento de formulações adequadas, e/ou a aplicação em horários de temperatura amena e com umidade pode possibilitar a sobrevivência do nematoide por tempo suficiente para a infecção de insetos que como *R. nu*, não tenha contato direto com o solo, através de aplicações foliares.

A concentração ideal para causar a morte do alvo pode estar relacionada a fatores tanto do nematoide como do hospedeiro. Em relação ao nematoide, como exemplo podemos citar a estratégia de procura do NEP, a capacidade de penetrar o corpo do inseto para causar infecção e atividades metabólicas para driblar o sistema imunológico da praga (SHAPIRO-ILAN et al., 2004). Com isso, levando em consideração esta grande variabilidade, cada isolado deve ser testado em hospedeiros, condições e dosagens específicas (LEWIS et al., 2006). Com relação ao hospedeiro, a idade ou estágio de desenvolvimento podem influenciar, pois podem implicar tanto em sistema imune mais desenvolvido, quanto na presença de exoesqueleto mais ou menos resistente a penetração dos JI. Assim, cada isolado deve ser testado em hospedeiros, condições e dosagens específicas (LEWIS et al., 2006).

Em trabalho realizado por KARY et al. (2012) foram avaliadas as concentrações de 0,

10, 50, 100 e 500 JI/cm² das espécies *H. bacteriophora*, *S. feltiae* e *S. carpocapsae* sobre lagartas de último instar de *H. armigera*, em diferentes ambientes e períodos de exposição, onde o primeiro isolado foi o mais virulento quando comparado aos demais. Na concentração de 100 JI/cm² após a exposição das lagartas aos nematoides por 72 horas, obtiveram aproximadamente 12, 16 e 3% de mortalidade, valores que diferem bastante dos obtidos nesse trabalho, onde a espécie *H. bacteriophora* foi a que apresentou os menores índices de mortalidade.

Com relação a concentração pode-se dizer que o aumento nem sempre irá causar maior mortalidade do hospedeiro, pois a presença de um número elevado de JI pode levar a competição entre estes por recursos do hospedeiro, resultando em um menor índice de infecção. Assim, a realização de ensaios que indiquem a concentração ideal para alcançar o melhor índice de mortalidade são de extrema importância, pois evitam que se usem concentrações muito elevadas, que além de ineficientes, podem onerar o controle (GUIDE et al., 2016).

Já os resultados de infectividade e produção podem ser influenciados por diversos fatores, mesmo em insetos alvos considerados mais suscetíveis, como por exemplo *G. mellonella*, que é amplamente utilizada em laboratório para manutenção de coleções de NEP, devido ao seu sistema imunológico apresentar baixa eficiência sobre os NEP (OZER et al., 2003).

A disponibilidade de alimento no interior do cadáver pode interferir na reprodução dos nematoides, reduzindo o número final de JI, assim como na permanência dos mesmos no interior do cadáver (EHLERS, 2001). Além disso, como visto no experimento anterior, a concentração de JI utilizada pode influenciar na mortalidade e na multiplicação do NEP no interior do hospedeiro (GUIDE et al., 2016).

A taxa metabólica dos nematoides pode variar de acordo com a espécie, o que altera o processamento e diluição do tecido intracorporal do hospedeiro, realizado pelas bactérias simbiotes, influenciando na alimentação, sobrevivência e reprodução dos NEP e consequentemente alterando os resultados da produção (BOFF et al., 2000).

Quando a produção de *H. amazonenses* foi avaliada em *G. mellonella*, os dados obtidos referentes à produção total, produção por lagarta e produção por grama de lagarta por GUIDE (2019), os valores foram de $2,9 \times 10^6$, $5,8 \times 10^4$ e $3,4 \times 10^3$ para o isolado UEL08. O período de produção também foi de oito dias até o esgotamento, e as maiores produções entre o primeiro e segundo dia.

Como citado anteriormente, *G. mellonella* é um inseto cujo hábito de vida associado a colmeias de abelhas, que é um ambiente asséptico, resultou em um sistema imune simplificado, o que a torna mais susceptível a patógenos em geral, e consequentemente mais favorável para a multiplicação de NEP, proporcionando melhores resultados e maiores índices de JI. Por outro lado, *Rachiplusia nu*, embora bastante suscetível aos isolados de NEP avaliados neste trabalho, apresentou resultados de produção inferiores, indicando que outros fatores citados anteriormente podem ter inferido na multiplicação do nematoide.

4.5 Conclusão

Conclui-se que lagartas de *R. nu* foram susceptíveis a nematoides entomopatogênicos tanto do gênero *Heterorhabditis* como *Steinernema*.

A mortalidade de *R. nu* foi positivamente influenciada pela variação de concentrações, que aumentou, com a utilização de concentrações maiores de juvenis infectantes. Por fim, a produção média total de NEP foi de $2,9 \times 10^4$ para UENP06 e $3,9 \times 10^4$ para UEL07.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações geradas a partir dos resultados da utilização de *T. pretiosum* e nematoides entomopatogênicos sobre *R. nu* contribuem para o desenvolvimento de novas estratégias de controle da lagarta falsa-medideira na soja, que somadas a outros métodos de controle, podem promover redução nos gastos com a produção, e viabilizar o MIP-soja com mais eficiência.

Contudo, é importante a continuação desses estudos, principalmente em experimentos que simulem situações de campo para ambos os agentes de controle, já que os resultados de laboratório apresentam interferências externas mínimas, o que não retrata a realidade de campo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIOVE - Associação Brasileira das Indústrias De Óleos Vegetais. Coordenadoria de economia e estatística: Consumo interno e externo de soja no Brasil. Disponível em: http://www.abiove.com.br/balanco_br.html. Acesso em: 25 de outubro de 2023.

AGROFIT - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 20 de dezembro de 2023.

ALLENDE, A.; BOLTON, D.; CHEMALI, M.; DAAVIES, R.; ESCÁMEZ, P. S. F.; ROSINA, H.; HERMAN, L.; KOUTSOUMANIS, K.; LINDQVIST, R.; NORRUNG, B.; RICCI, A.; ROBERTSON, L.; RU, G.; SANNA, M.; SIMMONS, M.; SKANDAMIS, P.; SNARY, E.; SPEYBROECK, N.; TER, B. K.; THRELFALL, J.; WAHLSTROM, H. Risk for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. **Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)**, v. 14, n. 7, p. 4524, 2016.

ALMEIDA, R. P. *Trichogramma* and its relationship with *Wolbachia*: identification of *Trichogramma* species, phylogeny, transfer and costs of *Wolbachia* symbionts. Tese de doutorado, Wageningen University, The Netherlands, 2004.

ALMENARA, D. P.; ROSSI, C.; NEVES, M. R. C.; WINTER, C. E. Nematoides entomopatogênicos In: Tópicos avançados em entomologia molecular. **INCTEM**. São Paulo – SP, p. 01-40, 2012.

ALONSO, V., NASROLAHI, S.; DILLMAN, A. R. Host-specific activation of entomopathogenic nematode infective juveniles. **Insects**, v. 9, p. 1–10, 2018.

ALVES, V. S.; ANDALÓ, V.; LEITE, L. G.; MOINO JR, A. Nematoides entomopatogênicos: potencial de uso para controle de pragas na cultura da soja. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. F.; MAZARO, S. M. M.; SILVA, J. C. (Eds), **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa, Brasília - DF, p. 451-472, 2022.

AMIS – Agricultural Market Information System – Database: Supply and Demand Overview. Disponível em: <https://app.amis-outlook.org/#/market-database/supply-and-demand-overview>. Acesso em: 23 de dezembro de 2023.

ANDALÓ, V.; MOREIRA, F. G.; CAVALCANTI, R. S.; MOINO JUNIOR, A. Observations on the Life Cycle and Pathogenicity of *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 194-197, 2009.

ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JUNIOR, A. Studies of two new populations of *Heterorhabditis amazonensis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Nematropica**, v. 29, n. 2, p. 199-211, 2009.

ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, C. C.; MOINO JR, A. Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of *Spodoptera frugiperda*. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1860-1866, 2010.

ANDALÓ, V.; SANTOS, V.; MOREIRA, G. F.; MOREIRA, G.; FREIRE, M.; MOINO JR., A. Movement of *Heterorhabditis amazonensis* and *Steinernema arenarium* in search of corn fall armyworm larvae in artificial conditions. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 3, p. 226-230, 2012.

ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JUNIOR, A. Comportamento de busca do nematoide *Heterorhabditis amazonensis* em relação a fontes de estímulo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 265–272, 2017.

ANDALÓ, V.; MOREIRA, G. F.; MOINO JR., A. Host-seeking behavior of the *Heterorhabditis amazonensis* nematode in response to stimulant sources. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 3, p. 265-272, 2017.

ANDALÓ, V.; FARIA, L. S.; CARVALHO, F. J.; ASSIS, G. A.; SANTOS, V.; MENDES, S. M.; GONRING, A. H. R. Entomopathogenic nematodes for the control of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) pupae. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 88, p. 1-8, 2021.

ANDRADE, K.; BUENO, A. F.; SILVA, D. M.; STECCA, C. S.; PASINI, A.; OLIVEIRA, M. C. N. Bioecological characteristics of *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts. **Austral Entomology**, v. 55, p. 449–454, 2016.

BACALHAU, F. B.; DOURADO, P. M.; HORIKOSHI, R. J.; CARVALHO, R. A.; SEMEÃO, A.; MARTINELLI, S. Performance of genetically modified soybean expressing the Cry1A.105, Cry2Ab2, and Cry1Ac proteins against key Lepidopteran pests in Brazil. **Journal Entomological Economic**, v. 113, p. 2883–2889, 2020.

BANU, B. J.; JOTHI, B. D.; NARKHEDKAR, N. G. Susceptibility of different stages of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to entomopathogenic nematodes. **International Journal of Nematology**, v. 17, n. 1, p. 41-45, 2007.

BERNARDI, O.; DOURADO, P. M.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI, S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. High levels of biological activity of Cry1Ac protein expressed on MON 87701× MON 89788 soybean against *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Manage Science**, v. 70, p. 588–594, 2014.

BERNARDI, O.; MALVESTITI, G. S.; DOURADO, P. M.; OLIVEIRA, W. S.; MARTINELLI, S.; BERGER, G. U. Assessment of the high-dose concept and level of control provided by MON 87701× MON 89788 soybean against *Anticarsia gemmatilis* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Pest Manage Science**, v. 68, p. 1083–1091, 2012.

BERNARDI, O. Manejo da Resistência de Insetos a Plantas *Bt*. PROMIP – **Manejo Integrado de Pragas**. Engenheiro Coelho – SP, 2016.

BERTI FILHO, E.; MACEDO, L. P. M. **Fundamentos de controle biológico de insetos-praga**. Natal: IFRN Editora, 2010.

BENTANCOURT, C. M.; SCATONI, I. B. Lepidopteros de importância económica en Uruguay: reconocimiento, biología y daños de las plagas agrícolas y forestales. 2ª ed. **Notas Técnicas**, Montevideo - URU, v. 7, p. 57, 2006.

BLANCO, C. A.; CHIARAVALLE, W.; DALLA-RIZZA, M.; FARIAS, J. R.; GARCÍA DEGANO, M. F.; GASTAMINZA, G. Current situation of pests targeted by *Bt* crops in Latin America. **Curr Opin Insect Sci**, v. 15, p.131–138, 2016.

BLEICHER, E.; PARRA, J. R. P. Espécies de Trichogramma parasitoides de Alabama argillacea. I. Biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, n. 8, p. 929-940, 1989.

BOFF, M. I. C.; WIEGERS, G. L.; GERRITSEN, L. J. M.; SMITS, P. H. Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NLH-E87.3 in *Galleria mellonella*. **Nematology**, v. 2, p. 303-308, 2000.

BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil: história e estatística**. Embrapa Soja, Londrina - PR, 1987.

BOURCHIER, R. S.; SMITH, S. M. Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 80, n. 3, p. 461-468, 1996.

BROOKES, G. The farm level economic and environmental contribution of Intacta soybeans in South America: the first five years. **GM Crops Food**, v. 9, p. 140–151, 2018.

BROOKES, G.; BARFOOT, P. GM crop technology use 1996-2018: farm income and production impacts. **GM Crops Food**, v. 11, p. 242–261, 2020.

BRUCK, D. J.; EDWARDS, D. L.; DONAHUE, K. M. Susceptibility of the strawberry crown moth (Lepidoptera: Sesiidae) to entomopathogenic nematodes. **Journal of Entomology**, v. 101, p. 251-255, 2008.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F.; HADDAD, M. L. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 389- 394, 2009.

BUENO, A. F.; PANIZZI, A. R.; HUNT, T. E.; DOURADO, P. M.; PITTA, R. M.; GONÇALVES, J. Challenges for adoption of integrated pest management (IPM): the soybean example. **Neotropical Entomologic**, v. 50, p. 5–20, 2021.

BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R. Ocorrência de *Rachiplusia nu* e *Crociosema aporema* em soja-Bt na safra 20/21 e principais orientações de manejo aos produtores para a safra 21/22. **Nota Técnica** – Embrapa Soja, Londrina – PR, 2021.

BUENO, R. C. O. de F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. de F. *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis* eggs at different temperatures. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 154-162, 2012.

BUENO, A. F.; PARRA, J. R. P.; COLOMBO, F. C.; COROMOTO COLMENAREZ, Y.; NARDE, B. V. F.; PEREIRA, F. F. Manejo de pragas com parasitoides. In: MEYER, M. C.; BUENO, A. de F.; MAZARO, S. M.; SILVA, J. C. da (ed.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Brasília - DF: Embrapa, cap. 24, p. 417-434, 2022.

BUENO, R. C. O. de F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. de F. *Trichogramma pretiosum* parasitism of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis* eggs at different temperatures. **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 154-162, 2012.

BUENO, R. C. F.; PARRA, J. R.; BUENO, A. F. *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, p. 1-8, 2012.

BUENO, A. F.; PANIZZI, A. R.; HUNT, T. E.; DOURADO, P. M.; PITTA, R. M.; GONÇALVES, J. Challenges for adoption of integrated pest management (IPM): the soybean example. **Neotropical Entomol**, v. 50, p. 5-20, 2021.

BUENO, A. F.; SILVA, D. M. da. Sob ataque. **Revista Cultivar Grandes Culturas**. Pelotas - RS, n. 268, p. 36 - 38, 2021.

BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis*. **Biological Control**, v. 51, n. 3, p. 355-361, 2009.

BURR, I. W.; FOSTER, L. A. A test for equality of variances. **Mimeo series nº 282**. West Lafayette, Purdue University, p. 26, 1972.

CÂMARA, G. M. S. **Bases de fisiologia da cultura da soja**. Piracicaba - SP, 2011.

CAOILI, B. L.; LATINA, R. A.; SANDOVAL, R. F. C.; ORAJAY, J. I. Molecular identification of entomopathogenic nematode isolates from the Philippines and their biological control potential against lepidopteran pests of corn. **Journal of Nematology**, v. 50, p. 99-110, 2018.

CAPINERA, J. L. Cabbage Looper, *Trichoplusia ni* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). In: Capinera, J. L. (eds) **Encyclopedia of Entomology**. Springer – Dordrecht, 2005.

CARNEVALLI, R. A.; OLIVEIRA, A. B.; GOMES, E. C.; POSSAMAI, E. J.; SILVA, G. C.; REIS, E. A.; ROGGIA, S.; PRANDO, A. M.; LIMA, D. **Resultados do manejo integrado de pragas da soja na safra 2021/2022 no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2022.

CASTELLS, E.; BERENBAUM, M. R. Resistance of the generalist moth *Trichoplusia ni* (Noctuidae) to a novel chemical defense in the invasive plant *Conium maculatum*. **Chemoecology**, v. 18, n. 1, p. 11-18, 2008.

CHAPMAN, R. F. The insects: structure and function. **Cambridge University Press**, p. 788, 1998.

CICHE, T. A.; ENSIGN, J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out. **Applied Environmental Microbiology**, p. 1890–1897, 2003.

COELHO JÚNIOR, A. **Controle biológico de pragas no Brasil**. 2019.

COLAZZA, S.; PERI, E.; SALERNO, G.; CONTI, E. Host searching by egg parasitoids: exploration of host chemical cues. Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on *Trichogramma*, p. 97-147, 2010.

CONAB - Companhia Nacional do abastecimento. Boletim de Monitoramento Agrícola de safras. Brasília - DF, 2021. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=>> Acesso em: 27 de outubro de 2023.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra brasileira 2022/2023. Safra de Grãos, 2º Levantamento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 01 de novembro de 2023.

CONAB. Acompanhamento da Safra brasileira 2022/2023. Progresso de Safra. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/perspectivas-para-a-agropecuaria>. Acesso em: 28 de novembro de 2023.

CNTBio - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. Parecer Técnico da liberação de Soja *Bt* no Brasil, 2010. <https://cibio.paginas.ufsc.br/files/2016/11/Compendio-de-Biossegurana.pdf>. Acesso em 17 de outubro de 2023.

CÔNSOLI, F. L.; KITAJIMA, E.; PARRA, J. R. P. Ultrastructure of the natural and factitious host eggs of *Trichogramma galloi* Zucchi and *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Seewiesen, v. 28, p. 211-229, 1999.

CÔNSOLI, F. L.; ROSSI, M. M.; PARRA, J. R. P. Developmental time and characteristics of the immature stages of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba – PR, v. 43, n. 3/4, p. 271-275, 1999.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em fritura. **Química Nova**, v. 23, n. 4, 2000.

CLB - CROPLIFE BRASIL. Publicações sobre biotecnologia em Soja. 2020. <https://croplifebrasil.org/publicacoes-areas/biotecnologia>. Acesso em: 15 de outubro de 2023.

CROSARIOL NETTO, J.; ROLIM, G. G. ; SCOZ, L. B. ; MARTINS, E. S. ; PITTA, R. M. ; VIANA, D. L. . Efetividade preservada. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 237, p. 44-47, 2019.

DABORN, P. J.; WATERFIELD, N.; BLIGHT, M. A.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Measuring virulence factor expression by the pathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens* in culture and during insect infection. **Journal Bacteriology**, v. 183, p. 5834-5839, 2002.

DELEY, P. A quick tour of nematode diversity and the backbone of nematode phylogeny. WormBook: The *C. elegans* **Research Community**, 2006.

DIVELY, G. P. Regional pest suppression associated with widespread *Bt* maize adoption benefits vegetable growers. **Proc Naturaly Academic Science**, v. 115, n. 13, p. 3320-3325, 2018.

DIVYA, K.; SANKAR, M.; MARULASIDDESHA, K.N.; SAMBASHIV, R.; KRUPANIDHI, K. Formulation technology of entomopathogenic nematode for the control of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. **Bioscience Discovery**, v. 2, n. 2, p. 174-180, 2011.

DOLINSKI, C.; KAMITANI, F. L.; MACHADO, I. R.; WINTER, C. E. Molecular and morphological characterization of heterorhabditid entomopathogenic nematodes from the tropical rainforest in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 2, p.150-159, 2008.

DOLINSKI, C.; MOINO JR, A. Utilização de nematóides entomopatogênicos Nativos ou Exóticos: O Perigo das Introduções. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 139-149, 2006.

DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; LEITE, L. G. Studies on entomopathogenic nematodes in Brazil: past and future. **Nematoda**, v. 4, p. 1-14, 2017.

DOURADO, P. M.; BACALHAU, F. B.; AMADO, D.; CARVALHO, R. A.; MARTINELLI S.; HEAD, G. P.; OMOTO, C. High susceptibility to Cry1Ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of *Helicoverpa armigera* to *Bt* soybean in Brazil. **PLoS One**, v. 11, p. 0161388, 2016.

DOYON, J.; BOIVIN, G. The effect of development time on the fitness of female *Trichogramma evanescens*. **Journal of Insect Science**, v. 5, n. 4, p. 1-5, 2005.

EHLERS, R. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 56, p. 623-633, 2001.

FEASTER, M. A.; STEINKRAUS, D. C. Inundative biological control of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) with the entomopathogenic nematode *Steinernema riobris* (Rhabditida: Steinernematidae). **Biological Control**, v. 7, n. 1, p. 38-46, 1996.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides Entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Fealq, Piracicaba – SP, v. 16, p. 541-569, 1998.

FOERSTER, L. A.; AVANCI, M. R. F. Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatilis* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 545-548, 1999.

FUGA, C. A. G.; FERNANDES, R. H.; LOPES, E. A. Nematoides entomopatogênicos. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n. 3, p. 56-75, 2012.

FUXA, J. R.; RICHTER, A. R.; AGUEDO-SILVA, F. Effect of host age and nematodes strain on susceptibillity of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 1, p. 91-95, 1988.

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

GARCIA, L. C.; RAETANO, C. G.; LEITE, L. G. Application technology for the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indica* and *Steinernema* sp. (Rhabditida: Heterorhabditidae and Steinernematidae) to control *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. **Neotropical Entomology**, v. 37, p. 305-311, 2008.

GAZZONI, D. L. A sustentabilidade da soja no contexto do agronegócio brasileiro e mundial. **Documentos (INFOTECA-E)** da Embrapa Soja, Londrina - PR, 2012

GOULART, R. M. Criação de *Trichogramma* spp. In: DE BORTOLI, S. A. Criação de insetos: da base à biofábrica. **FCAV: Jaboticabal – SP**, v. 2, p. 127-134, 2009.

GREENE, G. L.; LEPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Baltimore, v. 69, n. 4, p. 487-488, 1976.

GREWAL, P.S.; EHLERS, R.-U.; SHAPIRO-ILAN, D.I. (Eds.). **Nematodes as Biological Control Agents**. CABI, Wallingford, p. 505, 2005.

GUAZINA, R. A.; DEGRANDE, P. E.; SOUZA, E. P.; GAUER, E. Danos da lagarta *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) em plântulas de soja. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.18, n. 1, p. 41-46, 2019.

GUIDE, B. A. **Identificação e aspectos biológicos do nematoide entomopatogênico *Heterorhabditis amazonensis* Isolado UEL 08**. Tese de Doutorado do Programa Pós-graduação em Agronomia - Universidade Estadual de Londrina - PR, 2019.

GUIDE, B. A.; SOARES, E. A.; ITIMURCA, C. R. B.; ALVES, V. S. Entomopathogenic nematodes in the controlo f cassava root mealybug *Dysmicoccus* sp. (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 42, n. 1, p. 16-21, 2016.

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

HAYASHIDA, R.; GODOY, C. V.; HOBACK, W. W.; BUENO, A. F. Are economic thresholds for IPM decisions the same for low LAI soybean cultivars in Brazil?. **Pest Management Science**, 2020.

HERNÁNDEZ, D.; DÍAZ, F. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) parasitoide de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Boletín de Entomología Venezolana**, Caracas, v. 11, p. 149-153, 1996.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; OLIVEIRA, E. B.; MOSCARDI, F. **Criação massal da lagarta-da-soja**. EMBRAPA-CNPSO, Londrina - PR, 1985.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Embrapa, Brasília - DF, p. 859, 2012.

HOHMANN, C. L.; SILVA, S. M. T.; SANTOS, W. J. Lista preliminar de Trichogrammatidae encontrados no Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 18, p. 203-206, 1989.

HORIKOSHI, R. J.; DOURADO, P. M.; BERNARDI, O.; WILLSE, A.; GODOY, W. A. C.; OMOTO, C.; BUENO, A. de F.; MARTINELLI, S.; BERGER, G. U.; HEAD, G. P.; CORRÊA, A. S. Regional pest suppression associated with adoption of Cry1Ac soybean benefits pest management in tropical agriculture. **Pest Management Science**, v. 87, n. 10, p. 4166-4172, 2022.

HORIKOSHI, R. J.; DOURADO, P. M.; BERGER, G. U. Large-scale assessment of lepidopteran soybean pests and efficacy of Cry1Ac soybean in Brazil. **Science Rep.** v. 11, p. 15956, 2021.

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Dados de Produção de 2021. <https://www.ipea.gov.br/portal/dados-abertos>. Acesso em 01 novembro 2023.

JACQUET, F.; JEUFFROY, M. H.; JOUAN, J.; LE CADRE, E.; LITRICO, I.; MALAUSA, T.; REBOUD, X.; HUYGHE, C. Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research. **Agron. Sustain**, 2022.

JANMAAT, A. F.; MYERS, J. Host-plant effects the expression of resistance to *Bacillus thuringiensis* kurstaki in *Trichoplusia ni* (Hubner): an important factor in resistance evolution. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 20, n. 1, p. 62-69, 2007.

KAMITANI, F. L. **Caracterização Molecular de isolados de nematoides entomopatogênicos, *Heterorhabditis* spp. e seus simbioses, *Photorhabdus* spp., provenientes de Monte Negro, RO.** Tese de Doutorado do Curso de Biologia da Relação Patógeno Hospedeiro - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - SP, 2010.

KARY, N. E.; GOLIZADEH, A.; DASTJERDI, H. R.; MOHAMMADI, D.; AFGHAHI, S.; OMRANI, M.; MORSHEDLOO, M. R.; SHIRZAD, A. A laboratory study of susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hübner) to three species of entomopathogenic nematodes. **Munis Entomology & Zoology**, v. 7, n.1, p. 372-379, 2012.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, v. 38, n. 1, p. 66-79, 2006.

LI, Q.; CHONGGANG, X.; LIANG, W. Residue incorporation and n fertilization affect the response of soil nematodes to the elevated CO₂ in a Chinese wheat field. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, p. 1497-1503, 2009.

LOPES, E. A.; FUGA, C. A. G.; FERNANDES, R. H. Nematoides entomopatogênicos. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n. 3, p. 56-75, 2012.

MACHADO, V. O. F.; FERREIRA, G. A.; ROSA, S. R. A.; GARCIA, A. E.; PINHEIRO, J. B.; VELOSO, V. R. S. Aspectos biológicos de *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de soja (*Glycine max* Merrill). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 29, n. 1, p. 39-41, 1999.

MACRAE, T. C.; BAUR, M. E.; BOETHEL, D. J.; FITZPATRICK, B. J.; GAO, A. G.; GAMUNDI, J. C. Laboratory and field evaluations of transgenic soybean exhibiting high-dose expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis* cry1A gene for control of Lepidoptera. **J Econ Entomol**, v. 98, p. 577–587, 2005.

MEDEIROS, P. T.; FERREIRA, M. N.; MARTINS, É. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; DIAS, J. M. C. S.; MONNERAT, R. G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 1145-1148, 2005.

MERTZ, N.R.; AGUDELO, E.J.G.; SALES, F.S.; MOINO JUNIOR, A. Effects of entomopathogenic nematodes on the predator *Calosoma granulatum* in the Laboratory. **Journal of Insect Behavior**, v. 28, p. 312-327, 2015.

MCDUGALL, S. J.; MILLS, N. J. The influence of hosts, temperature and food sources on the longevity of *Trichogramma platneri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 83, n. 2, p. 195-203, 1997.

MOEZIPOUR, M. Effect of different temperature and humidity treatments on some biological parameters of two *Trichogramma brassicae* Bezd. populations, collected from pomegranate orchards of Yazd and Saveh. Thesis, Isfahan **University of Technology**, Iran, 2006.

MOLINA-OCHOA, J.; HAMM, J. J.; LEZAMA-GUTIÉRREZ, R.; BOJALIL, L. F. J.; ARENAS-VARGAS, M.; GONZÁLEZ-RAMÍREZ, M. Virulence of six entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) on immature stages of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) **Vedalia**, v. 3, p. 25-29, 1996.

MOLINA, J. P.; LOPEZ, N. J. C. Producción *in vivo* de três entomonematodos con dos sistemas de infección em dos hospedantes. **Revista Colombiana de Entomología**, v. 27, n. 1-2, p. 73-79, 2001.

MONTEIRO, L. B.; SOUZA, A.; BELLI, E. L.; SILVA, R. B. Q.; ZUCCHI, R. A. Ocorrência de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota cranaodes* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) em macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, n. 1, p. 171-172, 2010.

MORAIS, Á. A. C. Usos da soja em medicina. **Anais do I Simpósio Brasileiro sobre Benefícios da Soja para a Saúde Humana**. Embrapa Soja: Londrina -PR, 2001.

MOREIRA, H. J. C.; ARAGÃO, F. D. **Manual de Pragas da Soja**. Campinas - SP, 2009.

MOSCARDI, F.; SOUZA, M. L. de. **Baculovirus para o controle de pragas**. Embrapa Soja: Brasília – DF, p. 22-29, 2002.

MOSCARDI, F.; BUENO, A. F.; SOSA-GOMEZ, D. R.; ROGGIA, S. HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; YANO, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. Soja - **Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Embrapa. Cap. 4, 2013.

NARDON, A. C.; MATHIONI, S. M.; SANTOS, L. V.; ROSA, D. D. Primeiro registro de *Rachiplusia nu* (Guenée, 1852), (Lepidoptera: Noctuidae) sobrevivendo a soja *Bt* no Brasil. **Entomological Communications**, 2021.

NAVA, D. E.; HADDAD, M. L.; PARRA, J. R. P. Exigências térmicas, estimativa do número de gerações de *Stenoma canetifer* e comprovação do modelo em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília – DF, v. 40, n. 1, p. 961-967, 2008.

NAVON, A.; NAGALAKSHMI, V. K.; LEVSKI, S.; SALAME, L.; GLAZER, I. Effectiveness of Entomopathogenic Nematodes in an Alginate Gel Formulation Against Lepidopterous Pests. **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p. 737-746, 2002.

NEGRISOLI JR., A. S.; GARCIA, M. S.; BARBOSA-NEGRISOLI, C. R. C.; BERNARDI, D.; SILVA, A. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. **Crop Protection**, v. 29, p. 677-683, 2010.

NOLDUS, L. P. J. J. Semiochemicals foraging behaviour and quality of entomophagous insects for biological control. **Journal Applied of Entomology**, v. 108, p. 425-451, 1989.

OLIVEIRA, L. M. G.; KANASHIRO, M. K. Imunologia. Fundação CECIERJ: Rio de Janeiro – RJ, v. 2, p. 248, 2010.

OLIVEIRA, H. N.; ÁVILA, C. J. Controle biológico de pragas no Centro-Oeste brasileiro. In: Controle Biológico 193 G.Bio: **Revista de Controle Biológico**, p. 11-13, 2010.

ORLANDI, M.; WILLERS, E. M.; STADUTO, J. A. R.; EBERHARDT, P. H. C.; PIACENTI, C. A. Caminhos da soja e o desenvolvimento rural no Paraná e em Mato Grosso. **Revista de Política Agrícola**, 2012.

OZER, K.; UNLU, I. O. Evaluation of the reproductive potential and competition between two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). **Turkish Journal of Biology**, v. 27, p. 149-155, 2003.

PACHECO, D. J. P.; CORRÊA-FERREIRA B. S. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitóide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 585-591, 1998.

PARRA, J. R. P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: Parra JRP, Zucchi RA (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, p. 121-150, 1997.

PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**. Fealq: Piracicaba – SP, v. 4, p. 1015- 1037, 1998.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, M. P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. **Controle biológico no Brasil: predadores e parasitoides**. São Paulo - SP, 2002.

PARRA, P. J. R.; COELHO JR, A. Applied Biological Control in Brazil: From Laboratory Assays to Field Application. **Journal of Insect Science**, v. 19, p. 1-6, 2019.

PARRA, J. R. P., PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; OLIVEIRA, R. C.; DINIZ, A. J. F. **Controle biológico com parasitoides e predadores na agricultura brasileira**. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p. 592, 2021.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 271- 281, 2004.

PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 345-355, 2014.

PASTRANA, J. A.; BRAUN, K. Los lepidópteros argentinos: sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios. **Sociedad Entomológica Argentina**, 2004.

PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MARBELO-SOUZA, D. T. **Controle biológico de pragas: na prática**. Fealq: Piracicaba – SP, v. 2, p. 11-24, 2006.

PIZZOL, J.; DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; THIÉRY, D. Parasitoid and host egg ages have independent impact on various biological traits in a *Trichogramma* species. **J. Pest Science**, v. 85, p. 489–496, 2010.

POGETTO, M. D.; BERNARDI, O. O uso de proteínas inseticidas de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) no controle de insetos-praga. **Inovações em Manejo Fitossanitário**, 2017.

POINAR JR., G. O. Biology and Taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae, In: GLAUGLER, R.; KAYA, H. K. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. **CRC Press**, v. 356, p. 23-61, 1990.

Pratissoli D. **Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, nas traças, *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) e *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873), em tomateiro**. 134 p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 1995.

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

PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, para o controle das traças, *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 277-282, 2001.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J. R. P. Desenvolvimento e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley, criados em duas traças do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n.7, p.1281-1288, 2000.

PRATISSOLI, D. Características biológicas de *Nipteria panacea* Thierry-Mieg (Lepidoptera, Geometridae), desfolhadora do abacateiro, na região serrana do Espírito Santo, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo – SP, v. 46, n. 3, p. 429-430, 2002.

PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J. C.; VIANNA, U. R.; ANDRADE, J. S.; GUIMARÃES, E. M.; ESPINDULA, M. C. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma*

acacioi on eggs of *Anagasta kuehniella* at different temperatures. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 2, p. 193-196, 2004.

PRATISSOLI, D.; PEREIRA, F.F.; BARROS, R.; PARRA, J.R.P.; PEREIRA, C.L.T. Parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos da traça-das-crucíferas sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 4, p. 754-757, 2004.

PRATISSOLI, D.; OLIVEIRA, H. N.; GONÇALVES, J. R.; ZANUNCIO, J. C.; HOLTZ, A. M. Changes in biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera.: Pyralidae) for 23 generations. **Biocontrol Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 313-319, 2004.

QUERINO, R. B.; ZUCCHI, R. A. **Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil**. Embrapa: Brasília - DF, 2012.

RESENDE, D. L. M. C.; CIOCIOLLA, A. I. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 20, p. 421-424, 1996.

RICIETTO, A. P. S.; GONÇALVES, K. C. B.; APPEL, R. J. C.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; VILAS-BÔAS, G. T.; VILAS-BOAS, L. A. Complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* BR145, a strain with insecticidal activity against Lepidoptera pests. *Genetics and Molecular Biology* (online version), v. 45, p. e20210289, 2022.

ROGGIA, S.; PASINI, A.; LOFEGO, A. C.; SISMEIRO, M. N. S.; CAMPOS, T. A.; SILVA, J. E. P.; OLIVEIRA, M. F. **Soja *Bt*: flutuação de pragas e predadores**. 13º SICONBIOL, 2013.

ROESSING, A. C.; SANCHES, A. C.; MICHELLON, E. **As Perspectivas de Expansão da Soja**. Ribeirão Preto – SP, 2005.

SAN-BLAS, E.; CAMPOS-HERRERA, R.; DOLINSKI, C.; MONTEIRO, C.; ANDALÓ, V.; GARRIGÓS L., L.; RODRÍGUEZ, M. G.; MORALES-MONTERO, P.; SÁENZ-APONTE, A.; CEDANO, C.; DEL VALLE, E.; LÓPEZ-NUÑEZ, J. C.; DOUCET, M. E.; LAX, P.; NAVARRO, P. D.; BÁEZ, F.; LLUMIQUINGA, P.; RUIZ-VEGA, J.; GUERRA-MORENO,

A.; STOCK, S. P. Entomopathogenic nematology in Latin America: A brief history, current research and future prospects. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 165, p. 22-45, 2019.

SANTOS, M. F. **Mapeamento de QTL e expressão gênica associados a resistência da soja ao complexo de percevejos**. Tese de Doutorado em Genética e Melhoramentos de Plantas da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP, 2012.

SAS INSTITUTE. **SAS User’s Guide: Statistics, Version 8e**. SAS Institute, Cary – NC, 2009.

SCHOLLER, M.; HASSAN, S. A. Comparative biology and life tables of *Trichogramma evanescens* and *T. cacoeciae* with *Ephestia elutella* as host at four constant temperatures. **Entomology Experimentalis Applicata**, v. 98, p. 35-40, 2001.

SEENIVASAN, N.; SIVAKUMAR, M. Screening for environmental stress-tolerant entomopathogenic nematodes virulent against cotton bollworms. **Phytoparasitica**, v. 42, p. 165-177, 2014.

SEIXAS, C. D. S.; NEUMAIER, N.; BALBINOT JR, A. A.; KRZYZANOWSKI, F. C.; LEITE, R. M. V. B. C. **Tecnologias de produção de soja**. Embrapa Soja: Londrina – PR, 2020.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; JACKSON, M.; REILLY, C. C.; HOTCHKISS, M. W. Effects of combining an entomopathogenic fungi or bacterium with entomopathogenic nematodes on mortality of *Curculio caryae* (Coleoptera: Curculionidae). **Biological Control**, v. 30, p. 119–126, 2004.

SHAPIRO-ILAN, D.; HAZIR, S.; GLAZER, I. “Basic and applied research: entomopathogenic nematodes”, In Lacey, L. (Ed.), **Microbial control of insect and mite pests: from theory to practice Elsevier**, London, p. 91–105, 2017.

SILVEIRA, L. C. P. J. D.; VENDRAMIN, C. J.; ROSSETTO. Efeitos de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 26, n. 2, p. 291-298, 1997.

SIMÕES, N.; ROSA, J. S. Pathogenicity and Host Specificity of Entomopathogenic Nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, 403–11, 1996.

SMITH, S. M.; HUBBES, M.; CARROW, J. R. Factor's affecting inundative releases of *Trichogramma* Ril. against the spruce budworm. **Journal of Applied Entomology**, v. 101, p. 29-39, 1986.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; OMOTO, Celso. Resistência a inseticidas e outros agentes de controle em artrópodes associados à cultura da soja. **Manejo Integrado de Insetos e outros Artrópodes-Praga**. Embrapa: Brasília –DF, p. 673-723, 2012.

SOSA-GÓMEZ, D, R., CORRÊA-FERREIRA, B, S., HOFFMANN-CAMPO, C, B., CORSO, I, C., OLIVEIRA, L, J., MOSCARDI, F., PANIZZI, A, R., BUENO, A, F., HIROSE, E., ROGGIA, S. **Manual d identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Embrapa Soja: Londrina - PR, 2014.

SOUZA, L. M.; MOINO JR, A.; MERTZ, N. R.; SILVA, M. A. T.; SOARES, F. M.; ZANETTI, R. Nematoides entomopatogênicos e compatibilidade com imidaclopride visando ao controle de *Spodoptera frugiperda* em viveiro florestal. **Nematologia Brasileira**, v. 36, p. 32, 2012.

SPARK. MIP soja 2021. **Spark Smarter Decisions**, Valinhos - SP, <http://spark-ie.com.br>. 2021.

STEIN, C. P.; PARRA, J. R. P. Uso da radiação ultravioleta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* sp. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Japoticabal – SP, v. 16, n. 1, p. 229-231, 1987.

SUJII, E. R.; COSTA, M. L. M.; PIRES, C. S. S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 541-549, 2002.

THIAGO, L. R. L de S.; SILVA, J. M. Soja na alimentação de Bovinos. **Circular Técnica – Embrapa Milho e Sorgo**: Campo Grande – MS, 2003.

THOMSON, L. J; HOFFMANN, A. A. Laboratory fecundity as predictor of field success in *Trichogramma carverae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 5, p.912-917, 2002.

TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Conservation biological control using selective insecticides: Avaluable tool for IPM. **Biol. Control** v. 126, p. 53-64, 2018.

USDA - United States Department of Agriculture. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/data.asp>. Acesso em: 30 de outubro de 2023.

VALLET-GELY, I.; LEMAITRE, B.; BOCCARD, F. Bacterial strategies to overcome insect defences. **Natural Revist Microbiological**, v. 6, n. 4, p. 302-313, 2008.

VALICENTE, F. H.; ANDRADE, G. S.; MENDES, S. M. **Plantas transgênicas e possíveis efeitos em agentes de controle biológico**. Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas – MG, 2015.

VAN LENTEREN, J. C.; BOLCKMANS, K.; KÖHL, J.; RAVENSBERG, W. J.; URBANEJA, A. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **Bio Control**, v. 63, p. 39–59, 2018.

VASCONCELOS, F. D. Biodiesel de óleo de soja e sebo bovino: caracterização e avaliação das blendas. **Trabalho de Conclusão de Curso** da Universidade Federal do Ceará do Curso de Engenharia Mecânica, Fortaleza - CE, 2016.

VITERI, D. M.; LINARES, A. M.; FLORES, L. Use of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in combination with low-toxicity insecticides to control fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Florida Entomologist**, v. 101, n. 2, p. 327-329, 2018.

VOLKOFF, A. N.; DAUMAL, J.; BARRY, P.; FRANÇOIS, M. C.; HAWLITZKY, N.; ROSSI, M. M. Development of *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae): time table and evidence for a single larval instar. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, v. 24, n. 4, p. 459 466, 1995.

VOSS, M. Manual de Técnicas Laboratoriais para Obtenção, Manutenção e Caracterização de Nematoides Entomopatogênicos. **Documentos: 97: Embrapa Trigo**, p. 9-17, 2009.

WAKEIL, N. E.; FARGHALY, H. T.; RAGAB, Z. A. Efficacy of inundative releases of *Trichogramma evanescens* in controlling *Lobesia botrana* in vineyards in Egypt. **Journal of Pesticide Science**, v. 81, n. 1, p. 49-55, 2008.

WANG, Y.; GAUGLER, H. Host and penetration site location by entomopathogenic nematodes against Japanese beetle larvae. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 72, p. 313-318, 1998.

YEARGAN, K. V. Effects of temperature on development rate of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 73, p. 339-342, 1980.

ZAGO, H. B.; PRATISSOLI, D.; BARROS, R.; GODIM J. R.; M. G. C. Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 3, p. 377-381, 2006.

ZACHRISSON, B. A. **Bioecologia de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879, para o controle de *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818, na cultura da soja.** 106 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.