

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

INFESTAÇÃO, DANOS E PARASITISMO DE NOCTUIDAE EM MILHO E  
INFLUÊNCIA DA IDADE DOS OVOS E APRENDIZADO NO PARASITISMO  
DE *Trichogramma pretiosum* EM *Spodoptera frugiperda*.

Camila Corrêa Vargas  
Tecnóloga em Agropecuária Integrada/UERGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos  
para obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia/  
Entomologia

Porto Alegre (RS), Brasil  
Fevereiro de 2016

Vargas, Camila Corrêa  
INFESTAÇÃO, DANOS E PARASITISMO DE NOCTUIDAE EM  
MILHO E INFLUÊNCIA DA IDADE DOS OVOS E APRENDIZADO  
NO PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* EM  
*Spodoptera frugiperda*. / Camila Corrêa Vargas. --  
2016.

98 f.

Orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli.

Coorientadora: Rosana Matos de Moraes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa  
de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,  
2016.

1. Milho. 2. *Spodoptera frugiperda*. 3.  
*Helicoverpa zea*. 4. *Trichogramma pretiosum*. 5.  
Controle biológico. I. Redaelli, Luiza Rodrigues,  
orient. II. Moraes, Rosana Matos de, coorient. III.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CAMILA CORRÊA VARGAS  
Tecnóloga em Agropecuária Integrada - UERGS

## **DISSERTAÇÃO**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### **MESTRE EM FITOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 29.02.2016  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 03.06.2016  
Por

LUIZA RODRIGUES REDAELLI  
Orientadora - PPG Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE  
Coordenadora do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

ROSANA MATOS DE MORAIS  
Coorientadora - FEPAGRO-Santa Maria/RS

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE  
PPG Fitotecnia/UFRGS

JOSÉ FERNANDES BARBOSA NETO  
PPG Fitotecnia/UFRGS

ANA PAULA SCHNEID AFONSO DA ROSA  
EMBRAPA Clima Temperado  
Pelotas/RS

PEDRO ALBERTO SELBACH  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

I'd made it this far and refused to give up, because all my life

I had always finished the race.

- Louis Zamperini

**Be Brave**

Os céus declaram a glória de Deus; o firmamento proclama a obra das suas mãos.  
Um dia fala disso a outro dia; uma noite o revela a outra noite.  
Sem discurso nem palavras, não se ouve a sua voz.  
Mas a sua voz, ressoa por toda a terra, e as suas palavras, até os confins do mundo.

Salmos 19: 1-4.

## **Ofereço**

Aos meus amados pais Jairo Vargas e Rejane Vargas

Cada pedacinho desse sonho é nosso

Sem vocês jamais teria conseguido

Vocês são a base e a segurança de cada passo meu

Eternamente grata

**Dedico**

## Agradecimentos

Então Ele me disse: “Pode ir. Eu seguro a tua mão, e se tu caíres eu te carrego no colo. Não tenha medo! Eu sempre estarei contigo.” Com imenso amor e gratidão, dedico minhas primeiras linhas ao meu melhor amigo. Aquele que esteve comigo em todos os segundos, que me sustentou quando queria desistir, que me deu asas quando minhas pernas não tinham forças para caminhar. Que desenhou meus sonhos, que me munuiu das ferramentas necessárias para jamais desistir. Obrigada meu Deus, sei que nunca estive (estarei) sozinha. VOCÊ me faz corajosa!

Aos meus pais Jairo e Rejane Vargas, pelo amor, dedicação, formação, apoio, pelo exemplo de vida e por serem a base do meu caráter. Por compreenderem minha ausência e minha distância. Por todas as palavras de motivação em momentos de fraqueza. Jamais poderei retribuir tudo o que são e o que fazem por mim. Vocês são o meu maior exemplo de vida! Amo vocês!

Às minhas irmãs Maele e Caelen, pela amizade, amor, palavras de incentivo e companheirismo.

À minha orientadora Luiza Rodrigues Redaelli, por ter aceito trabalhar comigo, pelos ensinamentos, auxílio e atenção com o nosso trabalho. Muito Obrigada!

À minha coorientadora Rosana Matos de Moraes pela oportunidade de trabalharmos juntas, por toda a confiança, amizade e dedicação. Por ter aberto as portas de sua casa, em período de campo, com a toda a delicadeza e atenção possível. Sem sua ajuda esse trabalho não seria possível. Você é parte essencial do nosso trabalho. Muito Obrigada!

Ao professor Josué, pelos ensinamentos, auxílio e paciência comigo. Pelas conversas agradáveis, pelos cafés, e por ter me apresentado o mundo mágico do comportamento de insetos.

À professora Simone, pelo auxílio, ensinamentos e ajuda na parte estatística, sugestões e correções.

À Priscila Padilha pela parceria e auxílio no trabalho, pelas risadas, companheirismo e por todos os momentos bons que nossa amizade nos proporcionou. Você se tornou uma pessoa muito especial e amiga muito querida.

Aos pesquisadores da Fepagro Santa Maria, Cleber, Gerusa e Joseila por todas as caronas e ajuda durante o trabalho de campo. Em especial a Adriana pelo auxílio

nas coletas e triagem do material, pelas risadas e manhãs de coleta engraçadas que passamos juntas.

À minha querida Claudia Ourique, que iniciou esse ciclo ao meu lado, e ao meu lado termina. Que compartilhou de meus problemas, medos, dúvidas, mas também minhas alegrias, conquistas e superações nesses dois anos de aprendizado. Por ser uma amiga-irmã tão maravilhosa e uma pessoa essencial.

Aos meus queridos colegas do laboratório, Bruna, Dânia, Douglas, Fernanda, Gabriela, Gisele, Joana, Jucélio, Leandro, Leonardo, Nelson, Rita, Roberta Tognon, Roberta, Sebastian (Argentino), Sebastian (Colombiano), Viviane, Willian, pela amizade, ajuda, parceria e momentos divertidos que passamos juntos. Vocês são pessoas especiais.

À minha querida família “porto-alegrense”, Vera, Juliana, Jaqueline e Maria Helena, por todos os momentos maravilhosos, por toda ajuda, cuidados, auxílio, carinho e amizade. Vocês são pessoas maravilhosas e muito importantes para mim.

Ao meu amigo e “eterno orientador” Benjamin Dias Osório Filho, por toda a amizade e torcida antes e durante o mestrado.

À UFRGS pelo ensino e capacitação.

À UERGS por ter me disponibilizado toda a base acadêmica.

À CAPES pela bolsa de estudo.

À Marisa, secretária da pós-graduação, por toda ajuda e atenção.

À banca examinadora pela disponibilidade e por agregarem conhecimento e correções ao meu trabalho.

A todos os cidadãos brasileiros, que trabalham, pagam seus impostos e contribuíram para que eu tivesse a oportunidade de cursar uma pós-graduação gratuita e de qualidade. Espero poder retribuir com meu trabalho.

A todos aqueles que de alguma forma me auxiliaram, ajudaram e torceram para que esse trabalho se tornasse realidade.

# INFESTAÇÃO, DANOS E PARASITISMO DE NOCTUIDAE EM MILHO E INFLUÊNCIA DA IDADE DOS OVOS E APRENDIZADO NO PARASITISMO DE *Trichogramma pretiosum* EM *Spodoptera frugiperda*<sup>1</sup>

Autora: Camila Corrêa Vargas  
Orientadora: Luiza Rodrigues Redaelli  
Coorientadora: Rosana Matos de Moraes

## RESUMO

O milho é um grão de importância social e econômica no Brasil. No cenário agrícola atual, as sementes de milho cultivadas são principalmente de híbrido convencional, híbrido *Bt* (transgênico) e, em menor escala, de milho crioulo. No entanto, existe uma grande preocupação, principalmente na agricultura familiar, para o resgate e utilização de variedades crioulas. Os lepidópteros, *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea*, são as pragas mais importantes da cultura e o parasitoide de ovos, *Trichogramma pretiosum*, tem sido empregado no controle destas pragas. Neste contexto, o trabalho objetivou avaliar a campo, danos e infestação da lagarta-do-cartucho e a infestação natural e o parasitismo de ovos e lagartas de *H. zea*, em três variedades de milho. Em laboratório, estudou-se a influência de três idades dos ovos de *S. frugiperda* e da aprendizagem no parasitismo de *T. pretiosum*. O experimento de campo foi conduzido em Santa Maria, RS, período de segunda safra de 2014. O delineamento foi de blocos inteiramente ao acaso, com três tratamentos: Lombo Baio (crioulo), Semilha S395 (híbrido convencional) e Morgan Roudap 30A77 (milho geneticamente modificado, *Bt*) e quatro repetições. Para avaliação de *S. frugiperda*, as amostragens foram semanais, dos 9 aos 72 dias após a semeadura. Os danos de *S. frugiperda* foram semelhantes em milho crioulo e convencional, ambos mais elevados que em *Bt*. A média de posturas e não diferiu entre as variedades, e o número de lagartas foi maior em milho crioulo comparado ao convencional e *Bt*. Para avaliação de *H. zea*, as amostragens foram realizadas a cada três dias, do estágio R1 ao R5. Para a espécie, a média de ovos não diferiu entre as variedades, e o número médio de lagartas foi semelhante entre milho crioulo e convencional, ambos superiores ao *Bt*. Não houve registro de parasitismo em *S. frugiperda*. Em ovos de *H. zea*, foi registrado o parasitismo da espécie *T. pretiosum*. Em testes de laboratório, o número de ovos de *S. frugiperda* parasitados por *T. pretiosum* foi maior e semelhante nas idades de 24 e 48 horas. Fêmeas sem experiência parasitaram menor número em comparação aquelas experientes por 5, 6 e 24 horas. Fêmeas expostas por 2, 3 e 24 horas parasitaram igual número de ovos. Fêmeas experientes a ovos e extrato de ovos de *S. frugiperda* foram mais atraídas a estes odores do que ao controle (hexano). A porcentagem de parasitismo de *T. pretiosum* inexperientes foi maior em ovos de *E. kuehniella* (hospedeiro de origem) do que em *S. frugiperda*, no entanto, nas experientes, esta diferença não foi observada.

1

---

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre, RS, Brasil. (98 p.) Fevereiro, 2016.

**INFESTATION, DAMAGE AND PARASITISM OF NOCTUIDAE IN CORN  
AND INFLUENCE OF AGE EGGS AND LEARNING OF *Trichogramma  
pretiosum* IN *Spodoptera frugiperda*<sup>1</sup>**

Author: Camila Corrêa Vargas  
Advisor: Luiza Rodrigues Redaelli  
Co-advisor: Rosana Matos de Moraes

**ABSTRACT**

Corn is a grain with social and economic importance in Brazil. In the current agriculture scenery, cultivated corn seeds mainly consist of conventional hybrid, *Bt* hybrid (transgenic) and landrace, in a smaller scale. However, there is a major concern, mainly in familiar agriculture, for the rescue and use of landrace varieties. The lepidopterans *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* are the most important pests of this crop, and the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*, has been appointed as a biological control for these species. In this context, the aim of this study was to evaluate, on the field, damages and infestation of the fall armyworm and natural infestation and eggs and caterpillars parasitism of *H. zea* in three corn varieties. In laboratory, it was tested the influence of three eggs age of *S. frugiperda* and learning on *T. pretiosum* parasitism. The experiment was conducted in Santa Maria, RS, during out-of-season corn crop, in 2014. The design consisted of random blocks with three varieties (treatments): Lombo Baio (landrace), Semilha S395 (hybrid non-transformed), and Morgan Roudap 30A77 (genetic modified corn, *Bt*). For evaluation of *S. frugiperda*, the samples were weekly, from 9 to 72 days after sowing. For evaluation of *H. zea*, the samples were taken every three days, the stadium R1 to R5. The damage of *S. frugiperda* was similar in landrace and hybrid non-transformed, both higher than in *Bt* corn. The average postures and did not differ between varieties, and the number of larvae was higher in landrace maize compared to conventional and *Bt*. There was no parasitism record in *S. frugiperda*. Eggs of *H. zea*, it was found parasitism by *T. pretiosum*. In laboratory tests, the number of eggs of *S. frugiperda* infected by *T. pretiosum* was highest and similar for the ages of 24 and 48 hours. Females experience without parasitized smaller number compared to those experienced by 5, 6 and 24 hours. Females exposed for 2, 3 and 24 hours equal number of parasitized eggs. Experienced females eggs and extract of *S. frugiperda* eggs were more attracted to these odors than the control (hexane). The percentage of inexperienced *T. pretiosum* parasitism was higher in the eggs of *E. kuehniella* (origin host) than in *S. frugiperda*, however, the experienced, this difference was not observed.

2

---

<sup>1</sup>Master's dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (98 p.) March, 2016.

## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 1      |
| 1.1 Milho: aspectos históricos, botânicos, econômicos e sociais.....   | 1      |
| 1.2 Principais pragas associadas ao milho.....   | 5      |
| 1.2.1 <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).....  | 5      |
| 1.2.2 <i>Helicoverpa zea</i> (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae).....  | 8      |
| 1.3 <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) – aspectos biológicos e emprego no controle biológico de <i>S. frugiperda</i> e <i>H. zea</i> ..... | 11     |
| 1.4 Influência da idade do hospedeiro e do aprendizado no parasitismo.....   | 13     |
| 1.5 Referências Bibliográficas.....  | 16     |
| 2 ARTIGO 1 - Danos e infestação da lagarta do cartucho em milho crioulo, híbrido convencional e híbrido <i>Bt</i> .....  | 25     |
| Resumo.....  | 26     |
| Abstract.....  | 27     |
| Introdução.....  | 28     |
| Material e Métodos.....  | 30     |
| Resultados e Discussão.....  | 32     |
| Conclusões.....  | 36     |
| Agradecimentos.....  | 37     |
| Referências.....   | 37     |
| 3 ARTIGO 2 - Infestação e parasitismo natural de <i>Helicoverpa zea</i> em milho crioulo, híbrido convencional e híbrido <i>Bt</i> .....                               | 46     |
| Resumo.....  | 46     |
| Abstract.....  | 46     |
| Introdução.....  | 47     |
| Material e Métodos.....  | 49     |
| Resultados e Discussão.....  | 51     |

|   | Página |
|---|--------|
| Conclusões.....   | 56     |
| Agradecimentos.....   | 57     |
| Referências.....  | 55     |
| 4 ARTIGO 3 - Influência da idade dos ovos e da aprendizagem no parasitismo de <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos de <i>Spodoptera frugiperda</i> ..... | 60     |
| Abstract.....   | 61     |
| Resumo.....   | 62     |
| Introdução.....   | 63     |
| Material e Métodos.....   | 65     |
| Resultados.....   | 68     |
| Discussão.....  | 70     |
| Agradecimentos.....   | 74     |
| 5 Referências.....  | 74     |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....   | 82     |
| APÊNDICE.....   | 84     |

## RELAÇÃO DE TABELAS

Página

### ARTIGO 1

1. Escala de notas foliares (0 a 9) para avaliação de danos de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho [adaptada da tabela de danos de DAVIS & WILLIAN (1989)]..... 41

### ARTIGO 2

2. Número médiototal ( $\pm$  EP) de ovos e lagartas de *Helicoverpa zea* e porcentagem de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *H. zea* em milho crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt*..... 52

### ARTIGO 3

3. Média de ovos parasitados ( $\pm$  EP), duração do desenvolvimento (dias), e razão sexual da prole de *Trichogramma pretiosum* expostos a ovos de *Spodoptera frugiperda*, de diferentes idades ( $25 \pm ^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 10\%$  UR, fotosafe 12 horas) (n=15)..... 79

## RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

### ARTIGO 1

1. Média de notas visuais de danos foliares por planta, provocados por *Spodoptera frugiperda* em milho (*Zea mays*) crioulo (Lombo Baio), híbrido convencional (Semilha S395) e híbrido *Bt* (Morgan Roundap 30A77), no período compreendido entre os 9 aos 72 dias após a emergência da plântula (DAE) cultivados em segunda safra. Santa Maria – RS, janeiro a março de 2014. (9 DAE, 50 - DAE, -72 DAE)..... 42
2. Número médio de posturas de *Spodoptera frugiperda* por planta, coletadas em campo e laboratório, em milho (*Zea mays*) crioulo (Lombo Baio), híbrido convencional (Semilha S395) e híbrido *Bt* (Morgan Roundap 30A77), no período compreendido entre os 9 aos 72 dias após a emergência da plântula (DAE) cultivados em segunda safra. Santa Maria – RS, janeiro a março de 2014. (9 DAE, 50 - DAE, 72 DAE)..... 43
3. Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* por planta, coletadas em campo e laboratório, em milho (*Zea mays*) crioulo (Lombo Baio), híbrido convencional (Semilha S395) e híbrido *Bt* (Morgan Roundap 30A77), no período compreendido entre os 9 aos 72 dias após a emergência da plântula (DAE) cultivados em segunda safra. Santa Maria – RS, janeiro a março de 2014. (9 DAE, 50 - DAE, 72 DAE)..... 44

## ARTIGO 3

4. Percentuais de respostas quimiotáticas de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* (até 24 horas de idade), com e sem experiência a extrato de ovos de *Spodoptera frugiperda* testadas e olfatômetro de dupla escolha a extrato de ovos de *S. frugiperda* e hexano (controle). Números entre parênteses representam a quantidade de insetos responsivos, ou não, aos tratamentos..... 80
5. Percentual de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* inexperientes e experientes em ovos ou extratos de ovos de *Spodoptera frugiperda* (n = 30) expostos simultaneamente a ovos de *Ephestia kuehniella* e *Spodoptera frugiperda*. Valores entre parênteses indicam o número de insetos emergidos ( $p < 0,05$ )..... 81

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Milho: aspectos históricos, botânicos, econômicos e sociais

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta diploide e alógama, pertencente à família Poaceae (Gramineae), subfamília Panicoideae e tribo Maydeae (Borém & Giúrdice, 2004). Considerada um dos vegetais mais estudados, o milho é uma das plantas cultivadas mais antigas, apresentando caracterização genética bem detalhada (Campos & Canéchio Filho, 1987). Seus grãos apresentam diversidade de formas e cores (amarelo, laranja, azul, roxo, cinza e vermelho) e suas espigas podem variar de cinco a sessenta centímetros de comprimento (Canci, 2002).

O ancestral mais próximo do milho é o teosinto, gramínea que apresenta várias espigas sem sabugo, pode cruzar naturalmente com este e produzir descendentes férteis (Galinat, 1995; Eubanks, 1999). Originado há cerca de dez mil anos atrás no México e América Central, foi descrito pela primeira vez em 1492, na costa norte de Cuba (Goodman, 1987; Guimarães, 2007). Registros arqueológicos e geológicos apontam a existência do milho em estágio de domesticação há cerca de 5.000 anos (Bórem & Miranda, 2005), já apresentando as principais características morfológicas que o definem botanicamente (Campos & Canéchio Filho, 1987).

O milho espalhou-se pelo mundo, provavelmente, por ocasião do descobrimento da América, quando Cristóvão Colombo levou sementes da espécie para a Europa (Siloto, 2002). A princípio, foi cultivado como planta ornamental e

exótica, ganhando espaço em jardins da Espanha, Portugal, França e Itália, todavia, quando seu valor nutritivo e alimentar ficou conhecido, difundiu-se pelo restante da Europa, Ásia e Norte da África. Cultivado em praticamente todo o mundo, o milho é parte integrante da dieta de diversos povos, fato que incrementou a sua importância econômica (Campos & Canéchio Filho, 1987; Siloto, 2002).

A cultura do milho possui ampla adaptação climática, apresentando sua máxima produtividade em condições de temperaturas elevadas (entre 24 e 30 °C), alta radiação solar e disponibilidade hídrica (Kuntz, 2005; Nunes, 2014). As exigências de clima e necessidades hídricas do milho podem ser alteradas em função da variedade, sendo assim, diferentes genótipos podem ser adaptados a regiões distintas (Marchi, 2008).

Ao longo do ciclo de desenvolvimento o milho passa por seis estádios vegetativos, da emergência (VE) até o pendoamento (VT), e por seis reprodutivos, do florescimento e polinização (R1) até a maturação fisiológica do grão (R6) (Weismann, 2007). O ciclo total da cultura dura, em média, 120 dias, da semeadura até a maturação fisiológica (Nunes, 2014). Entretanto, conforme o autor, esse período é variável de acordo com a cultivar (normal, precoce e superprecoce) e as condições climáticas predominantes na região.

O milho apresenta elevada importância na alimentação humana e animal em função do seu valor nutricional (EMBRAPA, 2015). Destaca-se em importância na indústria alimentícia e química (amido, dextrina, glicose, óleo, margarina, fermento); na de bebidas (licores, refrigerantes, vinhos) e na mecânica (fundição de metais, plásticos) entre outras (Cardoso *et al.*, 2011).

Na safra 2014/2015, o maior produtor mundial foram os Estados Unidos da América (EUA) com 361 mil de toneladas, seguido da China (215 mil), Brasil (85 mil)

e União Europeia (75,8 mil). Para a safra 2015/2016, está sendo estimada uma produção mundial de 973 milhões de toneladas, sendo a contribuição brasileira 81 milhões de toneladas (USDA, 2015).

O milho é o segundo grão mais produzido no Brasil, ficando atrás somente da soja (CONAB, 2015). É cultivado na maioria das propriedades agrícolas brasileiras apresentando duas vertentes: em caráter de subsistência, em pequenas propriedades rurais, com pouca produtividade e emprego de baixa tecnologia, e em grandes áreas, com alta tecnologia, elevada produtividade, sendo matéria-prima para exportação e agroindústrias (Siloto, 2002).

No Brasil, o cultivo do milho ocorre em duas épocas de semeadura, a primeira safra ocorre durante o período chuvoso, que varia entre fins de agosto, na região Sul, até os meses de outubro e novembro, no sudeste e Centro-Oeste. A segunda, mais conhecida como “safrinha” ou safra de milho sequeiro, é semeada de janeiro a março, quase sempre depois da soja precoce, principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul (Pereira Filho & Cruz, 2010). A segunda safra apresenta um excelente nível de produtividade e detém elevada importância no cenário da agricultura nacional (EMBRAPA, 2015). No ano agrícola 2014/2015, a primeira safra produziu 30.244 mil de toneladas, enquanto na segunda foi registrado um total de 54.485 mil de toneladas (CONAB, 2015). Segundo esta mesma fonte, o Rio Grande do Sul ocupa a sexta posição nacional de produção com 6.173 mil de toneladas produzidas em 941 mil ha.

As sementes de milho comercializadas e cultivadas pelos agricultores são de milho híbrido, transgênico e ou crioulo, esse último compreendendo plantas de alta rusticidade e adaptação, que sofreram melhoramento apenas do agricultor (Sandri & Tofanelli, 2008).

O termo híbrido advém da geração F1 ou a primeira geração proveniente do cruzamento entre variedades de polinização aberta, linhagens endogâmicas ou outras populações geneticamente divergentes (Borém & Miranda, 2005).

Sementes de milho geneticamente modificado ou *Bt* receberam esse nome em função da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*) (Mendes *et al.*, 2008). A bactéria possui em seu genoma uma classe de genes chamados *Cry*, que produz na sua célula proteínas que são tóxicas para grupos específicos de insetos, como lepidópteros-praga (Cruz *et al.*, 2011). Essa especificidade, conforme os autores está relacionada com a atividade das toxinas entre os receptores no intestino médio do inseto. Na membrana das células epiteliais do intestino, a interação toxina-receptor leva à formação de poros na membrana celular, o que altera o balanço osmótico das células epiteliais, que incham e sofrem rupturas, levando o inseto à morte por dificuldade de alimentação e infecção generalizada (septicemia) (Cruz *et al.*, 2011). As proteínas expressas nas plantas de milho *Bt* são *Cry2Ab,1Ab*, *1A.105 (1Ab, 1Ac, 1F)*, *Cry3Bb,1F* e *VIP3Aa* (Valicente, 2015). Entretanto, de acordo com esse mesmo autor, diversos fatores têm afetado o manejo da resistência do milho *Bt*, tais como a falta de semeadura de áreas de refúgio, o cultivo ao longo de praticamente todo ano, proteínas *Bt* que não são expressas em alta dose ou híbridos expressando apenas uma proteína, comprometendo a eficiência da tecnologia *Bt* para o controle dessas pragas.

As variedades de milho crioulo ou locais foram originadas, em grande parte, pelo melhoramento realizado por comunidades indígenas e pequenos agricultores (Coimbra *et al.*, 2010). Nestas, as sementes são obtidas por meio do cruzamento de materiais antigos e até mesmo recentes, ou simplesmente pela seleção intrapopulacional de plantas mais adaptadas aos seus sistemas de cultivo (Andrade & Filho, 2008). As populações crioulas são menos produtivas que as variedades

modernas, entretanto, apresentam uma complexa estrutura genética, sendo importantes fontes de variabilidade na busca por genes responsáveis pela tolerância ou resistência aos fatores bióticos e abióticos (Araújo & Nass, 2002; Andrade & Filho, 2008).

Existe grande motivação na comunidade agrícola, principalmente na agricultura familiar, para o resgate de sementes crioulas e produção deste milho, em detrimento da agricultura altamente tecnificada (Paterniani *et al.*, 2000). De maneira geral, a maior parte dos agricultores familiares está localizada em regiões onde é empregado um baixo nível tecnológico e as áreas de plantio apresentam problemas que dificultam o adequado manejo fitotécnico (Carpentiere-Pípolo *et al.*, 2010). A utilização de plantas rústicas e de baixo custo, em função de apresentarem grande variabilidade genética, resistência e adaptação ao meio, permite a produção sob reduzido nível de investimento (Paterniani *et al.*, 2000). O cultivo destas raças gera autonomia ao agricultor, pois permite o mesmo a produzir suas próprias sementes próprias sementes e dispensa a dependência por insumos industriais (Meneguetti *et al.*, 2002). Além disso, a utilização de raças crioulas atende aos princípios da ecologia, saúde pública-alimentar e valor-social, aguçando os princípios da agroecologia que se baseiam na utilização mínima de agroquímicos e práticas agrícolas alternativas (Abreu *et al.*, 2007).

## **1.2 Principais pragas associadas ao milho**

### **1.2.1 *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**

*Spodoptera frugiperda* é conhecida popularmente no Brasil como lagarta-militar, lagarta-do-cartucho ou lagarta-dos-milharais e é considerada a principal praga da cultura do milho, em função da sua ocorrência generalizada e dos danos que causa

durante todas as fases de desenvolvimento da planta (Cruz, 1995). Segundo o mesmo, a espécie é nativa dos trópicos americanos e ocorre desde a região Sul dos EUA até a Argentina. Durante a primavera e o verão, pode ser encontrada também em regiões temperadas do continente norte-americano (Nagoshi & Meagher, 2008).

A lagarta-do-cartucho é uma importante praga da cultura do milho, pois, com exceção das raízes, as larvas se alimentam de todas as partes das plantas (Carvalho, 1970; Cruz & Turpin, 1982). Carvalho (1970) estudando variedades de milho estimou que *S. frugiperda* pode causar uma redução na produtividade entre 15% e 34%. O estágio crítico da cultura em relação aos danos desta lagarta é no período em que a planta apresenta de oito a dez folhas, aproximadamente 40 dias após a semeadura (Cruz & Turpin, 1982).

Os adultos de *S. frugiperda* apresentam, em média, 35 mm de envergadura e 15 mm de comprimento do corpo, asas anteriores de coloração acinzentada, e posteriores translúcidas, circundadas por linhas marrons (Cruz *et al.*, 1999). A longevidade de ambos os sexos fica ao entre os 10 e 15 dias, em temperatura de 25 °C (Saran, 2012). O período de oviposição inicia entre o terceiro e quarto dia após a emergência e cada fêmea é capaz de colocar em torno de 2.000 ovos durante a vida, agrupados em massas, de 50 a 300 (Cruz *et al.*, 2008). O tipo de alimento ingerido na fase larval pode afetar a fertilidade das fêmeas (Murúa & Virla, 2004).

Os ovos são de coloração rosado-clara ou verde-clara, circulares, com estrias radiais, cerca de 0,4 mm de diâmetro, tornando-se escurecidos próximo à eclosão das larvas (Cruz *et al.*, 2008; Saran, 2012). Grande porcentagem das posturas é encontrada na parte abaxial das folhas (Cruz & Figueiredo, 1994). De maneira geral, a distribuição das posturas na planta, está condicionada às características morfológicas e fisiológicas destas e ao estágio fenológico (Cardoso, 2004). O período de incubação é de três dias,

a 25 °C, em temperaturas inferiores pode variar de cinco a dez dias, sendo a viabilidade média dos ovos de 92% (Murúa & Virla, 2004).

A fase larval dura de 12 a 30 dias, passando seis ínstaes e a coloração do corpo é marrom-acinzentada no dorso, esverdeada na parte ventral e subventral, com manchas de cor marrom-avermelhada, com uma sutura em forma de “Y” invertido na cabeça. Lagartas de último ínstar podem atingir cerca de 35 mm de comprimento e 2,7 mm de largura da cápsula cefálica (Cruz *et al.*,1999).

As lagartas iniciam sua alimentação pelo córion dos próprios ovos (Lugimbill, 1928). Durante o primeiro ínstar, as larvas raspam o tecido verde das folhas, deixando intacta a epiderme membranosa do outro lado, provocando um sintoma conhecido como folhas raspadas. No segundo, essas começam a perfurar as folhas e se direcionar ao cartucho da planta, local ao qual permanecem até estágio de pupa (Capineira, 2005). O canibalismo associado à espécie torna-se mais acentuado a partir do segundo ínstar (Goussain, 2002), perdurando ao longo de toda a fase larval, o que torna mais frequente a presença de um único indivíduo por planta (Campos *et al.*, 2013). Do terceiro ínstar até o período de pré-pupa, a lagarta consome grande quantidade de área foliar, destruindo a parte basal das folhas, as quais se quebram e, além disso, o potencial de crescimento da planta é reduzido (Capineira, 2000). Quando surgem as espigas, podem atacar a base destas, destruindo os grãos e facilitando a infecção por microrganismos patogênicos, além de provocarem suas quedas (Cruz *et al.*,1999). Segundo os mesmos, quando a lagarta chega ao seu desenvolvimento máximo, deixa o cartucho, penetra no solo e se transforma em pupa, com aproximadamente 15 mm de comprimento e coloração que passa gradativamente de avermelhada ao quase preto. A fase pupal tem duração de 10 a 12 dias (Saran, 2012). O ciclo biológico se completa em aproximadamente 30 dias (Cruz *et al.*, 1999).

Para avaliar os danos da lagarta-do-cartucho em milho Carvalho (1970) utilizou escala de notas que variavam de 0 a 5. Essas categorias contabilizavam desde plantas sem nenhum dano (nível 0), até plantas totalmente destruídas (nível 5). Davis & Williams (1989) alteraram esta escala, ampliando a gradação de notas para 0 a 9.

O nível de controle para *S. frugiperda*, em lavouras de milho, ocorre a partir de infestações em cerca de 10% das plantas, obtido com base na contagem do número de plantas atacadas em 100 plantas amostradas, e em, pelo menos, quatro pontos por hectare (EMBRAPA, 2015). Além desse método, o monitoramento da população pode ser realizado com o uso de armadilhas com feromônio sexual sintético e a avaliação visual de danos de lagartas, que servem como subsídios à tomada de decisão de controle (Hellwig *et al.*, 2013). A recomendação para o monitoramento com feromônio é utilizar, no mínimo, uma armadilha por hectare, sendo o controle químico efetuado 10 dias após a captura de três mariposas (EMBRAPA, 2015).

### **1.2.2 *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae)**

*Helicoverpa zea* conhecida como lagarta-da-espiga, é considerada uma das pragas de maior importância para a agricultura mundial (Cruz *et al.*, 2008). A espécie além do milho tem muitos hospedeiros como outras gramíneas, solanáceas, leguminosas, frutíferas e hortaliças (Giolo *et al.*, 2006). A espécie é nativa da América do Norte, com ampla distribuição nas Américas, principalmente nos EUA, Peru, Argentina e Brasil (Blanchard, 1942; Mitter *et al.* 1993). No Brasil, as infestações de *H. zea* pode chegar até 96,3% das espigas, causando danos de até 8,4%, com 2,1% de grãos consumidos, 2,0% de grãos podres e 4,3% de falhas na granação das espigas (Carvalho, 1980).

Os danos são causados pelas lagartas que, logo após a eclosão, alimentam-se dos estilo-estigmas do milho, impedindo a fertilização, e ocasionando falhas na formação das espigas, posteriormente consomem os grãos em formação (Cruz, 2002). As injúrias podem ficar confinadas no terço superior da espiga ou atingir toda a sua extensão, como ocorre em milho doce (Cruz, 2002). Nos últimos ínstares, a lagarta abandona a espiga e deixa um orifício que facilita a entrada de microrganismos, causadores de doenças e podridões (Pinto *et al.*, 2004). Além do prejuízo direto à formação da espiga e à qualidade dos grãos, o ataque de *H. zea* favorece a incidência de outras pragas, tais como *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera; Curculionidae) e *Sitotroga cerealella* Oliver (Lepidoptera; Gelechiidae), que depreciam o grão em condições de armazenamento (Rosseto, 1972). Os prejuízos dessa praga se tornam mais acentuados no caso da exploração de milho doce, pois acarretam danos visuais que desfavorecem o produto no mercado (Pinto *et al.*, 2004). Os mesmos autores salientam que, apesar das plantas de milho apresentarem capacidade de compensar as perdas causadas pela lagarta-da-espiga, os prejuízos podem ficar ao redor de 8% no peso dos grãos.

Os adultos de *H. zea* apresentam nas asas anteriores uma mancha clara e margem externa com linha de sete a oito pontos negros (Saran, 2012). Asas posteriores das fêmeas têm um tom base castanho rosado e, as dos machos, esverdeado. Fêmeas tem envergadura de aproximadamente 40 mm e machos de 35 mm (Cruz *et al.*, 2008; Saran, 2012). A longevidade é de 12 a 15 dias para ambos os sexos (Saran, 2012).

Os ovos são depositados, individualmente, nos estilo-estigmas das espigas, que se constituem em um substrato adequado de oviposição até o secamento (Mantragolo *et al.*, 1998). A fêmea ovíparosita de 400 a 3.000 ovos, em vida livre, e, em média, 1.000 ovos quando criada em dieta artificial, apresentando forma hemisférica, cerca de 1

mm de diâmetro, iniciante apresentando cor esbranquiçada, tornando-se escurecidos perto da eclosão (Navarro, 1987). O período de incubação é de três a quatro dias (Giolo *et al.*, 2006; Saran, 2012). As lagartas passam por cinco ínstares (Bernardi *et al.*, 2004). A coloração das lagartas é variável, a cabeça tende a ser de cor laranja ou marrom claro, possui placas torácicas pretas e o corpo pode ser marrom, verde, rosado ou algumas vezes amarelado ou preto. Usualmente possuem uma banda larga preta lateralmente, acima dos espiráculos e, abaixo destes, uma faixa amarelada ou branca (Pinto *et al.*, 2004). A fase larval tem duração de 13 a 25 dias (Saran, 2012).

No estágio de pré-pupa a lagarta deixa a planta e, no solo, constrói uma câmara subterrânea na qual a pupa irá se desenvolver (Cruz *et al.*, 2008). A pupa tem coloração marrom e esta fase dura cerca de 14 dias, variando de acordo com a temperatura. O ciclo biológico se completa entre 30 a 40 dias (Giolo *et al.*, 2006).

O controle químico é recomendado para *H. zea*, entretanto, esse método não tem sido muito utilizado, tanto pela dificuldade de aplicação, como pela baixa eficiência, principalmente pelo fato das lagartas estarem protegidas no interior das espigas, não sendo atingidas pelo inseticida (Valicente, 2015). As pulverizações devem ocorrer logo após o início das posturas, para atingir as lagartas antes de penetrarem na espiga (Cruz *et al.*, 2008).

Para as condições brasileiras, não existem níveis de controle definidos para a aplicação de inseticidas para controle de *H. zea*, o que tem ocasionado o uso abusivo dos mesmos, uma das principais causas dos desequilíbrios ecológicos de artrópodes nos sistemas de produção agrícola (EMBRAPA, 2013). Não existem inseticidas químicos registrados para o controle da espécie na cultura do milho, somente a utilização de controle biológico, através da espécie *Trichogramma pretiosum* (AGROFIT, 2015). A recomendação técnica de monitoramento aos agricultores, é que

vistoriem a presença da lagarta de forma direcionada nas estruturas em que elas comumente se encontram, ou seja, estilo-estigmas e espigas (EMBRAPA, 2015).

### **1.3 *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) - aspectos bioecológicos e emprego no controle biológico de *S. frugiperda* e *H. zea*.**

*Trichogramma pretiosum* é exclusivamente parasitoides de ovos e apresenta inúmeros hospedeiros principalmente da ordem Lepidoptera (Pratissoli *et al.*, 2005). A espécie está distribuída em todo o continente americano (Pinto & Stouthamer, 1994) e no Brasil ocorre em diversas regiões (Querino, 2002). Na fase adulta esses insetos variam 0,2 a 1,5 mm de comprimento (Moutia & Courtois, 1952). A reprodução pode ser sexual ou por partenogênese, podendo esta ser telítoca (uniparental), deuterótoca (uniparental) e arrenótoca (biparental), sendo a última a mais comum (Molina, 2003).

As fêmeas ovipositam em ovos de outros insetos e sua prole se alimenta da massa vitelina ou do embrião do hospedeiro (Parra & Zucchi, 1986). Na fase larval, indivíduos do gênero *Trichogramma* apresentam três ínstars (Volkoff *et al.*, 1995). Perto da eclosão das larvas, os ovos do hospedeiro se tornam escurecidos e o ciclo biológico se completa em cerca de 10 dias, a uma temperatura de 25°C (Parra & Zucchi, 1986). De acordo com esses autores, o número de ovos parasitados pela espécie varia em função da qualidade e da quantidade de ovos do hospedeiro. A razão sexual pode ser influenciada pela umidade, temperatura, idade da fêmea, espécie e qualidade do hospedeiro (Vinson, 1997). A duração média do desenvolvimento de *T. pretiosum*, a temperatura de 25°C é de 10 a 11 dias, e a longevidade média de 7 a 10 dias, no entanto esses valores podem mudar em função da temperatura, espécie e qualidade do hospedeiro (Goodenough *et al.*, 1983).

Parasitoides do gênero *Trichogramma* são os organismos mais estudados e empregados em todo o mundo em liberações inundativas, e casos de sucesso são encontrados em diversos países, inclusive no Brasil (Fernandes *et al.*, 1999). Programas de controle biológico bem-sucedidos com *T. pretiosum* já foram realizados para a supressão de *S. frugiperda* e *H. zea* em milho, nas regiões Sul e Sudeste do país (Sá & Parra, 1994). No Rio Grande do Sul, o parasitismo natural de *T. pretiosum* em ovos de *S. frugiperda* em lavouras de milho foi registrado por Camera *et al.* (2010) e Dequech *et al.* (2013).

Para o controle biológico de *S. frugiperda* e *H. zea* em lavouras de milho com *T. pretiosum*, é recomendado realizar o monitoramento dos adultos através de armadilhas iscadas com feromônio sexual sintético (1 armadilha a cada 5 hectares) (Cruz, 2004). A captura das primeiras mariposas (em média, três por armadilha), indica o início da oviposição e a necessidade de liberação do parasitoide (Cruz, 2004; EMBRAPA, 2013). A quantidade de *T. pretiosum* a ser liberado no campo varia em função da densidade populacional da praga, liberando, em média, cerca de 100.000 indivíduos por hectare (Cruz, 2004). Novas liberações, segundo o autor, devem ser realizadas mediante o constante monitoramento da praga alvo no campo.

#### **1.4 Influência da idade do hospedeiro e do aprendizado no parasitismo**

Para que o controle biológico de pragas tenha sucesso, estratégias que aumentem a eficiência dos inimigos naturais devem ser utilizadas (Lewis & Nordlund, 1984). O sucesso das liberações de um parasitoide depende do conhecimento de suas características biológicas associadas ao hospedeiro (Siqueira *et al.*, 2012).

A idade do hospedeiro é um fator importante que influencia aspectos fisiológicos e etológicos na relação hospedeiro parasitoide (Vinson, 1976). Além

disso, pode interferir no comportamento do parasitoide, reduzindo a aceitação do hospedeiro e em consequência, o parasitismo (Zahid *et al.*, 2007). O efeito da idade do hospedeiro na aceitabilidade e nas taxas de parasitismo de espécies de *Trichogramma*, já foi avaliada em ovos de diferentes hospedeiros (Miura & Kobayashi, 1997; Oliveira *et al.*, 2003; Gómez-Torres, 2005; Stinguel *et al.*, 2013). Pizzol *et al.* (2012) relataram um sensível decréscimo nas taxas de parasitismo de *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Lobesia botrana* Denis & Schiffermuller (Lepidoptera: Tortricidae) com mais de dois dias de idade. Fato semelhante já havia sido constatado por Pastori *et al.* (2010) em ovos de *Bonagota salubricola* Meyrick (Lepidoptera: Tortricidae) e por Pratissoli & Oliveira (1999) em ovos de *H. zea*, ambos parasitados por *T. pretiosum*. A preferência por ovos mais novos está relacionada com características internas e externas do hospedeiro e pode variar entre espécies ou linhagens de *Trichogramma* (Smith & Smith, 1988).

Uma das formas mais promissoras para o aumento da eficácia do controle biológico é a manipulação do parasitoide através do aprendizado (Vet & Grenewold, 1990). A busca do parasitoide por hospedeiros inicia com um comportamento inato ou instintivo (Papaj & Lewis, 1993) e de forma geral, o parasitoide apresenta preferência por parasitar seu hospedeiro de origem (Cobert, 1985). Esse é um fator preocupante, pois em criações massais, os parasitoides destinados ao controle de espécies pragas em campo são criados, de modo geral, em um hospedeiro alternativo (Parra, 1997). Segundo Carneiro *et al.* (2006), a multiplicação de parasitoides, em um mesmo hospedeiro por um longo período, pode afetar seu comportamento de busca. Entretanto, Vinson (1998) salientou que esse comportamento inato, pode ser modificado através de uma experiência bem-sucedida, podendo resultar em uma aprendizagem. A experiência de um parasitoide está associada à aquisição de

informações através de estímulos vantajosos para seu desenvolvimento (Meiners & Peri, 2013). Segundo Matheus & Matthews (2010), a aprendizagem pode ser definida como uma mudança permanente ou com durabilidade longa de comportamento.

A aprendizagem em parasitoides já foi constatada em fase imatura e adulta, por Bjorksten & Hoffman (1998), os quais observaram que *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que se desenvolveram em ovos de *Sitotroga cerealella* Oliver (Lepidoptera: Gelechiidae), sobre folhas de tomateiro, foram capazes de reconhecer o odor da planta na fase adulta. Nurindah *et al.* (1999) observou que fêmeas de *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae), foram capazes de aprender e diminuir o tempo de reconhecimento de ovos de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), a partir da experiência da primeira inserção em ovos do hospedeiro. O aprendizado de adultos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foi também verificado por Faria (2001), no qual, a partir de uma experiência previa com ovos do hospedeiro *S. frugiperda*, fêmeas foram capazes de responder positivamente a voláteis emitidos por esses.

A aprendizagem em parasitoides está intimamente ligada ao seu comportamento de forrageamento (Gazit *et al.*, 1996) e a semioquímicos provenientes do hospedeiro (Lewis *et al.*, 1990). A sensibilidade de fêmeas aos semioquímicos pode ser induzida por aprendizagem na fase larva (Vet, 1983), na emergência (Kester & Barbosa, 1991), durante todo o período de vida adulta (De Jong & Kaiser, 1991) ou em mais de um momento do desenvolvimento (Cortesero *et al.*, 1995).

O estudo da aquisição de aprendizado por parasitoides visando a liberação massal gera informações que podem vir a aumentar a eficiência e as chances de parasitismo em campo (Gardner & Lenteren, 1986). O conhecimento dos fatores que

se relacionam, a presença de experiência prévia, aprendizado na fase adulta e os semioquímicos envolvidos na comunicação hospedeiro-parasitoide, poderão auxiliar no aumento da eficiência de programas de controle biológico.

Considerando os aspectos anteriormente abordados, estudos que avaliem as infestações de *S. frugiperda* e *H. zea* nas lavouras milhopedem gerar informações que auxiliem os agricultores na tomada de decisão quanto ao controle. Da mesma forma, poucos são os trabalhos desenvolvidos com variedades crioulas de milho, quanto a adaptação e resistência a pragas. A avaliação de diferentes raças de milho crioulo pode fornecer subsídios aos pequenos produtores.

Com base no exposto, este trabalho objetivou avaliar em campo, danos, infestação e parasitismo da lagarta-do-cartucho e a infestação e parasitismo de *H. zea* em três variedades de milho, crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt*. Em laboratório, o objetivo foi estudar a influência das idades em ovos de *S. frugiperda* e da aprendizagem no parasitismo de *T. pretiosum*.

## 1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. et al. Avaliação do rendimento sócio-econômico de variedades crioulas e híbridos comerciais de milho na microrregião de Chapecó. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Pelotas, v.2, n. 1, p. 1230 – 1233, 2007.

AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Consulta de praga/doença**. [2015]. Disponível em: < [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons) >. Acesso em 12 dez. 2015.

ANDRADE, J. A. C.; FILHO, J. B. M. Quantitative variation the tropical maiza population, ESALQ-PB1. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 65, n. 02, p. 174-182, 2008.

ARAÚJO, P. M.; NASS, L. L. Caracterização e avaliação de populações de milho crioulo. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 3, p. 589-593, 2002.

BERNARDI, O. et al. Perdas na produção de milho provocadas pelo ataque de *Helicoverpa zea* e *Spodoptera frugiperda* em espigas. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13., ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 6., 2004, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2004. p. 54-57.

BJORKSTEN, T.A.; HOFFMANN, A.A. Plant cues influencing searching behavior and parasitism in the egg parasitoid *Trichogramma* nr. *Brassicaceae*. **Ecological Entomology**, Londres, v.23, n.4, p.355-362, 1998.

BLANCHARD, R.A. **Hibernation of the corn eaworm in central and northeastern parts of the United States**. Washington: USDA, 1942. 13p.

BORÉM, A.; GIÚRDICE, M.P. Cultivares transgênicos. In: GALVÃO, J.C.C; MIRANDA, G.V. (Ed.). **Tecnologias de Produção de Milho**. 20.ed. Viçosa: UFV, 2004. p.85-108.

BÓREM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 2005. 525p.

BUCKLER, E.S; STEVENS, N.M. Maize Origins, Domestication, and Selection. In: DARWIN'S harvest: new approaches to the origins, evolution and conservation of crops. New York, NY: Columbia University Press, [2005]. p.67-90

CAMERA, C. et al. Primeiro relato de *Trichogramma rojasi* parasitando ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1828-1830, 2010.

CAMPOS, M.S. et al. Competência interespecífica entre *Heliothis virescens* (F.) y *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) em el cultivo del garbanzo (*Cicerarietinum* L.). **Revista de Protección Vegetal**, San José de las Lajas, v.28, n.3, p.171-177, 2013.

CAMPOS, T.; CANÉCHIO FILHO, V. **Principais culturas II**. Campinas: I.C.E.A., 1987. 401 p.

CANCI, A. **Sementes crioulas: construindo soberania na mão do agricultor, a experiência de Anchieta (SC)**. São Miguel do Oeste: Mclee, 2002. 161 p.

CAPINEIRA, J.L. **Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)**. Florida: University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, 2000. 6 p.

CAPINEIRA, J.L. **Fall armyworm**. 2005. Disponível em: <[http://creatures.ifas.ufl.edu/field/fall\\_armyworm.htm](http://creatures.ifas.ufl.edu/field/fall_armyworm.htm)>. Acesso em: jul. 2014.

CARDOSO, A. M. **Manejo de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho, *Zea mays* L.: bases para avaliação populacional e controle biológico utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman&Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2004. 97 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

CARDOSO, W.S. et al. Industria do milho. In: BÓREM, A.; RIOS, S. A. (Ed.). **Milho biofortificado**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. p. 175 – 195.

CARNEIRO, T.R. et al. Resposta olfativa de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera; Scelionidae) a voláteis emitidos por *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomotropica**, Caracas, v.21, n.3, p.153-159, 2006.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V. et al. Avaliação de cultivares de milho crioulo em sistema de baixo nível tecnológico. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 32, n.2, p. 229-233, 2010.

CARVALHO, R.P.L. **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo**. 1970. 170 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1970.

COIMBRA, R.R. et al. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. **Revista de Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.41, n.1, p. 159-166, 2010.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Disponível em:** <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_09\\_11\\_10\\_42\\_03\\_boletim\\_graos\\_setembro\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_11_10_42_03_boletim_graos_setembro_2015.pdf)>. Acesso em. dez. 2015.

COBERT, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, Boston, v.10, n.2, p.143-153, 1985.

CORTESERO, A.M. et al. Influence of two successive learning processes on the response of *Eupelmus vuilleti* Crw (Hymenoptera: Eupelmidae) to volatile stimulus from host and host plants. **Journal of Insect Behavior**, Londres, v.8, p.751-762, 1995.

CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 1995. 21p.

CRUZ, I. Resistência de *Spodoptera* a inseticidas. **Revista Cultivar**, Pelotas, v. 37, p. 12-14, 2002.

CRUZ, I. et al., **Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma***. Sete Lagoas: EMBRAPA –CNPMS, 1999. 40p.

CRUZ, C.J. et al. **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 517 p.

CRUZ, I. et al. **Milho: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 333 p.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C. Estudos preliminares do parasitoide *Telenomus* sp. Nixon sobre ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Relatório Técnico Anual do Centro**

**Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993**, Sete Lagoas, v.6, p.104-105, 1994.

CRUZ, I.; MONTEIRO, M.A.R. **Controle Biológico da lagarta-do-cartucho do milho, Spodoptera frugiperda, utilizando parasitoide de ovos Trichogramma pretiosum**. Brasília: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 4p.

CRUZ, I.; TURPIN, F.T. Efeito da Spodoptera frugiperda em diferentes estágios de crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.355-359, 1982.

DAVIS, F.M.; WILLIAMS, W.P. Methods used to screen maize for resistance and to determine mechanisms of resistance to the Southwestern cornborer and fall armyworm. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON METHODOLOGIES FOR DEVELOPMENT HOST PLANT RESISTANCE TO MAIZE INSECTS, 1989. **Toward insect resistance maize for the third world**. México: CIMMYT, 1989. p.101-104

DE JONG, R.; L. KAISER. Odour learning by Leptopilina boulardi, a specialist parasitoid (Hymenoptera: Eucoilidae). **Journal of Insect Behavior**, Londres, v.4, p.743-450, 1991.

DEQUECH, S.T.B. et al. Populational fluctuation of Spodoptera frugiperda eggs and natural parasitism by Trichogramma in maize. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 35, p. 295-300, 2013.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Indicações técnicas para o cultivo de milho e de sorgo no Rio Grande do Sul**. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2013a. 125p.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Ações emergenciais propostas pela EMBRAPA para o manejo integrado de Helicoverpa spp. em áreas agrícolas**. 2013b. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/Manejo-Helicoverpa%20\(2\).pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/Manejo-Helicoverpa%20(2).pdf)> . Acesso em: dez. 2015

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do milho**. 2015. Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_6\\_ed/index.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_6_ed/index.htm)>. Acesso em: dez de 2015.

EUBANKS, M.W. Comparative analysis of the genomes of Zea and Tripsacum. **Genetics Cooperations Newsletter**, Missouri, v.73, p.30-32, 1999.

FARIA, C.A. **Resposta de Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) e Trichogramma atopovirilia Oatman & Platner (Hymenoptera: trichogrammatidae) a voláteis de plantas e ovos de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2001. 62 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

FERNANDES, M.G. et al. Parasitismo natural de ovos de *Alabama argillacea* Hüb. E *Heliothis virescens* Fab. (Lep.: Noctuidae) por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae) em algodoeiros no Mato Grosso do Sul. **Anais Sociedade Entomológica Brasil**, Londrina, n. 28, p. 695-701, 1999.

GALINAT, W.C. The origin of maize: grain of humanity. **Botanical Garden Journal**, New York, v.44, p.3-12, 1995.

GARDNER, S.M.; LENTEREN, J.C. VAN. Characterisation of the arrestment responses of *Trichogramma evanescens*. **Oecologia**, Berlim, v.68, n.2, p.265-270, 1986.

GAZIT, Y. et al. Arrestment of *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control**, Bangalore, v.6, p.283-290, 1996.

GIOLO, F.P. et al. Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.12, n.2, p. 167-171, 2006.

GÓMEZ-TORRES, M.L. **Controle biológico de *Ecdyolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner, 1983**. 2005. 101 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GOODENOUGH, J. L. et al. Developmental models for *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on four hosts. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v.76, n.5, p.1095-102, 1983.

GOODMAN, M, M. História e origem do milho. In: PATERNIANI E.; VIÉGAS, G.P (Coord.). **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 3 -24

GOUSSAIN, M.M. et al. Efeito da aplicação de silício em plantas de milho no desenvolvimento biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, p. 305–310, 2002.

GUIMARÃES, P, S. **Desempenho de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) e correlação entre heterose e divergência genética entre as linhagens parentais**. 2007. 58 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, 2007.

HELLWIG, L. et al. Reavaliação do nível de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho convencional. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 58., 2013, Pelotas. [Anais]. Pelotas, 2013.

KESTER, K.M.; BARBOSA, P. Behavioral and ecological constraints imposed by plants on insect parasitoids: Implications for biological control. **Biological Control**, Bangalore, v.1, n.2, p. 94-106, 1991.

KUNTZ, R. P. **Produtividade do milho em função do arranjo e da população de plantas no sistema de plantio direto na palha**. 2005. 115 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2005.

LEWIS, W.J.; NORDLUND, D.A. Semiochemicals influencing fall armyworm parasitoid behavior: Implications for behavioral manipulation. **The Florida Entomologist**, Washington, v. 67, n.3, p.343-349, 1984.

LEWIS, W.J. et al. Variations in parasitoid foraging behavior: essential element of a sound biological control theory. **Environmental Entomology**, Annapolis, v. 19, p.1183-1193, 1990.

LUGINBILL, P. **The Fall Army Worm**. Washington: United States Department of Agriculture, 1928. 90 p.

MARCHI, S. L. **Interação entre desfolha e população de plantas na cultura do milho na Região Oeste do Paraná**. 2008. 58p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2008.

MATHEUS, R.W.; MATTHEWS, J.R. **Insect behavior**. New York: John Wiley & Sons, 2010. 514p.

MATRANGOLO, W. J. R. et al. Densidade populacional de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) nas fases de ovo, larva e adulto em milho. **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 21-28, 1998.

MEINERS, T.; PERI, E. Chemical ecology os insects parasitoids essential elements for developing effective biological controle programmes. In: WAJNBERS, É.; COLAZZA, C. (Eds). **Chemical Ecology of Insect Parasitoid**. Chinchester: Wiley-Blackwell, 2013. p.193-224.

MENDES, S M. et al. **Milho Bt**: avaliação preliminar da resistência de híbridos comerciais à lagarta- do- cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 6 p.

MENEGUETTI, G. A. et al. Milho crioulo: tecnologia viável. **Revista de Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.3, n 1, p.256-261. 2002.

MITTER, C. et al. Biosystematics of the Heliiothinae (Lepidoptera: Noctuidae). **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.398, n.1, p. 207-225, 1993.

MIURA, K.; KOBAYASHI, M. Effects of host-eggs age on the parasitismo by *Trichogramma chiloniis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg parasitoid of the diamondback moth. **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v.33, n.2, p.219-222, 1998.

MOLINA, R. M. S. **Bioecologia de duas espécies de *Trichogramma* para o controle de *Ecdyolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) em citros**.

2003. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

MOUTIA, L. A.; COURTOIS, C. M. Parasites of the moth-borers of sugarcane in Mauritius. **Bulletin of Entomological Research**, Londres, v. 43, p. 325-359, 1952.

MURÚA, G.; VIRLA, E. Population parameters of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lep.: Noctuidae) fed on corn and two predominant grasses in Tucuman (Argentina). **Acta Zoológica Mexicana**, Santo Tomas, v. 20, n. 1, p. 199-210, 2004.

NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, Washington, v. 91, n.4, p.546-544, 2008.

NAVARRO, R. V. Comportamiento de emergencia y reproducción del gusano Del jojoto (*Heliothis zea* Boddie). **Agronomia Tropical**, Caracas, v. 37, p. 55-61, 1987.

NUNES, J. L.S. **Características do milho (Zea mays)**. 2013. Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/culturas/milho/caracteristicas.aspx>>. Acesso em: out. 2014.

NURINDAH, B.W.C; GORDH, G. Experience acquisition by *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of Entomology**, Malda, v.38, p.15-119, 1999.

OLIVEIRA, H.N. et al. Influência da idade dos ovos de *Oxydia vesulia* no parasitismo de *Trichogramma maxacalli*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.4, p.551-554, 2003.

PAPAJ, D.R.; LEWIS, A. **Insect learning: ecological and evolutionary perspectives**. New York: Chapman & Hall, 1993. 320 p.

PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A. O uso de *Trichogramma* no controle de pragas. In: NAKANO, O. et al. (Ed.). **Atualização sobre métodos de controle de pragas**. Piracicaba: FEALQ, 1986. p.54-75.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para a produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997. p.121-150.

PASTORI, P.L. et al. Efeito da idade do parasitoide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Myrick) (Lepidoptera: Tortricidae). **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.2, p.349-353, 2010.

PATERNIANI, E. et al. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C.W.; DUARTE, W. (Org.). **Uma histórica brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília: Paralelo 15, 2000. p.11 – 41.

PEREIRA FILHO, I.; CRUZ, J.C. Cultivo de milho. Sistemas de Produção. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2010. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/plantespaca.htm>>. Acesso em: dez. 2015.

PINTO, A. et al., **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: A. S. Pinto, 2004. 108 p.

PINTO, J.D.; STOUTHAMER, R. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on Trichogramma. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.). **Biological controle with egg parasitoids**. Wallingford: CAB Internaticional, 1994. p. 1-36.

PIZZOL, J. et al. Parasitoid and host egg ages have independent impact on various biological traits in a Trichogramma species. **Journal of Pest Science**, Netherlands, v.85, p.489-496, 2012.

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

PRATISSOLI, D. et al. Biological characteristics of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hym: Trichogrammatidae), parasitoids of the avocado defoliator *Nipteria panacea* (Lep.: Geometridae), on eggs of *Anagasta kuehniella* (Lep.: Pyralidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.48, p.7-13, 2005.

QUERINO, R.B. **Taxonomia do gênero *Trichogramma westwood*, 1833 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) na América do Sul**. 2002. 214 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

ROSSETO, C.I. **Resistência de milho a pragas da espiga *Helicoverpa zea* (Boddie), *Sitophilus zeamais* e *Sitotroga cerealella* (Olivier)**. 1972. 11 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Campinas, 1972.

SÁ, L.A.N.; PARRA, J.R.P. Natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera, Noctuidae) eggs in corn by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Florida Entomologist**, Washington, v.77, p.185-188, 1994.

SANDRI, C. A.; TOFANELLI, M.B.D. Milho crioulo: uma alternativa para rentabilidade no campo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 38, n. 1, p. 59-61, 2008.

SARAN, P.E. **Manual de indentificação das mariposas do sistema agrícola**. São Paulo: Bayer CropScience, 2012. 30 p.

SCHMIDT, J.M.; SMITH, J.J.B. Host volume measurement by *Trichogramma* mechanism and application to biological control. In: INTERNATIONAL

SYMPOSIUM ON TRICHOGRAMMA AND OTHER EGG PARASITOIDS, 1988, Paris. [**Proceedings**]. Paris: INRA, 1988. p. 239-248.

SILOTO, R.C. **Danos e Biologia de Spodoptera frugiperda (J.E Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho.** 2002. 105p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SIQUEIRA, J.R. et al. Preferência hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.1, p.1-5, 2012.

STINGUEL, P. et al. Efeito da idade dos ovos de *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) sobre o parasitismo de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) com diferentes idades. **Nucleus**, Ituverava, v.10, n.2, p.265-274, 2013.

USDA - United States Department of Agriculture Economic Research Service. **Agricultural Act of 2015: Highlights and Implications.** 2015. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/agricultural-act-of-2014-highlights-and-implications.aspx>>. Acesso em: dez. 2015.

VALICENTE, F.H. **Manejo Integrado de pragas na cultura do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 13 p.

VET, L.E.M. Host habitat location through olfactory cues by *Leptopilina clavipes* (Hartig) (Hymenoptera: Eucoilidae), a parasitoid of fungivorous *Drosophila*: the influence of conditioning. **Netherlands Journal of Zoology**, Amsterdam, v.33, p. 225-248, 1983.

VET, L.M.E.; GRENEWOLD, A.W. Semiochemicals and learning in parasitoids. **Journal of Chemical Ecology**, Tampa, v.16, n.11, p.3119-3135, 1990.

VINSON, S.B. Host selection by insect parasitoids. **Annual review of Entomology**, Palo Alto, v.21, p.109-133, 1976.

VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos com ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado.** Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 67-120.

VINSON, S.B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Bangalore, v.11, n.2, p.79-96, 1998.

VOLKOFF, A. N. et al. Development of *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera: Trichogrammatidae): timetable and evidence for a single larval instar. **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, Oxford, v.24, n.4, p.459-466, 1995.

WEISMANN, M. Fases de desenvolvimento da cultura do milho. In: TECNOLOGIA e produção culturas: safrinha e inverno 2007. Maracaju: FUNDAÇÃO MS para Pesquisa e Difusão de tecnologias Agropecuárias, 2007. p.7-37

ZAHID, M. et al. Effects of parasitoid and host egg age on parasitism by *Trichogramma chilonis* (Ishii). **Suranaree Journal of Science and Technology**, Pashawar, v.14, p. 381-384, 2007.

## **2 Artigo 1**

### **Danos e infestação da lagarta-docartucho em milho crioulo, híbrido convencional e híbrido Bt\***

---

\* Artigo configurado segundo as normas da Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

**Danos e infestação e parasitismo da lagarta-do-cartucho em  
milho crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt***

Camila Corrêa Vargas<sup>(1)</sup>, Rosana Matos de Moraes<sup>(2)</sup> e Luiza Rodrigues Redaelli<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail: teccamila@gmail.com, luredael@ufrgs.br, <sup>(2)</sup>Fundação de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), BR 287, km 4,5, CEP 97001-970, Boca do Monte, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: rosana-morais@fepagro.rs.gov.br

Resumo - Os danos, a infestação natural e o parasitismo de *Spodoptera frugiperda*, em três variedades de *Zea mays* foram avaliados ao longo do desenvolvimento da cultura. O experimento foi conduzido em Santa Maria, região central do estado do Rio Grande do Sul, em período de segunda safra no ano de 2014. O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente ao acaso, com três tratamentos as variedades de milho Lombo Baio (crioulo), Semilha S395 (híbrido convencional) e Morgan Roundap 30A77 (híbrido geneticamente modificado, *Bt*) e quatro repetições. Semanalmente, dos 9 aos 72 DAE, foram avaliados os danos (baseados na escala de notas de 0 a 9), o número de posturas e de lagartas de *S. frugiperda*. Os danos foram semelhantes em milho crioulo e convencional, sendo ambos mais elevados que os do *Bt*. A quantidade de posturas registradas não diferiu entre as três variedades. O número médio total de lagartas foi maior no milho crioulo em comparação ao convencional e o *Bt*. Não foi registrada presença de parasitismo em lagartas e ovos de *S. frugiperda*.

26 Termos para indexação: *Spodoptera frugiperda*, desfolhamento, *Zea mays*.

27

28 **Damage, infestation and parasitism of fall armyworm in three corn varieties**

29 **landrace, conventional hybrid and hybrid *Bt***

30

31 Abstract -The natural infestation, parasitism and damage of *Spodoptera frugiperda* in  
32 three *Zea mays* varieties were evaluated along the development of the crop. The  
33 experiment was carried out in Santa Maria, central region of the state of Rio Grande  
34 do Sul, during out-of-season corn crop, in 2014. The experimental design was a  
35 completely randomized block with three treatments, maize varieties Lombo Baio  
36 (landrace), Semilha S395 (conventional hybrid) and Morgan Roundap 30A77 (hybrid  
37 genetically modified *Bt*), with four replicates. We weekly evaluated the number of  
38 eggs and larvae of *S. frugiperda* and the damages from 9 to 72 DAE stage. The damage  
39 was similar between Lombo Baio (landrace) and Semilha S395 (conventional hybrid)  
40 and both higher than those of Morgan Roundap 30A77 (hybrid genetically modified  
41 *Bt*). The number of eggs masses did not differ among the three varieties. The total  
42 average number of larvae was higher in landrace corn compared to conventional hybrid  
43 and *Bt*. It was not recorded the presence of parasitism of caterpillars and eggs of *S.*  
44 *frugiperda*.

45

46 Index-terms: *Spodoptera frugiperda*, defoliation, *Zea mays*.

47

48

49

## Introdução

50

51 Grande parte dos alimentos produzidos no Brasil é oriunda da agricultura  
52 familiar. Entretanto, a maior parcela dessa vertente de agricultores está localizada em  
53 áreas de cultivo com problemas fitossanitários e emprego de baixo índice tecnológico  
54 na produção (Carpentiere-Pípolo, 2010). Um destes alimentos é o milho (*Zea mays*,  
55 L), grão de importância mundial, que exerce influência em diversas cadeias produtivas,  
56 principalmente no que tange à dieta energética humana e animal e indústria de alta  
57 tecnologia (Lima et al., 2009).

58 Dentre as pragas primárias do cultivo do milho destaca-se *Spodoptera*  
59 *frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), também conhecida como  
60 lagarta-do-cartucho, cujo ataque ocorre desde a fase de plântula até a de espigamento,  
61 podendo nesta última se alimentar dos grãos em formação (Figueiredo et al., 2006).  
62 Segundo os mesmos autores, os prejuízos causados por esse inseto podem ocasionar  
63 redução no rendimento dos grãos de até 60%, variando entre os diferentes estádios de  
64 desenvolvimento da cultura, época de semeadura, região geográfica e práticas  
65 culturais.

66 Uma das alternativas para controle da lagarta-do-cartucho é a utilização de  
67 sementes de milho híbridas transgênicas, mais conhecidas como sementes *Bt*, obtidas  
68 através da introdução no DNA da planta de genes da bactéria *Bacillus thuringiensis*  
69 Berliner (*Bt*), os quais promovem a produção pela planta de uma proteína tóxica  
70 específica para lepidópteros (Rodríguez et al., 2013). Além destas, também são  
71 cultivadas sementes que darão origem a plantas não resistentes, as sementes híbridas  
72 convencionais (melhoradas geneticamente através de cruzamentos) e as de milho  
73 crioulo (tradicional ou local) também são comercializadas e cultivadas pelos  
74 agricultores.

75 A utilização de variedades híbridas convencionais e *Bt* impede que o  
76 agricultor produza sua própria semente, gerando dependência na utilização de pacotes  
77 tecnológicos, muitas vezes inviáveis economicamente ao pequeno produtor. Além  
78 disso, em condições onde o emprego da tecnologia de cultivo é baixo, as variedades  
79 híbridas podem apresentar desempenho próximo ou mesmo inferior ao das crioulas  
80 (Carpentieri-Pípolo et al., 2010). Por outro lado, as sementes crioulas podem ser  
81 produzidas, beneficiadas e armazenadas pelos próprios agricultores, sendo uma  
82 importante forma de conservação da agrobiodiversidade e de manutenção da  
83 variabilidade genética (Catão et al., 2010).

84 A presença natural de parasitoides associados a ovos e lagartas de *S.*  
85 *frugiperda* em campo, também favorece a supressão da praga (Nava & Nachtigal,  
86 2010). A ocorrência desses inimigos naturais no ambiente tem sido alvo de diversos  
87 estudos, principalmente, pela sua especificidade e eficiência no controle da lagarta-do-  
88 cartucho (Zucchi & Parra, 2004). Além disso, a escolha de uma espécie/linhagem de  
89 *Trichogramma* que seja adaptada às condições ambientais onde será utilizada, é etapa  
90 essencial aumentar a eficiência no controle (Hassan, 1997).

91 A avaliação de danos foliares de *S. frugiperda* tem sido alvo de vários estudos,  
92 especialmente com milhos híbridos convencionais e híbridos *Bt* (Farinelli &  
93 Fornasieri, 2006; Farias et al., 2014; Morais et al., 2015). No entanto, no que tange  
94 variedades crioulas, sobretudo as cultivadas no Rio Grande do Sul, os trabalhos são  
95 escassos. Estudos desta natureza são essenciais, pois podem auxiliar no delineamento  
96 de manejos para o controle de pragas. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi  
97 avaliar, comparativamente, os danos, a infestação e o parasitismo natural de ovos de  
98 *S. frugiperda*, em milho crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt*, em cultivo  
99 safrinha.

100

101

102

103

### Material e Métodos

104

105 O trabalho foi conduzido na área experimental do Centro de Pesquisas em  
106 Florestas da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), em Santa  
107 Maria (29° 41' 24''S; 53° 48' 42'' O) na Depressão Central do Rio Grande do Sul. O  
108 clima é subtropical úmido (Köppen, 1928) e o solo é classificado como Argissolo  
109 vermelho distrófico (Santos et al., 2013). A área onde o experimento foi instalado, não  
110 havia sido cultivada anteriormente e foi mantida com vegetação herbácea espontânea.

111 O delineamento foi em blocos inteiramente ao acaso, com três tratamentos e  
112 quatro repetições. Foram utilizadas três variedades de milho (tratamentos), crioulo  
113 (Lombo Baio), convencional ou híbrido (Semilha S395) e convencional com  
114 tecnologia *Bt* (Morgan Roundap 30A77, toxina Cry1F). As parcelas constituíram-se  
115 de 400 m<sup>2</sup>, com 30 linhas, cada uma com cerca de 88 plantas, aproximadamente 2.640  
116 plantas/parcela. Entre cada tratamento, no bloco e, entre cada bloco, foram mantidas  
117 áreas de 400 m<sup>2</sup> e 2.000 m<sup>2</sup>, respectivamente, cultivadas com o híbrido (Semilha S395)  
118 (Apêndice - 1).

119 Previamente à semeadura (25 dias), a área foi roçada e foram aplicados 6 L de  
120 Roundup<sup>®</sup>, para a dessecação das plantas espontâneas. O solo foi corrigido com 5 ton  
121 de calcário e adubado no momento da semeadura com 200 kg de NPK 5-20-20. A  
122 semeadura ocorreu em 09/01/2014 (segunda safra) e o espaçamento foi de 0,45 m nas  
123 entrelinhas e de 0,66 m entre as plantas. Quando as plantas apresentavam seis folhas

124 desenvolvidas, foram aplicados 100 kg de ureia a lanço. Não foram feitos tratamentos  
125 fitossanitários ao longo do ciclo da cultura.

126 A avaliação de danos e da infestação de *S. frugiperda* foi realizada  
127 semanalmente do período vegetativo ao início do reprodutivo, dos nove aos 72 dias  
128 após a emergência da plântula (DAE). Em cada ocasião, em cada parcela, foram  
129 sorteados quatro pontos, referidos por dois números, sendo que um indicava a linha e  
130 o outro o metro na linha. Em cada um dos pontos, cinco plantas foram vistoriadas, uma  
131 no ponto, duas à esquerda e duas à direita deste. O número de plantas danificadas e os  
132 danos observados nas folhas foram classificados conforme escala visual de dano foliar  
133 (Tabela 1), adaptada de Davis & Willians (1989). Para cada planta foi contabilizado o  
134 número de folhas e para cada folha foi atribuída uma nota de 0 a 9, com base na  
135 observação dos danos foliares. A partir da nota atribuída a cada folha, foi calculada  
136 uma nota para a planta. Em cada ocasião, foram também coletadas duas plantas por  
137 ponto, uma na linha à direita deste e outra na situada à esquerda, as quais foram  
138 ensacadas e levadas para o laboratório, onde foram avaliadas quanto aos danos e  
139 presença de posturas e de lagartas. Cada postura coletada foi armazenada em  
140 eppendorf (2,5 ml) para registro de parasitismo.

141 Com base na avaliação dos danos foliares de todas as plantas amostradas  
142 calculou-se a porcentagem de plantas que atingiram o nível de dano econômico (NDE)  
143 para cada uma das três cultivares, conforme metodologia proposta por Cruz (2015).  
144 As lagartas formam agrupadas em instares de acordo com o tamanho: lagartas de até  
145 terceiro ínstar ( $< 10$  mm, 1° e 2° instares) e lagarta a partir do terceiro instar ( $\geq 10$  mm)  
146 (Farias et al., 2001).

147 Foram calculadas médias por planta, de danos foliares, de número de posturas  
148 e de lagartas, as quais foram testadas quanto à normalidade, analisadas por Kruskal-

149 Wallis e comparadas pelo teste de Dunn ao nível de significância de 5%. As análises  
150 foram efetuadas utilizando-se o programa Bioestat 5.0 (Ayres et al., 2007).

151

152

### 153 **Resultados e Discussão**

154

155 As notas médias visuais de danos foliares *S. frugiperda* por planta acumulados  
156 dos 9 aos 72 DAE, foram semelhantes entre os milhos crioulo ( $7,34 \pm 0,163$ ) e híbrido  
157 convencional ( $7,05 \pm 0,120$ ) e ambos distintos dos registrados no *Bt* ( $2,15 \pm 1,58$ ) ( $H$   
158  $= 21,9569$ ;  $gl = 2$ ;  $p = < 0,0001$ ) (Figura 1). Esses resultados corroboram os de  
159 Fernandes et al. (2003) que, avaliando danos através de escala visual, encontraram  
160 médias mais elevadas para variedades de milho convencionais ( $3,3 \pm 0,05$  a  $5,18 \pm$   
161  $0,11$ ), comparadas as *Bt* ( $1,37 \pm 0,04$  a  $3,19 \pm 0,11$ ). Danos menos expressivos  
162 ocasionados pela lagarta-do-cartucho em híbridos transgênicos em comparação com  
163 convencionais foram também registrados por Moraes et al. (2015).

164 Apesar de que no presente estudo terem sido constatados menores danos no  
165 milho *Bt*, estes ocorreram, sugerindo a presença de lagartas resistentes a cultivar, fato  
166 que compromete a eficiência da tecnologia em longo prazo. Alta resistência de *S.*  
167 *frugiperda* à toxina Cry1F foi registrada por Storer et al. (2012) em Porto Rico, após  
168 quatro anos da liberação comercial de milho *Bt*, o que ocasionou a retirada e proibição  
169 do seu cultivo na ilha. Nesse caso, o isolamento marítimo territorial, agravou a situação  
170 da resistência da praga. No caso de plantações continentais, onde a permuta biológica  
171 é maior e mais abundante, o fator resistência ainda não se mostrou como restritivo à  
172 cultura de milho. No Brasil, já existem relatos de resistência de *S. frugiperda* ao milho

173 *Bt* sendo apontada como uma grave ameaça o uso continuado de toxinas Cry em  
174 plantas (Farias et al., 2014).

175 Os danos de *S. frugiperda* observados no milho crioulo foram elevados  
176 comparados aos registrados por Philippus (2013), que trabalhando com dez variedades  
177 crioulas distintas na região de Lages SC, e encontrou notas médias máximas de dano,  
178 variando entre  $2,0 \pm 0,06$  no período vegetativo e  $2,8 \pm 0,63$  no reprodutivo. Segundo  
179 o mesmo, o grau de desfolhamento sofrido pela planta também é relacionado às  
180 características genéticas da variedade, mesmo entre genótipos crioulos. Além dessas,  
181 o estágio fenológico, a adubação, a irrigação entre outros, podem afetar o consumo,  
182 resultando em maiores ou menores danos (Cruz et al., 2008).

183 Danos foram registrados ao longo de todos os estádios fenológicos avaliados,  
184 sendo que o incremento foi verificado dos 9 aos 13 DAE, para as três cultivares, com  
185 acréscimo semelhante entre crioulo (85%) e convencional (96%) e distinto do *Bt*  
186 (162%) ( $p > 0,0001$ ). É importante salientar que os danos foram cumulativos, assim,  
187 aos 9 DAE, 99,12% plantas para crioulo, 98,21% das convencionais e 52,27% das *Bt*  
188 já apresentavam algum tipo de lesão. A partir dos 13 DAE não se constatou expressiva  
189 variação nos danos entre as ocasiões amostrais (Figura 1). Farinelli & Fornasieri  
190 (2006), também verificaram danos superiores no início do estágio vegetativo em 25  
191 cultivares mantidas em período safra e segunda safra, quando comparados aos demais  
192 estágios. O desfolhamento no estágio vegetativo é uma das principais causas de perda  
193 acentuada na produção (Cruz & Turpin, 1982). Em cultivo safrinha, a maior  
194 intensidade de ataque de *S. frugiperda* ocorre quando as temperaturas médias se  
195 encontraram acima dos 20 °C, favorecendo a ocorrência de lagartas e danos em  
196 praticamente todas as fases da cultura (Cruz et al., 2008).

197           Nos 9 DAE, as variedades crioulo e convencional já haviam ultrapassado o  
198 nível de dano econômico, o qual segundo Cruz (2015) ocorre a partir de infestações  
199 em cerca de 10% das plantas, obtido a partir da contagem do número de plantas  
200 atacadas em 100 plantas amostradas, em pelo menos quatro pontos por hectare. Para  
201 o milho *Bt*, esse valor foi atingido aos 13 DAE. Esse resultado mostra que fêmeas de  
202 *S. frugiperda*, já haviam encontrado e colonizado as três variedades, nos primeiros  
203 estádios, logo após a emissão da plântula.

204           As médias totais de posturas, por ocasião amostral, foram semelhantes nas três  
205 variedades de milho crioulo ( $0,09 \pm 0,007$ ), convencional ( $0,07 \pm 0,005$ ) e *Bt* ( $0,10 \pm$   
206  $0,006$ ) ( $H = 0,7242$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,6962$ ). A oviposição sem distinção entre plantas *Bt* e  
207 não *Bt* também foi observada para o noctuídeo, *Alabama argillacea* Hübner em  
208 algodão, e conforme os autores, pode ser explicada pelo fato de que, à exceção da  
209 produção constitutiva da toxina na planta, não há outra diferença fenotípica entre as  
210 variedades que permita a identificação pela fêmea (Lima & Torres, 2011).

211           Posturas de *S. frugiperda* ocorreram desde a primeira amostragem. Dentre as  
212 amostragens, as maiores médias de oviposição por planta foram registradas aos 9 DAE,  
213 com  $0,28 \pm 0,006$  por planta para crioulo,  $0,21 \pm 0,005$  para convencional, e  $0,24 \pm$   
214  $0,006$  para *Bt*. A presença de posturas concentradas nos primeiros estádios do cultivo  
215 também foram verificados por Dequech et al. (2013) em lavoura de milho  
216 convencional, em Santa Maria e Santa Barbara do Sul, RS. Similarmente, Sturza et al.  
217 (2012), em cultivo safrinha de milho *Bt*, registraram o acme de posturas sete dias após  
218 a semeadura.

219           Nas plantas onde houve o registro de posturas verificou-se que, 72,5% das  
220 plantas em crioulo, 68,4% em convencional e 91,3% em *Bt*, apresentaram apenas uma.  
221 Além disso, dentre as plantas que apresentaram posturas, não foram encontradas

222 lagartas, no momento da avaliação, em 91% em crioulo, 86% em convencional e 91%  
223 em *Bt*. Esses resultados estão possivelmente relacionados com o comportamento de  
224 escolha do sítio de oviposição pela fêmea, que prefere depositar seus ovos em plantas  
225 que não possuem seus coespecíficos (posturas e/ou lagartas), visando evitar o  
226 canibalismo de ovos por lagartas neonatas advindas de posturas já existentes nas  
227 plantas (Richardson et al., 2009). Além disso, é possível que a escolha do sítio de  
228 oviposição pela fêmea, esteja relacionada a compostos químicos de defesa,  
229 volatilizados pelas plantas, em resposta à herbivoria. Esses compostos atuam como  
230 sinalizadores, indicando a presença de injúrias, resultando em alterações no  
231 comportamento dos organismos associados à planta (Mérey et al., 2013).

232 Não houve registro de parasitismo nos ovos coletados, apesar de em outros  
233 estudos já terem sido constatadas as espécies *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879),  
234 *Trichogramma atopovirilia* (Oatman & Platener, 1983), *Trichogramma rojasi*  
235 (Nagaraja & Nagarkatti, 1973) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus*  
236 *remus* (Nixon, 1937) (Hymenoptera: Platygasteridae) (Bueno et al., 2008; Camera et  
237 al., 2010). O fato da área ter não ter sido cultivada anteriormente, e das áreas adjacentes  
238 não apresentarem cultivos agrícolas, pode ter influenciado o encontro dos parasitoides  
239 com seu hospedeiro. É possível que nas condições apresentadas, em um primeiro  
240 momento, os parasitoides não tenham localizado a lavoura, habitat do seu hospedeiro.

241 O número médio total de lagartas por planta foi maior no milho crioulo (0,19  
242  $\pm 0,116$ ) em comparação ao constatado no convencional (0,12  $\pm 0,077$ ) e em *Bt* (0,05  
243  $\pm 0,002$ ) ( $H = 1.9515$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,0144$ ) (Figura 3). Uma maior incidência de larvas  
244 de *S. frugiperda* também foi registrada por Sturza (2012), em período safra, quando  
245 comparou cultivos *Bt* e não-*Bt*, sendo que este último representou 67,6% do total de  
246 larvas coletadas. Ao longo do ciclo da cultura foi possível observar três picos na



- 271       **3.** A infestação de lagartas de *S. frugiperda* é maior no milho crioulo e semelhante  
272       entre as variedades convencional e *Bt*.
- 273       **4.** Não houve registro de parasitismo em lagartas e ovos de *S. frugiperda*.

274

275

276

### Agradecimentos

277

278       A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao  
279       Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas  
280       bolsas concedidas respectivamente, ao primeiro e terceiro autores.

281

282

### Referências

283

284       AFONSO, A.P.S.; WREGGE, M.; MARTINS, J.F. da; NAVA, D.E. Simulação do  
285       zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento  
286       de temperatura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.4, p.607-612, 2009.  
287

288       AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES D.L.; SANTOS A.S. BioEstat 5.0 - **Aplicações**  
289       **estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil  
290       Mamirauá, 2007. 364p.  
291

292       BESERRA, E.B.B.; DIAS, C.T. dos. S.; PARRA, J.R.P. Distribution and natural  
293       parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different  
294       phenological stages of corn. **The Florida Entomological**, v.85, n.4, p.588-593, 2002.  
295

296       BUENO, R.C.O.F; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.;  
297       FERNANDES, O.A. Biology and termal requirements of *Telenomus remus* reared on  
298       fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, v.38, p.1-6, 2008.  
299

300       CAMERA, C.; DEQUECH, T.B.; RIBEIRO, L. do P.; QUERINO, R.B. Primeiro  
301       relato de *Trichogramma rojazi* parasitando ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Ciência**  
302       **Rural**, v.40, n.8, p.1828-1830, 2010.  
303

- 304 CAMPOS, M.S.; ZALDIVAR, J.C.P.; MIRANDA, I. Competência interespecífica  
305 entre *Heliothis virescens* (F.) y *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae)  
306 em el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum* L.). **Revista de Protección Vegetal**, v.28,  
307 n.3, p.171-177, 2013.  
308
- 309 CARPENTIERI-PÍPOLO, V.C.; SOUZA, A. de; SILVA, D.A.; BARRETO, T.P.;  
310 GARBUGLIO, D.D.; FERREIRA, J.M. Avaliação de cultivares de milho crioulo em  
311 sistema de baixo índice tecnológico. **Maringá**, v.32, n.2, p.229-233, 2010.  
312
- 313 CATÃO, H.C.R.M.; COSTA, F.M.; VALADARES, S.V.; DOURADO, E. da R.;  
314 JUNIOR, D. da S.B.; SALES, N. de L.P. Qualidade física, fisiológica e sanitária de  
315 sementes de milho crioulo produzidas no norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v.40,  
316 n.10, p.2060-2066, 2010.  
317
- 318 CRUZ, I. Avanços e desafios no controle biológico com predadores e  
319 parasitoides na cultura do milho. In: SEMINÁRIO NACIONAL DO MILHO  
320 SAFRINHA, 13, 2015, Maringá. **Anais**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá,  
321 2015, p. 647-662.  
322
- 323 CRUZ, C.J.; KARAM, D.; MONTEIRO, M.A.R.; MAGALAHÃES, P.C. **A cultura**  
324 **do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008, 517p.  
325
- 326 CRUZ, I.; TURPIN, F.T. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estágios de  
327 crescimento da cultura de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.3, p.355-  
328 359, 1982.  
329
- 330 DAVIS, F.M; WILLIAMS. W.P. Methods used to screen maize resistance and to  
331 determine mechanisms of resistance to the Southwestern corn borer and fall  
332 armyworm. In: **International Symposium on Methodologies for development host-**  
333 **plant resistance to maize insects**. Toward insect resistance maize for the world.  
334 México: CIMMYT, p.101-104, 1989.  
335
- 336 DEQUECH, S.T.B.; CAMERA, C.; STURZA, V.S.; RIBEIRO, L, P.; QUERINO,  
337 R.B.; PONCIO, S. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural  
338 parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum**, v.35, n.3, p.295-300, 2013.  
339
- 340 FARIAS, P.R.S.; BARBOSA, J.C.; BUSOLI, A.C. Distribuição espacial da lagarta-  
341 do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura  
342 do milho. **Crop Protection**, v.30, n.4, p.681-689, 2011.  
343
- 344 FARIAS, J.R.; ANDOW, D.A.; HORIKOSHI, R.J.; SORGATTO, R.J.; FRESIA, P.;  
345 SANTOS, A.C. dos; OMOTO, C. Field-evolved resistance to Cry1F maize by

- 346 *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **Crop Protection**, v.64,  
347 p.150-158, 2014.  
348
- 349 FARINELLI, R.; FORNASIERI FILHO, D. Avaliação de dano de *Spodoptera*  
350 *frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho.  
351 **Científica**, v.34, n.2, p.197-202, 2006.  
352
- 353 FERNANDES, O.D.; PARRA, J.R.P.; NETO, A.F.; PÍCOLI, R.; BORGATTO, A.F.;  
354 DEMÉTRIO, C.G.B. Efeito do milho geneticamente modificado MON810 sobre a  
355 lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera:  
356 Noctuidae). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.2, p.25-35, 2003.  
357
- 358 FIGUEIREDO, M.L.C.; MARTINS-DIAS, A.M.P, CRUZ, I. Relação entre a lagarta  
359 do cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho.  
360 **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41: 1693-1698. 2006.  
361
- 362 HASSAN, S.A. **Seleção de espécies de *Trichogramma* para uso em controle**  
363 **biológico**. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds). *Trichogramma* e o controle  
364 biológico aplicado. Piracicaba, FEALQ, 1997. P.183-206.  
365
- 366 KÖPPEN, W.; GEIGER, R. KLIMATE der ERDE.Gotha: Verlag Justus Perthes.  
367 1928. Wall-map 150cmx200cm.  
368
- 369 LIMA, M.P.L.; OLIVEIRA, J.V.O.; MARQUES, E.J. Manejo da lagarta-do-cartucho  
370 em milho com formulações de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. **Ciência**  
371 **Rural**, v.39, n.4, p.1227-1230, 2009.  
372
- 373 LIMA, M.S.; TORRES, J.B. Produção da toxina Cry1Ac e preferência para  
374 alimentação e oviposição de *Alabama argillacea* em algodão Bt sob estresse hídrico.  
375 **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, n.5, p.451-457, 2011.  
376
- 377 NAVA, D.E.; NACHTIGAL, G.F. Controle biológico no Sul do Brasil. **Revista de**  
378 **Controle Biológico**, p. 15-18, 2010.  
379
- 380 MÉREY, G.E. von; VEYRAT, N.; D'ALESSANDRO, M.; TURLINGS, T.C.J.  
381 Herbivore-induced maize leaf volatiles affect attraction and feeding behavior of  
382 *Spodoptera littoralis* caterpillars. **Plant Science**, v.4; artigo 209, 2013.  
383

- 384 MORAIS, A.R.A.; LOURENÇÃO, A.L.; PATERNIANI, M.E.A.G.Z. Resistência de  
385 híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda*  
386 (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, v.72, n.1, p.50-57, 2015.  
387
- 388 PHILIPPUS, R.L. **Suscetibilidade e cultivares de milho de polinização aberta**  
389 **“crioulos” e comerciais a *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera:**  
390 **Noctuidae).** 2013. 76p. Dissertação (mestrado) – Universidade do Estadual de Santa  
391 Catarina, Lages.  
392
- 393 RICHARDSON, M.L.; MITCHELL, R.F.; REAGEL P. F.; HANKS, L.M. Causes and  
394 consequences of cannibalism in noncarnivorous insects. **Annual Review of**  
395 **Entomology** v.55, p.39-53, 2010.  
396
- 397 RODRIGUEZ, C.S.H.; MATÍNEZ, P.H.; RIE, J.V.; ESCRICHE, B.; FERRÉ, J.  
398 Shared mid binding sites for Cry1A.105, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac and Cry1Fa  
399 proteins from *Bacillus thuringiensis* in two important corn pests, *Ostrinia nubilalis*  
400 and *Spodoptera frugiperda*. **PLOS one**, v.8, n.7, p.1-9, 2013.  
401
- 402 SANTOS, H.G.; ALMEIDA, J.A.; OLIVEIRA, J.B.; LUMBRERAS, J.F.; ANJOS,  
403 L.H.C. dos; COELHO, M.R.; JACOMINE, P.K.T.; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA,  
404 V.Á. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.  
405
- 406 STORER, N.P.; KUBISZAK, M.E.; KING, J. E.; THOMPSON, G.D.; SANTOS, A.C.  
407 Status of resistance to *Bt* maize in *Spodoptera frugiperda*: Lessons from Puerto Rico.  
408 **Journal of Invertebrate Pathology**, v.110, p.294-300, 2012.  
409
- 410 STURZA, V.S. **Densidade populacional, danos e parasitoides larvais de**  
411 ***Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de**  
412 **milho *Bt* e não-*Bt*.** 2012. 83p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa  
413 Maria, Santa Maria.  
414
- 415 ZUCCHI, R.A.; PARRA, J.R.P. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after  
416 twenty years of research. **Neotropical Entomology**, v.33, n.3, p.271-281, 2004.  
417

**Tabela 1.** Escala de notas foliares (0 a 9) para avaliação de danos de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho [adaptada da tabela de danos de DAVIS & WILLIAN (1989)].

| Nota | Descrição  |
|------|--|
| 0    | Sem Danos  |
| 1    | Folhas com pontuações  |
| 2    | Folhas com lesões pequenas em até 50% da superfície          |
| 3    | Folhas com lesões pequenas em mais de 50% da superfície      |
| 4    | Folhas com lesões grandes (até 3cm) em até 50% da superfície |
| 5    | Folhas com lesões grandes em mais de 50% da superfície       |
| 6    | Folhas com furos pequenos (até 3cm) em até 50% da superfície |
| 7    | Folhas com furos pequenos em mais de 50% da superfície       |
| 8    | Folhas com furos grandes em até 50% da superfície            |
| 9    | Folhas com furos grandes em mais de 50% da superfície        |

418

419

420

421

422

423

424

425

426

427

428

429

430

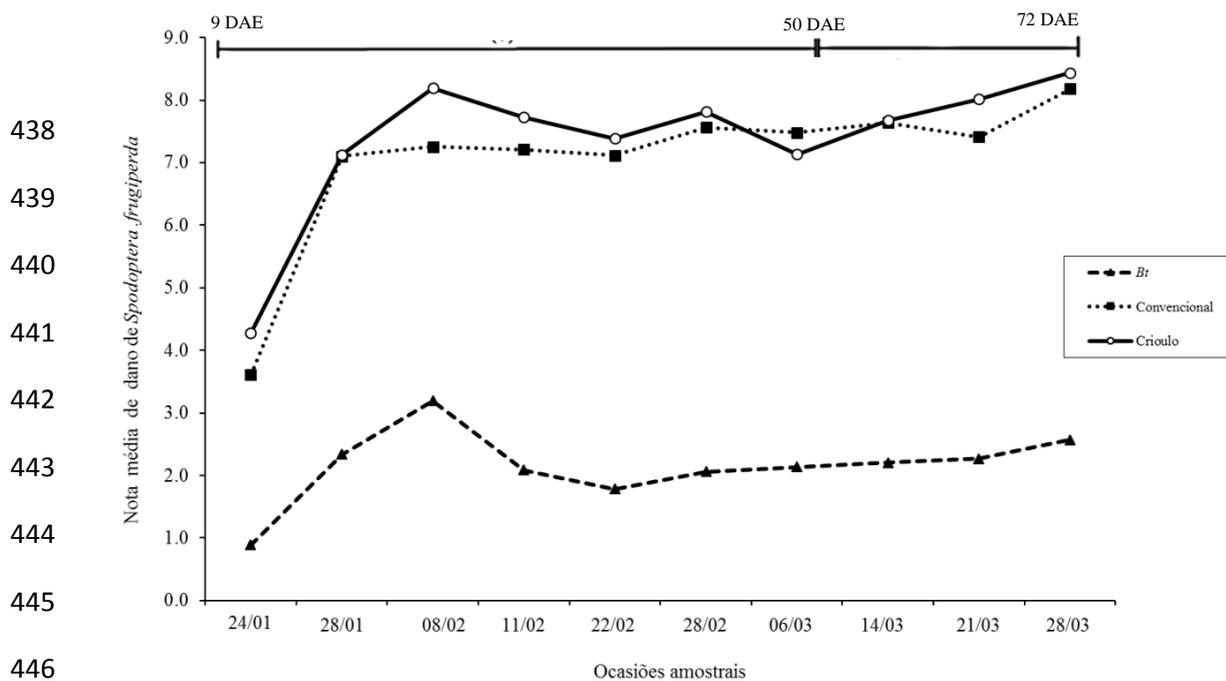
431

432

433

434

435



448 **Figura 1.** Média de notas visuais de danos foliares por planta, provocados por *Spodoptera*  
 449 *frugiperda* em milho (*Zea mays*) crioulo (Lombo Baio), híbrido convencional (Semilha S395)  
 450 e híbrido *Bt* (Morgan Roundap 30A77), no período compreendido entre os 9 aos 72 dias após a  
 451 emergência da plântula (DAE) cultivados em segunda safra. Santa Maria – RS, janeiro a  
 452 março de 2014. (9 DAE, 50 - DAE, -72 DAE).

453

454

455

456

457

458

459

460

461

462

463

464

465

466

467

468

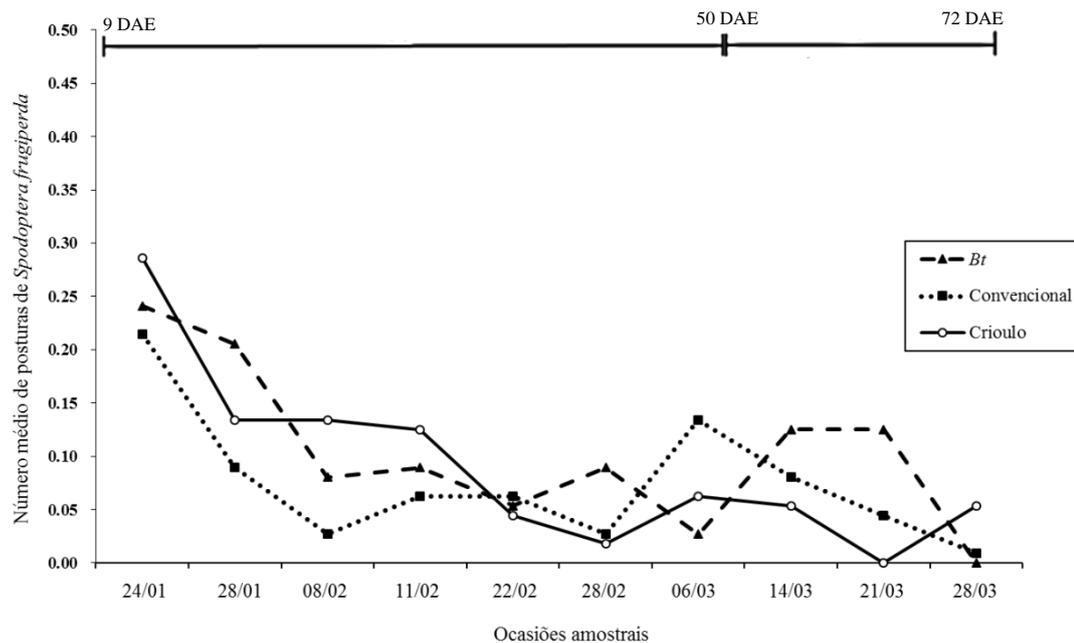
469

470

471

472

473



474

475

476

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

**Figura 2.** Número médio de posturas de *Spodoptera frugiperda* por planta, coletadas em campo e laboratório, em milho (*Zea mays*) crioulo (Lombo Baio), híbrido convencional (Semilha S395) e híbrido *Bt* (Morgan Roundap 30A77), no período compreendido entre os 9 aos 72 dias após a emergência da plântula (DAE) cultivados em segunda safra. Santa Maria – RS, janeiro a março de 2014. (9 DAE, 50 - DAE, 72 DAE).

489

490

491

492

493

494

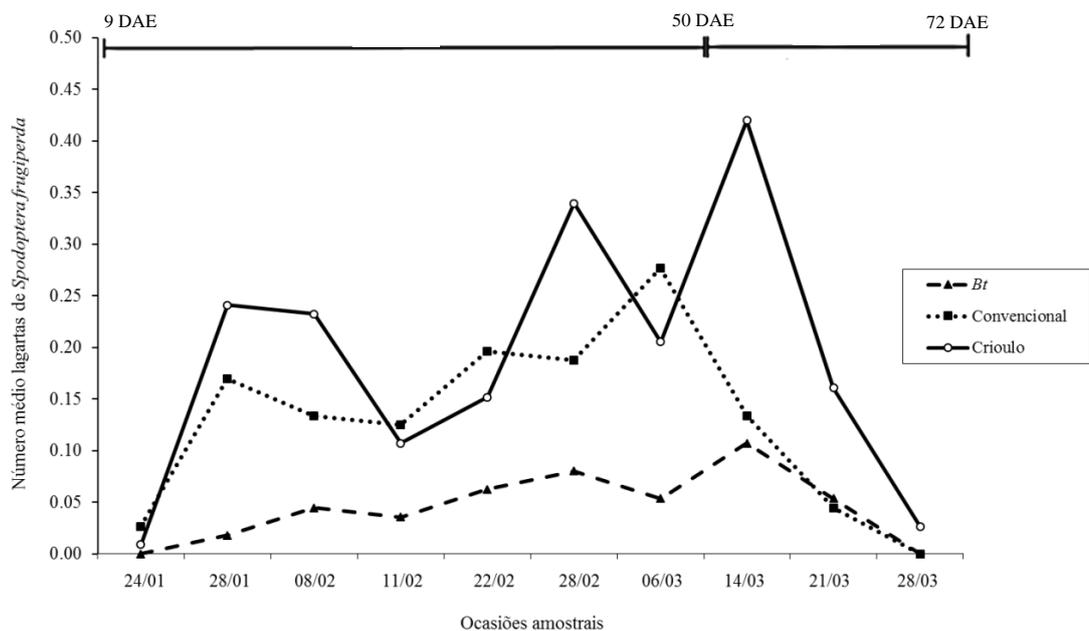
495

496

497

498

499

500 **Figura 3.** Número médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda* por planta, coletadas em501 campo e laboratório, em milho (*Zea mays*) crioulo (Lombo Baio), híbrido convencional502 (Semilha S395) e híbrido *Bt* (Morgan Roundap 30A77), no período compreendido entre os 9

503 aos 72 dias após a emergência da plântula (DAE) cultivados em segunda safra. Santa Maria –

504 RS, janeiro a março de 2014. (9 DAE, 50 - DAE, 72 DAE).

### **3 Artigo 2**

**Infestação e parasitismo natural de *Helicoverpa zea* em  
milho crioulo, híbrido convencional e híbrido Bt\***

---

\* Artigo configurado segundo as normas da Revista de Ciência Agronômica

1                   **Infestação e parasitismo natural de *Helicoverpa zea* em**  
2                   **milho crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt***

3  
4                   Natural infestation and parasitism of *Helicoverpa zea* in  
5                   landrace, hybrid and hybrid *Bt* corn

6  
7   **RESUMO-** A infestação de *Helicoverpa zea* bem como o parasitismo natural em ovos  
8 foi avaliado em espigas de três variedades de milho: crioulo, híbrido convencional e  
9 híbrido *Bt*. O experimento foi conduzido em Santa Maria, Rio Grande do Sul, em  
10 período de segunda safra no ano de 2014. O delineamento experimental foi de blocos  
11 inteiramente ao acaso, com três tratamentos, milho Lombo Baio (crioulo), Semilha  
12 S395 (híbrido convencional) e Morgan Roudap 30A77 (híbrido geneticamente  
13 modificado), com quatro repetições. Dos estágios reprodutivos R1 ao R5, foram  
14 realizadas amostragens em intervalos médios de três dias, sendo em cada ocasião  
15 registrados o número de ovos, o parasitismo nestes e número de lagartas nas espigas.  
16 A quantidade de ovos, no período, não diferiu entre as variedades. O número médio  
17 total de lagartas foi semelhante entre milho crioulo e convencional e superior ao do *Bt*.  
18 Foi registrado o parasitismo de ovos por *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879)  
19 (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

20   **Palavras-chave:** Lagarta-da-espiga. *Trichogramma pretiosum*. Controle biológico

21

22   **ABSTRACT** - The natural infestation of *Helicoverpa zea* and egg parasitism were  
23 evaluated in cobs of three *Zea mays* varieties. The experiment was carried out in Santa  
24 Maria, in the state of Rio Grande do Sul, during out-of-season corn crop, in 2014. The  
25 experimental design was a completely randomized block with three treatments (maize

26 varieties Lombo Baio (landrace), Semilha S395 (conventional hybrid) and Morgan  
27 Roundap 30A77 (hybrid genetically modified *Bt*), and four replicates. From  
28 reproductive stage R1 to R5, every three days, we evaluated the total of eggs,  
29 parasitized eggs and larvae of *H. zea*. The number of eggs was similar among the  
30 varieties. The total average number of larvae was on landrace and conventional corn,  
31 both higher than *Bt*. Parasitism by *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879)  
32 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) was recorded.

33 **Key words:** Corn earworm. *Trichogramma pretiosum*. Biological control.

34

35

## INTRODUÇÃO

36

37 O milho destaca-se dentre os alimentos produzidos pela agricultura familiar no  
38 país. A produção de milho brasileira em 2014/2015 atingiu 30.244,1 mil toneladas em  
39 período safra e 51.274,6 mil toneladas em segunda safra (CONAB, 2015), onde cerca  
40 de 46% da produção é proveniente da agricultura familiar (HOFFMANN, 2014).  
41 Constituída por pequenos produtores, a agricultura familiar representa uma importante  
42 parcela no setor produtivo, responsável pelo fornecimento de diversos alimentos que  
43 constituem a mesa dos brasileiros. Entretanto, essa vertente da agricultura emprega na  
44 produção um baixo índice tecnológico, muitas vezes dificultando o manejo fitotécnico  
45 adequado (CARPENTIERI-PÍPOLO *et al.*, 2010).

46

47 Nesse contexto econômico e social, o milho crioulo é uma alternativa de  
48 produção para os pequenos agricultores, frente a cultivares híbridos, dependentes de  
49 insumos e pacotes tecnológicos para sua produção (ARAÚJO *et al.*, 2013). Variedades  
50 crioulas apresentam alta rusticidade e se adaptam às condições adversas de solo e  
clima, tais como deficiência hídrica, escassez de nutrientes, excesso de acidez ou

51 alcalinidade, além de apresentarem elevada importância na conservação e  
52 melhoramento genético da espécie (CATÃO *et al.*, 2010.). Além disso, o cultivo de  
53 milho crioulo ressalta os valores culturais de cada local, permitindo que os agricultores  
54 selecionem e produzam suas próprias sementes (ARAÚJO *et al.*, 2013).

55         A incidência de insetos-praga está entre os fatores limitantes da produção tanto  
56 em milho híbrido quanto no crioulo (GIOLO *et al.*, 2006). *Helicoverpa zea* (Boddie,  
57 1850) (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-da-espiga, pode prejudicar a  
58 cultura de milho atacando os estilo-estigmas e impedindo a fertilização e, em  
59 consequência, ocasionando falhas nas mesmas. Além do dano inicial, as lagartas  
60 alimentam-se e destroem os grãos leitosos e provocam dano indireto, ao facilitar a  
61 penetração de microrganismos que podem causar podridões (CRUZ, 2008). O controle  
62 químico não tem sido muito utilizado, pela dificuldade de aplicação (VALICENTE,  
63 2015). Os produtos químicos, quando utilizados, devem ser aplicados logo após o  
64 início das posturas, para que possam atingir as lagartas ainda na parte externa da  
65 espiga, e, portanto, desprotegidas pela palha (CRUZ, 2008).

66         O controle natural de *H. zea* ocorre principalmente pelos predadores de ovos  
67 do gênero *Orius* (Hemiptera: Anthocoridae) e por *Doru luteipes* (Scudder, 1876)  
68 (Dermaptera: Forficulidae), além de parasitoides do gênero *Trichogramma*  
69 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (CRUZ, 2008). De acordo com o mesmo autor,  
70 quando o controle biológico natural não é eficiente, existe a possibilidade de realizar a  
71 liberação de *Trichogramma pretiosum* Riley 1879, já disponível para compra no  
72 Brasil.

73         A maioria dos estudos que avaliaram o parasitismo natural de ovos de *H.*  
74 *zea* foram conduzidos nas regiões Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, poucos trabalhos  
75 com este foco foram conduzidos no Sul. O conhecimento do nível de infestação da

76 lagarta-da-espiga e do índice de parasitismo dos seus ovos gera subsídios importantes  
77 para os produtores e auxilia na tomada de decisão, quanto da adoção de uma medida  
78 de controle. Neste sentido o trabalho objetivou avaliar o nível de infestação de ovos e  
79 lagartas de *H. zea* em variedades de milho crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt*,  
80 bem como o parasitismo natural de ovos desta espécie.

81

82

## MATERIAL E MÉTODOS

83

84 O trabalho foi desenvolvido no Centro Experimental de Pesquisas em Florestas  
85 da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária – FEPAGRO, localizado em Santa  
86 Maria, Rio Grande do Sul (RS) (29° 41' 24'' S; 53° 48' 42'' O). O clima do município  
87 é subtropical úmido e o solo classificado como Argissolo vermelho distrófico  
88 (SANTOS *et al.*, 2013). A área no qual o experimento foi instalado não havia sido  
89 cultivada anteriormente e era mantida com vegetação herbácea espontânea.

90 A semeadura foi realizada em segunda safra, em 09/01/2014, com espaçamento  
91 de 0,45 m nas entrelinhas e 0,66 m entre as plantas. Anteriormente, o solo foi corrigido  
92 com 5 ton. de calcário e no momento da semeadura, adubado com 200 kg de NPK 5-  
93 20-20. A adubação em cobertura foi efetuada quando as plantas atingiram o estágio  
94 V6, aplicando-se a lanço, 100 kg de ureia. Foram utilizadas três variedades de milho  
95 (tratamentos), Lombo Baio (crioulo), Semilha S395 (híbrido convencional), e Morgan  
96 Roundap 30A77 (híbrido *Bt*, toxina Cry1F). O delineamento foi de blocos inteiramente  
97 casualizados, onde cada parcela tinha 400 m<sup>2</sup>, com 30 linhas, e aproximadamente 88  
98 plantas/linha. Entre cada parcela, e entre os blocos, foram mantidas áreas de 400 m<sup>2</sup> e  
99 2.000 m<sup>2</sup> respectivamente, cultivadas com o híbrido (Semilha S395) (Anexo 1). Não  
100 foram realizadas aplicações de agrotóxicos durante o ciclo da cultura.

101 Do estágio reprodutivo R1 (embonecamento) até o R5 (formação do dente)  
102 (MAGALHÃES; DURÃES, 2006), foram realizadas 11 amostragens, com intervalos  
103 de três dias. Em cada ocasião, e em cada parcela, foram sorteadas 15 plantas  
104 aleatoriamente, e, em cada planta, foi recolhida uma espiga de forma aleatória,  
105 totalizando 60 espigas por variedade/amostragem. Em laboratório, com  
106 esteremicroscópio óptico, os estilos-estigmas foram examinados e todos os ovos e  
107 lagartas foram contabilizados, identificados e armazenados, para avaliação do  
108 parasitismo. Os ovos foram acondicionados em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm),  
109 tampados com parafilme e mantidos em câmara climatizada ( $25 \pm 1$  °C;  $70 \pm 10\%$  UR;  
110 fotofase de 16 horas) sendo observados diariamente, até a eclosão de lagartas ou  
111 emergência de parasitoides.

112 As lagartas foram individualizadas em placas de Petri e alimentadas com  
113 estilos-estigmas, folhas e pedaços de espigas da mesma variedade de procedência, até  
114 atingir o estágio de pupa ou morrerem. A fase de pupa foi acompanhada e os adultos  
115 emergidos foram enviados para identificação.

116 O número médio de ovos e lagartas foi comparado entre as variedades de milho  
117 e, em cada uma, entre as amostragens por Kruskal-Wallis e Dunn ao nível de  
118 significância de 5%, após serem testados quanto a normalidade. As porcentagens de  
119 plantas infestadas e parasitismo foram comparadas entre as variedades por Qui-  
120 quadrado de heterogeneidade, a 5% de significância. Para cada variedade de milho  
121 foram realizadas análises de Correlação de Pearson entre a densidade de ovos e de  
122 lagartas ao longo das ocasiões amostrais, bem como destas com médias de  
123 temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar, considerando os sete  
124 dias anteriores a cada amostragem. Os dados meteorológicos foram obtidos dos

125 registros do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), estação Santa Maria. As  
126 análises foram efetuadas utilizando-se o programa Bioestat 5.0 (AYRES *et al.*, 2007).

127

## 128 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

129

130 O número médio total de ovos por espiga, registrado ao longo do período de  
131 amostragem foi semelhante entre as variedades, crioulo, convencional e *Bt* ( $H =$   
132  $1.2091$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,5463$ ) (Tabela 1), sugerindo que as mariposas de *H. zea*, não  
133 possuem preferência de oviposição por qualquer uma destas variedades. Comparando  
134 milhos híbridos convencionais e seus isogênicos transgênicos das cultivares 30F35  
135 (Pionner), 2B710 (Dow AgroSciences) e Impacto (Syngenta), Nais *et al.* (2012)  
136 registraram resultado semelhante em relação à mesma espécie de inseto pela fêmea de  
137 modo a evitar a oviposição. Conforme Lima, Torres (2011) à execução da produção  
138 constitutiva da toxina na planta, não há outra diferença fenotípica entre as variedades  
139 que permita a identificação pela fêmea de modo a evitar a oviposição.

140 As quatro primeiras amostragens, que representam as duas semanas iniciais da  
141 fase reprodutiva, concentraram a maior parte do total de ovos coletados em plantas das  
142 variedades *Bt* (60,6%), crioula (62,4%) e híbrida (71,3%). Da mesma forma, o  
143 percentual de plantas com ovos até este período foi superior ao registrado no somatório  
144 das demais amostragens, sendo de 57,1% nas variedades *Bt* e crioulo, e 65,1% no  
145 híbrido. Aos 14 dias após o início da emissão dos estilo-estigmas do híbrido Cintia,  
146 em Santo Augusto, RS, Foresti *et al.* (2013) verificaram que 70% das plantas possuíam  
147 ovos de *H. zea* e que, a partir deste momento, não houve aumento da infestação,  
148 corroborando os resultados do presente estudo. Conforme os autores, após este período

149 (14 dias) os estilo-estigmas entraram em senescência, não sendo mais atrativos à  
150 oviposição.

151

152 **Tabela 1.** Número médiototal ( $\pm$  EP) de ovos e lagartas de *Helicoverpa zea*  
e porcentagem de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *H.*  
153 *zea* em milho crioulo, híbrido convencional e híbrido *Bt*.

|           | Nº médio total $\pm$ EP |                                 | % de parasitismo    |
|-----------|-------------------------|---------------------------------|---------------------|
|           | Ovos ns <sup>1</sup>    | Lagartas                        |                     |
| Crioulo   | 0,39 $\pm$ 0,009        | 0,32 $\pm$ 0,004 a <sup>2</sup> | 40,6 b <sup>3</sup> |
| Híbrido   | 0,31 $\pm$ 0,010        | 0,28 $\pm$ 0,003 a              | 36,1 b              |
| <i>Bt</i> | 0,27 $\pm$ 0,008        | 0,11 $\pm$ 0,002 b              | 53,9 a              |

<sup>1</sup>ns = diferença não significativa a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Dunn, a 5% de significância.

<sup>3</sup> Porcentagens seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Qui-quadrado, a 5% de significância.

154 As quatro primeiras amostragens, que representam as duas semanas iniciais da  
155 fase reprodutiva, concentraram a maior parte do total de ovos coletados em plantas das  
156 variedades *Bt* (60,6%), crioula (62,4%) e híbrida (71,3%). Da mesma forma, o  
157 percentual de plantas com ovos até este período foi superior ao registrado no somatório  
158 das demais amostragens, sendo de 57,1% nas variedades *Bt* e crioulo, e 65,1% no  
159 híbrido. Aos 14 dias após o início da emissão dos estilo-estigmas do híbrido Cintia,  
160 em Santo Augusto, RS, Foresti *et al.* (2013) verificaram que 70% das plantas possuíam  
161 ovos de *H. zea* e que, a partir deste momento, não houve aumento da infestação,  
162 corroborando os resultados do presente estudo. Conforme os autores, após este período  
163 (14 dias) os estilo-estigmas entraram em senescência, não sendo mais atrativos à  
164 oviposição.

165 A porcentagem de espigas infestadas com lagartas ao longo do período  
166 amostral foi semelhante entre o milho crioulo (32,5%) e convencional (28,3%) e  
167 superiores a do *Bt* (10,9%) ( $\chi^2 = 37,09112$ ; gl = 2;  $p \leq 0,0001$ ). A diferenciação no  
168 grau de infestação de *H. zea* em função do genótipo de milho, também foi observada  
169 por Pereira *et al.* (2000), dentre 49 genótipos de polinização aberta avaliados, no quais  
170 houve uma variação de cerca de dez vezes na intensidade entre o mais atacado (CMS  
171 39 - 25,67%) e o menos (Asteca São Mateus -2,67%).

172 O número médio total de lagartas por espiga, ao longo de todo período, foi  
173 semelhante entre milho crioulo e convencional, e superior ao *Bt* ( $H = 16.568$ ; gl = 2;  $p$   
174 = 0,0003) (Tabela 1). A menor média de lagartas no milho *Bt*, está intimamente  
175 associada à presença da toxina Cry incorporada no DNA da planta, que apresentam  
176 características entomopatogênicas que causam a morte da lagarta, por ingestão  
177 (SOBERÓN *et al.*, 2009). A toxina Cry1F, presente na variedade Morgan Roundap  
178 30A77 avaliada neste estudo, é eficiente no controle de *H. zea* conforme registrado por  
179 Nais (2012). Entretanto, a presença de lagartas durante todo o período de avaliação no  
180 milho *Bt* e de indivíduos que atingiram a fase de pupa em laboratório, sugere que a  
181 presença da toxina Cry1F, não impediu a oviposição e o desenvolvimento. Isto ocorre,  
182 segundo Nais (2012), porque as plantas transgênicas (*Bt*) deveriam fornecer uma alta  
183 dose da toxina para maximizar a mortalidade dos insetos-alvo e permitir melhor  
184 distribuição das toxinas para todas as partes da planta. Segundo a autora, essa condição  
185 nem sempre ocorre nas espigas de milho *Bt*, pois nem todas as partes destas expressam  
186 o mesmo nível da endotoxina.

187 A densidade média de lagartas por espiga em uma mesma variedade, entre as  
188 ocasiões ao longo do período amostral, não diferiu crioula ( $p = 0,30$ ), híbrida ( $p = 0,28$ )  
189 e *Bt* ( $p = 0,56$ ). Desta forma, mesmo havendo uma maior concentração de ovos no

190 início da fase reprodutiva do cultivo nas três variedades, esta não se refletiu  
191 diretamente em incremento na densidade de lagartas em estágios mais avançados desta  
192 fase. Este fato é confirmado pela ausência de correlação entre os índices de infestação  
193 de ovos com o de lagartas ao longo do período amostral em *Bt* ( $p = 0,49$ ,  $r = 0,05$ ),  
194 crioulo ( $p = 0,67$ ;  $r = 0,02$ ) e híbrido ( $p = 0,58$ ;  $r = 0,03$ ).

195 A diferença entre a densidade de lagartas e a de ovos pode ter sido decorrente  
196 da mortalidade natural no início do desenvolvimento do embrião. Esta característica é  
197 típica de organismos que depositam muitos ovos, como os insetos-praga, mas nem  
198 todos os jovens eclodem, havendo uma alta mortalidade inicial (TOWNSEND *et al.*,  
199 2010). De acordo com Sansone e Smith (2001), em estudo da dinâmica populacional  
200 de *H. zea* em cultivo de algodão no Texas, 71 a 95% da mortalidade natural da espécie  
201 pode ser esperada nos estágios de ovo e primeiro instar larval.

202 Durante todo o período amostral, entre as plantas onde houve o registro de ovos  
203 em 2,9% em crioulo, 63,2% em convencional e 72,4% em *Bt*, apresentavam apenas  
204 um ovo por espiga. Quando avaliadas as com lagartas, 82,4% em crioulo, 85,4% em  
205 convencional e 72,8% em *Bt*, possuíam apenas um indivíduo na espiga. Esse resultado  
206 está relacionado com o comportamento canibal da espécie (CHILCUTT, 2006), que,  
207 ao disputar por seu nicho intraespecificamente dentro da espiga, as lagartas maiores  
208 eliminam as menores. Além disso, ao depositar apenas um ovo na espiga, a fêmea  
209 aumenta as chances de sobrevivência e desenvolvimento da prole, evitando a  
210 competição com coespecíficos.

211 Foi registrado apenas *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera:  
212 Trichogrammatidae) parasitando ovos. A maior porcentagem de parasitismo foi  
213 encontrada em ovos coletados no milho *Bt*, diferindo da porcentagem de milho crioulo  
214 e convencional ( $\chi^2 = 28,75813$ ;  $gl = 2$ ;  $p \leq 0,0001$ ) (Tabela 1).

215 Até o momento, o parasitismo natural por *T. pretiosum*, só havia sido registrado  
216 em lavouras de milho na região central do RS, em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.  
217 E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) (DEQUECH *et al.*, 2013). Entretanto, esta  
218 espécie já havia sido constatada no estado de São Paulo, em cultivares híbridas de  
219 milho, com uma taxa média de parasitismo de 50% em ovos de *H. zea* (SÁ;  
220 PARRA, 1994). Também no Sudeste do Brasil, no estado de Minas Gerais, Paron, Cruz  
221 e Ciociola (1998), verificaram que o parasitismo por *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*,  
222 variou de 34,1 a 62,4% em função da cultivar utilizada.

223 Foi verificada a ocorrência de superparasitismo em 12,3% dos ovos  
224 parasitados, os quais chegaram a apresentar dois (n = 19), três (n = 3) e seis (n = 1)  
225 indivíduos emergidos de um único ovo. O superparasitismo pode ser um fenômeno  
226 vantajoso por aumentar a população de parasitoides em um determinado local, e ocorre  
227 em maior escala a medida que a proporção de parasitoide por densidade de hospedeiro  
228 aumenta (SHOEB; EL-HENEIDY, 2010). De acordo com Vilson (1997),  
229 *Trichogramma* é um gênero tipicamente gregário, sendo muito comum ocorrer o  
230 desenvolvimento de dois ou mais indivíduos dentro de um mesmo ovo.

231 O pico de ovos parasitados ocorreu em 27/03, 31/03 e 03/04 em milho crioulo,  
232 *Bt* e híbrido, respectivamente (Tabela 1), posterior à ocorrência do pico dos ovos do  
233 hospedeiro. Paron *et al.* (1998) também registraram aumento no número de  
234 *Trichogramma* spp. a medida em que o número de ovos de *H. zea* disponíveis nos  
235 estilo-estigmas de milho diminuía. Conforme Faria *et al.* (2000) em avaliação de  
236 resposta funcional de *T. pretiosum* em ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)  
237 (Lepidoptera: Gelechiidae), a taxa de procura das fêmeas pelo hospedeiro diminui em  
238 situações de elevada disponibilidade, tornando o percentual de parasitismo  
239 inversamente proporcional a densidade do hospedeiro.

240 Não se constatou parasitismo em lagartas. A ausência de registro de  
241 parasitoides em lagartas pode estar associada ao fato de que nas espigas amostradas os  
242 indivíduos que encontravam-se na parte exterior da espiga encontravam-se em ínstaes  
243 iniciais e os de mais avançados no interior da espiga, protegidos por várias camadas  
244 de palha, dificultando o acesso aos parasitoides. Nos Estados Unidos da América já  
245 foi registrado parasitismo em lagartas de *H. zea* presentes em soja, por uma espécie de  
246 Tachinidae e três de Braconidae (TIPPING, HOLKO e BEAN,2005). O maior número  
247 de lagartas foi constatado em plantas sem a toxina *Bt*. No entanto, o período de  
248 oviposição, o volume de ovos ao longo do ciclo do milho, bem como a ocorrência de  
249 parasitismo natural por *T. pretiosum* foi semelhante entre as variedades. Desta forma,  
250 o controle biológico de *H. zea* através da liberação de parasitoides de ovos representa  
251 um alternativa viável tanto para lavouras que utilizam os híbridos convencionais e os  
252 *Bt* quanto para as que cultivam variedades crioulas.

253

254

## CONCLUSÕES

255

- 256 1. O número médio total de ovos é semelhante nas três variedades avaliadas.
- 257 2. Milho crioulo (Lombo Baio) e convencional (Semilha S395) apresentam  
258 número médio de lagartas superior a variedade *Bt* (Morgan Roundap  
259 30A77).
- 260 3. *Trichogramma pretiosum* parasita ovos de *H. zea* nos três genótipos  
261 estudados.

262

263

264

265

**AGRADECIMENTOS**

266 A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e  
 267 ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas  
 268 bolsas concedidas ao primeiro e terceiro autores.

269

270

**REFERÊNCIAS**

271

272 ARAUJO, A.V.A. *et al.* Desempenho agrônomo de variedades crioulas e híbridos de  
 273 milho cultivados em diferentes sistemas de manejo. **Revista de Ciência Agronômica**,  
 274 v. 44, n. 4, p. 885-892, 2013.

275

276 AYRES, M. *et al.* **BioEstat 5.0 -Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências**  
 277 **Biológicas e Médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2007. 364p.

278

279 CARPENTIERI-PÍPOLO, V. *et al.* Avaliação de cultivares de milho crioulo em  
 280 sistema de baixo nível tecnológico. **Maringá**, v. 32, n. 2, p. 229-233, 2010.

281

282 CATÃO, H.C.R.M. *et al.* Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho  
 283 crioulo produzidas no norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2060-  
 284 2066, 2010.

285

286 CHILCUTT, C.F. Cannibalism of *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) from  
 287 *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) transgenic corn versus non-*Bt* corn. **Ecology and**  
 288 **Behavior**, v. 99, n. 3, p.728-732, 2006.

289

290 COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra  
 291 Brasileira: Disponível em:  
 292 <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15\\_09\\_11\\_10\\_42\\_03\\_boletim\\_gr\\_aos\\_setembro\\_2015.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_09_11_10_42_03_boletim_gr_aos_setembro_2015.pdf)>. Acesso em 18 de dez. 2015.

294

295 CRUZ, I. Insetos benéficos. In: CRUZ, I. **Manual de identificação das pragas de**  
 296 **milho e de seus agentes de controle biológico**. Brasília, DF: Embrapa Informação  
 297 Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e sorgo, 2008. Brasília SCT, 2008. p. 121-  
 298 190.

299

300 DEQUECH, S.T.B. *et al.* Populational fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and  
 301 natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum**, v. 35, p. 295-300,  
 302 2013.

303

304 FARIA, C.A.; TORRES, J.B.; FARIAS, A.M.I. Resposta funcional de  
 305 *Trichogrammapretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitando ovos  
 306 de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae): Efeito da Idade do hospedeiro.  
 307 **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.1, p. 85-93, 2000.

308

- 309 FORESTI, J. *et al.* Comportamento de oviposição de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850)  
310 (Lepidoptera: Noctuidae) em milho semente e simulação de controle. **Revista Brasileira**  
311 **de Milho e Sorgo**, v. 12, n. 1, p. 78-84, 2013.  
312
- 313 FORESTI, J. *et al.* Biologia, seleção e avaliação de linhagens de *Trichogramma* spp.  
314 para o controle da lagarta-da-espiga em milho semente. **EntomoBrasilis**, v. 5, n. 1, p.  
315 43-48, 2012.  
316
- 317 GIOLO, F.P. *et al.* Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera:  
318 Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, p.  
319 167-171, 2006.  
320
- 321 HOFFMANN, R. A agricultura familiar produz 70% dos alimentos consumidos no  
322 Brasil? **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 21, n. 1, p. 417-421, 2014.  
323
- 324 LIMA, M.S.D & TORRES, J.B. Cry 1Ac toxin production and feeding and oviposition  
325 preference of *Alabama argilacea* in *Bt* cotton under water stress. **Pesquisa**  
326 **Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 451-457, 2011.  
327
- 328 MAGALHÃES, P.C.; DURÃES, F.O.M. **Fisiologia da Produção de milho**. Sete  
329 Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006, 10p.  
330
- 331 NAIS, J. **Infestação de *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:**  
332 **Noctuidae) em híbridos comerciais de milho (*Zea mays* L.)**. 2012. 78 f. Tese  
333 (Doutorado em Entomologia Agrícola) -Faculdade de Ciências Agrárias e  
334 Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2012.  
335
- 336 PARON, M.J.F.O.; CRUZ, I.; CIOCIOLA, A.I. Efeito de genótipos de milho no  
337 parasitismo por *Trichogramma* spp. em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie). **Anais da**  
338 **Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 435-441, 1998.  
339
- 340 PEREIRA, E.J.G. *et al.* Suscetibilidade de populações de milho a *Spodoptera*  
341 *frugiperda* Smith e *Helicoverpa zea* Bod. (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta**  
342 **Scientiarum**, v. 22, n. 4, p. 931-936, 2000.  
343
- 344 SÁ, L.A.N.; PARRA, J.R.P. Natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* and  
345 *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs in corn by *Trichogramma pretiosum*  
346 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 77, n. 1, p.  
347 185-187, 1994.  
348
- 349 SANSONE. C.G.; SMITH, Jr. J.W. Natural mortality of *Helicoverpa zea*  
350 (Lepidoptera: Noctuidae) in short-season cotton. **Biological Control**, v. 30, n. 1, p.  
351 112-122, 2001.  
352
- 353 SANTOS, H.G. *et al.* **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília:  
354 Embrapa, 2013. 353p.  
355
- 356 SHOEB, M.A.; EL-HENEIDY, A.H. Incidence of superparitism in relation to some  
357 biological aspects of the egg parasitoid, *Trichogramma evanescens* West.

- 358 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Egyptian Journal of Biological Control**, v. 20,  
359 n. 1, p. 61-66, 2010.
- 360
- 361 SOBERÓN, M. et al. Signaling versus punching hole: how do *Bacillus thuringiensis*  
362 toxins kill insect midgut cells? **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, p. 133-  
363 1349, 2009.
- 364
- 365 TIPPING, P.W.; HOLKO, C.A.; BEAN, R.A. *Helicoverpa zea* (Lepidoptera:  
366 Noctuidae) dynamics and parasitism in Maryland soybeans. **BioOne**, v. 88, n. 1, p. 55-  
367 60, 2005.
- 368
- 369 VALICENTE, F.H. **Manejo Integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas:  
370 Embrapa Milho e Sorgo, 2015, 13p.
- 371
- 372 VILSON, S. B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com  
373 ênfase na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J. R. P. & ZUCCHI, R. A.  
374 **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, 1997, 324p.

#### **4 Artigo 3**

**Influência da idade dos ovos e da aprendizagem no parasitismo de**

***Trichogramma pretiosum* em ovos de *Spodoptera frugiperda*.**

---

\* Artigo configurado segundo as normas da Revista Iheringia Série Zoologia

2 **Influência da idade do hospedeiro e da aprendizagem no comportamento**  
3 **quimiotático e no parasitismo de *Trichogramma pretiosum***

4

5 Camila C. Vargas<sup>1</sup>, Luiza R. Redaelli<sup>1</sup>, Josué Sant'Ana<sup>1</sup>, Rosana M. Morais<sup>2</sup>,  
6 Priscila Padilha<sup>1</sup>

7 <sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade  
8 Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 7712, 91540-000, Porto Alegre,  
9 RS, Brasil. (teccamila@gmail.com;luredael@ufrgs.br;josue.santana@ufrgs.br;  
10 prici.padilha2@gmail.com).

11 <sup>2</sup>Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa em Florestas,  
12 Caixa Postal 346, 97001-970, Santa Maria, RS, Brasil. (entomorais@gmail.com ).

13

14 **ABSTRACT. Influence of host age and learning on chemotactic behavior and**  
15 **parasitism of *Trichogramma pretiosum*. *Trichogramma pretiosum* reared on**  
16 *Ephestia kuehniella* eggs, have been used in biological control of *Spodoptera*  
17 *frugiperda*. However, host age and experience just after emergence might have some  
18 influence on parasitism and parasitoid behavior. This study evaluated the influence of  
19 *S. frugiperda* host age and egg odor experience, on chemotactic behavior and  
20 parasitism of *T. pretiosum*. *Spodoptera frugiperda* eggs with 24, 48 and 72 hours, were  
21 exposed to *T. pretiosum* females. Parasitoid time experience, in the same host, was  
22 evaluated within 1, 3, 4, 5, 6 and 24 hours, as well as, its host exposed time (1, 2, 3  
23 and 24 hours). Chemotactic responses of *T. pretiosum* (experienced and inexperienced  
24 females) to *S. frugiperda* egg extracts were recorded in Y-tube olfactometer. We also  
25 observe parasitism rates (choice tests) in insects with and without experience. The

26 parasitism average was higher in *S. frugiperda* eggs with 24 hours. Inexperienced  
27 females and those experienced for 1, 3 and 4 hours, parasitized less *S. frugiperda* eggs  
28 compared to those for 5, 6 and 24 hours. There was no difference in parasitism from  
29 females exposed for 2, 3 and 24 hours when compared to those exposed for 1 hour.  
30 Experienced females were more attracted to *S. frugiperda* eggs odor than to control  
31 (hexano). Parasitism percentage, by inexperienced parasitoids, was greater in *E.*  
32 *kuehniella* eggs (original host) than in *S. frugiperda*, however it was not observed in  
33 experienced females.

34

35 **KEYWORDS:** Parasitism, learning, eggs extract.

36

37 **RESUMO.** *Trichogramma pretiosum* mantido em ovos de *Ephestia kuehniella*, tem  
38 sido utilizado no controle biológico de *Spodoptera frugiperda*. No entanto, fatores  
39 como idade do hospedeiro e experiência prévia, podem influenciar o parasitismo e o  
40 comportamento do parasitoide. Esse estudo avaliou a influência da idade dos ovos e  
41 da experiência em ovos e extrato de ovos de *S. frugiperda* no comportamento  
42 quimiotático e no parasitismo de *T. pretiosum*. Ovos de *S. frugiperda* com 24, 48 e 72  
43 horas, foram expostos a fêmeas de *T. pretiosum*. Também foi avaliado o tempo de  
44 experiência do parasitoide, no mesmo hospedeiro, por 1, 3, 4, 5, 6 e 24 horas, assim  
45 como, seu tempo de exposição (1, 2, 3 e 24 horas). As respostas quimiotáticas de *T.*  
46 *pretiosum* (experiente e não experiente) em extrato de ovos de *S. frugiperda* foram  
47 observadas em olfatômetro tipo Y. As taxas de parasitismo foram registradas em teste  
48 de escolha, com insetos experientes e inexperientes com ovos e extrato de ovos de *S.*  
49 *frugiperda*. O parasitismo em *S. frugiperda* foi significativamente maior em ovos com  
50 24 horas de idade. Fêmeas inexperientes e experientes por 1, 3 e 4 horas, apresentaram

51 uma menor taxa de parasitismo, quando comparadas a fêmeas expostas por 5, 6 e 24  
52 horas. Não houve diferença de parasitismo em fêmeas expostas por 2, 3 e 24 horas,  
53 comparadas às expostas por 1 hora. Fêmeas experientes foram mais atraídas ao extrato  
54 de ovos de *S. frugiperda*, do que ao controle (hexano). A porcentagem de parasitismo,  
55 em fêmeas inexperientes, foi maior em ovos de *E. kuehniella* (hospedeiro de origem),  
56 no entanto, o mesmo resultado não foi observado em fêmeas experientes.

57

58 **PALAVRAS-CHAVE:** Parasitismo, aprendizagem, extrato de ovos.

59

60

## INTRODUÇÃO

61

62 Parasitoides de ovos do gênero *Trichogramma* (Hymenoptera:  
63 Trichogrammatidae) são utilizados em programas de controle biológico (ALMEIDA *et*  
64 *al.*, 2010; DAVIES *et al.*, 2011), com destaque para o controle de *Spodoptera*  
65 *frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) com *Trichogramma*  
66 *pretiosum* Riley, 1869 (PARRA, 2010). O sucesso das liberações desse parasitoide  
67 depende do conhecimento de suas características bioecológicas relacionadas à  
68 interação com o hospedeiro (SIQUEIRA *et al.*, 2011), como a sua habilidade de  
69 localizar e parasitar a praga-alvo (GAZIT *et al.*, 1996).

70

71 A localização do hospedeiro está relacionada à presença de sinomônios e/ou  
72 cairomônios que podem atuar a médias e curtas distâncias ou mesmo por contato.  
73 Para que ocorra o parasitismo o inseto avalia o hospedeiro através, principalmente,  
74 do odor e toque (tamborilamento) os quais poderão fornecer pistas sobre a idade do  
75 ovo (VINSON, 1998). A preferência de fêmeas, por parasitar ovos com menor  
desenvolvimento embrionário, foi observada em *Trichogramma exiguum* Pinto &

76 Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em *Mocislatipes* (Grenée, 1852)  
77 (Lepidoptera: Noctuidae) (ZUIMet *et al.*, 2013) e *Trichogramma ostrinidae* Pang &  
78 Chen, 1974 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em *Chilo suppressalis* Walker,  
79 1863 (Lepidoptera: Pyralidae) (ZHANG *et al.*, 2014).

80 Outro fator importante ao parasitismo refere-se ao hospedeiro de origem (SUJII  
81 *et al.*, 2002). A criação massal de *T. pretiosum* geralmente é conduzida em ovos de  
82 *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) (PARRA, 1997). No  
83 entanto, a multiplicação dos parasitoides em um mesmo hospedeiro por longo período,  
84 pode afetar o seu comportamento de busca (CARNEIRO *et al.*, 2006). GOULART *et al.*  
85 (2011), por exemplo, verificaram que o parasitismo de *T. pretiosum* oriundo de  
86 *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) foi maior nessa  
87 espécie do que em *S. frugiperda* e *E. kuehniella*. O mesmo já havia sido observado por  
88 VOLPE *et al.* (2006) que registraram maior número de ovos parasitados por indivíduos  
89 desta espécie, em seu hospedeiro de origem, *E. kuehniella*, comparado com *Plutella*  
90 *xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) e *S. frugiperda*. De fato,  
91 HOPKINS (1917) já tinha constatado que parasitoides preferem ovipositar na mesma  
92 espécie na qual se desenvolveram, sendo que as informações obtidas na fase imatura  
93 também poderiam ser transmitidas ao adulto através do legado químico de seu  
94 hospedeiro.

95 A aprendizagem em *Trichogramma* também pode ocorrer na fase adulta  
96 (BARRON, 2001). Segundo o autor, este fato está relacionado ao novo princípio de  
97 Hopkins, o qual enfatiza a importância da experiência na fase adulta dos insetos, sobre  
98 a escolha do hospedeiro. NURINDAH *et al.* (1999) observaram que o tempo de  
99 reconhecimento e oviposição de *Trichogramma australicum* Girault, 1912  
100 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) diminuiu após a primeira inserção do ovipositor

101 em ovos de *Helicoverpa armigera* Hübner, 1809 (Lepidoptera: Noctuidae),  
102 corroborando este princípio.

103 O conhecimento a respeito da aprendizagem na fase adulta de *T. pretiosum*  
104 pode permitir a manipulação do comportamento quimiotáxico desta espécie de forma  
105 a incrementar a sua busca por hospedeiros, resultando em aumento no parasitismo.  
106 Neste contexto, este trabalho objetivou estudar a influência da idade do hospedeiro e  
107 da aprendizagem no comportamento quimiotáxico e no parasitismo de *T. pretiosum*.

108

## 109 MATERIAL E MÉTODOS

110

111 Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia, Ecologia e  
112 Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB) e no Laboratório de Etologia e Ecologia  
113 Química de Insetos (LEEQI) da UFRGS, em ambiente climatizado ( $25 \pm 1$  °C,  $65 \pm$   
114 10% UR, fotofase de 12 horas). A linhagem de *T. pretiosum* utilizada foi proveniente  
115 de espécimes coletados em ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera:  
116 Noctuidae), em lavoura de milho, situada na Estação Experimental da  
117 FEPAGRO/Floresta (29° 41' 24'' S; 53° 48' 42'' O), em Santa Maria, Rio Grande do  
118 Sul. Estes foram multiplicados e mantidos (Geração 42) em ovos de *E. kuehniella*. As  
119 criações de *T. pretiosum* e de *S. frugiperda* seguiram as metodologias de PARRA (1997)  
120 e PARRA (2001), respectivamente. Todas as fêmeas de *T. pretiosum* utilizadas nos  
121 bioensaios eram oriundas de ovos de *E. kuehniella*. Para os testes de experiência,  
122 exposição, resposta quimiotáxica e parasitismo, foram utilizados ovos de *S. frugiperda*  
123 de até 24 horas de idade.

124 *Avaliação da idade dos ovos.* Ovos de *S. frugiperda* com idades de 24, 48 e 72 horas,  
125 foram agrupados ( $n = 20$ ) por idade e fixados em cartelas (1 x 1 cm) de papel sulfite

126 branco (75g/m<sup>2</sup>) utilizado como substrato de oviposição do hospedeiro. Cada cartela  
127 foi disposta em um tubo de vidro (0,5 x 3 cm), onde foi liberada uma fêmea de *T.*  
128 *pretiosum* (< 36 horas de idade) previamente pareada e exposta a ovos de *S. frugiperda*  
129 por 24 horas. Após este período de experiência, cada fêmea foi mantida por mais 24  
130 horas com uma das posturas de cada uma das idades. Foram avaliados o número médio  
131 de ovos parasitados, o sucesso de parasitismo, a duração do desenvolvimento e a razão  
132 sexual (n = 15).

133 *Avaliação do tempo de experiência.* Fêmeas de *T. pretiosum* não experientes e  
134 experientes, com idade de até 24 horas foram avaliadas. Para aquisição de experiência,  
135 cada fêmea foi exposta a uma cartela com 20 ovos de *S. frugiperda*, preparada como  
136 descrito no bioensaio anterior, em tubos de vidro (0,5 x 3 cm), por 1, 3, 4, 5, 6 e 24  
137 horas. Imediatamente após a exposição, as fêmeas experientes receberam uma nova  
138 cartela com ovos de *S. frugiperda* (n = 20), em tubo de vidro (0,5 x 3 cm), com a qual  
139 permaneceram por 24 horas. As não experientes de mesma idade receberam cartelas  
140 semelhantes com as quais foram mantidas pelo mesmo tempo. Foram avaliados o  
141 número médio de ovos parasitados e o sucesso de parasitismo (n = 15).

142 *Avaliação do tempo de exposição.* Fêmeas de *T. pretiosum* com até 24 horas de idade,  
143 foram mantidas em experiência, por 5 horas com uma cartela contendo 20 ovos de *S.*  
144 *frugiperda*, em tubos de vidro (0,5 x 3 cm). Transcorrido esse período, as fêmeas foram  
145 retiradas e individualmente expostas à outra cartela com 20 ovos deste hospedeiro, por  
146 1, 2, 3 e 24 horas. Os ovos foram mantidos até a emergência dos parasitoides ou  
147 eclosão de lagartas. Foram avaliados o número médio de ovos parasitados e o sucesso  
148 de parasitismo (n = 15).

149 *Aprendizagem - Resposta quimiotáxica.* Ovos de *S. frugiperda* com até 24 horas de  
150 idade foram destacados do substrato de oviposição e separados das escamas, com

151 auxílio de pincel fino (n° 000), utilizando luvas de látex sem pó bioabsorvível. Um  
152 grama de ovos foi mantido em solução com 4 mL de hexano (solvente) (P.A., grau  
153 HPLC ou equivalente/Sigma Aldrich) por 5 minutos. Após, o solvente foi coletado e  
154 armazenado em *vial* a -4 °C. Fêmeas de *T. pretiosum* com até 24 horas de idade, foram  
155 alocadas em tubos de vidro (0,5 x 3 cm), revestidos com papel filtro (1 x 3,7 cm),  
156 contendo 10 µL de extrato, onde permaneceram por 5 horas para aquisição de  
157 experiência. Fêmeas sem experiência foram mantidas nas mesmas condições, porém  
158 em contato com 10 µL de hexano (controle).

159 As respostas quimiotáticas foram avaliadas em fêmeas experientes e  
160 inexperientes, em olfatômetro de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 1,4 cm,  
161 arena inicial de 16 cm, bifurcada em dois “braços” de 19 cm cada, sob luz fluorescente  
162 (60 W, luminância 290 lux).. As respostas foram consideradas positivas quando os  
163 parasitoides alcançavam a fonte de odor e percorriam, pelo menos, 4 cm dentro dos  
164 braços e permaneciam nesta área por, no mínimo, 1 minuto. Consideraram-se não  
165 responsivos os insetos que não se movimentaram nos primeiros 5 minutos ou que não  
166 alcançaram os braços do olfatômetro em 10 minutos.

167 *Aprendizagem - Parasitismo.* Fêmeas de *T. pretiosum* com até 24 horas de idade foram,  
168 individualmente, expostas em tubos de vidro (0,5 x 3 cm), por 5 horas, a três  
169 tratamentos: a) cartela contendo 20 ovos de *S. frugiperda*; b) papel filtro com 10 µL  
170 de extrato de ovos de *S. frugiperda* e c) papel filtro com 10 µL de hexano.  
171 Imediatamente após o período de experiência, as fêmeas foram colocadas em tubos de  
172 vidro, por 2 horas, com 20 ovos de *E.kuehniellae* 20 de *S. frugiperda*, dispostos cada  
173 grupo nas extremidades de uma mesma cartela (3 x 2 cm) de papel sulfite branco  
174 (75g/m<sup>2</sup>), separados por, aproximadamente, 1 cm. Após este procedimento, ovos de

175 mesma cartela foram separados por espécie e armazenados, até a emergência dos  
176 parasitoides ou eclosão das larvas ( $n = 30$ ).

177 *Análise estatística.* O número médio de ovos parasitados, a duração do  
178 desenvolvimento e a razão sexual foram testados quanto à normalidade, analisados por  
179 Kruskal-Wallis e comparados pelo teste de Dunn. Os percentuais de respostas  
180 quimiotáticas e de parasitismo foram comparados pelo teste de Qui-quadrado. As  
181 análises foram efetuadas utilizando-se o programa Bioestat 5.0<sup>®</sup> (AYRES *et al.*, 2007),  
182 ao nível de significância de 5%.

183

## 184 **RESULTADOS**

185

186 *Idade dos ovos.* O número médio de ovos parasitados foi significativamente maior em  
187 ovos de 24 horas de idade, em relação aos de 48 e 72, os quais também diferiram entre  
188 si ( $H = 28.519$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,0001$ ). O tempo de desenvolvimento de *T. pretiosum* foi  
189 semelhante entre os ovos de 24 e 48 horas, e maior nos de 72 ( $H = 34.381$ ;  $gl = 2$ ;  $p =$   
190  $0,0001$ ). O sucesso de parasitismo foi de 100% para os três tratamentos. A razão sexual  
191 foi semelhante entre eles ( $H = 0,3205$ ;  $gl = 2$ ;  $p = 0,8519$ ) (Tab. I).

192 *Tempo de experiência.* Fêmeas sem experiência ( $10,7 \pm 1,35$ ) e expostas por 1 ( $10,3 \pm$   
193  $0,45$ ), 3 ( $14,1 \pm 0,66$ ) e 4 ( $14,1 \pm 0,47$ ) horas a ovos de *S. frugiperda* parasitaram um  
194 menor número de ovos em comparação com aquelas experientes por 5 ( $16,3 \pm 1,43$ ),  
195 6 ( $16,1 \pm 1,48$ ) e 24 ( $18,6 \pm 1,50$ ) horas, as quais não diferiram entre si ( $H = 62,014$ ;  
196  $gl = 6$ ;  $p = 0,0001$ ). O sucesso de parasitismo foi de 100% em todos os tratamentos.

197 *Tempo de exposição.* Não houve diferença na média de ovos parasitados entre fêmeas  
198 expostas por 2 ( $16,1 \pm 0,66$ ), 3 ( $16,3 \pm 0,89$ ) e 24 horas ( $18,2 \pm 0,36$ ), sendo estas

199 maiores que as das expostas por 1 hora ( $11,7 \pm 0,84$ ) ( $H = 25,1565$ ;  $gl = 3$ ;  $p = 0,0001$ ).

200 O sucesso de parasitismo foi de 100% em todos os tratamentos.

201 *Aprendizagem - Resposta quimiotática*. Fêmeas experientes ao extrato de ovos de *S.*

202 *frugiperda* foram significativamente mais atraídas a este odor do que ao hexano ( $\chi^2_{cal} =$

203  $47,8123$ ;  $gl = 1$ ;  $p \leq 0,0001$ ). As inexperientes responderam de forma igual aos dois

204 tratamentos ( $\chi^2_{cal} = 0,4244$ ;  $gl = 1$ ;  $p = 0,5148$ ) (Fig. 1).

205 *Aprendizagem – Parasitismo*. A percentagem de parasitismo de *T. pretiosum* oriundas

206 de *E. kuehniella*, com experiência em ovos de *S. frugiperda*, foi 38,33 em *E.*

207 *kuehniellae* 32, em *S. frugiperda* ( $\chi^2_{cal} = 3,4218$ ;  $gl = 1$ ;  $p \leq 0,0643$ ). Em relação a

208 fêmeas que passaram por um processo de experiência ao extrato de ovos de *S.*

209 *frugiperda*, a porcentagem de parasitismo foi de 42 em *E. kuehniellae* 35 em *S.*

210 *frugiperda* ( $\chi^2_{cal} = 3,0987$ ;  $gl = 1$ ;  $p \leq 0,0784$ ). Fêmeas sem experiência apresentaram

211 percentual de parasitismo de 89,66 em ovos de *E. kuehniellae* 21,33 em *S. frugiperda*

212 ( $\chi^2_{cal} = 252,4024$ ;  $gl = 1$ ;  $p \leq 0,0001$ ) (Fig. 2)

213

214

## DISCUSSÃO

215

216 A idade do ovo hospedeiro interferiu na taxa de parasitismo e na duração do

217 desenvolvimento de *T. pretiosum*. Segundo VINSON (1976), este é um dos fatores mais

218 importantes na interação hospedeiro-parasitoide. A preferência por ovos mais novos

219 está relacionada com características internas e externas destes e pode variar entre

220 espécies ou linhagens de *Trichogramma* (SCHMIDT & SMITH, 1988). Embriões com

221 maior tempo de desenvolvimento esgotam os nutrientes armazenados no ovo,

222 apresentando baixa qualidade para o parasitoide, e sua larva não é capaz de digerir a

223 cutícula do hospedeiro e absorver os nutrientes (STRAND & VINSON, 1986). Além

224 disso, com o avanço do desenvolvimento embrionário, o córion torna-se endurecido e  
225 limitante para a penetração do ovipositor (PAK *et al.*, 1986). O maior parasitismo em  
226 ovos mais novos também foi observado por PIZZOL *et al.* (2012) os quais verificaram  
227 que *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927 parasitou mais ovos de *Lobesia botrana*  
228 Denis & Schiffermuller, 1775 (Lepidoptera: Tortricidae) com 24 e 48 horas de idade  
229 em relação aos de 72 e 96. O mesmo foi constatado para *T. pretiosum* em ovos de  
230 *Bonagota salubricola* Meyrick, 1937 (Lepidoptera: Tortricidae), que preferiram os de  
231 até 48 horas (PASTORI *et al.*, 2010). Da mesma forma que os parasitoides anteriores,  
232 *Trichogramma japonicum* Ashmead, 1904, *Trichogramma dendrolimi* Matsumura,  
233 1926 e *Trichogramma chilonis* Ishii, 1941 também apresentaram médias de  
234 parasitismo mais elevadas em ovos de *C. suppressalis* com dois dias de idade em  
235 comparação com os de três e quatro (ZHANG *et al.*, 2014).

236 O sucesso de parasitismo de *T. pretiosum* foi de 100% para todas as idades,  
237 indicando altos índices de viabilidade, independentemente da idade do hospedeiro.  
238 Segundo JACOB *et al.* (2006), em algumas espécies ovos mais velhos não apresentam  
239 efeito deletério no sucesso de parasitismo. STINGUEL *et al.* (2013) também constataram  
240 sucesso de parasitismo de 100% em ovos de *Mocis latipes* Guenée, 1852 (Lepidoptera:  
241 Noctuidae) de 24, 48 e 72 horas, parasitados por *T. pretiosum*. OLIVEIRA *et al.* (2003)  
242 registraram 95,5% de sucesso por *Trichogramma maxacalii* Voegelé & Pointel, 1980  
243 em ovos de um dia de idade de *Oxydia vesulia* Cramer, 1779 (Lepidoptera:  
244 Geometridae), em comparação com os de três e cinco dias.

245 Assim como registrado neste estudo, um menor tempo de desenvolvimento  
246 também foi observado para *T. pretiosum* em ovos mais novos de *H. zea* (RUBERSON &  
247 KRING 1993). MIURA & KOBAYASHI (1998) observaram apenas desenvolvimento de *T.*  
248 *chilonis* em ovos de *P. xylostella* de 24 e 48 horas, sendo que nos de 72 não houve

249 emergência. Embora, a razão sexual possa variar em função de fatores do ambiente,  
250 densidade, tipo de hospedeiro e constituição nutricional do ovo (SUZUKI, 1982;  
251 VINSON, 1997), neste trabalho, este fator não foi influenciado pela idade do ovo. Este  
252 resultado é corroborado por PASTORI *et al.* (2010), os quais verificaram que a razão  
253 sexual da prole de *T. maxacalli* não foi afetada em ovos de *B. salubricola*, com idades  
254 entre zero e 72 horas. O mesmo já havia sido registrado para *T. maxacalli*, em ovos de  
255 *O. vesulia*, com idades de um, três e cinco dias (OLIVEIRA *et al.*, 2003) e para *T.*  
256 *cacoeciae*, em ovos de *L. botrana*, com idade de zero, 24, 48 e 72 horas de idade  
257 (MORENO *et al.*, 2009).

258 Fêmeas de *T. pretiosum* adquiriram experiência após 5 horas em contato com  
259 ovos de *S. frugiperda*, enquanto que as inexperientes e as expostas por um período  
260 mais curto parasitaram menor número de ovos. Da mesma forma, somente as  
261 experientes foram atraídas ao extrato de ovos deste hospedeiro. Observou-se também  
262 que fêmeas sem experiência parasitaram mais o hospedeiro de origem (*E. kuehniella*),  
263 enquanto que nas experientes, o parasitismo foi similar nas duas espécies.

264 Em holometábolos, a aquisição de aprendizado está relacionada às alterações  
265 do sistema nervoso, que podem ocorrer durante a fase juvenil e persistir na fase adulta  
266 (BJORKSTEN & HOFFMAN, 1998; BARRON & CORBET, 1999; TOGNON *et al.* 2013; 2014)  
267 ou ser desencadeada na fase adulta, após a experiência em novos hospedeiros  
268 (BARRON, 2001), como observado neste trabalho. Fêmeas de *Leptopilina heterotoma*  
269 Thompson, 1862 (Hymenoptera: Eucoilidae) expostas a larvas do hospedeiro  
270 *Drosophila subobscura* Sturtevant, 1942 (Diptera: Drosophilidae) juntamente com os  
271 odores de maçã, cogumelos ou de ambos, também responderam significativamente  
272 mais ao odor com o qual tiveram experiência (VET & SCHOONMAN, 1988). Em *T.*  
273 *pretiosum* e *T. atopovirilia* fêmeas expostas a ovos de *S. frugiperda* também

274 diminuíram o tempo de busca e parasitismo neste hospedeiro (BESERRA & PARRA,  
275 2003).

276 Este fato está provavelmente relacionado a alterações cerebrais que podem  
277 ocorrer já na fase adulta. Esta hipótese é corroborada pelo trabalho de BIEBER &  
278 FULDNER, (1979), os quais observaram um crescimento de 58% do protocérebro e 38%  
279 do deutocérebro na fase adulta de *Aleochara curtula* Goeze, 1777 (Coleoptera:  
280 Staphylinidae) sem a presença de estímulos aparentes. Fato semelhante foi constatado  
281 em adultos de *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera: Drosophilidae), com  
282 um crescimento de cerca de 15% do número total de fibras do corpo cogumelar nos  
283 primeiros sete dias de vida deste inseto (TECHNAU, 1984). Segundo o autor, as  
284 modificações estão relacionadas a três fatores: a) a idade do inseto, sendo que o  
285 incremento de fibras é observado nas primeiras duas semanas de vida e decresce a  
286 partir terceira semana; b) ao sexo, fêmeas apresentam maior desenvolvimento de fibras  
287 comparadas aos machos e c) a percepção de estímulos ambientais, adquiridos  
288 principalmente no momento do voo, associados à visão e ao olfato.

289 Neste estudo o aprendizado de fêmeas de *T. pretiosum* ocorreu tanto pela  
290 exposição destas aos ovos, como ao extrato de ovos do hospedeiro. Esta experiência  
291 provavelmente foi obtida a partir de sensilas localizadas nas antenas e/ou no ovipositor  
292 as quais, segundo LE REC & WAJNERBEG (1990), são estimuladas por compostos  
293 presentes sobre ou dentro do córion do hospedeiro (VINSON 1998; NURINDAH *et al.*,  
294 1999). *Trichogramma pretiosum* criado em ovos de *E. kuehniella*, também foi capaz  
295 de reconhecer e parasitar significativamente mais ovos de *A. gemmatalis*,  
296 *Pseudoplusia includens* Walker, 1857 (Lepidoptera: Noctuidae), *Diatraea saccharalis*  
297 Fabricius 1794 (Lepidoptera: Crambidae) e *S. frugiperda* após experiência com cada  
298 um dos ovos destas espécies, por 24 horas (SIQUEIRA *et al.*, 2011). Segundo STEIDLE

299 & VAN LOON (2002), esta é uma estratégia usada para lidar com a grande variabilidade  
300 de informações químicas presente no ambiente.

301 A experiência de um parasitoide está associada à aquisição de informações e  
302 estímulos os quais podem conferir vantagens adaptativas a este, aumentando sua  
303 performance reprodutiva e de busca por hospedeiros (WAJNBERG & COLAZZA, 2012).  
304 A aprendizagem também aumenta as chances de sobrevivência, pois nem sempre seu  
305 hospedeiro de origem se encontra disponível no ambiente (STRAND & VINSON, 1983).

306 Em um contexto aplicado, a principal vantagem do aprendizado na fase adulta  
307 está relacionada à possibilidade de manipular o comportamento de busca do  
308 parasitoide quando expostos aos voláteis do hospedeiro ao qual o controle se destina.  
309 VET & GROENEWOLD (1990) já haviam apontado esta, como a forma promissora de  
310 aplicação da aprendizagem no manejo de pragas, fato corroborado por MEINERS &  
311 PERI (2013).

312 O aprendizado de *T. pretiosum* a extrato e ovos de *S. frugiperda* indica que é  
313 possível modular a percepção química deste, direcionando o parasitoide para  
314 determinados hospedeiros. No entanto, são necessários estudos que avaliem esta  
315 hipótese em condições de campo, onde existe uma maior variedade de estímulos.

316

317

## AGRADECIMENTOS

318

319 À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e  
320 ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas  
321 bolsas concedidas aos autores.

322

323

## REFERÊNCIAS

324

325

326 ALMEIDA, G.D.; ZANUNCIO, J.C.; PRATISSOLI, D.; ANDRADE, G.S.; CECON, P.R. &  
 327 SERRÃO, J.E. 2010. Effect of azadirachtin on the control of *Anticarsia gemmatalis*  
 328 and its impact on *Trichogramma pretiosum*. **Phytoparasitica** **38**: 413-419.

329

330 AYRES, M. AYRES JÚNIOR.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. BioEstat 5.0 – Aplicações  
 331 Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Belém: Sociedade Civil  
 332 Mamirauá, 2007. 364p.

333

334 BARRON, A. B. The life and Death of Hopkins Host-Selection Principle. 2001. **Journal**  
 335 **of Insect Behavior** **14**(6): 725-737.

336

337 BARRON, A.B. & CORBET, S.A. 1999. Preimaginal conditioning in *Drosophila* revisited.  
 338 **Animal Behaviour** **58**(1): 621-628.

339

340 BESERRA, E. B. & PARRA, J.R.P. 2003. Comportamento de parasitismo de  
 341 *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley  
 342 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em posturas de *Spodoptera frugiperda*  
 343 (J.E.Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia** **47**(2):  
 344 205-209.

345

346 BIEBER, M. & FULDNER, D. 1979. Brain growth during the adult stage of a holometabolos  
 347 insect. **Naturwissenschaften** **66**: 426.

348

349 BJORKSTEN, T.A. & HOFFMANN, A.A. 1998. Plant cues influencing searching behavior  
 350 and parasitism in the egg parasitoid *Trichogramma* nr. Brassicae. **Ecological**  
 351 **Entomology** **23**(4): 355-362.

352

353 CARNEIRO, T.R.; FERNANDES, O.A. & CRUZ, I. 2006. Resposta olfativa de *Telenomus*  
 354 *remus* Nixon (Hymenoptera; Scelionidae) a voláteis emitidos por *Spodoptera*  
 355 *frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomotropical** **21**(3): 153-159

356

357 DAVIES, A. P.; CARR, M.C.; SCHOLZ, B.C.G., ZALUCKI, M.P. 2011.  
 358 Using *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for insect pest  
 359 biological control in cotton crops: an Australian perspective. **Austral Entomology**  
 360 **50**(4): 424-440.

361

362

363 GAZIT, Y.; LEWIS, J. & TUMLINSON, J.H. 1996. Arrestment of *Telenomus remus*  
 364 (Hymenoptera: Scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host,  
 365 *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biological Control** **6**: 283-290.

366

367 GOULART, M.M.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O. & DINIZ, A.F. 2011. Host preference of  
 368 the egg parasitoids *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* in laboratory.  
 369 **Revista Brasileira de Entomologia** **55**(1): 129-133.

370

- 371 HOPKINS, A.D. A discussion of H.G Hewitt's paper on Insect behavior. 1917. **Journal**  
 372 **of Economic Entomology** **10**: 92-93.  
 373
- 374 JACOB, H.S.; JODER, A. & BATCHELOR, K.L. 2006. Biology of *Stethynium* sp.  
 375 (Hymenoptera: Mymaridae), a native parasitoid of an introduced weed biological  
 376 control agent. **Environmental Entomology** **35**: 630-636.  
 377
- 378 LE REC, A. & WAJNBERG E. 1990. Sensory receptors of the ovipositor of *Trichogramma*  
 379 *maidis* (Hym. Trichogrammatidae). **Entomophaga** **35**: 293-299.  
 380
- 381 MIURA, K. & KOBAYASHI, M. 1998. Effects of host-eggs age on the parasitismo by  
 382 *Trichogramma chiloniis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an egg  
 383 parasitoid of the diamondback moth. **Applied Entomology and Zoology** **33**(2):  
 384 219-222.  
 385
- 386 MEINERS, T. & PERI, E. 2013. Chemical ecology of insect parasitoids: essential elements  
 387 for developing effective biological control programmes. *In*: **Chemical Ecology of**  
 388 **Insects Parasitoids**, WAJNBERG, E. & COLAZZA, S. Chichester: Wiley-Blackwell,  
 389 2012, 312p.  
 390
- 391 MORENO, F.; MORENO-PÉREZ, I.; MARCO, V. 2009. Effects of *Lobesia botrana*  
 392 (Lepidoptera: Tortricidae) egg age, density, and UV treatment on parasitismo and  
 393 development of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae).  
 394 **Physiological Ecology** **38**(5): 1513-1520.  
 395
- 396 NURINDAH, B.W.C. & GORDH, G. 1999. Experience acquisition by *Trichogramma*  
 397 *australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Australian Journal of**  
 398 **Entomology** **38**: 15-119.  
 399
- 400 OLIVEIRA, H.N.; PRATISSOLI, D.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. 2003. Influência da  
 401 idade dos ovos de *Oxydia vesulia* no parasitismo de *Trichogramma maxacalli*.  
 402 **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **48**(4): 551-554.  
 403
- 404 PAK, G.A.; BUIS, H.C.E.M.; HECK, I.C.C. & HERMANS, M.L.G. 1986. Behavioural  
 405 variations among strains of *Trichogramma* spp.: host-age selection. **Entomologia**  
 406 **Experimentalis et Applicata** **40**: 247-258.  
 407
- 408 PARRA, J.R.P. 2010. Egg parasitoids commercialization in the new world. *In*: CÔNSOLI,  
 409 F.L. PARRA, J.R.P. & ZUCCHI R.A. **Egg parasitoids in Agroecosystems with**  
 410 **emphasis on *Trichogramma***. Springer, London, p.373-388.  
 411
- 412 PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico.**  
 413 Piracicaba, FEALQ, 2001, 137p.  
 414
- 415 PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para  
 416 a produção de *Trichogramma*. *In*: PARRA, J.R.P. & ZUCCHI, R.A (Ed.)  
 417 ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba, Fealq, 1997. p.121-  
 418 150.  
 419

- 420 PASTORI, P.L.; MONTEIRO, L.B.; BOTTON, M.; PRATISSOLI, L. 2010. Efeito da idade do  
421 parasitoide e do hospedeiro na reprodução de *Trichogramma pretiosum*  
422 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Bonagota salubricola* (Myrick)  
423 (Lepidoptera: Tortricidae). **Arquivos do Instituto Biológico** 77(2): 349-353.  
424
- 425 PIZZOL, J.; DESNEUX, N.; WAJNBERG, E. & THIÉRY, D. 2012. Parasitoid and host egg ages  
426 have independent impact on various biological traits in a *Trichogramma* species.  
427 **Journal of Pest Science** 85: 489-496.  
428
- 429 RUBERSON, J.R. & KRING, T. 1993. Parasitism of developing eggs by *Trichogramma*  
430 *pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): host age preference and suitability.  
431 **Biological Control** 3: 39-46.  
432
- 433 TSCHMIDT, J.M. & SMITH, J.J.B. 1988. Host volume measurement by *Trichogramma*  
434 mechanism and application to biological control. In: International Symposium on  
435 *Trichogramma* and Other egg Parasitoids. Paris: INRA, 1988, p. 239-248.  
436
- 437 SIQUEIRA, J.R.; BUENO, R.C.O. DE F.; BUENO, A.F. & VIEIRA, S.S. 2011. Preferência  
438 hospedeira do parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural** 42(1):  
439 1-5.  
440
- 441 STEIDLE, J.L.M. & VAN LOON, J.J.A. 2002. Chemoecology of parasitoid and predator  
442 oviposition behavior. In: HILKER, M. & MEINERS, T. (Eds.) **Chemoecology of Insect**  
443 **Eggs and Eggs Deposition**. Berlin: Blackwell Publishing, 2002. p. 291-317.  
444
- 445 STINGUEL, P.; CARVALHO, J.R.; PRATISSOLI, D.; ZUIM, V. & MARDGAN, L. 2013. Efeito  
446 da idade dos ovos de *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae) sobre o parasitismo  
447 de *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) com diferentes  
448 idades. **Nucleus** 10(2): 265-274.  
449
- 450 STRAND, M.R. & VINSON, S.B. 1983. Analysis of an egg recognition kairomone of  
451 *Telenomus heliothisdis* (Hymenoptera: Scelionidae). Isolation and host function.  
452 **Journal of Chemical Education** 9: 423-432.  
453
- 454 STRAND, M.R. & VINSON, S.B. 1986. Host acceptance behavior of *Telenomus heliothisdis*  
455 (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae).  
456 **Annals of the Entomological Society of America** 76(4): 781-785.  
457
- 458 SUJII, E.R.; COSTA, M.L.; PIRES, C.S.S.; COLAZZA, S. & BORGES, M. 2002. Inter and  
459 intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex.  
460 **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 37(11): 1541-1549.  
461
- 462 SUZUKI, Y.; TSUJI, H. & SASAKAWA, M. 1984. Sex allocation and effects of  
463 superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma*  
464 *chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Animal Behavior** 32: 478-484.  
465
- 466 TECHNANU, G.M. 1984. Fiber number in the mushroom bodies of adult *Drosophila*  
467 *melanogaster* depends on age, sex and experience. **Journal Neurogenetics** 21:  
468 183-196.

- 469  
470 TOGNON, R. SANT'ANA. J. & JAHNKE.S.M. 2014. Influence of original host on  
471 chemotaxic behaviour and parasitismo in *Telenomus podisi* Asmead (Hymenoptera:  
472 Platygastriidae). **Bulletin of Entomological Research** **104**: 781-787.  
473
- 474 TOGNON, R.; SANT'ANA.J. & JAHNKE.S. M. 2013. Aprendizagem e memória de  
475 *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygastriidae). **Iheringia, Série Zoologia** **103**(3):  
476 266-271.  
477
- 478 VET, L.E.M. & SCHOOLMAN, G. 1988.The influence of previous foraging experience on  
479 microhabitat acceptance in *Leptopilina heterotoma*.**Journal of Insect Behavior**  
480 **1**(4): 387-392.  
481
- 482 VET, L.M.E. & GROENEWOLD, A.W. 1990. Semiochemicals and learning in parasitoids.  
483 **Journal of Chemical Ecology** **16**(11): 3119-3135.  
484
- 485 VINSON, S.B. 1976. Host selection by insect parasitoids.**Annual Review of Entomology**  
486 **21**: 109-133.  
487
- 488 VINSON, S.B. 1998. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and  
489 a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species.  
490 **Biological Control** **11**(2): 79-96.  
491
- 492 VINSON, S.B. Comportamento de seleção hospedeira de parasitoides de ovos, com ênfase  
493 na família Trichogrammatidae. In: PARRA, J.R.P. & ZUCCHI, R.A.**Trichogramma e**  
494 **o controle biológico aplicado**, Piracicaba: Fealq: 1997. p.67-210.  
495
- 496 VOLPE, H.X.L.; BORTOLI, R.T.; THULER, C.L.T.P.; VIANA, C.L.T.P.; GOULART, R.M.  
497 2006. Avaliação de características biológicas de *Trichogramma pretiosum* Riley  
498 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criado em três hospedeiros. **Arquivos do**  
499 **Instituto Biológico** **73**(3): 311-315.  
500
- 501 WAJNBERG, E. & COLAZZA, S. **Chemical Ecology of Insect Parasitoids**. Chichester:  
502 Wiley-Blackwell, 2012, 312p.  
503
- 504 ZHANG, J.J.; REN, B.Z.; YUAN, X.H.; ZANG, L.S.; RUAN, C.C.; SUN, G. & SHAO, X. 2014.  
505 Effects of host-egg ages on host selection and suitability of four Chinese  
506 *Trichogramma* species, egg parasitoids of the rice striped stem borer, *Chilo*  
507 *suppressalis*. **BioControl** **59**(2): 159-166.  
508
- 509 ZUIM, V.; PAES, J.P.P.; CARVALHO, J.R.; STINGUEL, P. & PRATISSOLI, D.2013.  
510 Parasitismo de *Trichogramma exiguum*: influência do desenvolvimento  
511 embrionário dos ovos e da idade do parasitoide. **Revista Verde** **8**(1): 211-217.  
512
- 513
- 514

515

516 **Tab. I.** Média de ovos parasitados ( $\pm$  EP), duração média do desenvolvimento  
 517 (dias), razão sexual da prole, número de parasitoides emergidos por ovo de  
 518 *Trichogramma pretiosum* expostos a ovos de *Spodoptera frugiperda*, de diferentes  
 519 idades ( $25 \pm ^\circ\text{C}$ ,  $65 \pm 10\%$  UR, fotofase 12 horas) ( $n = 15$ ).

| Idades<br>(h) | Ovos<br>Parasitados <sup>1</sup> | Desenvolvimento<br>(dias) <sup>1</sup> | Razão sexual <sup>2</sup> |
|---------------|----------------------------------|--|---------------------------|
| 24            | 18,6 $\pm$ 0,38 a                | 8,6 a                                  | 0,46                      |
| 48            | 16,6 $\pm$ 0,36 b                | 9,1 a                                  | 0,50                      |
| 72            | 14,4 $\pm$ 0,36 c                | 10,0 b                                 | 0,49                      |

520 <sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não se diferem entre si pelo teste  
 521 de Kruskal-Wallis, a 5% de significância.

522 <sup>2</sup>ns = não significativa entre si pelo teste de Kruskal-Wallis, a 5% de significância.  
 523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

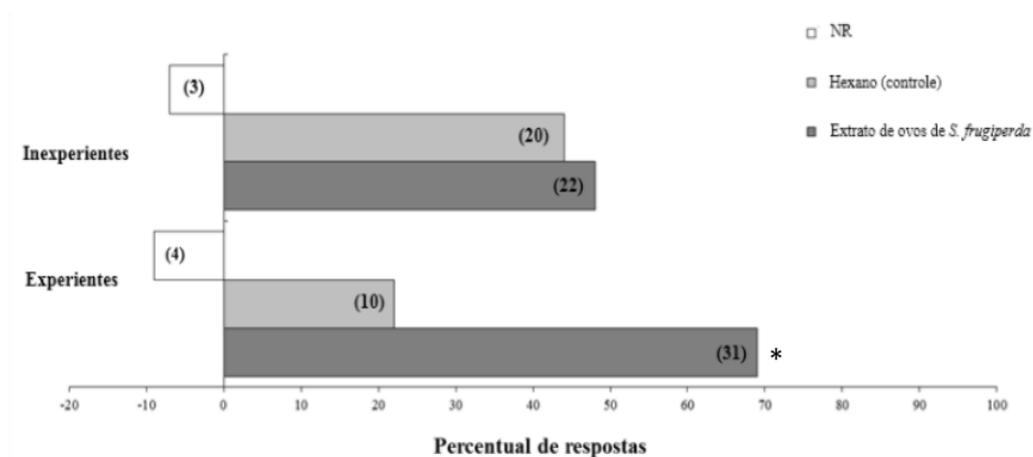
534

535

536

537

538



**Fig. 1.** Percentuais de respostas quimiotáticas de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* (até 24 horas de idade), com e sem experiência a extrato de ovos de *Spodoptera frugiperda* testadas e olfatômetro de dupla escolha a extrato de ovos de *S. frugiperda* e hexano (controle). Números entre parênteses representam a

539

540

541

542

543

544

545

546

547

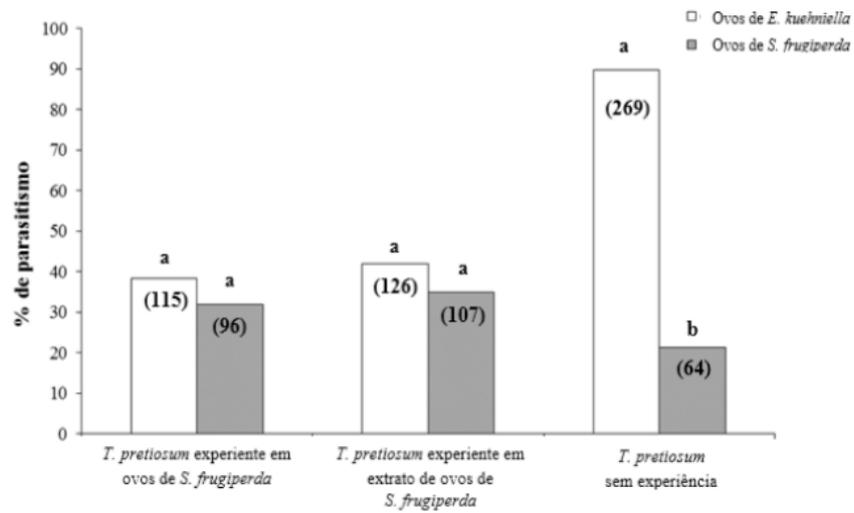
548

549

550

551

552



553

**Fig. 2.** Percentual de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* inexperientes e experientes em ovos ou extratos de ovos de *Spodoptera frugiperda* (n = 30) expostos simultaneamente a ovos de *Ephestia kuehniella* e *Spodoptera frugiperda*. Valores entre parênteses indicam o número de insetos emergidos ( $p < 0,05$ ).

554

555

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos apontaram que os danos de *S. frugiperda* foram semelhantes entre milho crioulo e convencional. A partir desse resultado é possível propor que alguns dos manejos aplicados para o controle dessa espécie em milho convencional, possam ser ajustados para milho crioulo, já que são escassos os trabalhos que avaliam a presença de *S. frugiperda* nessas variedades. Apesar de o nível de danos em milho *Bt*, ser menor do que em crioulo e convencional, a presença da toxina Cry1F, não foi suficiente para manter os danos abaixo do nível de controle. Esse fato aponta uma preocupação quanto a presença de lagartas resistentes e a utilização continuada de variedades *Bt*.

A partir da avaliação da infestação de *S. frugiperda* e *H. zea* nas diferentes variedades, foi possível observar como a população dessas espécies se manifesta ao longo do desenvolvimento do cultivo. Esse conhecimento é essencial para gerar informações ao produtor, visando a tomada de decisão, escolha das medidas de controle e momento ideal para a realização dos manejos.

O cultivo de sementes de milho crioulo é uma alternativa viável e sustentável, principalmente ao agricultor familiar. Variedades crioulas por apresentam características rústicas de desenvolvimento. Podem ser cultivadas em um sistema de baixo índice tecnológico. Outra vantagem é que sementes crioulas, podem ser

produzidas e selecionadas, dentro da propriedade, pelo próprio agricultor, além de apresentarem um baixo custo de aquisição. Por exemplo, o custo das sementes utilizadas nesse trabalho foi de R\$ 3,00 kg para a variedade crioula (Lombo Baio), R\$ 10,00 kg para a variedade convencional (Semilha S395) e R\$ 30,00 kg para a variedade *Bt* (Morgan Roundap 30A77). No presente estudo somente uma variedade crioula foi estudada. No entanto, existe uma diversidade muito grande de sementes crioulas, cada qual com características adaptativas muito específicas. São importantes estudos que avaliem a adaptação das variedades à diferentes regiões, climas, solos e resistência a pragas.

A presença de parasitismo natural de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Helicoverpa zea*, indica que essa espécie foi capaz de encontrar e parasitar seu hospedeiro nas três variedades estudadas. A associação do parasitismo natural conjuntamente com a liberação massal de parasitoides é uma ferramenta viável e sustentável para o controle de pragas no campo. Além disso, utilização de inimigos naturais para o controle de praga, preconiza o conceito de uma agricultura limpa e livre de agrotóxicos. No entanto, são necessários mais estudos que avaliem o momento ideal para a realização das liberações, de acordo com a infestação da praga alvo em diferentes variedades de milho e em diferentes regiões.

Os testes relacionados a experiência, exposição e quimiotaxia fornecem subsídios sobre o comportamento de busca, parasitismo e aprendizagem de *T. pretiosum* em fase adulta. Considerando os resultados obtidos, foi possível observar que mesmo sem um condicionamento pré-imaginal, fêmeas de *T. pretiosum*, provenientes de hospedeiro alternativo, foram capazes de adquirir aprendizado em um novo hospedeiro através de uma experiência bem sucedida. Apesar de algumas questões se tornarem relevantes. Qual seria a melhor maneira incluir o aprendizado de

fêmeas adultas de *T. pretiosum* em criações massais? Quais são compostos químicos presentes em extrato de ovos de *S. frugiperda*, capazes de atrair o parasitoide? Por quanto tempo o aprendizado adquirido em fase adulta persistirá? Levando em consideração a diversidade de odores e voláteis presentes em campo, é possível que um parasitoide adulto, com experiência previa a liberação, encontre mais facilmente seu hospedeiro e aumente a eficácia de parasitismo?

Todos esses conhecimentos visam aumentar a eficácia do parasitoide em campo, pois, quando criado em um mesmo hospedeiro por várias gerações, este pode tornar-se especialista, inviabilizando sua utilização em programas de controle biológico. O maior conhecimento das interações hospedeiro-parasitoide poderá auxiliar em programas de controle biológico, visando aumentar a eficácia da utilização de *T. pretiosum* no controle de pragas.

## 6 APÊNDICE

APÊNDICE 1. Croqui área experimental, FEPAGRO- Centro de Pesquisa em Florestas, Santa Maria, RS.

