

## Efeito de *Bacillus thuringiensis* (Bacillaceae) sobre parâmetros biológicos do parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae)

Effect of *Bacillus thuringiensis* (Bacillaceae) on biological parameters of *Trichogramma pretiosum* (Trichogrammatidae)

Hugo JG Santos Jr<sup>1</sup>, Edmilson J Marques<sup>2</sup>, Dirceu Pratisoli<sup>1</sup>, Thiago G Kloss<sup>1,\*</sup>, Lorena C Machado<sup>1</sup>, Gilberto S Andrade<sup>3</sup>

1. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alto Universitário, s/n, 29500-000, Alegre-ES. 2. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Entomologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE. 3. Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Rodovia BR 101 Norte, Km. 60, Litorâneo, 29932-540, São Mateus, ES.

\*Autor para correspondência: Thiago G Kloss ([thiagokloss@yahoo.com.br](mailto:thiagokloss@yahoo.com.br))

**Resumo** A interação de agentes de controle biológico é considerada uma excelente alternativa para o controle de insetos que podem causar danos econômicos. Porém, os efeitos da associação conjunta de inimigos naturais podem promover respostas indesejáveis e até mesmo favorecer o estabelecimento de insetos-praga no ambiente. Sendo assim, este trabalho teve como principal objetivo avaliar os efeitos de alguns isolados de *Bacillus thuringiensis* sobre as características biológicas do parasitoide *Trichogramma pretiosum*, em ovos do seu hospedeiro natural *Helicoverpa zea* (Lepidoptera). O estudo foi conduzido em laboratório, sobre condições térmicas de  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h. Para analisar os efeitos dos isolados de Bt, fêmeas recém-emergidas de *T. pretiosum* foram individualizadas em tubos de Duran, contendo como substrato alimentar gotículas de mel misturadas com a suspensão dos respectivos isolados de *B. thuringiensis* (proporção 1:1), de acordo com a CL50 de cada isolado para *H. zea*. Não houve influência dos isolados nas características biológicas analisadas. Entre os resultados encontrados verificou-se níveis de parasitismo acima de 50%, comprovando que a associação destes agentes pode ser uma excelente medida no manejo de *H. zea* nos mais distintos agroecossistemas.

**Palavras-chaves:** Controle biológico, interação, entomopatógenos, parasitismo.

**Abstract** The interaction of biological control agents is considered to be an excellent alternative to control insects that can cause economic damages. However, the effects of the joint association of natural enemies can promote undesirable responses and can favor the establishment of pest insects in the environment. Therefore, the

objective of this study was to evaluate the effects of some isolates of *Bacillus thuringiensis* on biological characteristics of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* in eggs of its natural host, *Helicoverpa zea* (Lepidoptera). The studies were held in a laboratory on thermal conditions of  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ , RH  $65 \pm 5\%$  and photophase of 14 hours. To analyze the effects of isolated *B. thuringiensis*, newly emerged females of *T. pretiosum* were individualized in Duran tubes, containing alimentary substrate with drops of honey mixed with the suspension of the isolates of *B. thuringiensis* (1:1), according to LC50 of each isolates of *H. zea*. There wasn't any influence of isolates in the biological characteristics analyzed. The results verified that the parasitism levels were above 50%, thus proving that the association of these agents can be an excellent way to manage the *H. zea* in different agroecosystems.

**Keywords:** Biological control, interaction, entomopathogens, parasitism.

### Introdução

A atuação conjunta de inimigos naturais é considerada uma excelente alternativa no manejo de insetos-pragas em diversos agroecossistemas (Polanczyk *et al.* 2006), sendo que este tipo de interação pode ocorrer de forma natural ou de maneira artificial pela manipulação humana. Artificialmente essas interações podem ocorrer por meio de liberações inoculativas ou inundativas de parasitoides e predadores ou pela aplicação de entomopatógenos. A ocorrência delas nas culturas pode incrementar o controle biológico de insetos-praga, porém como qualquer tipo de interação, os efeitos

podem ser favoráveis ou não, sendo considerado de ação sinérgica, aditiva ou antagônica (Alves 1998).

Alguns insetos-praga são caracterizados como polípagos, como *Helicoverpa zea* que é considerada praga de inúmeras culturas, dentre as quais o algodão, milho e tomate são as que apresentam maior importância econômica (Gould et al. 2002, Nault e Speese III 2002, Giolo et al. 2006, Lebedenco et al. 2007). Porém, estes cultivos são parcialmente protegidos pela atuação de inimigos naturais, entre estes o parasitoide de ovos do gênero *Trichogramma* e a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (Oatman et al. 1983, Sá e Parra 1994, Losey et al. 1995, Medeiros et al. 2003, Velásquez e Gerding 2006).

O conhecimento sobre a interação entre espécies do gênero *Trichogramma*, *B. thuringiensis* e insetos-alvo, ainda são incipientes no Brasil. Os trabalhos percussores nesta linha ratificam a importância da associação destes agentes em programas de manejo integrado de pragas (Marques e Alves 1995, Marques e Alves 1996, Morandi Filho et al. 2006, Polanczyk et al. 2006, Pratisoli et al. 2006), porém avaliações detalhadas dessa interação não são registradas.

Por sua vez, na literatura internacional existem inúmeros trabalhos relacionados ao estudo das interações entre *B. thuringiensis* e inimigos naturais (Hafez et al. 1995, Mertz et al. 1995, Erb et al. 2001, Mansour 2004, Ruiu et al. 2007). Dentre estes relatos são evidenciados alguns casos da utilização conjunta deste entomopatógeno com espécies do gênero *Trichogramma*, como o de Campbell et al. (1991), que não registraram influência na capacidade de parasitismo das espécies *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma exiguum* e o de Oatman et al. (1983), que também verificaram a ausência de efeito do *B. thuringiensis* na capacidade de parasitismo dos ovos de *H. zea*. Entretanto esses estudos não realizaram análises das demais características biológicas relevantes para o sucesso na atuação dos parasitoides em campo, como viabilidade dos indivíduos, razão sexual e número de indivíduos emergidos por ovo.

Em demais estudos verifica-se ainda que em alguns casos a utilização destes inimigos naturais conjuntamente não acrescenta nenhum efeito no controle de insetos-praga, como verificado por Mertz et al. (1995) com a utilização conjunta de *B. thuringiensis* e *Trichogramma brassicae* visando o controle de *Ostrinia nubilalis* e por Ulrichs et al. (2001), visando o controle de alguns insetos-praga de feijão por meio do uso conjunto de *B. thuringiensis* e *Trichogramma evanescens*.

Sendo assim, é possível perceber que estudos que visem avaliar o comportamento de inimigos naturais em relação a insetos-praga são de primordial relevância antes de sua utilização aplicada, desta forma este trabalho teve como principal objetivo avaliar os efeitos de diferentes isolados de *B. thuringiensis* sobre parâmetros biológicos relevantes para o sucesso de *T. pretiosum* em campo, visando validar a sua utilização para o controle de *H. zea* e consequentemente incorporá-los em programas de manejo integrado de *H. zea*.

## Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia do Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário (NUDEMAFI) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES.

### Obtenção e multiplicação de *Trichogramma pretiosum*

A linhagem de *T. pretiosum* (Tp11) utilizada nesse estudo foi proveniente do biotério de *Trichogramma* do NUDEMAFI, sendo selecionada com base em estudos prévios que evidenciaram o seu potencial biológico. A multiplicação do parasitoide foi realizada em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuebniella* (Lepidoptera) aderidos a retângulos de cartolina azul celeste de 8,0 x 2,0 cm com goma arábica a 10% e inviabilizados por exposição à lâmpada germicida por 50 minutos. O parasitismo foi permitido por 24h, utilizando-se como câmara de parasitismo, tubos de vidro de 8,5 x 2,5 cm, os quais receberam ainda gotículas de mel na parte interna para alimentação dos adultos (Parra 1997).

O hospedeiro alternativo foi criado em dieta à base de farelo de trigo e milho na proporção de 2:1, acrescida de 30 gramas de levedura de cerveja por kg de dieta. A dieta foi previamente homogeneizada e distribuída em caixas plásticas de 30 x 25 x 10 cm e em cada caixa foram distribuídos aleatoriamente 0,3 g de ovos desse hospedeiro. Os adultos emergidos foram coletados diariamente e transferidos para gaiolas de tubo PVC de 20 cm de diâmetro por 25 cm de altura, contendo no seu interior tiras de tela de nylon, dobradas em zig-zag, para a oviposição. A parte superior das gaiolas foi fechada com tela de tecido voil para evitar a fuga dos adultos. Os ovos foram coletados diariamente durante cinco dias e armazenados em câmara climatizada a uma temperatura de  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### Criação de *Helicoverpa zea*

A coleta das lagartas de *H. zea* foi realizada em um plantio de milho localizado no município de Alegre-ES ( $20^\circ 45' 50''$  S,  $41^\circ 31' 58''$  O). As lagartas foram individualizadas em potes plásticos (10 cm de diâmetro x 8 cm de altura), sendo preenchidos em 1/4 com areia esterilizada, para permitir aos indivíduos a construção do abrigo para passarem ao estágio de pupa. Diariamente foi oferecido alimento fresco (espiga de milho) para as lagartas, até elas atingirem o estágio pupal. As pupas foram mantidas em gaiolas de PVC (20 cm de diâmetro x 25 cm de altura) revestidas internamente com folha de papel branco, sendo as extremidades fechadas com tecido do tipo voil. Após a emergência dos adultos, uma solução de mel a 10% foi oferecida diariamente como substrato alimentar. Os ovos de *H. zea* depositados na parede interna dos tubos e no tecido foram coletados e acondicionados em recipientes plásticos. Após a eclosão, as lagartas foram individualizadas em tubos de vidro (8,5 x 2,5 cm) preenchidos em até 1/4 de seu volume com dieta artificial à base de feijão, germe de trigo e farelo de soja (Giolo et al. 2006). Após o resfriamento da dieta, as lagartas foram transferidas para os

tubos, sendo mantidas nesses recipientes até o período pupal. Em seguida, elas foram removidas e acondicionadas novamente em gaiolas de PVC com as mesmas dimensões descritas anteriormente, até a emergência dos adultos. Os ovos provenientes dessa segunda geração de adultos é que foram utilizados no estudo. A criação de todos os estágios foi desenvolvida em sala climatizada ( $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h).

#### Obtenção e multiplicação dos isolados de *Bacillus thuringiensis*

Foram utilizados 7 isolados de *B. thuringiensis*, Bt 11, Bt 21, Bt 23, Bt 25, Bt 26, Bt 27, Bt 28 e dois produtos comerciais, um a base de *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Xentari® WG - Sumitomo Chemical do Brasil Ltda) e o outro a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Dipel® PM - Sumitomo Chemical do Brasil Ltda). Os isolados utilizados neste experimento foram provenientes da ESALQ/USP, os quais fazem parte do banco de entomopatógenos do NUDEMAFI do Centro de Ciências Agrárias da UFES. A seleção destes isolados foi realizada através de bioensaios de patogenicidade à *H. zea*, onde foram estimadas as concentrações letais de cada isolado, capazes de matar 50% dos indivíduos (CL50).

A multiplicação dos isolados e do produto Xentari® foram realizados em meio LB (extrato de levedura, peptona, cloreto de sódio, ágar e água destilada), procedimento com duas fases distintas: o isolamento da bactéria da fonte de inóculo (papel filtro), por um período de 24 a 48 horas e; multiplicação em placas cheias, durante 72 horas; ambas as fases foram realizadas em temperatura de  $28^\circ\text{C}$ .

Posteriormente, as colônias foram raspadas das placas com auxílio de espátula e transferidas para tubos Falcon, contendo 10 mL de água destilada estéril. Com o objetivo de eliminar as toxinas indesejáveis e restos de meio de cultura procedeu-se a centrifugação dos respectivos isolados por 20 minutos por três vezes (6.000 rpm), assim como do material proveniente do produto a base de *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Bta). Após a última centrifugação, o material de cada isolado foi ressuspensão em água destilada estéril e com auxílio de câmara de Neubauer® e microscópio óptico, a concentração foi ajustada para a CL50 de cada isolado. A CL50 do produto a base de *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) foi ajustada de acordo com as especificação do fabricante, porém esse procedimento não foi possível de ser adotado para o produto Xentari®, pois não existiram especificações sobre a concentração do ingrediente ativo/grama. Sendo assim, foi necessário isolar a bactéria e proceder a metodologia adotada para os isolados citada anteriormente.

#### Efeitos de *B. thuringiensis* sobre *Trichogramma pretiosum*

Para condução do experimento, foram individualizadas, para cada tratamento (Bt 11, Bt 21, Bt 23, Bt 25, Bt 26, Bt 27, Bt 28, Dipel®, Xentari® e Testemunha), 20 fêmeas recém-emergidas do parasitoide em tubos de vidro de 3,5 de comprimento x 0,7 cm de diâmetro, contendo uma gotícula de mel inoculado com a CL50 de cada isolado, na proporção 1:1, suspensão bacteriana e mel respectivamente. Para a testemunha foi oferecido apenas mel puro.

Cada fêmea recebeu uma cartela com 30 ovos (0 - 24h de idade) de *H. zea*, fixados em cartolina azul celeste de 3,0 x 0,5 cm com auxílio de um pincel fino, utilizando goma arábica a 10%. Este procedimento foi realizado em um microscópio estereoscópio. Após 24h de exposição aos ovos, as fêmeas foram removidas. As cartelas contendo os ovos parasitados foram mantidas nos tubos de vidro em câmara climatizada (Temperatura:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $65 \pm 5\%$  e fotofase de 14h). Durante os primeiros dias, o experimento foi vistoriado para eliminar as lagartas recém eclodidas de ovos não parasitados, com intuito de evitar o canibalismo dos ovos parasitados.

Após a morte dos descendentes, avaliou-se sob microscópio estereoscópio o número de ovos parasitados; ovos com orifício; parasitoides emergidos e número de machos e fêmeas dos descendentes. Posteriormente, o número de ovos parasitados e a viabilidade foram expressos em porcentagem; o número total de parasitoides foi dividido pelo número de ovos com orifício, para se determinar a relação do número de parasitoides por ovo e a razão sexual foi determinada através da proporção de fêmeas na população.

Os parâmetros analisados foram: porcentagem de parasitismo, viabilidade de emergência, razão sexual, número de indivíduos por ovo e número de parasitoides por tratamento. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 20 repetições (fêmeas) para cada tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade sempre que necessário.

---

## Resultados

A capacidade de parasitismo de *T. pretiosum* não foi alterada significativamente mediante o fornecimento de mel misturado com *B. thuringiensis* como suprimento alimentar ( $p = 0,35$ ;  $F = 2,12$ ;  $gl = 9$ ), sendo evidenciado porcentagens de parasitismo entre 42 e 54,66% (Tabela 1).

A viabilidade de emergência alcançou valores superiores a 90% em todos os tratamentos, não havendo diferenciação entre eles ( $p = 0,06$ ;  $F = 0,12$ ;  $gl = 9$ ) (Tabela 1). Os valores obtidos para a razão sexual também não diferiram entre os tratamentos analisados ( $p = 0,62$ ;  $F = 1,89$ ;  $gl = 9$ ), com índices de 0,54 a 0,81, assim como o número de parasitoides emergidos em cada tratamento ( $p = 0,29$ ;  $F = 2,19$ ;  $gl = 9$ ) (Tabela 1).

A única característica que apresentou diferença entre os tratamentos foi o número de adultos emergidos por ovo ( $p < 0,01$ ;  $F = 0,70$ ;  $gl = 9$ ), sendo que o número médio de adultos variou entre 1,21 a 1,57 (Tabela 1).

---

Tabela 1 Efeito de *Bacillus thuringiensis* em parâmetros biológicos de *Trichogramma pretiosum* parasitando ovos de *Helicoverpa zea*. Temperatura: 25 ± 1° C, UR de 65 ± 5% e fotofase de 14h.

Tratamentos	Parasitismo <sup>1</sup> (%)	Viabilidade de emergência <sup>1</sup> (%)	Razão sexual <sup>1</sup>	Indivíduos/ovo <sup>2</sup>	Parasitoides/tratamento <sup>1</sup>
Testemunha	54,66 ± 0,03 a	99,70 ± 0,17 a	0,81 ± 0,03 a	1,30 ± 0,04 ab	21,30 ± 0,94 a
Tp11 + Bt 11	52,33 ± 0,03 a	99,30 ± 0,38 a	0,74 ± 0,03 a	1,45 ± 0,05 ab	22,60 ± 1,10 a
Tp11 + Bt 21	45,66 ± 0,12 a	99,00 ± 0,54 a	0,54 ± 0,12 a	1,51 ± 0,07 ab	21,20 ± 2,22 a
Tp11 + Bt 23	54,66 ± 0,04 a	99,20 ± 0,45 a	0,74 ± 0,04 a	1,50 ± 0,06 ab	24,00 ± 0,84 a
Tp11 + Bt 25	54,66 ± 0,02 a	99,20 ± 0,45 a	0,80 ± 0,02 a	1,21 ± 0,03 b	23,30 ± 0,77 a
Tp11 + Bt 26	47,33 ± 0,02 a	99,20 ± 0,49 a	0,78 ± 0,02 a	1,38 ± 0,05 ab	19,50 ± 1,41 a
Tp11 + Bt 27	42,00 ± 0,02 a	99,10 ± 0,49 a	0,73 ± 0,02 a	1,57 ± 0,07 a	19,60 ± 1,50 a
Tp11 + Bt 28	50,66 ± 0,08 a	99,40 ± 0,34 a	0,70 ± 0,08 a	1,50 ± 0,08 ab	21,60 ± 1,26 a
Tp11 + Dipel <sup>®</sup>	51,00 ± 0,01 a	99,20 ± 0,49 a	0,80 ± 0,01 a	1,36 ± 0,03 ab	20,80 ± 0,73 a
Tp11 + Xentari <sup>®</sup>	53,33 ± 0,08 a	99,30 ± 0,42 a	0,70 ± 0,08 a	1,32 ± 0,06 ab	21,10 ± 1,54 a

<sup>1</sup>Médias (± EP) seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Médias (± EP) seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

## Discussão

A ausência de diferença na porcentagem de parasitismo entre os tratamentos, inclusive para os produtos comerciais (Tabela 1), demonstra que a CL50 correspondente a *H. zea* não afeta a taxa de parasitismo de ovos da praga pelo parasitoide. Esse fato concorda com os resultados obtidos por Wang *et al.* (2007), os quais verificaram que o parasitismo de ovos de *Ostrinia furnacalis* não foi prejudicado pela interação de *B. thuringiensis* com o parasitoide *Trichogramma ostriniae* através de fornecimento de suspensão com mel e pólen oriundo de milho Bt. Geng *et al.* (2006), também constataram que *Trichogramma chilonis* alimentados com pólen proveniente de algodão Bt não reduz sua capacidade de parasitismo, longevidade e razão sexual, bem como a longevidade de seus descendentes.

Entretanto, valores superiores de parasitismo foram encontrados por Velásquez e Gerding (2006) ao avaliar o potencial de *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*, obtendo 63,25% de parasitismo, entretanto a metodologia adotada por estes pesquisadores variou em relação à usada nesta pesquisa, o que pode ter sido a razão da diferença nos valores de parasitismo entre os trabalhos, pois Velásquez e Gerding (2006) ofereceram apenas 20 ovos desse hospedeiro.

A viabilidade de emergência, que atingiu valores superiores a 90% (Tabela 1), também demonstrou a falta de efeito dos isolados de *B. thuringiensis* no desenvolvimento da linhagem Tp11 de *T. pretiosum*, evidenciando o potencial do uso integrado entre esses agentes. Esses valores estão de acordo com os resultados obtidos por Sá e Parra (1994) e Pratisoli e Oliveira (1999), que

obtiveram viabilidade de 95 e 91,6% respectivamente, o que evidencia a adequação desse hospedeiro para o desenvolvimento de *Trichogramma*. Mais recentemente, Wang *et al.* (2007) comprovaram que a emergência de *T. ostriniae* não foi prejudicada pelo fornecimento de substrato alimentar contendo pólen oriundo de milho Bt, com valores similares ao encontrado no presente trabalho. Ao contrário dos resultados obtidos por Pratisoli *et al.* (2006), que registraram efeitos negativos na interação entre alguns isolados de *B. thuringiensis* e *Trichogramma pratissolii*.

Os valores obtidos para a razão sexual podem ser considerados satisfatórios para o uso em programas de controle biológico (Navarro 1998), sendo inclusive superiores ao encontrado por Sá e Parra (1994), para linhagens de *T. pretiosum* em ovos de *H. zea*, obtidos sem associações com agentes biológicos, como *B. thuringiensis*. O número de adultos emergidos por ovo que apresentou pequena diferença entre os tratamentos, também pode ser relacionado como um fator positivo para o uso desses parasitoides em programas de controle biológico. Beserra *et al.* (2003), ressalta que um menor número de adulto por ovo, resulta em indivíduos mais vigorosos, decorrente do aumento na disponibilidade de nutrientes e pode resultar em maior eficiência no controle de insetos-praga.

Sendo assim, concordando com os autores que sugerem a utilização conjunta de *B. thuringiensis* e parasitoides do gênero *Trichogramma* no controle integrado de insetos-praga (Campbell *et al.* 1991, Losey *et al.* 1995, Mansour 2004, Polanczyk *et al.* 2006) como *H. zea*, pois os resultados obtidos demonstram que a interação dos isolados e dos produtos formulados de *B. thuringiensis* não foram prejudiciais ao desenvolvimento da linhagem Tp11 de *T.*

pretiosum. Sugerimos que estudos futuros devem ser realizados no âmbito da utilização aplicada em campo desta linhagem com os respectivos isolados e produtos comerciais, o que poderá fornecer uma alternativa viável no manejo integrado de *H. zea*, em agroecossistemas que este inseto-praga cause prejuízos.

## Agradecimentos

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

## Referências

- Alves SB (1998) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba, FEALQ.
- Beserra EB, Dias CTS, Parra JRP (2003) Características biológicas de linhagens de *Trichogramma pretiosum* desenvolvidas em ovos de *Spodoptera frugiperda*. **Acta Scientiarum Agronomy** 25: 479-483.
- Campbell CD, Walgenbach JF, Kennedy GG (1991). Effect of parasitoids on lepidopterous pests in insecticide treated and untreated tomatoes in western North Carolina. **Journal of Economic Entomology** 84: 1662-1667.
- Erb SL, Bouchier RS, Van Frankenhuyzen K, Smith SM (2001) Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the tachinid parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). **Environmental Entomology** 30: 1174-1181.
- Geng JH, Shen ZR, Song K, Li Z (2006) Effect of pollen of regular cotton and transgenic Bt+CpTI cotton on the survival and reproduction of the parasitoid wasp *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory. **Environmental Entomology** 35: 1661-1668.
- Giolo FP, Busato GR, Garcia MS, Manzoni CG, Bernadi O, Zart M (2006) Biologia de *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas dietas artificiais. **Revista Brasileira de Agrociência** 12: 167-171.
- Gould F, Blair N, Reid M, Rennie TL, Lopez J, Micinski S (2002) *Bacillus thuringiensis*-toxin resistance management: Stable isotope assessment of alternate host use by *Helicoverpa zea*. **PNAS** 99: 16581-16586.
- Hafez M, Salama HS, Aboul-Ela R, Zaki FN, Ragaei, M (1995). Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Apanteles ruficrus* parasitizing the larvae of *Agrotis ypsilon*. **Journal of Islamic Academy of Sciences** 8: 33-36.
- Lebedenco A, Auad AM, Kronka SN (2007) Métodos de controle de lepidópteros do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Acta Scientiarum Agronomy** 29: 339-344.
- Losey JE, Fleischer J, Calvin DD, Harkness WL, Leahy, T (1995). Evaluation of *Trichogramma nubilalis* and *Bacillus thuringiensis* in management of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. **Environmental Entomology** 24: 436-445.
- Mansour ES (2004). Effectiveness of *Trichogramma evanescens* Westwood, bacterial insecticide and their combination on the cotton bollworms in comparison with chemical insecticides. **Egyptian Journal of Biological Pest Control** 14: 339-343.
- Marques IMR, Alves SB (1995) Influência de *Bacillus thuringiensis* no parasitismo de *Scrobipalpuloides absoluta* (Lep. Gelechiidae) por *Trichogramma pretiosum* R. (Hym: Trichogrammatidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 31: 317-325.
- Marques IMR, Alves SB (1996) Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* sobre *Scrobipalpuloides absoluta* Meyer (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 25: 39-45.
- Medeiros MA, Pontes LA, Amaral PST, Filho MVM (2003) Inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e broca-grande e seu impacto sobre *Trichogramma pretiosum*. **Horticultura Brasileira** 21, 652-654.
- Mertz BP, Fleischer SJ, Calvin DD, Ridgway RL (1995) Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. **Journal of Economic Entomology** 88: 1616-1625.
- Morandi Filho WJ, Botton M, Grützmacher AD, Giolo FP, Manzoni CG (2006) Ação de produtos naturais sobre a sobrevivência de *Argyrotaenia sphaeropa* (Meyrick) (Lepidoptera: Tortricidae) e seletividade de inseticidas utilizados na produção orgânica de videira sobre *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural** 36: 1072-1078.
- Nault BA, Speese III J (2002) Major insects pests and economics of fresh-market tomato in eastern Virginia. **Crop Protection** 21: 359-366.
- Navarro MA (1998) ***Trichogramma* spp. Producción, uso y manejo em Colômbia**. Guadalajara de Buga, Impretec.
- Oatman ER, Wyman JA, Van Steenwyk RA, Johnson MW (1983) Integrated control of the tomato fruitworm (Lepidoptera: Noctuidae) and other lepidopterous pests on fresh-market tomatoes in southern California. **Journal of Economic Entomology** 76: 1363-1369.
- Parra JRP (1997) Técnicas de criação de *Anagasta kuebniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In, Parra JRP, Zucchi RA (Org) ***Trichogramma e o controle biológico aplicado***. Piracicaba, FEALQ, pp 121-150.
- Polaczyk RA, Pratisoli D, Vianna UR, Oliveira RGS, Andrade GS (2006) Interação entre inimigos naturais: *Trichogramma* e *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas agrícolas. **Acta Scientiarum Agronomy** 28: 233-239.
- Pratisoli D, Oliveira HN (1999) Influência da idade dos ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 34: 891-896.
- Pratisoli D, Polaczyk RA, Vianna UR, Andrade GS, Oliveira RGS (2006) Desempenho de *Trichogramma pratissolii* Querino & Zucchi (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Anagasta kuebniella* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae) sob efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Ciência Rural** 36: 369-377.
- Ruiu L, Satta A, Floris I (2007) Susceptibility of the house fly pupal parasitoid *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) to the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* and *Brevibacillus laterosporus*. **Biological Control** 43: 188-194.
- Sá LAN, Parra, JRP (1994) Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae) on *Epehestia kuebniella* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and *Heliothis zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) eggs. **Journal Applied Entomology** 118: 38-43.

- Ulrichs C, Mewis I, Schnitzler WH (2001) Experiments with synthetic insecticides alone and in combination with *Bacillus thuringiensis* and *Trichogramma evanescens* to control *Vigna* pests under tropical lowland conditions. **Anz. Schadlingskd** 74: 117-120.
- Velásquez CF, Gerding MP (2006) Evaluación de diferentes especies de *Trichogramma* spp. para el control de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). **Agricultura técnica** 66: 411-415.
- Wang ZY, Wu Y, He KL, Bai SX (2007) Effects of transgenic Bt maize pollen on longevity and fecundity of *Trichogramma ostriniae* in laboratory conditions. **Bulletin of Insectology** 60: 49-55.