**Universidade de São Paulo**
**Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**

# *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae): adequação de uma dieta artificial e avaliação do seu controle biológico com *Trichogramma pretiosum* Riley em tomateiro

**Johanna Gisela Bajonero Cuervo**

Tese apresentada para obtenção do título Doutora em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba**
**2016**

**Johanna Gisela Bajonero Cuervo**
**Bióloga**

# *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae): adequação de uma dieta artificial e avaliação do seu controle biológico com *Trichogramma pretiosum* Riley em tomateiro

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSE ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título Doutora em Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba**
**2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**
**DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Bajonero Cuervo, Johanna Gisela
*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae): adequação de uma dieta artificial e avaliação do seu controle biológico com *Trichogramma pretiosum* Riley em tomateiro / Johanna Gisela Bajonero Cuervo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
87 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Dieta artificial 2. Capacidade de voo 3. Tabela de vida 4. Biologia I. Título

CDD 635.642
B165t

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

*A minha mãe Gisela, meu Pai Rafael, minhas irmãs Marcela e Maria Alejandra, e meu irmão Nicolas. Pelo carinho e apoio recebido a distância*

*A meu sobrinho Juan Felipe por alegrar a vida da minha família*
*Aos meus avos: Virginia e Gerardo e em especial a Lucia e Rafael por me cuidar sempre*

*A meu noivo Gabriel Rugno pelo apoio, conselhos e ajuda em todas as etapas da realização deste trabalho.*

*DEDICO*

## AGRADECIMENTOS

Ao professor José Roberto Postali Parra por me receber no seu laboratório, me orientar com amabilidade e por todos os ensinamentos recebidos.

Ao Programa Estudantes-Convênio de Pós-Graduação – PEC-PG, da CAPES/CNPq- Brasil, pela bolsa concedida e a oportunidade de continuar a minha formação acadêmica.

Ao Departamento de Entomologia, e aos professores que tive a oportunidade de conhecer. Foi pouco o tempo para conhecer os diversos mundos da Entomologia.

A Neide Zerio pela paciência e os úteis ensinamentos na criação de insetos.
A Eloisa Vendemiatti, do Laboratório de Controle Hormonal do Desenvolvimento Vegetal, Departamento de Ciências Biológicas (LCB), da ESALQ /USP, pela quantificação e caracterização dos tricomas.

Aos amigos do Laboratório de Biologia de insetos: Angela Lima, Leandro Geremias, Aline Rocha, Aline Bertín, Jaci Vieira, Aloisio Coelho, Alexandre Diniz, Fernanda Polastre, Cristina Jensen, Laís Dalpogeto, Rizia Andrade e Guilherme Vasconcelos por toda a ajuda e companhia durante estes quatro anos.

Ao pessoal do laboratório Tricho II, especialmente a Marisol Giraldo por ser exemplo de Mulher, mãe e profissional, foi muito agradável conhecer uma Manizaleña em Piracicaba.

Um agradecimento muito especial a meu noivo Gabriel Rodrigo Rugno porque fez destes quatro anos os melhores da minha vida, por me dar força, ideias, ajuda, conselhos que me fizeram crescer como pessoa. Te amo muito Gabriel.

Também agradeço a Antônia e Lindinha Guilardi por ser tão especiais comigo.

A Fernando Cantor e Daniel Rodriguez por me mostrar o mundo do controle Biológico e me orientar na graduação e mestrado.

As minhas amigas as quais abandonei fisicamente, mas estão sempre no meu coração: Nancy Muñoz, Ingrid Monroy, Alejandra Hilarión, Karen Muñoz, Angie Niño e Lucia Aguilar.

A minha mãe e minha Irmã Marcela, por estar sempre torcendo por mim e me dar energias para alcançar os meus objetivos.

"You teach me, I forget. You show me, I remember. You involve me, I understand."

– **Edward O. Wilson**

**SUMARIO**

RESUMO.....11
ABSTRACT .....13
1 INTRODUÇÃO.....15
2 SELEÇÃO E ADEQUAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PARA *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) COM BASE EM CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS..... 21
Resumo..... 23
Abstract..... .24
2.1 Introdução.....22
2.2 Material e Métodos.....24
2.2.1 Criação estoque de *T. absoluta*.....24
2.2.2 Dietas avaliadas.....24
2.2.3 Desenvolvimento de *T. absoluta* em dietas artificiais e natural.....26
2.2.4 Determinação do número de ínstares de *T. absoluta* na dieta a base de germe-de-trigo, caseína e celulose (D3).....28
*2.2.5* Comparação de tamanho do recipiente para a criação de *T. absoluta*..... 28
2.2.6 Número ideal de lagartas por tubo..... .30
2.2.7 Desenvolvimento biológico de *T. absoluta* na dieta selecionada por oito gerações..... 30
2.2.8 Análise de dados..... 31
2.3 Resultados..... 31
2.3.1 Desenvolvimento de *T. absoluta* em dietas artificiais e dieta natural.....31
2.3.2 Determinação do número de ínstares de *T.absoluta* em dieta artificial.....34
*2.3.3* Comparação de tamanho adequado do recipiente para a criação de *T. absoluta*..... 35
2.3.4 Número ideal de lagartas de *T. absoluta* por tubo..... 36
2.3.5 Desenvolvimento biológico de *T. absoluta* na dieta selecionada por oito gerações..... 37
2.4 Discussão..... .40
2.5 Conclusões..... 45
Referências..... .46

3 DESEMPENHO DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 NO CONTROLE DE *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) EM TOMATEIRO ..... 53
Resumo ..... 53
Abstract..... 53
3.1 Introdução..... 54
3.2 Material e Métodos..... 57
3.2.1 Manutenção de plantas, praga e inimigo naturais.....57
3.2.2 Comparação do parasitismo sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em ovos provenientes de insetos criados em dietas natural e artificial..... .59
3.2.3 Inviabilização dos ovos de *T. absoluta*..... . 60
3.2.4 Avaliação do desempenho de *T. pretiosum* mantido em ovos de *T. absoluta* por gerações sucessivas em laboratório..... ..61
3.2.5 Capacidade de voo de *T. pretiosum* proveniente de *T. absoluta* e de *A. kuenhiella*..... .62
3.2.6 Avaliação de diferentes densidades de liberação de *T. pretiosum* por ovo de *T. absoluta*..... ... 62
3.2.7 Parasitismo de ovos de *T. absoluta* por *T. pretiosum* em quatro genótipos de tomateiro com diferentes tipos de tricomas..... 63
3.3 Resultados..... 65
3.3.1 Comparação do parasitismo sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em ovos provenientes de insetos criados em dietas natural e artificial..... .65
3.3.2 Inviabilização dos ovos de *T. absoluta*..... . 66
3.3.3 Avaliação do desempenho de *T. pretiosum* mantido em ovos de *T. absoluta* por gerações sucessivas em laboratório..... ..67
3.3.4 Capacidade de voo de *T. pretiosum* provenientes de *T. absoluta* e de *A. kuenhiella*..... ... 72
3.3.5 Avaliação de diferentes densidades de liberação de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta*..... ... 73
3.3.6 Parasitismo de ovos de *T. absoluta* por *T. pretiosum* em quatro genótipos de tomateiro com diferentes tipos de tricomas..... ..73
3.4 Discussão..... 75
3.5 Conclusões..... 80
Referências..... . 81

## RESUMO


**_Tuta absoluta_ (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae): Adequação de uma dieta artificial e avaliação do seu controle biológico com _Trichogramma pretiosum_ Riley em tomateiro.**

*Tuta absoluta (*Meyrick, 1917) é uma das pragas-chave da cultura do tomate e outras solanáceas na América do Sul e atualmente também na Eurásia e África. Devido aos grandes prejuízos que causa à cultura, são principalmente usados inseticidas para o seu controle. Entretanto, na busca de estratégias mais sustentáveis, cada dia adquire maior importância o uso do controle biológico, como uma das estratégias do manejo integrado de pragas. Para o desenvolvimento destas estratégias é fundamental desenvolver um método de criação de *T. absoluta* em laboratório, em dieta artificial, sem necessitar do hospedeiro natural, muitas vezes difícil de ser obtido e mantido em laboratório, e, de grande importância para produzir parasitoides específicos para esta praga. Dentre os parasitoides mais usados para ovos de lepidópteros está *Trichogramma pretiosum* Riley 1879 que é usado no controle biológico aplicado desta praga. Tendo como foco principal *T. absoluta,* neste trabalho foram pesquisados 1) a seleção de uma dieta artificial para este lepidóptero baseando-se em características físicas e químicas, avaliando o seu desempenho por várias gerações em laboratório, e 2) avaliação de aspectos biológicos e reprodutivos de *T. pretiosum* parasitando ovos de *T. absoluta* e aspectos físicos da planta (tricomas) para compreender o controle biológico desta praga no tomateiro. Foi encontrado que uma dieta à base de germe-de-trigo, caseína e celulose é apropriada para a criação deste lepidóptero, já que o inseto mostrou adaptação à mesma no transcorrer das gerações com base em características biológicas e de tabela de vida; adicionalmente, os ovos provenientes de *T. absoluta* alimentada com dieta artificial são comparáveis aos da dieta natural, no parasitismo de *T. pretiosum*. Com relação ao controle biológico foi demonstrado que este parasitoide desenvolvido em ovos de *T. absoluta*, diminui seu tamanho e desempenho com o transcorrer das gerações, apresentando menor capacidade de voo do que os insetos produzidos em *A. kuenhiella,* sendo necessária a liberação de altas densidades de parasitoides por ovo da praga. Foi observado que, embora o parasitismo de *T. pretiosum* de ovos de *T. absoluta* seja melhor em variedades com poucos tricomas, uma alta densidade destas estruturas não impede o controle da praga alvo dependendo da disposição destas estruturas. O controle biológico de *T. absoluta* com *T. pretiosum* tem uma ação momentânea, sendo necessárias liberações frequentes devido ao fato de os parasitoides desenvolvidos na praga serem menos competitivos com aqueles provenientes do hospedeiro alternativo que apresenta ovos maiores do que *T. absoluta.*


Palavras-chave: Dieta artificial; Capacidade de voo; Tabela de vida; Biologia

## ABSTRACT


### *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae): Suitability of an artificial diet and evaluation of *Trichogramma pretiosum* Riley as a biological control in tomato

*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) is a key pest of tomatoes and other solanaceous plants in South America and currently also in Eurasia and Africa. Due to the large losses it causes to culture, insecticides are mainly used for its control. However, in the search for more sustainable strategies, the use of biological control is becoming increasingly important as a strategy of integrated pest management. For the development of these strategies it is essential to develop a rearing method for *T. absoluta* in the laboratory on an artificial diet without requiring the natural host, which is often difficult to obtain and maintain in the laboratory. The parasitoid wasp *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is used in applied biological control of this pest. This study investigated 1) the selection of an artificial diet for *T. absoluta* based on physical and chemical characteristics, assessing its performance for several generations in the laboratory; and 2) evaluation of biological and reproductive aspects of *T. pretiosum* parasitizing *T. absoluta* eggs and physical aspects of the plant (trichomes), to understand the biological control of this pest in tomato. A diet based on wheat germ, casein and cellulose proved most suitable for rearing *T. absoluta*, which adapted to it over the course of generations, based on biological characteristics and life-table parameters. Eggs produced by *T. absoluta* fed the artificial diet were comparable to those produced on the natural diet, regarding parasitism of *T. pretiosum*. In relation to biological control, this parasitoid developed in *T. absoluta* eggs, showed reductions in its size and performance with the passing of generations, with lower flight capacity than insects produced in *A. kuehniella*, requiring the release of high parasitoid densities per pest egg. Although parasitism of *T. absoluta* eggs by *T. pretiosum* was better in tomato varieties with few trichomes, high trichome density did not necessarily limit the control of *T. absoluta*, depending on the arrangement of these structures. Biological control of *T. absoluta* with *T. pretiosum* is temporary, requiring frequent releases because parasitoids developed in the pest are less competitive than those from the alternative host, which produce larger eggs than with *T. absoluta*.


Keywords: Artificial diet; Flight capacity; Life table; Biology

# 1 INTRODUÇÃO

O tomateiro, *Solanum lycopersicum* L., é uma das principais hortaliças cultivadas mundialmente, sendo que na América do Sul, o maior produtor desta hortaliça é o Brasil que ocupa a oitava posição no mundo, com uma produção de 4, 2 milhões de toneladas no ano de 2013 (FAO, 2016). No Brasil os estados com maior produção são Goiás, São Paulo, Minas Gerais, Bahia e Rio de Janeiro (CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA - CEPEA, 2015).

A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* Meyrick 1917 *(*Lepidoptera: Gelechiidae), é uma das principais pragas desta cultura, podendo ser um fator limitante à produção de tomate, pois ataca todas as estruturas aéreas em todos os estádios fenológicos chegando a causar perdas de 80-100% (CELY; CANTOR; RODRIGUEZ, 2010; ESTAY, 2009; DESNEUX et al., 2010). Esta praga foi conhecida anteriormente como *Gnorimoschema absoluta, Scrobipalpula absoluta* e *Scrobipalpuloides absoluta* (MICHEREFF FILHO et al., 2000, URBANEJA, 2013), o que chegou a prejudicar o controle, pela dificuldade de identificação da praga. Este microlepidóptero é comum no Chile, Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Peru, Paraguai, Uruguai e Venezuela (FRANÇA et al., 2000; JHAM et al., 2001) e o primeiro relato desta praga na América do Sul foi em 1964 na Argentina (GARCIA; ESPUL, 1982). Atualmente, é considerada uma praga invasora na Eurásia e África, onde foi encontrada primeiramente na Espanha no ano de 2006 (DESNEUX et al., 2010) e, segundo estudos recentes, a população que está se dispersando nesses continentes é originaria do Chile (GUILLEMAUD et al., 2015).

Os danos são produzidos pelos hábitos alimentares das lagartas, as quais após a eclosão penetram no mesofilo foliar causando galerias, comumente chamadas de minas. *T. absoluta* também pode consumir os tecidos do caule, flores, brotos terminais e os frutos (BARRIENTOS et al., 1998; DESNEUX et al., 2011), o que diminui a área fotossintética da planta e afeta a produtividade da cultura (ESTAY P., 2009; MEDEIROS et al., 2009). As pupas podem ser encontradas nas folhas ou no solo, ficando, geralmente, abrigadas por um casulo esbranquiçado. Os adultos são de hábito noturno e o acasalamento ocorre após a emergência. A longevidade média das fêmeas é de 10-15 dias e dos machos de 6-7 dias (UCHOÂ-

FERNANDES; DELLA LUCIA; VILELA, 1995). Os ovos são frequentemente encontrados na parte inferior das folhas, porém podem estar em qualquer parte da planta, sendo encontrados individualmente e próximos entre si (HAJI et al., 1988).

Tradicionalmente, o controle da praga é realizado de forma química, sendo necessárias aplicações frequentes de inseticidas em altas dosagens com ingredientes ativos como, carbofuran, metamidofós, cipermetrina, metomil, teflubenzuron, Imidacloprid e abamectina (GUEDES et al., 1994). No entanto, além do uso de produtos químicos afetarem negativamente o ambiente, reduzindo a presença de inimigos naturais e ocasionando desequilíbrios no agroecossistema (Guedes *et al,* 1994), a resistência da praga a moléculas como cartap, abamectina e permetrina tem sido relatada por diversos autores (SIQUEIRA; GUEDES; PICANÇO, 2000).

O controle biológico com parasitoides é uma alternativa viável para o controle desta praga. Existem parasitoides que controlam as lagartas naturalmente como *Apanteles gelechiidivoris* (BAJONERO et al., 2008) e *Pseudoapanteles dignus* (LUNA; SÁNCHEZ; PEREYRA, 2007) que podem parasitar até 70% da praga em condições de campo. Estes inimigos naturais não são usados no campo devido às dificuldades na produção do parasitoide que necessita da criação massal da praga. Atualmente a criação é feita em plantas de tomateiro de variedades suscetíveis (NEVES et al., 2003). Nestas condições a criação demanda muito trabalho para a obtenção de uma população que permita a multiplicação dos parasitoides. Uma dieta artificial poderia contribuir para o uso destes parasitoides no manejo de *T. absoluta*. Já foram testadas algumas dietas artificiais para este lepidóptero, com resultados promissores, mas ainda não é atingida uma viabilidade adequada para a sua criação em laboratório de acordo com Singh (1983) que relata ser de 75% esta viabilidade total adequada para dietas em laboratório. Também existe a necessidade de estudos dos aspectos físicos para melhorar a adaptação do inseto à referida dieta, desde que, aparentemente os problemas não são nutricionais (MIHSFELDT; PARRA, 1999).

O parasitoide mais usado, com sucesso, no controle de ovos de diversos lepidópteros, incluindo *T. absoluta,* é *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (PARRA; ZUCCHI, 2004). Este parasitoide é empregado em liberações inundativas com recomendações de densidades de liberação variáveis, já

que condições ambientais, estádio fenológico do cultivo bem como o próprio uso do parasitoide podem afetar o parasitismo em campo. Por este motivo, o sucesso do controle biológico depende do conhecimento das caraterísticas bioecológicas do parasitoide e sua interação com o hospedeiro (PRATISSOLI; PARRA, 2001), assim como as interações indiretas com a planta que podem afetar, por exemplo, a localização do hospedeiro. No sistema tomateiro-*T. absoluta*-*T. pretiosum,* é desconhecido o desempenho de gerações subsequentes à liberação deste parasitoide no controle da praga. Devido ao pequeno tamanho dos ovos de *T. absoluta,* estes parasitoides são menores (VASCONCELOS, 2012) mas não se conhece se estes indivíduos conseguem se estabelecer, ou qual poderia ser o comportamento das gerações subsequentes que se multiplicam em ovos da praga alvo. Por outro lado, com relação à planta, é importante estudar se o inimigo natural é afetado por fatores físicos como a densidade de tricomas (frequentes em tomateiro), o que pode impedir ou dificultar o encontro com o hospedeiro e consequentemente o seu controle.

Assim, a presente pesquisa teve como objetivo, numa primeira fase, desenvolver uma dieta artificial para *T. absoluta,* para permitir a criação da praga em grandes quantidades sem perder as características do inseto selvagem. A segunda fase, objetivou avaliar aspectos biológicos e reprodutivos de *T. pretiosum* e aspectos da planta (tricomas) com vistas ao controle biológico desta praga.

## Referências

BAJONERO, J.; CÓRDOBA, N.; CANTOR, F.; RODRÍGUEZ, D.; CURE, R. Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera : Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). **Agronomía Colombiana**, Bogotá,v. 26, n. 3, p. 417–426, 2008.

BARRIENTOS, R.; APABLAZA, J.; NORERO, A.; ESTAY, P. Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago, v. 25, n. 3, p. 133–138, 1998.

CELY, L.; CANTOR, F.; RODRIGUEZ, D. Determination of levels of damage caused by different densities of *Tuta absoluta* populations (Lepidoptera: Gelechiidae) under greenhouse conditions. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 28, n. 3, p. 401–411, 2010.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. **Anuário 2014-2015.** 2015. Disponível em: <http://cepea.esalq.usp.br/hfbrasil/edicoes/141/full.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2016.

DESNEUX, N.; LUNA, M. G.; GUILLEMAUD, T.; URBANEJA, A. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. **Journal of Pest Science**, Berlim, v. 84, p. 403–408, 2011.

DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; WYCKHUYS, K.A.G.; BURGIO, G.; ARPAIA, S.; NARVÁEZ-VASQUEZ, C.A.; GONZÁLEZ-CABRERA, J.; RUESCAS, D.C.; TABONE, E.; FRANDON, J.; PIZZOL, J.; PONCET, C.; CABELLO, T.; URBANEJA, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, p. 197–215, 2010.

ESTAY P., P. Polilla del tomate, mosquita blanca, chaqueta amarilla: uso de grados dias, eficaz herramienta en la prevencion de plagas. **INIA, Tierra Adentro**, p. 14–17, sept./oct. 2009. Disponível em: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR36256.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2015.

FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A. de. Manejo integrado de pragas. In: SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L. **Tomate para processamento industrial**. Brasilia: Embrapa Hortaliças, 2000. p. 112–127.

GARCIA, M.F.; ESPUL, J.C. Bioecology of the tomato moth (*Scrobipalpula absoluta*) in Mendoza, Argentine Republic. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, Buenos Aires, v. 17, n. 2, p. 135–146, 1982.

GUEDES, R.N.C.; PICANÇO, M.C.; MATIOLI, A.L.; ROCHA, D.M. Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 321–325, 1994.

GUILLEMAUD, T.; BLIN, A.; LE GOFF, I.; DESNEUX, N.; REYES, M.; TABONE, E.; TSAGKARAKOU, A.; NIÑO, L.; LOMBAERT, E. The tomato borer, *Tuta absoluta*, invading the Mediterranean Basin, originates from a single introduction from Central Chile. **Scientific Reports**, London, v. 5, p. 8371, 2015.

HAJI, F.N.P.; PARRA, J.R.P.; SILVA, J.P.; BATISTA, J.G.D.S. Biologia da traça-do-tomateiro sob condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v. 23, p. 107–110, 1988.

JHAM, G.N.; FRIGUETTO, R.T.; ATTYGALLE, A.B.; VILELA, E.F.; SVATOS, A.; MEINWALD, J.; UCHOA-FERNANDES, M.A.; FERRARA, F.A. Identificação, síntese e avaliação do feromonio sexual de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). In: VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Feromonios de insetos:** biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Riberão Preto: Holos, 2001. p. 206.

LUNA, M.G.; SÁNCHEZ, N.E.; PEREYRA, P.C. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 36, n. 4, p. 887–893, 2007.

MEDEIROS, M.A. de; VILLAS BÔAS, G.L.; VILELA, N.J.; CARRIJO, O.A. Estudo preliminar do controle biológico da traça-do-tomateiro com o parasitóide *Trichogramma pretiosum* em ambientes protegidos. **Horticultura Brasileira**, Brasilia, v. 27, p. 80–85, 2009.

MICHEREFF FILHO, M.; VILELA, E.F.; JHAM, G.N.; ATTYGALLE, A.B.; SVATOŠ, A.; MEINWALD, J. Initial studies of mating disruption of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) using synthetic sex pheromone. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 11, n. 6, p. 621–628, 2000.

MIHSFELDT, L.H.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 769–776, 1999.

NEVES, L.G.; LEAL, N.R.; RODRIGUES, R.; PEREIRA, N.E. Estimativa de parâmetros genéticos e correlação entre componentes de resistência à traça-do-tomateiro em progênies de *Lycopersicon esculentum x L. hirsutum f. glabratum*. **Horticultura Brasileira**, Brasilia, v. 21, n. 3, p. 458–461, 2003.

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

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

SINGH, P. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. **Insect Science and its Application**, Elmsford, v. 4, n. 4, p. 357–362, 1983.

SIQUEIRA, H.A.A.; GUEDES, R.N.C.; PICANÇO, M.C. Cartap resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lep. Gelechiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 124, p. 233–238, 2000.

UCHOÂ-FERNANDES, M.A.; DELLA LUCIA, T.C.; VILELA, E.F. Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, p. 159–164, 1995.

URBANEJA, A.; DESNEUX, N.; GABARRA, J. A.; GONZALEZ-CABRERA, J. MAFRA-NETO, A.; STOLTMAN, L.; PINTO, A.; PARRA, J.R.P. Biology, ecology and management of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. In: PEÑA, J. (Ed.). **Potential invasive pest of agricultural crops.** Boston: CABI, 2013. chap. 3, p. 98–125.

VASCONCELOS, G.R. **Seleção de linhagens e efeito do hospedeiro na qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Tuta absoluta (*Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro**. 2012. 77 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” –Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

# 2 SELEÇÃO E ADEQUAÇÃO DE UMA DIETA ARTIFICIAL PARA *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) COM BASE EM CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS


## Resumo

*Tuta absoluta (*Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma das pragas-chave da cultura do tomate e ocorre em outras solanáceas na América do Sul. Desde 2006 esta praga vem causando graves prejuízos em culturas de tomate na Europa e África. Para o desenvolvimento de estratégias de controle de *T. absoluta* é fundamental desenvolver um método de criação em laboratório, em dieta artificial, sem necessitar do hospedeiro natural, muitas vezes difícil de ser obtido e mantido em laboratório. Neste estudo, foram avaliadas quatro dietas artificiais com base em três dietas básicas, já formuladas, à base de feijão branco, caseína, proteína-de-soja, levedura e germe-de-trigo (dieta 1); germe-de trigo e caseína (dieta 2); germe-de-trigo caseína e celulose (dieta 3) e uma quarta com variações da dieta 3, com adição de pó de folhas de tomateiro (dieta 4). Cem tubos foram preparados para cada dieta onde três lagartas recém-eclodidas foram “inoculadas”. Foram avaliados: a sobrevivência larval sete dias após a inoculação (efeito fagoestimulante), viabilidade e período de desenvolvimento larval e pupal, peso de pupas e deformações. Paralelamente, o tamanho ideal do recipiente e a densidade larval adequada por tubo foram avaliados. *T. absoluta* foi criada durante oito gerações sobre a dieta selecionada; foram avaliados parâmetros biológicos e calculadas as tabelas de vida de fertilidade para a primeira, quarta, sexta e oitava gerações. Nenhuma melhora ou diferença significativa foi obtida com a adição de pó de folhas de tomateiro. A dieta 3, à base de germe-de-trigo, caseína e celulose se destacou dentre as dietas artificiais, com valores superiores de viabilidade, duração e peso de pupas, mostrando o mesmo número de ínstares do inseto criado em dieta natural. A análise comparativa (análise de agrupamento) dentre as dietas artificiais mostrou que ela é comparável à dieta natural. A viabilidade total (ovo-adulto) nesta dieta aumentou no decorrer das gerações, atingindo 75 % na oitava geração. O melhor recipiente para a criação de *T. absoluta* foi o recipiente (tubo de vidro) de 6 x 1 cm, tampado com algodão hidrófugo, onde ocorre maior perda de água da dieta, sendo 3 a melhor densidade de lagartas no tubo de vidro selecionado. Os parâmetros de tabela de vida do inseto criado na dieta artificial foi semelhante entre as gerações, sendo os valores da taxa líquida de reprodução por geração (Ro) e da razão finita de aumento (λ) variáveis entre 40,93 a 45,02 e entre 1,086 e 1,124, respectivamente, ao longo das 8 gerações. A dieta artificial selecionada, portanto, mostrou-se adequada para a criação de *T. absoluta* em laboratório, baseando-se nas suas características físicas e nutricionais.


Palavras-chave: Traça-do-tomateiro; Celulose; Tabela de vida; Características físicas

**Abstract**

*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) is a key pest of tomatoes and occurs on other species of Solanaceae in South America. Since 2006, this pest has caused severe damage to tomato crops in Europe and Africa. For the development of *T. absoluta* control strategies, it is essential to develop a laboratory method for rearing on artificial diet without requiring the natural host, which is difficult to maintain in the laboratory. This study evaluated three previously formulated diets based on: white beans, casein, soy protein, yeast and wheat germ (1); wheat germ and casein (diet 2); and wheat germ, casein and cellulose (diet 3); and a fourth, modified from diet 3 with the addition of powdered tomato leaves (diet 4). One hundred tubes were prepared for each diet, and three newly hatched larvae were inoculated into each. Larval survival seven days after inoculation (phagostimulant effect), viability and development of larval and pupal period, pupal weight, and deformations were evaluated. At the same time, the ideal size of the container and the optimum larval density per tube were determined. *T. absoluta* was reared for eight generations on the selected diet. Biological parameters were evaluated and fertility life tables were calculated for the first, fourth, sixth and eighth generations. No significant difference was obtained with the addition of tomato-leaf powder. Diet 3, with wheat germ, casein, and cellulose stood out among the artificial diets, with higher values of viability, duration and pupal weight, showing the same number of insect instars as those reared on the natural diet. The comparative analysis (cluster analysis) of the artificial diet showed that it is comparable to the natural diet. The total viability (egg-adult) on this diet increased over the generations, reaching 75% in the eighth generation. The best container for *T. absoluta* rearing was the 1 x 6 cm glass tube, covered with cotton; water loss from the diet was highest in this tube, and 3 larvae per tube was the optimum density. The lifetable parameters of insects reared on the artificial diet were similar between the generations; the net reproductive rate per generation (Ro) and finite rate of increase (λ) were from 40.93 to 45.02 and from 1,086 to 1,124 respectively. Therefore the selected artificial diet was appropriate for rearing *T. absoluta* in the laboratory, based on their physical and nutritional characteristics.

Keywords: Tomato pinworm; Cellulose; Life table; Physical characteristics

## 2.1 Introdução

*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) *(*Lepidoptera: Gelechiidae) é uma das pragas chave da cultura do tomate, que limita a sua produção por se alimentar de todas as estruturas aéreas e em todos os estádios fenológicos desta solanácea chegando a causar perdas entre 80-100% (ESCOBAR; LEE, 2009; ESTAY P., 2009; DESNEUX et al., 2010; URBANEJA et al., 2012, 2013). Além do tomateiro, esta traça tem sido referida em outras solanáceas de importância econômica como *Solanum tuberosum* (batatinha) e plantas daninhas como *Solanum nigrum, Atropa belladonna, Datura*

*stramonium* (BAWIN et al., 2015). Este lepidóptero foi relatado pela primeira vez em 1914 no Peru e atualmente, é uma praga comum na América do Sul (JHAM et al., 2001). Desde o ano de 2006, invadiu a Europa e África onde já ocasionou perdas econômicas relevantes (DESNEUX et al., 2011; URBANEJA et al., 2012, 2013).

A ausência de controle desta praga pode ter um forte impacto econômico e considerando-se a sua recente história de praga introduzida, aumentou a necessidade de estudos que permitam desenvolver estratégias para o seu controle como o uso de inimigos naturais com macro-organismos como *Apanteles gelechiidivoris* (BAJONERO et al., 2008) ou *Pseudoapanteles dignus* (LUNA; SÁNCHEZ; PEREYRA 2007), e micro-organismos como granulovirus *PhopGV* (MASCARIN et al., 2010). Para o desenvolvimento deste tipo de estudo, é necessária a produção contínua de grande quantidade de insetos com baixo custo e alto rendimento (ZOU et al., 2015). No caso de *T. absoluta,* a criação é feita comumente em dieta natural, sobre plantas de tomateiro de cultivares suscetíveis como ’Santa Clara’ (SIQUEIRA; GUEDES; PICANÇO, 2000) e ‘IPA6’ (NEVES et al., 2003). Esta metodologia, em dieta natural, demanda muita mão-de-obra e espaço para manter as plantas até um estágio em que possam suportar uma população significativa da praga (CELY; CANTOR; RODRIGUEZ, 2010).

As dietas artificiais têm sido de muita importância no conhecimento da biologia e ecologia de diversas espécies de insetos praga (SØRENSEN; ADDISON; TERBLANCHE, 2012). Para este lepidóptero já foram testadas algumas dietas artificiais. Assim, Giustolin et al. (1995) avaliaram dez dietas para *T. absoluta* com diferentes teores de proteína e determinaram uma dieta à base de feijão ‘Carioca’, germe-de-trigo, caseína, levedura de cerveja e proteína-de-soja como a mais adequada. Posteriormente, Mihsfeldt e Parra (1999) desenvolveram uma dieta com feijão branco acrescido de pó de folhas de tomateiro que se mostrou promissora para o desenvolvimento do inseto em condições de laboratório; no entanto, a viabilidade total obtida está aquém dos 75% de viabilidade total preconizada por Singh (1983) como o mínimo para que uma dieta artificial possa ser utilizada para a criação de insetos em laboratório. Com o intuito de melhorar as técnicas de criação de *T. absoluta* em laboratório, o objetivo deste estudo foi selecionar e adequar uma dieta artificial para *T. absoluta* com base em características físicas e nutricionais, avaliando além do desenvolvimento biológico do inseto, o recipiente mais adequado

para utilização da referida dieta, o número ideal de lagartas a ser criada no recipiente selecionado e a adequação da dieta por oito gerações sucessivas.

## 2.2 Material e Métodos

### 2.2.1 Criação estoque de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)

Os indivíduos usados neste experimento foram obtidos da criação de *T. absoluta* mantida no laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP, Piracicaba, Brasil. Esta criação foi iniciada com população coletada no estado de São Paulo no ano de 2012. *T. absoluta* foi mantida em gaiolas de criação de tecido "voile" (70 X 50 X 50 cm) contendo plantas de tomateiro IPA -6 (NEVES et al., 2003) em sala mantida a 25°C, umidade relativa de 70% e fotoperíodo de 14: 10 (L:E). As plantas foram infestadas com adultos, permitindo a oviposição por 24 h, período após o qual estes foram retirados, permitindo-se o desenvolvimento das lagartas até a formação das pupas. Os adultos obtidos foram transferidos para novas gaiolas de postura, onde foram alimentados com gotículas de mel puro colocadas nas paredes da gaiola. Os ovos foram coletados num único folíolo de tomate mantido num recipiente com água, preso na parte superior da gaiola com um arame, o qual foi diariamente trocado. Posteriormente, os ovos eram retirados do folíolo com auxilio de um pincel molhado em água destilada e depois recolhidos por filtração com tecido de poliéster. Os ovos foram colocados em placa de Petri e mantidos em câmara climatizada regulada a 25°C, UR de 70% e fotofase de 14 h até a eclosão das lagartas.

### 2.2.2 Dietas avaliadas

Foram comparadas quatro dietas, com composições variáveis (Tabela 1). Foi testada a dieta de Mihsfeldt e Parra (1999) (D1), que é referida para a criação desta traça e foi baseada na dieta de Greene et al. (1976) desenvolvida para *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818; a dieta de Hensley e Hammond (1968) (D2) que é recomendada para a criação de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) e é usada para outros lepidópteros; a dieta de Berger (1963) (D3) que foi inicialmente

utilizada para a criação de *Chloridea virescens* (Fabricius, 1781) e contém celulose, um componente que embora não ofereça nutrientes, confere características estruturais ao meio artificial que podem beneficiar a alimentação do inseto; a quarta dieta foi a de Berger (1963) com adição de pó liofilizado de folhas de tomateiro (D4). O pó de folhas de tomateiro foi obtido por liofilização e para sua obtenção, foram coletadas folhas de tomateiro IPA6, de plantas de sete semanas; depois do transplante, as folhas foram lavadas, cortadas e congeladas. Posteriormente, o material vegetal foi liofilizado durante três dias, em liofilizador marca Savant® NL158. Após a desidratação, o material foi moído até se obter um pó fino. Devido ao pequeno tamanho de *T. absoluta,* os ingredientes secos com maior tamanho de partículas foram moídos visando à maior homogeneização de cada uma das dietas. As dietas artificiais foram preparadas conforme Parra (2013).

Tabela 1 - Composição das dietas artificiais avaliadas para criação de *Tuta absoluta*

| Componente | D1[1] | D2[2] | D3[3] | D4[4] |
|---|---|---|---|---|
| Feijão Branco | 37,5 g | - | - | - |
| Germe-de-trigo | 30,0 g | 27,0 g | 22,5 g | 22,5 g |
| Celulose | - | - | 3,7 g | 3,7 g |
| Proteína-de-soja | 15,0 g | - | - | - |
| Sacarose | - | 45,0 g | 26,2 g | 26,2 g |
| Cloreto de Colina | - | 0,9 g | 0,7 g | 0,7 g |
| Sais de Wesson | - | 9,0 g | 7,5 g | 7,5 g |
| Caseína | 15,0 g | 27,0 g | 26,2 g | 26,2 g |
| Levedura-de-cerveja | 18,7 g | | | |
| Ácido ascórbico | 1,8 g | 3,6 g | 3,0 g | 3,0 g |
| Ácido sórbico | 0,9 g | | | |
| Metilparahidroxibenzoato (nipagin) | 1,5 g | 1,3 g | 1,5 g | 1,5 g |
| Tetraciclina | 56,5 mg | 0,2 mg | 0,5 mg | 0,5 mg |
| Formaldeído 37% | 1,8 mL | 0,4g | 1,0 mL | 1,0 mL |
| Solução vitamínica* | 4,5 mL | 9,0 mL | 7,5 mL | 7,5 mL |
| Ágar | 11,5 g | 18, 0 g | 9,0 g | 9,0 g |
| Água | 600,0 mL | 780,0 mL | 630,0 mL | 630,0 mL |
| Pó de folhas de tomateiro (liofilizado) | 15 g | - | - | 4,0 g |

*Niacinamida:1,0 g; pantotenato de cálcio: 1,0 g; riboflavina: 0,50 g; tiamina: 0,5 g; piridoxina: 0,25 g; ácido fólico: 0,10 g; biotina: 0,02 mg; vitamina B12 (1000 mg/mL): 2,00 mL.

1. Mihsfeldt e Parra (1999), baseada em Greene et al (1976)
2. Hensley e Hammond (1968)
3. Berger (1963) modificada
4. Berger (1963) modificada + pó de folhas de tomateiro

### 2.2.3 Desenvolvimento de *T. absoluta* em dietas artificiais e natural

Para cada dieta avaliada foram usadas 100 repetições com três lagartas por unidade experimental. O recipiente usado foi um tubo de vidro de 1,0 x 6,0 cm de fundo plano tampado com algodão hidrófugo. Em cada recipiente, foi colocada uma quantidade de aproximadamente 4 mL da dieta a testar, tomando-se o cuidado de formar uma película fina de dieta nas paredes do recipiente, aumentando, desta maneira, a área coberta e disponível para a alimentação das lagartas e “simulando” as condições naturais do inseto que se alimenta da lâmina foliar.

Para a dieta natural (D5) foi usada como unidade experimental um copo de material plástico de 14 cm de altura e 8,5 cm de base com tecido fino na parte superior para troca gasosa; no interior foi colocado um folíolo de tomate com o pecíolo mergulhado em água (Figura 1). Em cada unidade experimental da dieta natural, foram colocadas três lagartas recém-eclodidas à semelhança da dieta artificial.

Figura 1 - Gaiola de material plástico, contendo folíolo de tomateiro em seu interior, utilizado para a avaliação do desenvolvimento em dieta natural e para oviposição de *Tuta absoluta*

Para as dietas artificiais foi avaliada a viabilidade sete dias após a inoculação e tanto para as dietas artificiais como para a natural foram avaliados: duração e viabilidade das fases larval e pupal, peso de pupas com 24 horas, razão sexual (BUTT; CANTU, 1962; SANNINO; ESPINOSA, 2010) e porcentagem de deformações. Com os adultos obtidos para cada dieta avaliada, foram formados 15 casais e colocados em gaiolas similares às utilizadas para a avaliação da dieta natural (Figura 1). Foi avaliada a viabilidade da postura do segundo dia, mediante a coleta de 20 ovos de cada casal, totalizando 300 ovos para cada dieta; esses ovos

foram colocados sobre papel de filtro em placas de Petri de vidro de 6 x 1,5 cm. Todos os ensaios foram mantidos em laboratório, à temperatura de 25±2°C, UR de 70±10% e fotofase de 14 horas.

Foi feita uma comparação das dietas estudadas usando-se uma análise de agrupamento (*cluster analysis*). Os parâmetros comparados foram: duração do período ovo-adulto, viabilidade ovo-adulto, peso de pupas (♀ e ♂), longevidade das fêmeas, razão sexual e viabilidade da postura.

### 2.2.4 Determinação do número de ínstares de *T. absoluta* na dieta a base de germe-de-trigo, caseína e celulose (D3)

Para avaliar se a dieta de maior viabilidade afetava o desenvolvimento larval deste lepidóptero, foi determinado o número de ínstares quando alimentado na dieta D3. Foram usados 80 tubos com esta dieta e foi inoculada uma lagarta por tubo. Diariamente, mediu-se a cápsula cefálica até a formação da pupa, por meio de ocular micrométrica acoplada a um microscópio estereoscópico (20x de aumento). O número de ínstares e a razão de crescimento foram determinados por meio do modelo matemático baseado na regra de Dyar (1890), conforme preconizado por Parra e Haddad (1989). No processo de decisão da hipótese mais adequada, foram considerados como pontos de rejeição de hipóteses: i) a sobreposição dos intervalos de confiança para médias da largura de cápsula cefálica entre ínstares sucessivos; ii) o menor valor do coeficiente de determinação da regressão linear (R2); iii) a discordância do valor estimado da razão de crescimento (K) em relação ao intervalo de variação de K proposto por Dyar (1890) (1,1 a 1,9).

### 2.2.5 Comparação de tamanho do recipiente para a criação de *T. absoluta*

Com o objetivo de avaliar se o tipo de recipiente afetava o desenvolvimento de *T. absoluta*, foram comparados três tamanhos e tipos de recipiente (Figura 2).O tamanho, material e forma do recipiente são importantes no desenvolvimento do inseto (COHEN, 2004). (Figura 2).

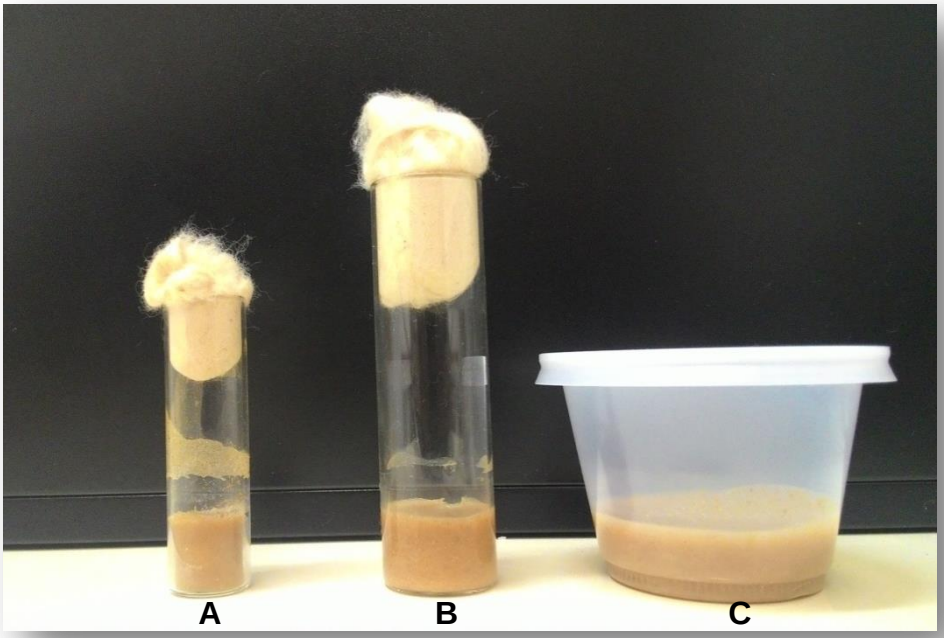


Figura 2 - Recipientes testados para o desenvolvimento de *Tuta absoluta* em laboratório. A) tubo de vidro de 1,0 x 6,0 cm de fundo plano tampado com algodão hidrófugo; B) tubo de vidro de 2,0 x 8,5 cm tampado cm algodão hidrófugo e C) copo plástico de 4,0 x 6,0 cm com tampa de plástico

Em cada recipiente foi inoculada uma lagarta e foram utilizados 30 recipientes por tratamento. Foi permitido o desenvolvimento das lagartas até o estágio de pupa e foi comparada a viabilidade larval. Adicionalmente, foi determinada a perda de água de cada recipiente; neste caso, foram utilizados 10 recipientes de cada tipo sem lagartas e que foram pesados diariamente por 20 dias, calculando-se a porcentagem de perda de peso diária nos três recipientes.

As amostras de cada tipo de recipiente foram secas a 50°C (devido ao material plástico de um dos recipientes) até atingir um peso constante. Posteriormente, foi calculada a porcentagem de umidade (CELESTINO, 2010):

$$Umidade(\%) = \frac{(massa\ inicial - massa\ final)}{\text{massa inicial}} * 100 \qquad \textbf{(1)}$$

### 2.2.6 Número ideal de lagartas por tubo.

Foram testadas as densidades de 1, 3, 6 e 12 lagartas por unidade experimental. Essa unidade foi um tubo de vidro de 1,0 x 6,0 cm de fundo plano tampado com algodão hidrófugo contendo a dieta que deu melhores resultados, à base de caseína, germe-de-trigo e celulose (dieta D3) (Figura 2 A). Para cada tratamento foram utilizadas 30 unidades experimentais e foram avaliados os parâmetros: viabilidade larval e duração desta fase de desenvolvimento.

### 2.2.7 Desenvolvimento biológico de *T. absoluta* na dieta selecionada por oito gerações

Foi observado o desenvolvimento desta traça na dieta escolhida como a mais adequada, à base de caseína, germe-de-trigo e celulose (dieta D3), durante as gerações F1, F4, F6 e F8. Para cada geração foram inoculados 100 tubos com três lagartas e registrados os parâmetros de viabilidade sete dias após a inoculação (efeito fagoestimulante), viabilidade e duração das fases larval e pupal. Com os adultos emergidos, foram formados 25 casais por dieta que foram mantidos em gaiolas iguais às descritas anteriormente (Figura 1). Foi registrado, o período de pré-oviposição, longevidade e número de ovos colocados diariamente por fêmea, Para cada casal, foram separados 20 ovos da segunda postura e calculada a viabilidade de ovos de forma análoga ao descrito no item 2.2.3. Todos os ensaios foram realizados à temperatura de 25±2°C, UR de 70±10% e fotofase de 14 horas.

Com os dados obtidos, para a dieta D3, foram construídas tabelas de vida de fertilidade e foram calculados: a taxa líquida de reprodução (Ro), duração média de uma geração (T), capacidade inata de aumentar em número (rm),a razão finita de aumento (λ) e tempo de duplicação (DT). Estes parâmetros foram comparados pela análise de Bootstrap (MEYER et al., 1986), no programa estatístico R® versão 3.2.3.

### 2.2.8 Análise de dados

Os dados dos itens 2.2.3, 2.2.5, 2.2.6 e 2.2.7 foram analisados pelos modelos lineares generalizados (GLM) (NELDER; WEDDERBURN, 1972) do tipo binomial para os dados de viabilidade e razão sexual e do tipo Poisson para a duração, longevidade e número de ovos por fêmea. A verificação do ajuste foi feita mediante o uso de um gráfico meio-normal de probabilidades com envelope simulado (DEMÉTRIO; HINDE, 1997; HINDE; DEMETRIO, 1998). Quando houve diferenças significativas, foram feitas comparações múltiplas pelo teste de Tukey a 5% de significância mediante a função glht do pacote multicomp com p ajustado.

A análise de agrupamento foi realizada pelo método “Ward Hierarchical Clustering” com a função hclust. Todas as análises foram feitas no programa estatístico R® versão 3.2.3.

## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dietas artificiais e dieta natural

Quando comparadas as quatro dietas artificiais, sete dias após a inoculação, foi observado que na dieta D3 ocorreu a maior viabilidade de *T. absoluta* seguida do valor obtido na dieta D2(F= 11,972; P<0,001; GL=3, 895). As lagartas alimentadas nas dietas contendo liofilizado de folhas de tomateiro (D4), mostraram viabilidade inferior a 60% (sete dias após a inoculação) (Tabela 2).

O período larval foi mais longo nas dietas artificiais quando comparado com a dieta natural (F= 366, 33; P<0,001; GL= 4, 554;). Entre as dietas artificiais a menor duração foi obtida nas dietas que continham folhas de tomateiro liofilizado. As maiores durações dos estágios larval e pupal foram obtidas na dieta D3 (pupa: F= 12,63; P < 0,001; GL= 4,442). Da mesma maneira, as dietas com folhas de tomateiro liofilizado apesentaram um período pupal menor àquele obtido em dieta natural (Tabela 2).

Tabela 2 – Viabilidade sete dias após inoculação (% ± EP) e duração média (± EP) das fases larval e pupal de *Tuta absoluta* em cinco dietas

| Dieta | Viabilidade sete dias após inoculação | Duração (dias) | |
|---|---|---|---|
| | | Lagarta | Pupa |
| D1[1] | 44,67 ± 4,72 d | 15,83 ± 4,25 c | 8,34± 1,38 c |
| D2[2] | 65,33 ± 54,36 b | 17,64 ± 2,07 b | 8,65 ± 1,27 bc |
| D3[3] | 76,63 ± 2,85 a | 22,10 ± 1,24 a | 9,20 ± 1,75 a |
| D4[4] | 55,33 ± 5,18 c | 16,12± 3,87 c | 8,22 ± 0,19 c |
| D5[5] | - | 12,99 ± 1,72 d | 9,02 ± 1,16 ab |

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P >0,005).
[1.] Mihsfeldt e Parra (1999), baseada em Greene et al ( 1976)
[2.] Hensley e Hammond (1968)
[3.] Berger (1963) modificada
[4.] Berger (1963) modificada + pó de tomateiro
[5.] Folhas de tomateiro

A viabilidade larval foi diferente entre as dietas natural e artificial, sendo maior na dieta natural, registrando-se na dieta D3 a maior viabilidade entre as dietas artificiais (F= 35,155; P<0,001; GL= 4, 895). A viabilidade pupal foi maior que 70% em todas as dietas, sendo maior nas dietas natural e na dieta D3 (F= 5, 1308; P<0,001; GL= 4,560). As viabilidades de ovos das dietas D3 e D4 foram iguais àquelas obtidas na dieta natural (F= 4,2583; P<0,001; GL= 4,1499), enquanto que, nas dietas D1 e D2 a viabilidade foi menor, ainda que esse parâmetro tenha sido maior que 80% nas quatro dietas avaliadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Viabilidade (%) de ovo, lagarta, pupa e total (% ± EP) de *Tuta absoluta* em cinco dietas

| Dieta | Ovo (%) | Lagarta (%) | Pupa (%) | Total (%) |
|---|---|---|---|---|
| D1[1] | 87,00 ± 1,94 b | 35,33 ± 3,91 c | 84,90 ± 4,96 ab | 26,36 |
| D2[2] | 86,33 ± 1,98 b | 57,33 ± 4,05 abc | 81,40 ± 4,22 b | 40,00 |
| D3[3] | 94,10 ± 1,37 a | 74,83 ± 2,55 ab | 97,74 ± 1,86 a | 69,71 |
| D4[4] | 90,00 ± 1,74 ab | 48,00 ± 4,09 bc | 74,64 ± 5,19 b | 30,80 |
| D5[5] | 93,53 ± 1,44 a | 91, 39 ± 2,30 a | 93, 43 ± 2,12 a | 80,29 |

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P >0,005).
1. Mihsfeldt e Parra (1999), baseada em Greene et al ( 1976)
2. Hensley e Hammond (1968)
3. Berger (1963) modificada
4. Berger (1963) modificada + pó de tomateiro
5. Folhas de tomateiro

A razão sexual não diferiu entre os tratamentos estudados ($Chi^2$=6,33, GL=4, P=0,1753) (Tabela 4) enquanto que o peso das pupas foi maior para as fêmeas, sendo que as pupas mais pesadas, para os dois sexos, foram obtidas nas dietas D3, D4, e D5. As deformações encontradas foram menores que 5% em todas as dietas estudadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Razão sexual, peso e deformação de pupas de *Tuta absoluta* criadas em cinco dietas

| Dieta | Razão sexual* | Peso de pupa (mg)** | | Deformações % |
|---|---|---|---|---|
| | | Fêmeas | Machos | |
| D1 | 0,55 | 2,50 ± 0,18 b | 2,32 ± 0,107 b | 3,76 |
| D2 | 0,44 | 2,51 ± 0,15 b | 2,20 ± 0,12 b | 4,00 |
| D3 | 0,40 | 3,53 ± 0,07 a | 3,34 ± 0,104 a | 3,33 |
| D4 | 0,53 | 3,58 ± 0,09 a | 3,44 ± 0,069 a | 4,33 |
| D5 | 0,50 | 3,64 ± 0,10 a | 3,48 ± 0,047 a | - |

*As proporções não foram diferentes ($Chi^2$=6,33, GL=4, P=0,1753)
**Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P 0,005)
1. Mihsfeldt e Parra (1999), baseada em Greene et al. (1976)
2. Hensley e Hammond (1968)
3. Berger (1963) modificada
4. Berger (1963) modificada + pó de tomateiro
5. Folhas de tomateiro

A análise de agrupamento evidenciou a formação de três grupos (Figura 3). No primeiro grupo encontraram-se a dieta natural (D5) e a dieta à base de caseína, germe-de-trigo e celulose (D3), que apresentou um bom desempenho nos parâmetros avaliados. Num segundo grupo, situou-se a dieta à base de caseína, germe-de-trigo, celulose e pó de folhas de tomateiro e num terceiro grupo, as dietas à base de feijão e pó de folhas de tomateiro (D1) e a dieta à base de caseína e germe-de-trigo (D2) que apresentaram os piores desempenhos (Figura 3).

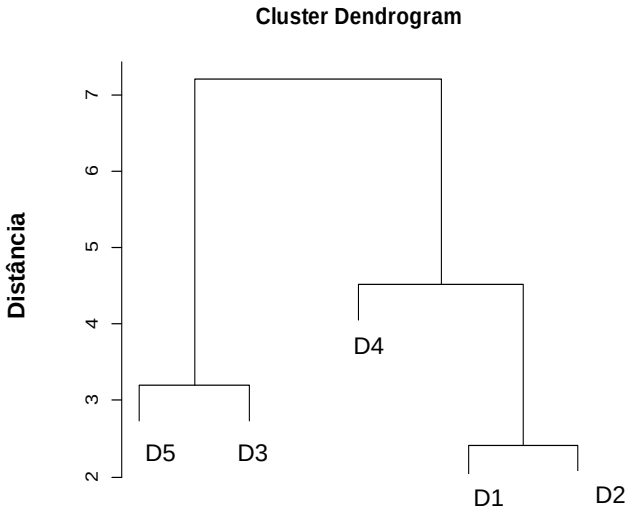


Figura 3 - Fenograma por distância Euclidiana média das dietas testadas para *Tuta absoluta*. D1: à base de feijão e pó de folhas de tomateiro; D2: à base de caseína e germe-de- trigo; D3: à base de caseína, germe de trigo e celulose; D4: à base de caseína, germe-de-trigo, celulose e pó de folhas de tomateiro; D5: dieta natural.

### 2.3.2 Determinação do número de ínstares de *T. absoluta* em dieta artificial

Na avaliação dos ínstares larvais de *T. absoluta,* foi observado que esta traça apresentou quatro ínstares larvais (Figura 4) quando desenvolvida na dieta D3, número coincidente àquele obtido quando este lepidóptero desenvolve-se em dieta natural (HAJI et al., 1988; MIHSFELDT; PARRA, 1999; GIUSTOLIN; VENDRAMIM; PARRA, 2002).

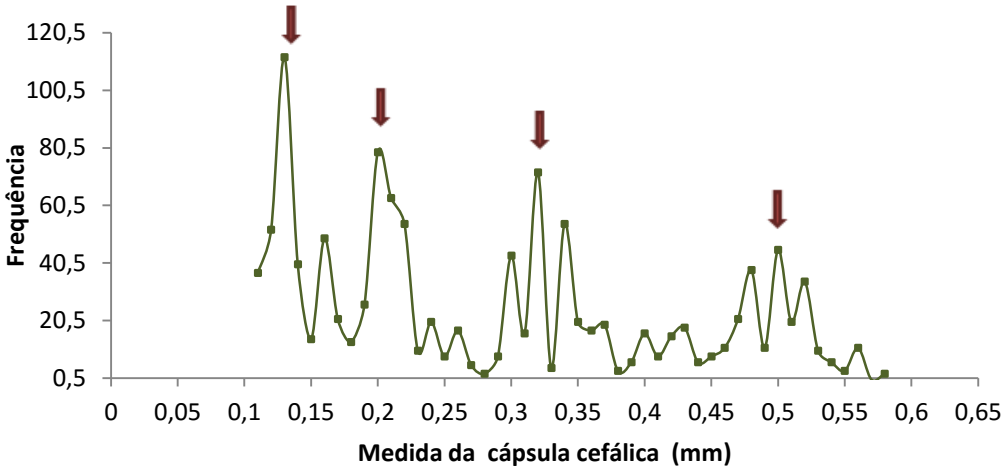


Figura 4 - Curva de distribuição multimodal da largura das cápsulas cefálicas de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas na dieta D3 (caseína, germe-de-trigo e celulose). $R^2$ = 0,92. As setas indicam os ínstares. Segundo a regra de Dyar (1890)

### 2.3.3 Comparação de tamanho adequado do recipiente para a criação de *T. absoluta*

Quando comparada a viabilidade larval da traça-do-tomateiro criada em três tipos de recipiente, foi observado que no tubo de vidro pequeno (Figura 2), a viabilidade foi maior em comparação com os outros dois recipientes testados (F= 5,906; GL=2,87; P>0,027) (Tabela 5).

Tabela 5 - Viabilidade larval (%± EP) de *Tuta absoluta* criada em três tipos de recipientes

| Tipo de recipiente | Viabilidade larval (%) |
|---|---|
| Tubo de vidro grande (2,0 x 8,5 cm) | 43,33 ± 5,20 b |
| Tubo de vidro pequeno (1,0 x 6,0 cm) | 66,66 ± 8,75 a |
| Copo de material plástico (4,0 x 6,0 cm) | 23,33 ± 7,85 c |

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P 0,005)

A perda de água nos recipientes variou dependendo do tipo de recipiente. O recipiente que propiciou a maior viabilidade mostrou uma perda de água maior durante os 20 dias avaliados (Figura 5). A perda de agua foi de 20,40 para o tubo pequeno, 15,75 para o tubo grande e 13,23 para o tubo plástico.

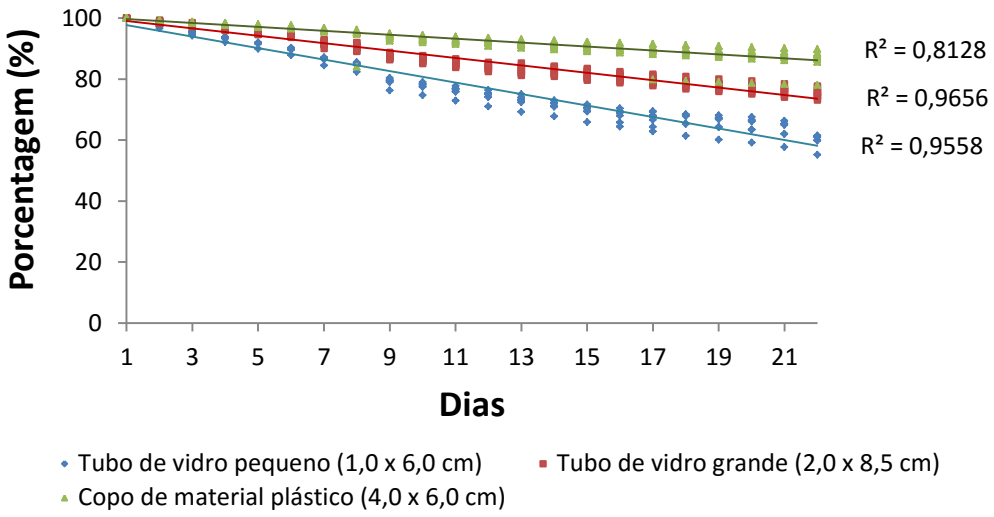


Figura 5 – Porcentagem de perda de água da dieta artificial para *Tuta absoluta* nos 3 recipientes testados, com os respectivos valores de $R^2$.

### 2.3.4 Número ideal de lagartas de *T. absoluta* por tubo

Após a seleção da dieta e do recipiente mais adequado para a criação desta espécie (dieta D3 e recipiente de vidro pequeno), foi comparado o número de lagartas a ser criado no recipiente selecionado. Quando uma lagarta foi colocada por recipiente, a viabilidade foi inferior àquela obtida quando colocadas três lagartas, pois, neste caso, a viabilidade larval foi a maior, havendo um decréscimo da viabilidade em densidades maiores (F= 23,397; GL= 4,75; P=0,0445). A viabilidade pupal não foi afetada pela densidade (F= 0,2137; GL=4,70; P= 0,091) (Tabela 6).

Tabela 6 - Viabilidades larval e pupal (% ± EP) de *Tuta absoluta,* quando criada em cinco densidades por recipiente de criação

| Número de lagartas | Viabilidade larval (%) | Viabilidade pupal (%) |
|---|---|---|
| 1 | 68,75 ± 6,38 c | 90,9 ± 10,16 a |
| 3 | 87,5 ± 5,70 a | 93,75 ± 5,84 a |
| 6 | 77,08 ± 7,76 b | 78,12 ± 10,30 a |
| 9 | 76,39 ± 4,60 b | 90,40 ± 4,83 a |
| 12 | 61,45 ± 4,64 d | 98,43 ± 1,46 a |

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P 0,005).

### 2.3.5 Desenvolvimento biológico de *T. absoluta* na dieta selecionada por oito gerações

A duração na fase de ovo (período embrionário) foi mais longa na primeira geração, diminuindo nas gerações seguintes (F= 3,66; GL=3,39; P<0,001) (Figura 6). O período larval foi semelhante nas gerações um, seis e oito, com um período larval menor na geração quatro (F= 262,63; GL=3,918; P<0,001). Por outro lado, na geração quatro foi registrado um alongamento da fase pupal em comparação com as demais gerações avaliadas (F= 83,24; GL=3,747; P<0,001). O desenvolvimento de *T. absoluta* (ovo-adulto) na dieta à base de germe-de-trigo, caseína e celulose foi de 34,7, 30,7, 33,0, e 31,8 dias na primeira, quarta, sexta e oitava gerações, respectivamente, mostrando uma adaptação ao meio artificial com a tendência de redução do ciclo ao longo das gerações.

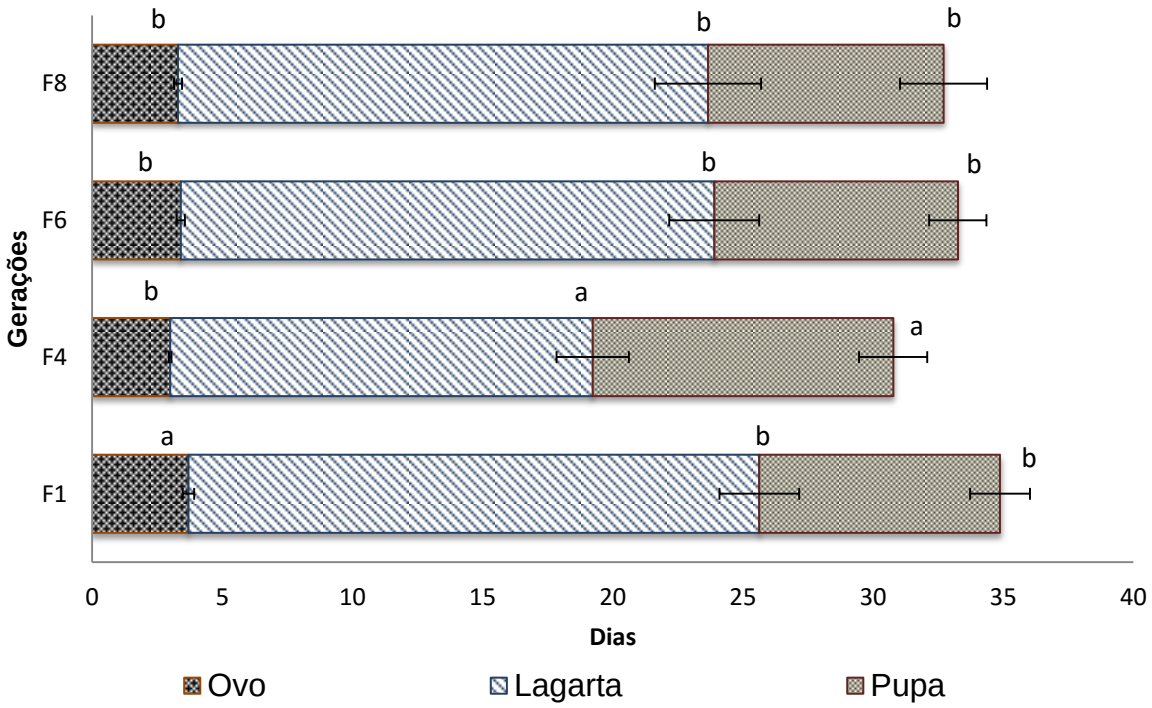


Figura 6 - Duração do período de ovo, lagarta e pupa de *Tuta absoluta* em dieta selecionada (D3) nas gerações. F1, F4, F6 e F8. Barras com a mesma letra, não são significativamente diferentes (Tukey, P 0,005)

A viabilidade, sete dias após a inoculação, foi maior na oitava geração quando comparada com a primeira geração na dieta selecionada D3 (F= 18,492; P<0,001; GL= 3, 1196) (Tabela 7). O estágio de ovo apresentou maior viabilidade na primeira geração e diminuiu nas gerações subsequentes, mas em nenhum caso foi menor do que 90%. Os estágios larval e pupal não apresentaram diferenças na viabilidade entre as gerações avaliadas (lagarta: F= 3,491 ;P=0,0058; GL= 3, 1184, pupa: F= 0,4962; P=0,685; GL=3,952). A viabilidade total foi superior a 70% nas quatro gerações estudadas, sendo que na oitava geração, a viabilidade foi de 75% que segundo Singh (1983), é um valor a partir do qual, uma dieta artificial pode ser considerada adequada para criação de uma espécie em laboratório.

Tabela 7 - Viabilidade (% ± EP) de *Tuta absoluta* na dieta D3 (caseína, germe-de-trigo e celulose) na primeira, quarta, sexta e oitava gerações.

| Geração | Sete dias | Viabilidade | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Ovo | Lagarta | Pupa | Total |
| F1 | 77,77 ± 2,52 b | 98,75 ± 0,05 a | 76,00 ± 3,85 a | 91,28 ± 1,91 a | 68,87 ± 1,42 b |
| F4 | 87,66 ± 1,62 ab | 94,50 ±0,11 b | 83,00 ± 3,63 a | 89,75 ± 2,00 a | 69,97 ± 0,91b |
| F6 | 83,00 ± 2,22 ab | 97,25 ± 0,80 ab | 79,33 ± 2,34 a | 93,59 ± 1,80 a | 71,18 ± 0,70 ab |
| F8 | 93,33 ± 1,44 a | 93,00 ± 0,10 b | 88,33 ± 2,99 a | 89,64 ± 1,92 a | 74,66 ± 0,94 a |

*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P 0,005).

Embora a longevidade de fêmeas tenha sido maior na geração F6 aparentemente, este parâmetro não foi afetado pela continuidade da manutenção do inseto em dieta artificial. A fecundidade foi menor na primeira geração, apresentando nas gerações posteriores um aumento neste parâmetro (Tabela 8). Na dieta selecionada houve uma adaptação do inseto também com relação â longevidade e fecundidade.

Tabela 8 - Longevidade e fecundidade de *Tuta absoluta* criada em dieta à base de caseína, germe-de-trigo e celulose, por oito gerações

| Geração | Longevidade (dias) | Fecundidade (ovos/fêmea) |
|---|---|---|
| F1 | 12,80 ± 1,11 b | 88,06 ± 13,89 b |
| F4 | 11,77 ±0,79 b | 117,25 ±10,73 a |
| F6 | 15,97 ± 0,78 a | 130,72 ± 12,32 a |
| F8 | 13,96 ± 0, 63 b | 115,88 ± 8,33 a |

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas não são significativamente diferentes (Tukey, P 0,005).

As análises feitas com os valores obtidos na tabela de vida, nas gerações um, quatro, seis e oito (Tabela 9) não mostraram diferenças entre gerações com variâncias próximas de zero, indicando a semelhança dos dados obtidos nas diferentes gerações estudadas. A taxa liquida de reprodução (Ro) esteve entre 41e 45, a capacidade inata de aumentar em número (rm) variou entre 0,08 e 0,12; a razão finita de aumento (λ) foi de 1,1 e a duração media de uma geração (T) foi de 32 e 45 dias, e o tempo de duplicação de uma geração também se mostrou similar variando de 5,89 a 8,32.

Tabela 9 - Parâmetros da tabela de vida para *Tuta absoluta* desenvolvida na dieta D3, à base de caseína, germe-de-trigo e celulose, por oito gerações. (I. C. 95%)

| Geração | Ro[1] | rm[2] | λ[3] | T[4] | DT[5] |
|---|---|---|---|---|---|
| F1 | 45,019 (21,06 - 82,97) | 0,117 (0,08 - 0,14) | 1,124 (1,09 - 1,15) | 32,405 (30,26 - 34,92) | 5,89 (4,80 - 7,89) |
| F4 | 45,164 (25,24 - 76,37) | 0,099 (0,07 - 0,12) | 1,104 (1,08 - 1,12) | 38,395 (35,88 - 41,59) | 6,984 (5,78- 8,79) |
| F6 | 45,170 (21,41 -93,11) | 0,109 (0,08- 0,15) | 1,116 (1,08- 1,16) | 34,689 (32,08 - 37,92) | 6,310 (4,56 - 8,59) |
| F8 | 40,930 (17,40-83,02) | 0,083 (0,06-0,10) | 1,086 (1,06 - 1,10) | 44,558 (42,43- 46,96) | 8,320 (6,75–12,01) |

[1)]Taxa líquida de reprodução; [2)]Capacidade inata de aumentar em número; [3)]Razão finita de aumento; [4)]Duração média de uma geração; [5)] Tempo de duplicação. Parâmetros comparados pela análise de Bootstrap (10.000 repetições).

## 2.4 Discussão

Neste estudo, ocorreu o desenvolvimento do período ovo-adulto de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) nas quatro dietas artificiais testadas, embora tenha sido observada uma alta mortalidade (25 a 55%) sete dias após a inoculação (Tabela 2). Entre os lepidópteros, os minadores criados em dieta natural, apresentam usualmente mortalidade de até 32% no primeiro ínstar (ZALUCKI; CLARKE; STEPHEN, 2002) e muitos outros fatores influenciam nesta mortalidade quando os insetos são criados em dieta artificial, como por exemplo, as proporções dos diferentes componentes das dietas testadas, as condições físicas, bem como o nível de umidade da dieta, tamanho de partículas dos ingredientes após serem misturadas, condições ambientais da sala de criação, agentes microbianos entre outros (MIHSFELDT; PARRA, 1999; COHEN, 2004).

A inclusão de um ingrediente que estimula a alimentação pode levar a aumentar a sobrevivência, diminuir o tempo de desenvolvimento e permitir a criação contínua (DAVIS, 1968); por outro lado, uma dieta com um bom fagoestimulante pode permitir o inicio da alimentação, mas pode ser nutricionalmente inadequada se não fornecer os nutrientes necessários para completar o desenvolvimento. A ação fagoestimulante, avaliada pela viabilidade sete dias após inoculação, foi melhor na dieta D3 (Tabela 2) que não contém liofilizado de folhas de tomateiro na sua composição. Esse ingrediente, presente nas dietas D1 e D4, foi adicionado com o intuito de melhorar o inicio da alimentação, desde que a adição de pó de folhas de tomateiro teve resultados promissores na dieta para esta espécie (MIHSFELDT; PARRA, 1999). Entretanto, testes com o mesmo ingrediente utilizado pelos autores mencionados não levou a resultados satisfatórios, pois, embora o pó de folhas de tomateiro contenha açúcares e aminoácidos, que poderiam estimular o inicio da alimentação (AWMACK; LEATHER, 2002), é possível que também fiquem conservados compostos secundários que prejudiquem o desenvolvimento das lagartas, devido à obtenção deste produto por liofilização. É necessário o estudo da adição de quantidades menores do produto liofilizado visando a obter uma maior viabilidade. Embora seja comum o uso de material vegetal para aumentar a fago estimulação em dietas artificiais, existem estudos que não mostram benefícios da

adição destes componentes quando comparados com dietas que não possuem tal ingrediente (WANG et al., 2014).

O açúcar, além de ser fundamental para o metabolismo do inseto, pode contribuir como fagoestimulante (COHEN, 2004; GLENDINNING; JERUD; REINHERZ, 2007). A composição dos carboidratos utilizados assim como a quantidade utilizada é importante na alimentação do inseto (THOMPSON; REDAK, 2000). A quantidade de açúcar consumida pode afetar a concentração de trealose, que é a principal açúcar presente na hemolinfa dos insetos, o que afeta diretamente o comportamento alimentar das lagartas (FRIEDMAN et al., 1991). No presente estudo, a dieta com maior teor de açúcar (dieta D2) não propiciou a maior sobrevivência, indicando que *T. absoluta* não tem grande exigência deste nutriente.

Como referido anteriormente, a dieta D3, que contém celulose na sua composição, proporcionou uma viabilidade larval, sete dias após inoculação, maior do que as das outras dietas artificiais (Tabela 2). A celulose é um polissacarídeo que compreende de 20 a 40% da matéria seca das plantas herbáceas e de 40 a 50% a composição da parede celular (MCGINNIS; KASTING, 1967). Esse ingrediente não oferece nutrientes ao inseto, mas modifica a estrutura física da dieta. Alguns autores têm demostrado que insetos fitófagos consomem mais matéria seca em dietas enriquecidas com celulose (MCGINNIS; KASTING, 1967), isto devido à transformação da dieta em uma estrutura mais fibrosa. Em estudos realizados com *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae), a adição de celulose na dieta artificial, aumentou a taxa de consumo, pois a celulose ajuda a diluir os compostos da dieta o que promove maior ingestão de alimento, compensando a pouca digestibilidade que caracteriza este composto (PETERSON; SCRIBER; COORS, 1988).

Outro efeito da presença de celulose na dieta artificial de lepidópteros é um crescimento mais lento e um alongamento do estágio larval (PETERSON; SCRIBER; COORS, 1988; TIMMINS et al., 1988), fenômeno que também foi observado neste estudo, pois na dieta D3, o período larval foi 10 dias maior do que aquele registrado na dieta natural. Nas outras três dietas artificiais avaliadas o período larval também aumentou (de 3 a 4 dias) (Tabela 2), o que é referido com frequência em criações em dieta artificial (SHEN et al., 2006; CERNA MENDOZA, 2012), e já tinha sido observado por Mihsfeldt e Parra (1999) para *T. absoluta* com uma duração de 19

dias da fase larval em dieta artificial. O período pupal na dieta D3 foi semelhante ao valor obtido na dieta natural e, nas outras dietas artificiais estudadas, esse período foi menor, fato comum em dietas artificiais (MENDONÇA; DE CARVALHO QUEIROZ; D´ALMEIDA, 2009).

Observou-se que a fase larval foi a mais critica na criação desta espécie, principalmente nos primeiros dias de desenvolvimento, coincidindo com as observações de Mihsfeldt e Parra (1999). Entre as dietas avaliadas, a melhor viabilidade larval foi obtida na dieta D3 (Tabela 3), à base de caseína, germe-de-trigo e celulose, onde também foi obtida a maior viabilidade pupal. Isto sugere que esta dieta pode suprir as exigências nutricionais desta espécie. Destaca-se que as viabilidades larval e pupal de *T. absoluta* nesta dieta foram similares àquela obtida na dieta natural (Tabela 3). A viabilidade dos ovos foi alta, sendo superior a 85% em todas as dietas avaliadas e foi maior nas dietas D3 e D4 não diferindo dos valores obtidos em dieta natural. Viabilidades altas de ovos já foram referidas para esta espécie (GONÇALVES-GERVÁSIO et al., 1999; BOGORNI; CARVALHO, 2006) em dietas natural e artificial (MIHSFELDT, 1998).

As pupas que foram obtidas na dieta D3 tiveram peso semelhante àquelas provenientes da dieta natural e da dieta D4 (Tabela 4). Isto foi obtido tanto para machos quanto para fêmeas. Este peso é um indicativo de que as condições nutricionais na dieta artificial alcançaram padrões similares aos da dieta natural. Essa hipótese é apoiada pela não alteração do número de ínstares larvais de *T. absoluta* quando criada na dieta D3, ou seja, quatro ínstares (Figura 3), mesmo número que o inseto apresenta quando é criado em folhas de tomateiro, planta que é o seu hospedeiro natural (HAJI et al., 1988; MIHSFELDT; PARRA, 1999; GIUSTOLIN; VENDRAMIM; PARRA, 2002).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a dieta artificial baseada em germe-de-trigo, caseína e celulose pode ser usada para a criação de *Tuta absoluta* em condições de laboratório. Embora a duração do estágio larval seja maior, os parâmetros biológicos avaliados mostraram que é possível a criação desta espécie na dieta artificial D3, com desempenho semelhante àquela criada na dieta natural (Figura 3).

Para aperfeiçoar o processo de criação desta espécie, foram avaliados diferentes recipientes de criação (Tabela 5). Foi determinado que o tubo de vidro de

fundo plano de 1,0 x 6,0 cm, tampado com algodão hidrófugo é o mais adequado ao desenvolvimento de *T. absoluta*. A quantidade de água é um fator determinante na qualidade da dieta artificial. Assemi et al. (2012) encontraram que um recipiente de menor tamanho forneceu as condições adequadas para o crescimento de *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) e diminuiu a contaminação por fungos e bactérias. Uma explicação para este resultado seria o conteúdo de água na dieta artificial (COHEN, 2004). A água junto com os macro e micro-nutrientes que compõem os alimentos determina a textura, disponibilidade orgânica, palatabilidade e estabilidade do mesmo (CELESTINO, 2010) e consequentemente afetam a aquisição dos nutrientes por parte do inseto. Nos alimentos, a água pode estar presente em duas formas: água livre, que está presente na superfície das macromoléculas, e água ligada ou combinada, que se encontra associada com outras substâncias do alimento. Quando existe um excesso de umidade, a água livre pode permitir o desenvolvimento de patógenos no meio de criação e quando existe uma limitação deste liquido pode ser gerada uma situação de estresse, originando, por exemplo, um desequilíbrio osmótico que resulta na desidratação do inseto (EDNEY, 1977). A perda de água está relacionada com a relação superfície: volume, em que quanto maior o tamanho do objeto, menor é a relação entre a superfície e o volume do mesmo (GARCIA et al., 2006). No copo plástico estudado, o volume exposto foi maior e, portanto a perda de água é menor, comparado com o tubo escolhido como o melhor (6,0 x 1,0 cm), onde a área superficial era menor o que levou a uma perda de água que favoreceu o desenvolvimento desta espécie, provavelmente pelo hábito alimentar da espécie e por permitir um menor desenvolvimento de patógenos. Fica claro, desta forma, que as características físicas da dieta são importantes para *T. absoluta,* conforme referido por Mihsfeldt e Parra (1999).

A densidade de lagartas por recipiente de criação influencia a sobrevivência dos indivíduos (WANG et al., 2013). No experimento realizado (Item 2.3.4) foi observado que uma densidade de três lagartas por tubo permite uma viabilidade larval superior a 80% e viabilidade pupal maior que 90% sendo estes percentuais adequados para se obter uma alta sobrevivência na criação. Na densidade de uma lagarta por tubo, e nas densidades superiores a três lagartas por tubo, a viabilidade larval foi reduzida, sem afetar, no entanto, as viabilidades pupais (Tabela 6). A maior

mortalidade na maior densidade pode estar relacionada à condição de maior umidade fornecida pelos excrementos larvais e que pode ter afetado a viabilidade, conforme comentado no item 2.3.3. A viabilidade larval próxima a 68% foi observada tanto neste experimento como no experimento descrito no item 2.3.4 onde a viabilidade larval foi de 66% para o melhor recipiente; estes dados sugerem que pode ser obtido um maior numero de indivíduos utilizando-se a densidade de três lagartas por tubo.

Quando avaliados os parâmetros biológicos de *T. absoluta* na dieta selecionada nas gerações um, quatro, seis e oito (item 2.3.5), foi observado que a duração do período ovo-adulto foi diminuindo com as gerações, passando de 34,67 dias na primeira geração para 31,79 dias na oitava geração (Figura 6). Embora o ciclo de vida desta espécie seja referido como sendo de 22 a 30 dias na dieta natural (BARRIENTOS et al., 1998), os resultados obtidos com esta dieta artificial não estão muito distante daqueles valores. As maiores diferenças ocorreram no período larval, já que em folhas de tomateiro a duração do período foi de 14 dias (FRANÇA et al., 2000; DESNEUX et al., 2011; URBANEJA et al., 2013), enquanto que na presente pesquisa este valor foi de 20 a 22 dias na dieta artificial D3.

A viabilidade sete dias após inoculação (ação fagoestimulante) aumentou com as gerações, enquanto que as viabilidades larval e pupal foram iguais nas gerações avaliadas, com viabilidade total de 75% na oitava geração, sendo essa viabilidade maior do que aquela encontrada em dietas anteriormente selecionadas (MIHSFELDT; PARRA, 1999) (Tabela 7).

A longevidade de fêmeas na primeira geração foi de 13 dias (Tabela 8), aumentando para 16 dias na geração F6. Em dieta natural, são registrados diversos valores na longevidade de *T. absoluta,* variáveis de 10-15 dias (ESTAY P., 2000; DESNEUX et al., 2010), podendo chegar a 18 dias (ESTAY P., 2000), 23 dias (BOGORNI; CARVALHO, 2006) e até 31 dias (IMENES et al., 1994). Estes valores são o resultado de diferenças abióticas das condições experimentais dos diversos estudos. Os adultos avaliados foram alimentados com gotículas de mel puro visando a um aumento na longevidade e oviposição, como obtido por Bogorni e Carvalho (2006). Embora no presente trabalho, os valores registrados na dieta tenham sido inferiores aos valores obtidos por esses autores, fica evidente a adaptação do inseto às condições de laboratório no meio artificial selecionado.

A fecundidade foi maior do que a relatada quando *T. absoluta* foi criada em outras dietas artificiais; Mihsfeldt e Parra (1999) obtiveram um número médio de ovos por fêmea que variou de 43 a 73 em outras dietas artificiais para esta espécie. O número obtido neste trabalho, desde a quarta geração foi de 117 ovos por fêmea, (Tabela 8). Em condições naturais a traça-do-tomateiro pode colocar até 260 ovos por fêmea (UCHOÂ-FERNANDES; DELLA LUCIA; VILELA, 1995), porém existem registros variando de 55 a 130 ovos (COELHO; FRANCA, 1987; HAJI et al., 1988) e de 141 ovos por fêmea (ERDOĞAN, 2014).

Quanto aos parâmetros de tabela de vida na dieta D3 (Tabela 9), não houve diferença nos parâmetros avaliados nas gerações observadas. A taxa intrínseca de aumento (rm) foi menor neste estudo do que os valores encontrados por outros autores em dieta natural (PEREYRA; SÁNCHEZ, 2006; ERDOĞAN, 2014).

A taxa liquida de reprodução (Ro), ou seja, o número de vezes que a população aumenta em cada geração foi próxima à obtida por Erdoğan (2014) e Pereyra e Sánchez (2006) em dieta natural. Este resultado indica que o crescimento populacional é semelhante em ambas condições alimentares. A razão finita de aumento também foi similar à obtida pelos autores mencionados.

A duração média de uma geração (T) foi semelhanter à relatada na dieta de Mihsfeldt e Parra (1999) e maior ao valor encontrado para esta espécie em dieta natural (PEREYRA; SÁNCHEZ, 2006; ERDOĞAN, 2014). O tempo de duplicação (TD) foi menor na dieta D3 quando comparado com o valor obtido por Mihsfeldt (1998) que referem um tempo necessário para duplicação da população (TD) de 11 gerações enquanto que neste estudo a duplicação ocorreu no período de 5 a 8 gerações. Os resultados obtidos sugerem que a dieta à base de germe-de-trigo, caseína e celulose atende às exigências nutricionais de *T. absoluta*, pois o inseto foi criado por oito gerações, mantendo as características da traça criada em dieta natural. As exigências físicas de *T. absoluta* foram supridas com a adequação do número de lagartas ao tubo de criação que perde mais agua.

## 2.5 Conclusões

- Uma dieta artificial à base de germe-de-trigo, caseína e celulose oferece condições nutricionais para a criação de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) com uma

viabilidade de 75% sem afetar o desenvolvimento e reprodução do inseto por oito gerações sucessivas.

- Com o passar das gerações, *Tuta absoluta* se adapta à dieta artificial.
- Recipientes menores com densidades menores fornecem condições físicas favoráveis ao desenvolvimento do inseto, relacionadas à perda de agua da dieta.

**Referências**

ASSEMI, H.; REZAPANAH, M.; VAFAEI-SHOUSHTARI, R.; MEHRVAR, A. Modified artificial diet for rearing of tobacco budworm, *Helicoverpa armigera*, using the Taguchi method and Derringer's desirability function. **Journal of Insect Science**, Annapolis, v. 12, p. 100, 2012.

AWMACK, C.S.; LEATHER, S.R. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, n. 1, p. 817–844, 2002.

BAJONERO, J.; CÓRDOBA, N.; CANTOR, F.; RODRÍGUEZ, D.; CURE, R. Biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera : Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 26, n. 3, p. 417–426, 2008.

BARRIENTOS, R.; APABLAZA, J.; NORERO, A.; ESTAY P., P. Temperatura base y constante termic de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciencia e Investigación**, Santiago, v. 25, n. 3, p. 133–138, 1998.

BAWIN, T.; DUJEU, D.; DE BACKER, L.; FAUCONNIER, M.-L.; LOGNAY, G.; DELAPLACE, P.; FRANCIS, F.; VERHEGGEN, F.J. Could alternative solanaceous hosts act as refuges for the tomato leafminer, *Tuta absoluta*? **Arthropod-Plant Interactions**, Dordrecht, v. 9, n. 4, p. 425–435, 2015.

BERGER, R.S. **Laboratory techiques for rearing *Heliothis* species on artificial medium.** Washington: USDA, Agricultural Research Service, 1963. 4 p.

BOGORNI, C.; CARVALHO, G. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bioikos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 49–61, 2006.

BUTT, B.A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae.** Washington: USDA, Agricultural Research Service, 1962. 7 p.

CELESTINO, S.M.C. **Princípios de secagem de alimentos**. Planaltina: EMBRAPA, Cerrados, 2010. 50 p.

CELY, L.; CANTOR, F.; RODRIGUEZ, D. Determination of levels of damage caused by different densities of *Tuta absoluta* populations (Lepidoptera: Gelechiidae) under greenhouse conditions. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 28, n. 3, p. 401–411, 2010.

CERNA MENDOZA, A. **Desenvolvimento de dietas artificiais liofilizadas para euschistus heros (Fabricius, 1798), com vistas à produção de *Telenomus podisi* ( Ashmead , 1893 ) e *Trissolcus basalis* (Wollaston, 1858)**. 2012. 101 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia)- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

COELHO, M.; FRANCA, H. Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v. 22, n. 2, p. 129–135, 1987.

COHEN, A.C. **Insect diets science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 2004. v. 1, 324 p.

DAVIS, G.R.I. Phagostimulation and consideration of its role in artificial diets. **Bulletin of the Entomological Society of America**, Washington, v. 14, p. 27–30, 1968.

DEMÉTRIO, C.G.B.; HINDE, J. Half-normal plots and overdispersion. **The GLIM Newsletters**, Oxford, v. 27, p. 19–26, 1997.

DESNEUX, N.; LUNA, M. G.; GUILLEMAUD, T.; URBANEJA, A. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. **Journal of Pest Science**, Berlim, v. 84, p. 403–408, 2011.

DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; WYCKHUYS, K.A.G.; BURGIO, G.; ARPAIA, S.; NARVÁEZ-VASQUEZ, C.A.; GONZÁLEZ-CABRERA, J.; RUESCAS, D.C.; TABONE, E.; FRANDON, J.; PIZZOL, J.; PONCET, C.; CABELLO, T.; URBANEJA, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, p. 197–215, 2010.

DYAR, H.G. The number of molts of lepidopterous larvae. **Psyche**, Cambridge, v. 5, n. 175;176, p. 420–422, 1890.

EDNEY, E.B. **Water balance in land arthropods**. Berlim: Springer, 1977. 282 p.

ERDOĞAN, P. Life table of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University**, Tokat, v. 31, n. 2014-2, p. 75, 2014.

ESCOBAR, H.; LEE, R. **Manual de producción de tomate bajo.** Bogotá: Cuadernos del Centro de Investigaciones y Asesorías Agroindustriales, 2009. 180 p.

ESTAY P., P. **Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick).** Santiago: Ministerio de Agricultura, Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación La Platina, 2000. Disponivel em: <www2.inia.cl>. Acesso em: 15 out. 2013.

_____. Polilla del tomate, mosquita blanca, chaqueta amarilla: uso de grados dias, eficaz herramienta en la prevencion de plagas. **INIA, Tierra Adentro**, p. 14–17, sept./oct. 2009. Disponível em: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/ta/NR36256.pdf>. Acesso em: 04 abr. 2015.

FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A. de. Manejo integrado de pragas. In: SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L. (Ed.). **Tomate para processamento industrial**. Brasilia: Embrapa Hortaliças, 2000. p. 112–127.

FRIEDMAN, S.; WALDBAUER, G.P.; EERTMOED, J.E.; NAEEM, M.; GHENT, A.W. Blood trehalose levels have a role in the control of dietary self-selection by *Heliothis zea* larvae. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 37, n. 12, p. 919–928, 1991.

GARCIA, M.; BUSATO, G.; ZART, M.; BERNARDI, O.; NUNES, A.; GIORGI, F.; BERNARDI, D. Volume de dieta artificial em recipientes de vidro para criação de *Helicoverpa zea* (BODDIE, 1850) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE). **Revista Brasileira de Agrociencia**, Pelotas, v. 12, n. 3, p. 363–366, 2006.

GIUSTOLIN, T.A.; VENDRAMIM, J.D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento de uma dieta artificial para estudos do efeito de aleloquímicos sobre *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 265–272, 1995.

_____. Número de ínstares larvais de *Tuta absoluta* (Meyrick) em genótipos de tomateiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 393–396, 2002.

GLENDINNING, J.I.; JERUD, A.; REINHERZ, A.T. The hungry caterpillar: an analysis of how carbohydrates stimulate feeding in *Manduca sexta.* **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 210, n. 17, p. 3054–3067, 2007.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R.D.C.R.; CIOCIOLA, A.I.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; MALUF, W.R. Aspectos biológicos de *Tuta absoluta* (MEYRICK , 1917) (LEPIDOPTERA : GELECHIIDAE) em dois genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 2, p. 247–251, 1999.

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

HAJI, F.N.P.; PARRA, J.R.P.; SILVA, J.P.; BATISTA, J.G.D.S. Biologia da traça-do-tomateiro sob condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasilia, v. 23, p. 107–110, 1988.

HENSLEY, S.D.; HAMMOND, M. Laboratory techniques for rearing the sugar cane borer on artificial diet. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 61, n. 6, p. 1742–1743, 1968.

HINDE, J.; DEMETRIO, C.G.B. Overdispersion : models and estimation. **Computational Statistics & Data Analysis**, Amsterdam, v. 27, p. 151–170, 1998.

IMENES, S.D.L.; CAMPOS, T.; MINORU, H.T.; LOTZ, I.M.P. Efeito de inseticidas na incidência de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiros. **Revista de Agricultura,** Piracicaba, v. 69, p. 231–242, 1994.

JHAM, G.N.; FRIGUETTO, R.T.; ATTYGALLE, A.B.; VILELA, E.F.; SVATOS, A.; MEINWALD, J.; UCHOA-FERNANDES, M.A.; FERRARA, F.A. Identificação, síntese e avaliação do feromonio sexual de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). In: VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. (Ed.). **Feromonios de insetos:** biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Riberão Preto: Holos, 2001. p. 206.

LUNA, M.G.; SÁNCHEZ, N.E.; PEREYRA, P.C. Parasitism of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) by *Pseudapanteles dignus* (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions. **Environmental Entomology**, College Park, v. 36, n. 4, p. 887–893, 2007.

MASCARIN, G.M.; ALVES, S.B.; RAMPELOTTI-FERREIRA, F.T.; URBANO, M.R.; DEMÉTRIO, C.G.B.; DELALIBERA, I. Potential of a granulovirus isolate to control *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 5, p. 657–671, 2010.

MCGINNIS, A.J.; KASTING, R. Dietary cellulose: effect on food consumption and growth of a grasshopper. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 45, n. 3, p. 165–167, 1967.

MENDONÇA, P.M.; DE CARVALHO QUEIROZ, M.M.; D´ALMEIDA, J.M. Rearing *Chrysomya megacephala* on artificial diets composed of varying concentrations of albumin. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 52, n. 2, p. 421–426, 2009.

MEYER, J.S.; INGERSOLL, C.G.; MCDONALD, L.L.; BOYCE, M.S. Estimating uncertainty in population growth rates : Jackknife vs . Bootstrap Techniques J. **Ecology**, Brooklyn, v. 67, n. 5, p. 1156–1166, 1986.

MIHSFELDT, L.H. **Biologia e exigências térmicas de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial**. 1998. 87 p. Tese (Doutorado em Entomologia)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

MIHSFELDT, L.H.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 769–776, 1999.

NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society.** Series A, London, v. 135, n. 3, p. 370–384, 1972.

NEVES, L.G.; LEAL, N.R.; RODRIGUES, R.; PEREIRA, N.E. Estimativa de parâmetros genéticos e correlação entre componentes de resistência à traça-do-tomateiro em progênies de *Lycopersicon esculentum x L. hirsutum f. glabratum*. **Horticultura Brasileira**, Brasilia, v. 21, n. 3, p. 458–461, 2003.

PARRA, J.R.P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 2013. 137 p.

PARRA, J.R.P.; HADDAD, M. **Determinação do número de ínstares de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1989. 49 p.

PEREYRA, P.C.; SÁNCHEZ, N.E. Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, p. 671–676, 2006.

PETERSON, S.S.; SCRIBER, J.M.; COORS, J.G. Silica, cellulose and their interactive effects on the feeding performance of the Southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, v. 61, n. 2, p. 169–177, 1988.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R version 3.2.3.** Vienna, 2010. Disponivel em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 20 dez. 2015

SANNINO, L.; ESPINOSA, B. *Tuta absoluta*: guida alla conoscenza e recenti acquisizioni per una corretta difesa. **L'Informatore Agrario,** Verona, v. 1, n. 46, p. 113 p. 2010. Supplemento.

SHEN, T.-C.; TSENG, C.-M.; GUAN, L.-C.; HWANG, S.-Y. Performance *of Lymantria xylina* (Lepidoptera: Lymantriidae) on artificial and host plant diets. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n. 3, p. 714–721, 2006.

SINGH, P. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. **Insect Science and its Application**, Elmsford, v. 4, n. 4, p. 357–362, 1983.

SIQUEIRA, H.A.A.; GUEDES, R.N.C.; PICANÇO, M.C. Cartap resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lep. Gelechiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlim, v. 124, p. 233–238, 2000.

SØRENSEN, J.G.; ADDISON, M.F.; TERBLANCHE, J.S. Mass-rearing of insects for pest management: challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop Protection**, Guildford, v. 38, p. 87–94, 2012.

THOMPSON, S.N.; REDAK, R.A. Interactions of dietary protein and carbohydrate determine blood sugar level and regulate nutrient selection in the insect *Manduca sexta* L. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, Amsterdam, v. 1523,

n. 1, p. 91–102, 2000.

TIMMINS, W.A.; BELLWARD, K.; STAMP, A.J.; REYNOLDS, S.E. Food intake, conversion efficiency, and feeding behaviour of tobacco hornworm caterpillars given artificial diet of varying nutrient and water content. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 13, n. 3, p. 303–314, 1988.

UCHOÂ-FERNANDES, M.A.; DELLA LUCIA, T.C.; VILELA, E.F. Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, p. 159–164, 1995.

URBANEJA, A.; GONZÁLEZ-CABRERA, J.; ARNÓ, J.; GABARRA, R. Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. **Pest Management Science**, Sussex, v. 68, n. 9, p. 1215–1222, 2012.

URBANEJA, A.; DESNEUX, N.; GABARRA, J. A.; GONZALEZ-CABRERA, J. MAFRA-NETO, A.; STOLTMAN, L.; PINTO, A.; PARRA, J.R.P. Biology, ecology and management of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. In: PEÑA, J. (Ed.). **Potential invasive pest of agricultural crops.** Boston: CABI, 2013. chap. 3, p. 98–125.

WANG, A.Y.; ZHANG, S.; REN, X.; SU, J. Effects of dietary additives in artificial diets on survival and larval development of *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera : Crambidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 97, n. 3, p. 1041–1048, 2014.

WANG, P.; LU, P.-F.; ZHENG, X.-L.; CHEN, L.-Z.; LEI, C.-L.; WANG, X.-P. New artificial diet for continuous rearing of the bean pod borer, *Maruca vitrata*. **Journal of Insect Science**, Oxford, v. 13, n. 121, p. 1–11, 2013.

ZALUCKI, M.; CLARKE, A.; STEPHEN, M. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 361–393, 2002.

ZOU, D. Y.; COUDRON, T.A.; WU, H.H.; GU, X.S.; XU, W.H.; ZHANG, L.S.; CHEN, H.Y. Performance and cost comparisons for continuous rearing of *Arma chinensis* (Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae) on a zoophytogenous artificial diet and a secondary prey. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 108, n. 2, p. 454–461, 2015.

# 3 DESEMPENHO DE *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 NO CONTROLE DE *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) EM TOMATEIRO


## Resumo

*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), praga chave da cultura do tomateiro, pode provocar grandes prejuízos econômicos devido aos danos que causa em todas as estruturas aéreas da planta. O seu controle é principalmente feito com inseticidas e, como alternativa o controle biológico com o parasitoide *Trichogramma pretiosum* (Riley,1879) é recomendado e atualmente utilizado. Considerando-se que o sucesso no controle biológico depende do conhecimento das relações bioecológicas entre parasitoide, praga e planta, o objetivo deste trabalho foi avaliar características biológicas e reprodutivas de *T. pretiosum* e aspectos da planta (tricomas) com vistas ao controle biológico desta praga. Assim, foi primeiramente avaliado o uso de ovos de *T. absoluta* provenientes de dieta artificial no parasitismo de *T. pretiosum* em relação aos ovos provenientes do inseto criado em dieta natural. Posteriormente, foram avaliadas características biológicas (longevidade, parasitismo, viabilidade, razão sexual e tamanho) e reprodutivas (tabela de vida de fertilidade) do parasitoide desenvolvido em ovos de *Anagasta kuenhiella* e *T. absoluta,* este último por seis gerações. Adicionalmente foi avaliada a relação entre o número de parasitoides a liberar por ovo da praga. Para avaliar os efeitos do primeiro nível trófico, foi estudada a oviposição de *T. absoluta* e parasitismo de *T. pretiosum* em quatro genótipos de tomateiro com diferentes tipos e densidades de tricomas. Foi observado que os ovos provenientes de *T. absoluta* alimentada com dieta artificial são comparáveis aos de dieta natural no parasitismo de *T. pretiosum*. *T. pretiosum* criado em ovos de *T. absoluta* diminui seu desempenho com o transcorrer das gerações, apresentando menor capacidade de voo do que os insetos produzidos em *A. kuenhiella;* foi constatada uma alta relação parasitoide: ovo de *T. absoluta* (56:1) para que sejam obtidos níveis de parasitismo de 51%. A porcentagem de parasitismo de *T. pretiosum* é maior em folhas com tricomas pequenos (*hl*). Entretanto, pode parasitar variedades com alta densidade de tricomas tectores (*Wo*) que, pelas suas características facilitam seu caminhamento na folha para posterior parasitismo. Na cultura do tomateiro é recomendada a liberação de altas populações de *T. pretiosum* a intervalos curtos, já que os indivíduos desenvolvidos nos ovos da praga alvo diminuem o seu desempenho após o parasitismo, tornando-se menores, vivendo menos tempo e com menor capacidade de voo, e desta forma, a sua contribuição no controle biológico de *T. absoluta* pode ser diminuída.


Palavras-chave: Biologia; Parasitismo; Tabela de vida; Tricomas


## Abstract

*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), key pest of tomato crop, can produce great economic losses due to the damage it causes in all overhead structures of the plant.

Its control is mainly done with insecticides and, as an alternative, biological control with the parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 is recommended and currently used. Due to the fact that success in biological control depends on the knowledge of bioecological relations between parasitoid, pest and plant, the objective of this study was to evaluate biological and reproductive traits of *T. pretiosum* and aspects of plant (trichomes) with a view to biological control of this pest. For this, it was first evaluated the use of *T. absoluta* eggs from insects produced on artificial diet on the *T. pretiosum* parasitism compared with those produced on natural diet. Subsequently, biological characteristics (longevity, parasitism, viability, sex ratio, size) and reproductive (fertility life table) of parasitoid developed in eggs of *A. kuenhiella* and *T. absoluta,* were evaluated, the latter for six generations. Additionally, it was evaluated the relationship between the number of parasitoids release by the pest´s egg. To assess the effects of the first trophic level, it was studied *T. absoluta´s* oviposition and *T. pretiosum* parasitism in four tomato genotypes with different types and densities of trichomes. It was observed that the eggs of *T. absoluta* fed with artificial diet are comparable with those fed on natural diet on the parasitism parameter. *T. pretiosum* developed in *T. absoluta* eggs, decreases its performance with the passing of generations, with lower flight capacity than the insects produced in *A. kuenhiella. A* high ratio of parasitoid was found per: *T. absoluta* egg (56: 1) to obtain 51% of parasitism. *T. pretiosum* parasite better *T. absoluta* eggs laid on leaves with small trichomes (hl). However, it can parasitize varieties with high density of trichomes (Wo) that, by its characteristics facilitate its movement on the leaves surface fo parasitism. In tomato crop is recommended the release of high populations of *T. pretiosum* at short intervals, as individuals developed in the target pest eggs diminish their performance after parasitism, becoming smaller, living less and with less flight capacity and its contribution to the T. *absoluta* biological control may be reduced.

Keywords: Biology; Parasitism; Life table; Trichomes

## 3.1 Introdução

Os tricogramatìdeos são os macro-organismos mais usados no controle biológico de lepidópteros praga. São conhecidas cerca de 210 espécies no mundo (PINTO, 2006) que têm sido usadas desde o inicio do século XX (HASSAN, 1993) no controle de mais de 200 espécies praga pertencentes a 70 famílias (QUERINO; ZUCCHI; PINTO, 2010). Na América do Sul são conhecidas 55 espécies das quais 7 foram encontradas no Peru, 9 na Colômbia, 13 na Venezuela e 26 no Brasil (ZUCCHI, 2010). No Brasil, várias espécies são usadas para controle biológico aplicado de ovos de diversas pragas da Ordem Lepidoptera (PARRA; ZUCCHI,

2004) em culturas como cana-de-açúcar (BOTELHO *et. al*., 1999), algodoeiro (BLEICHER; PARRA, 1989), milho (SÁ; PARRA, 1994; GEREMIAS, 2008, (GEREMIAS; PARRA, 2014), soja (ZACHRISSON; PARRA, 1998), citros (MOLINA; FRONZA; PARRA, 2005; TORRES, 2005), pragas de grãos armazenados (INOUE; PARRA, 1998) e tomateiro (PRATISSOLI; PARRA, 2000). A espécie *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 é a mais usada devido à sua capacidade de parasitar a maior gama de hospedeiros o que levou à sua produção em larga escala no Brasil (PARRA; ZUCCHI, 2004).

Na cultura do tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) *(*Lepidoptera: Gelechiidae) é considerada uma das mais prejudiciais pragas na América do Sul (GUEDES; PICANÇO, 2012) e atualmente na Eurásia e África (DESNEUX et al., 2010, 2011), devido aos danos que causa às plantas em todas as estruturas aéreas e durante todo o ciclo de cultivo (CELY; CANTOR; RODRIGUEZ, 2010). *T. pretiosum* tem sido estudado para o controle deste lepidóptero em aspectos como seleção de linhagens (PRATISSOLI; PARRA, 2001; VASCONCELOS, 2012), efeito da temperatura no desenvolvimento do parasitoide nesse hospedeiro (PRATISSOLI; PARRA, 2000), resposta funcional (FARIA et al., 2008) e ação combinada do parasitoide com controle químico (FREITAS et al., 1994).

No Brasil, liberações inundativas de *T. pretiosum* controlaram com sucesso populações da traça-do-tomateiro nos anos 90, no Vale do São Francisco (HAJI et al., 1995) e atualmente, são realizadas liberações inundativas com frequência semanal para o controle de *T. absoluta,* mas as recomendações das densidades de liberação são variadas, já que condições ambientais e o estádio fenológico do cultivo bem como o próprio uso do parasitoide podem afetar o parasitismo em campo e como consequência as quantidades necessárias para exercer um controle adequado. Adicionalmente, é desconhecido o que acontece com gerações subsequentes à liberação deste parasitoide no controle da praga. A presença deste parasitoide já foi referida no campo causando cerca de 10% de mortalidade natural (MIRANDA et al., 1998) e é conhecido que estes indivíduos são menores, devido ao pequeno tamanho dos ovos de *T. absoluta*, mas poderiam contribuir em alguma medida no controle natural desta praga no campo? Qual é o comportamento das gerações subsequentes que se multiplicam em ovos da praga alvo? Podem estes

indivíduos afetar o controle biológico, contribuindo para o aumento da população no campo? (controle biológico natural).

São muitos os fatores que podem determinar o sucesso no parasitismo, como a estrutura da planta, densidade do hospedeiro (FARIA et al., 2008) e tamanho do mesmo. O desenvolvimento de parasitoides depende de recursos limitados que possui o hospedeiro, onde a qualidade e quantidade de recursos têm um papel vital na determinação do sucesso reprodutivo do adulto (HARVEY; HARVEY; THOMPSON, 1995; THOMPSON, 1999). Portanto, a alimentação do hospedeiro pode influenciar o parasitoide pela proporção de nutrientes que pode oferecer ao parasitoide num estágio de desenvolvimento especifico (HARVEY; HARVEY; THOMPSON, 1995). Os parasitoides de ovos como *Trichogramma spp.* são generalistas, e conseguem se desenvolver em hospedeiros de várias espécies com diferentes formas e tamanhos (VINSON, 2010). Esta adequação mostra que os ovos apresentam certa homogeneidade nutricional permitindo o desenvolvimento do parasitoide (BARRETT; SCHMIDT, 1991). Porém o tamanho do hospedeiro, não afeta somente o tamanho da progênie, pois outras características biológicas e reprodutivas são afetadas (BOIVIN, 2010). Assim, ovos menores podem dar origem a parasitoides menores com “busca” hospedeira limitada pela curta capacidade de vôo. Entretanto, em alguns casos os parasitoides preferem se desenvolver em hospedeiros similares aos seus hospedeiros de origem, sem afetar o seu desenvolvimento e podendo contribuir na redução da praga no campo (BROTODJOJO; WALTER, 2005; VINSON, 2010). Para avaliar este efeito, deve ser considerada a avaliação do “fitness” ou aptidão biológica, que pode ser definido como o sucesso de um individuo de passar os seus genes à geração seguinte (SPEIGHT; MARTIN; WATT, 2008; BOIVIN, 2010). Esta aptidão é difícil de ser avaliada, porém existem indicadores que podem permitir determinar indiretamente o sucesso de um individuo em certas condições. Os indicadores do desempenho (“fitness”) relevantes para parasitoides de ovos são fecundidade, longevidade, tamanho, capacidade reprodutiva e capacidade de dispersão (ROITBERG; BOIVIN; VET, 2001; BOIVIN, 2010).

As características das plantas também podem influenciar a ação dos parasitoides para o controle desta praga. Os tricomas são estruturas epidérmicas

das plantas que podem conferir resistência às pragas pela liberação de metabólitos secundários ou dificultando mecanicamente o contato do inseto com a planta (GILARDÓN et al., 2001). Estas barreiras também devem ser superadas pelos predadores e parasitoides para atingir o inseto alvo. Alguns estudos mostram que os tricomas também afetam negativamente os parasitoides (física e quimicamente), porém existem outros autores que indicam que estes não são negativamente influenciados (SIMMONS; GURR, 2005). No sistema tomateiro-*T. absoluta* -*T. pretiosum* é importante estudar se o inimigo natural pode contribuir no controle da praga em variedades com alta quantidade de tricomas, ou nos estados fenológicos da planta onde estes estão presentes, ou se a sua liberação seria inviável em cultivares com essas características. Estudar o desempenho de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta* por várias gerações e o efeito de caraterísticas da planta nesta relação pode contribuir para o entendimento das condições necessárias para o estabelecimento e permanência do controle biológico de *T. absoluta* no campo. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar aspectos biológicos e reprodutivos de *T. pretiosum* e aspectos da planta (tricomas) com vistas ao controle biológico desta praga em tomateiro.

## 3.2 Material e Métodos

### 3.2.1 Manutenção de plantas, praga e inimigo naturais

#### 3.2.1.1 Plantas de tomateiro

Foi mantido um estoque de plantas de tomateiro da cultivar Santa Clara, semeadas semanalmente em bandejas de isopor com substrato Plantmax® e mantidas em casa de vegetação onde receberam adubação recomendada e irrigação. Quando as plantas apresentaram o primeiro par de folhas verdadeiras, foi realizado o transplante em vasos de 500 mL. Quando as plantas atingiram sete semanas, foram utilizadas para manutenção da criação de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917).

#### 3.2.1.2 Criação de *T. absoluta*

Semanalmente, 10 plantas de tomateiro com idade de sete semanas foram infestadas com 70 casais de *T. absoluta* por 48 horas em gaiolas acrílicas (70 x 50 x 50) revestidas de “voile”. Foi permitido desenvolvimento larval e quando foi verificada a formação de pupas, o material vegetal foi colocado em gaiolas para permitir a emergência dos adultos. Nessas gaiolas foi colocado um folíolo de tomate, como substrato de oviposição. Diariamente, o folíolo foi trocado e foram retirados os ovos com auxílio de um pincel e água destilada fazendo uma varredura da superfície da folha; Posteriormente, os ovos foram recuperados filtrando a água e recolhendo os ovos em tecido de poliéster. A criação foi mantida em sala regulada a 25ºC, Umidade Relativa de 70% e fotofase de 14 horas.

Devido à grande quantidade de ovos necessários para os experimentos, foram utilizados insetos criados em dieta artificial. Foi utilizada a dieta D3 modificada de Berger (1963), descrita no capitulo 2 do presente trabalho. Semanalmente, foram inoculadas três lagartas de primeiro ínstar de *T. absoluta* em 100 tubos de vidro de 1,0 x 6,0 cm, contendo a dieta e tampados com algodão hidrófugo. Foi permitido o desenvolvimento do inseto em sala climatizada mantida a 25ºC, UR 70% e fotofase de 14 horas. Quando foi constatada a formação de pupas, os tubos foram separados e 24 horas depois, as pupas foram retiradas e colocadas numa gaiola para permitir a emergência dos adultos. Foi necessário esperar este tempo devido ao pequeno tamanho das pupas e a fragilidade das mesmas, que dificultam o seu manuseio. No interior da gaiola foi colocado um folíolo de tomateiro para permitir a coleta dos ovos necessários para os experimentos, os quais foram retirados como descrito anteriormente.

#### 3.2.1.3 Criação de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879

Foi utilizada a linhagem PR, originária da cidade de Colombo no Paraná e mantida na coleção de linhagens de *Trichogramma* do Laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ (Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”). Segundo Vasconcelos (2012), esta linhagem a mais adequada para o controle biológico desta praga. A criação de *T. pretiosum* foi

mantida em ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuenhiella* (Zeller, 1879). Os ovos foram coletados e colados, em retângulos de cartolina de 2,5 x 10 e posteriormente, inviabilizados em luz UV por 45 minutos (STEIN; PARRA, 1987). As cartelas com os ovos foram levadas para frascos de vidro junto com uma décima parte de adultos recém-emergidos do parasitoide, produzidos na criação do laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ (PARRA et al., 2014). O parasitismo foi permitido por 24 horas em câmaras climatizadas reguladas a 25±1ºC, UR de 70±10% e fotofase de 14h. Após esse período, foram retirados adultos e as cartelas mantidas nas mesmas condições ambientais. Oito dias após, foram obtidos os novos adultos repetindo-se o processo semanalmente.

### 3.2.2 Comparação do parasitismo sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em ovos provenientes de insetos criados em dietas natural e artificial

Para verificar se os ovos provenientes da dieta artificial eram comparáveis àqueles provenientes da dieta natural, desenvolveu-se a presente pesquisa.

#### 3.2.2.1 Tamanho de ovos de *T. absoluta* provenientes de insetos criados em de dieta natural e artificial

Ovos provenientes da dieta natural e artificial, num total de 50 ovos de cada tratamento foram medidos, com base nos diâmetros polar e equatorial (Figura 1) e na área dos mesmos. Tais medições foram feitas em um microscópio estereoscópico Leica Z16 APO A, em aumento de 160 vezes, utilizando-se o software do equipamento.

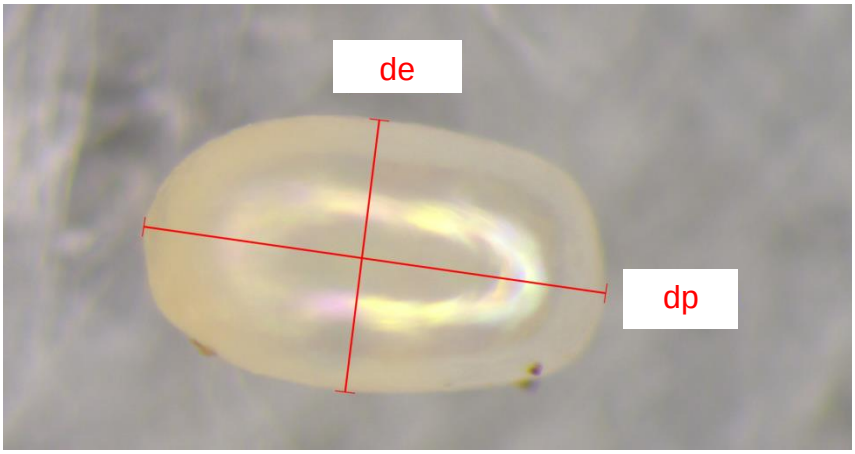


Figura 1 - Medições realizadas nos ovos de *Tuta absoluta:* de= diâmetro equatorial; dp= diâmetro polar

#### 3.2.2.2 Comparação do crescimento e desenvolvimento de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta* provenientes das dietas natural e artificial

Com o objetivo de avaliar a qualidade nutricional das dietas estudadas, foi comparado o desenvolvimento de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta* provenientes da dieta natural (folhas do tomateiro) e da dieta artificial de Berger (1963) modificada (Capítulo 2).

Foram individualizadas, em tubos de vidro de 2,0 x 8,5 cm, 60 fêmeas de *T. pretiosum* com 24 horas após a emergência e alimentadas com uma gotícula de mel puro. Para metade das fêmeas foi oferecida uma cartela com 50 ovos da traça do tomateiro provenientes da criação em dieta artificial e a outra metade recebeu uma cartela com ovos provenientes de dieta natural. Foi permitido o parasitismo por 24 horas, sendo avaliados o parasitismo, e a razão sexual. O bioensaio foi mantido a 25ºC, 70% UR e fotofase de 14 h.

### 3.2.3 Inviabilização dos ovos de *T. absoluta*

Para manter uma criação de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta* foram avaliados diferentes tempos de exposição dos ovos do hospedeiro à lâmpada germicida, para inviabilização do embrião, pois sem tal inviabilização as lagartas não parasitadas eclodiriam e dificultariam as avaliações. Os tempos testados foram: 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos de exposição à luz ultravioleta a uma distância de 15 cm

da fonte (STEIN; PARRA, 1987). Foram utilizadas 10 cartelas de 0,5 x 4,0 cm com 25 ovos de 24 horas para cada tempo de exposição. Em seguida, cada cartela foi colocada num tubo de vidro e uma fêmea do parasitoide com 24 horas de idade foi liberada. Os parâmetros avaliados foram: número de ovos inviáveis e porcentagem de parasitismo.

### 3.2.4 Avaliação do desempenho de *T. pretiosum* mantido em ovos de *T. absoluta* por gerações sucessivas em laboratório

Foram selecionadas 50 fêmeas de *T. pretiosum* com 24 horas após a emergência provenientes da criação estoque mantidas no hospedeiro alternativo, *A. kuenhiella*. As fêmeas foram individualizadas em tubos de 1,0 x 7,5 cm fechados com plástico PVC e alimentadas com uma gotícula de mel puro. Para metade das fêmeas, foi oferecida uma cartela contendo aproximadamente 50 ovos de *T. absoluta* (provenientes da criação em dieta artificial que se mostraram comparáveis aqueles provenientes de dieta natural), enquanto que as outras 25 receberam cartelas com aproximadamente 50 ovos de *A. kuenhiella.* Diariamente, as cartelas foram trocadas até a morte da fêmea. As cartelas submetidas ao parasitismo foram colocadas em tubos individuais e cinco dias após, foi contado o número de ovos parasitados. Posteriormente, foram avaliados: porcentagem de parasitismo diário por fêmea, longevidade, viabilidade e razão sexual (com base nos adultos emergidos no primeiro dia).

Vinte e cinco fêmeas emergidas de ovos de *T. absoluta* do primeiro dia (F1) foram separadas 24 horas após a emergência e foi repetida a mesma metodologia descrita anteriormente por seis gerações sucessivas, oferecendo-se diariamente uma cartela com ovos de *Tuta absoluta* para cada fêmea até a morte. O experimento foi mantido em câmara climatizada regulada a 25±1ºC, Umidade Relativa de 70±10% e fotofase de 14h.

Com os dados obtidos do desenvolvimento de *T. pretiosum* em ovos de *A. kuenhiella* e em *T. absoluta,* este último, por seis gerações, foram construídas tabelas de vida de fertilidade onde foram determinados os parâmetros: taxa líquida de reprodução (Ro), duração média de uma geração (T), capacidade inata de aumentar em número (rm), razão finita de aumento (λ) e tempo de duplicação (DT).

Estes parâmetros foram comparados pela análise de Bootstrap (MEYER et al., 1986), no programa estatístico R® versão 3.2.3.

As fêmeas mortas foram guardadas separadamente em álcool a 70% e posteriormente foram feitas lâminas, seguindo o protocolo de Querino e Zucchi (2011), para determinar o comprimento da tíbia posterior como indicador do tamanho do parasitoide, em cada geração (PAVLÍK, 1993).

### 3.2.5 Capacidade de voo de *T. pretiosum* proveniente de *T. absoluta* e de *A. kuenhiella*

Foi comparada a capacidade de vôo de *T. pretiosum* emergido do hospedeiro alternativo, *A. kuenhiella,* com parasitoides emergidos de *T. absoluta.* Foram separadas 15 cartelas contendo ovos de cada espécie parasitada por *T. pretiosum* em 24 horas. As cartelas foram mantidas em tubos de vidro de fundo chato e colocadas em câmaras climatizadas reguladas a 25±1ºC, 70±10% UR e fotofase de 14h até a véspera da emergência, prevista com base nas suas exigências térmicas (PARRA et al., 2014). Próximo à emergência, o tubo de vidro foi colocado em gaiolas adequadas para o teste de vôo utilizando-se o modelo ESALQ (PREZOTTI et al., 2002). As gaiolas utilizadas eram constituídas de um tubo de PVC de 18 cm de altura com revestimento preto no seu interior. Na parte superior foi colocada uma placa de Petri transparente recoberta com “stick” para capturar os insetos voadores. Na parte interna, foi feito um anel de “stick” de 0,5 cm a 3,5 cm da base para capturar os insetos caminhadores. Na base, foi colocada uma placa de Petri coberta com plástico preto, onde ficaram os insetos não voadores. Três dias após a emergência, as gaiolas foram levadas ao congelador e posteriormente foi contado o número de insetos voadores, não voadores e caminhadores.

### 3.2.6 Avaliação de diferentes densidades de liberação de *T. pretiosum* por ovo de *T. absoluta*

Plantas de tomate ‘Santa Clara’ com seis semanas desde o transplante foram colocadas em gaiolas de 1,0 x 0,5 x 0,5 m. Em seguida, foram infestadas com quatro casais de *T. absoluta* de 48 horas de idade e foi permitida a oviposição por 24

horas. A quantidade de ovos por terço (superior, médio e inferior) foi contada e foram deixados 100 ovos por planta. Foram testadas as densidades de 16, 24, 40,56, 72 parasitoides por ovo da praga e o parasitismo foi permitido por 24 horas. Foi contado o número de ovos parasitados, cinco dias após o parasitismo. O experimento foi realizado em condições de semicampo, no mês de abril de 2015 quando as temperaturas máxima, media e mínima foram de 29,7, 23,6 e 17,5ºC, respectivamente. Durante o experimento não foi registrada precipitação pluviométrica.

### 3.2.7 Parasitismo de ovos de *T. absoluta* por *T. pretiosum* em quatro genótipos de tomateiro com diferentes tipos de tricomas

Para avaliar o parasitismo de *T. absoluta* em plantas com diferentes tipos de tricomas, foi usada a cultivar Micro-tom (MT) e os mutantes *hl* (hairless)*, Wo* (woolly) *e Get* introgredidos nessa cultivar (Tabela 1) procedentes do Laboratório de Controle Hormonal do Desenvolvimento Vegetal, do Departamento de Ciências Biológicas (LCB), da ESALQ /USP.

Tabela 1 - Características das plantas de tomateiro utilizadas, com relação aos tricomas

| Genótipo | Características | Referências |
|---|---|---|
| *MicroTom* (MT) | Plantas de pequeno porte e ciclo curto (90- 120 dias) | MEISSENER et al. (1997). |
| *Woolly* (*Wo*) | Plantas com aumento de tricomas tectores nas partes vegetativas. | YANG et al. 2011 |
| *hairless* (*hl*) | Planta frágil com tricomas deformados e escassos. | KANG et al. 2010 |
| *Galapagos enhanced tricomes (get)* | Planta, mais ramificada e com maior quantidade de tricoma glandular tipo IV. | VENDEMIATTI, 2015 |

As sementes de cada mutante foram germinadas em bandejas com substrato orgânico (Plantmax®) e vermiculita na proporção de 1:1. Após a formação do primeiro par de folhas verdadeiras, as mudas foram transplantadas para vasos de 100 mL até obtenção de plantas maduras (com as primeiras flores).

Dez plantas de cada genótipo foram cobertas com uma gaiola plástica e dentro dela foram liberados três casais de *T. absoluta* com 72 horas após a emergência. Foi permitida a oviposição por 24 horas e depois desse período, foram retirados os adultos da traça-do-tomateiro. Em seguida, foi colocado um tubo contendo adultos de *T. pretiosum* com 24 horas após a emergência e alimentados com gotículas de mel puro. Um dia depois, foram retirados os parasitoides e as plantas foram mantidas cobertas pelas gaiolas por quatro dias, após o que, foi avaliado, o número de ovos parasitados e não parasitados por planta.

Foi realizada a quantificação dos tricomas para cada genótipo no Laboratório de Controle Hormonal do Desenvolvimento Vegetal, da ESALQ, após a coleta de uma folha do terço médio de cada planta. Posteriormente, foram cortadas, com estiletes, fitas foliares que foram fixadas em lâminas de vidro com esmalte incolor. Essas fitas foliares foram fotografadas em microscópio estereoscópico Leica S8AP0, com um aumento de 50 vezes. As imagens foram analisadas, determinando-se a quantidade e o respectivo tipo de tricomas. A medida foi realizada em programa analítico do próprio equipamento. Foram utilizadas 10 plantas por genótipo, sendo que para cada amostra realizaram-se quatro repetições para cada uma das faces (abaxial e adaxial) (VENDEMIATTI, 2015).

Analise estatística

Os dados foram analisados por modelos lineares generalizados (GLM) (NELDER; WEDDERBURN, 1972) do tipo binomial para as variáveis de viabilidade, parasitismo e razão sexual, e do tipo Poisson para as variáveis de duração, longevidade e ovos/fêmea. A verificação da qualidade do ajuste foi feita com base no gráfico meio-normal de probabilidades com envelope de simulação (DEMÉTRIO; HINDE, 1997; HINDE; DEMETRIO, 1998) Quando houve diferença significativa, múltiplas comparações (teste de Tukey, $p<0,05$) foram feitas com a função glht do pacote multcomp, com ajuste dos valores de p.

A quantidade dos tipos de tricomas foram comparados com o controle pelo teste de t pareado. Todas as análises foram realizadas no software estatístico “R”, versão 3.2.3 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2015).

## 3.3 Resultados

### 3.3.1 Comparação do parasitismo sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em ovos provenientes de insetos criados em dietas natural e artificial

#### 3.3.1.1 Tamanho de ovos de *T. absoluta* provenientes de insetos criados em de dieta natural e artificial

As medições realizadas em ovos provenientes de insetos criados em duas condições nutricionais (dietas natural e artificial) (Tabela 2) mostraram que os ovos provenientes de dieta artificial são maiores no diâmetro equatorial (T=3,08, GL=95, P=0,026) e na área (T=3,84, GL=95, P=>0,01) (Tabela 2). A cor dos ovos produzidos em cada condição também foi diferente já que os ovos produzidos em dieta natural são amarelados enquanto que os ovos da dieta natural apresentam uma cor esbranquiçada (Figura 2), mostrando um efeito, já registrado na literatura, da nutrição sobre a coloração dos ovos, para outras espécies de lepidópteros (PARRA, 2009).

Tabela 2 - Medidas de ovos de *Tuta absoluta* provenientes de insetos criados em dieta natural e artificial

| Dieta | Diâmetro equatorial* | Diâmetro Polar | Área* |
|---|---|---|---|
| Artificial | 0,252 ± 0,040 | 0,406 ± 0,005 | 0,0812± 0,001 |
| Natural | 0,242 ± 0,002 | 0,398 ± 0,004 | 0,0750 ± 0,001 |

*Tratamentos são diferentes pelo teste de t-pareado (P<0,05)

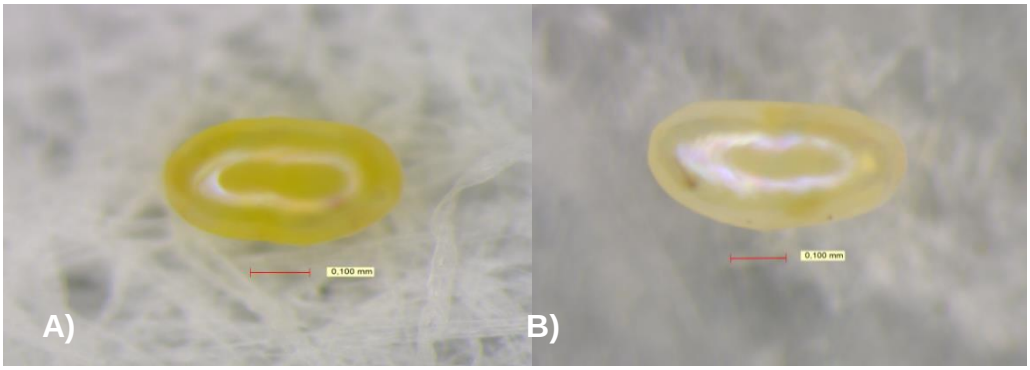


Figura 2 - Ovos de *Tuta absoluta* oriundos de dieta natural (A) e dieta artificial (B)

#### 3.3.1.2 Comparação do crescimento e desenvolvimento de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta* provenientes das dietas natural e artificial

O parasitismo de *T. pretiosum* sobre ovos de *T. absoluta* provenientes das duas condições alimentares foi similar (T= -1.1593, GL = 36.787, P = 0.87) (Tabela 3), assim como razão sexual que não diferiu nos dois tratamentos.

Tabela 3 - Parasitismo por 24 horas e razão sexual de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido em ovos de *Tuta absoluta* provenientes de dieta natural e artificial

| Dieta | Parasitismo (%)* | Razão sexual* |
|---|---|---|
| Natural | 15,2 ± 1,51 | 0,68 ± 0,054 |
| Artificial | 12,45 ±1,82 | 0,71 ± 0,049 |

*Médias não foram diferentes pelo teste de t-pareado (P<0,05)

### 3.3.2 Inviabilização dos ovos de *T. absoluta*

Na avaliação do uso da lâmpada germicida para uma eficaz inviabilização dos ovos da traça-do-tomateiro, foi observado que a partir de 10 minutos de exposição é possível inviabilizar 100% dos ovos de *T. absoluta* com 24 horas após a postura. Foi observado o parasitismo em todos os tempos de exposição dos ovos, porém, o tempo de inviabilização de 10 minutos permitiu um maior parasitismo, semelhante ao controle. Provavelmente, este resultado se deveu ao pequeno tamanho dos ovos e à fina espessura do córion, pois exposições por tempos maiores afetaram o parasitismo (Tabela 4).

Tabela 4 - Viabilidade de ovos de *Tuta absoluta* submetidos à lâmpada germicida e porcentagem de ovos parasitados por *Trichogramma pretiosum* após o tratamento com UV

| Tempo de exposição (minutos) | % | |
|---|---|---|
| | Viabilidade | Parasitismo |
| 0 (controle) | 85,46 ±0,35 | 75,00 ± 0,35 a |
| 10 | 0 | 70,35 ± 0,17 a |
| 20 | 0 | 57, 43 ± 3,18 b |
| 30 | 0 | 55,02 ± 1,06 b |
| 40 | 0 | 60,03 ± 2,35 b |
| 50 | 0 | 66,53 ± 0,70 b |
| 60 | 0 | 62,02 ± 2,12 b |

Médias seguidas por letras diferentes apresentam diferenças estatísticas teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade

### 3.3.3 Avaliação do desempenho de *T. pretiosum* mantido em ovos de *T. absoluta* por gerações sucessivas em laboratório

Na primeira geração, as fêmeas de *T. pretiosum* emergidas de *A. kuenhiella* parasitaram igualmente os ovos dos hospedeiros *A. kuenhiella* e *T. absoluta* (T= 0,15, P= 0,69, GL=1) (Figura 3A), comporcentagem semelhante de emergência da progênie em cada hospedeiro, e com valores próximos a 80% (T= 0,41; P= 0,52; GL=1; Longevidade: T= =1,43; P= 0,28; GL=1) (Figura 3B).

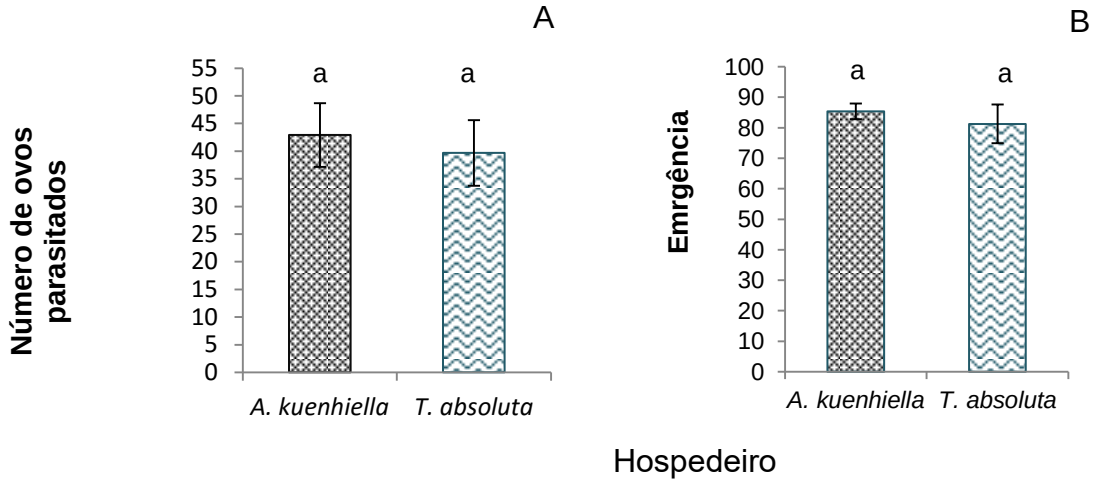


Figura 3 - Número de ovos parasitados (A) e porcentagem de emergência (B) de *Trichogramma pretiosum* nos hospedeiros *Anagasta kuenhiella* e *Tuta absoluta.* Colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%

A longevidade também foi similar quando *T. pretiosum* se desenvolveu em ovos de *A. kuenhiella* e de *T. absoluta* (Tabela 5)(T=1,43; P= 0,28; GL=1). De forma análoga, a razão sexual não mostrou diferenças, sendo, em média 0,65 na geração avaliada. Portanto, não houve efeito do tamanho do hospedeiro no parasitismo de *T. pretiosum.*

Quando avaliado o desenvolvimento de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta* por seis gerações sucessivas, foi observada uma diminuição na quantidade de ovos parasitados a partir da segunda geração (F= 12,521, P< 0,001,GL=5,144) (Figura 4 A) e na longevidade das fêmeas na F6 (F= 4,48; P<0,001; GL=5,143) (Tabela 5);a porcentagem de emergência (Figura 4B) não foi diferente entre as gerações avaliadas (F= 1,83; P= 0,11; df=5, 132),sendo que a razão sexual (Tabela 5), calculada com os indivíduos do primeiro dia de parasitismo, foi diferente na terceira ($X^2$= 20,32; P<0,001; GL=5) (Figura 3D e 3F) e na sexta gerações, sem explicação aparente, embora com tendência de diminuição do número de fêmeas ao longo das gerações.

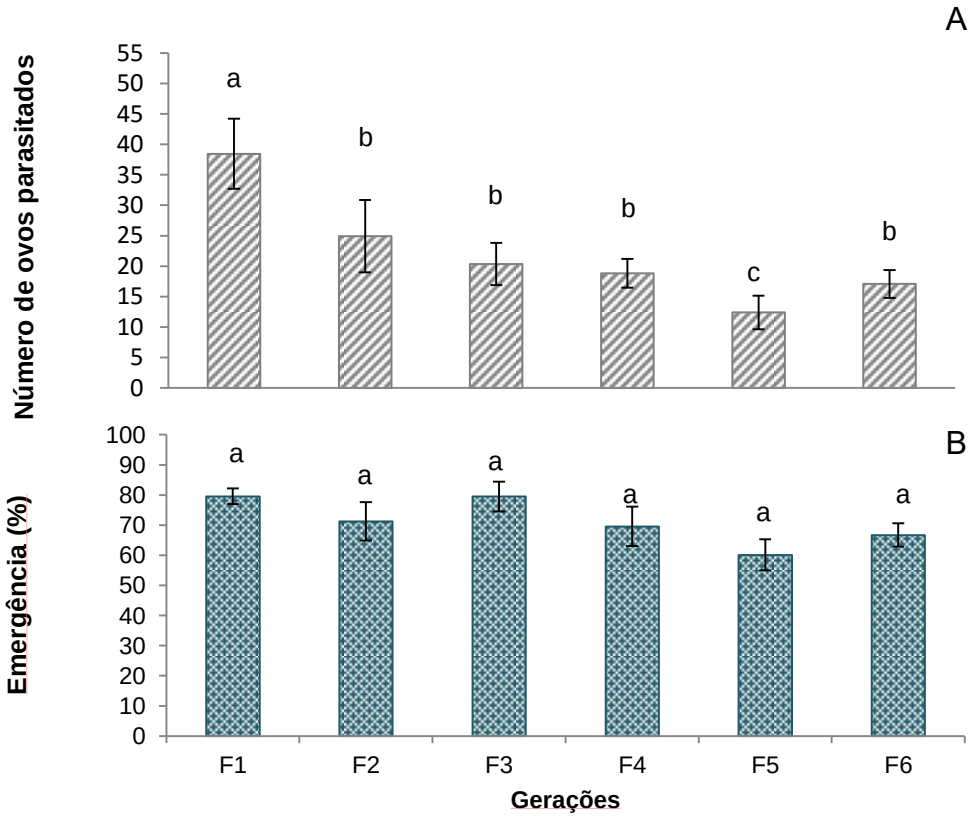


Figura 4 - Número de ovos parasitados (A) e porcentagem de emergência (B) de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido em ovos de *Tuta absoluta* por seis gerações sucessivas. Colunas com a mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%

Tabela 5 - Longevidade e razão sexual (± erro padrão) de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido nos hospedeiros *Anagasta kuenhiella e Tuta absoluta* (por seis gerações sucessivas)

| Hospedeiro | | Longevidade | Razão sexual |
|---|---|---|---|
| *Anagasta kuenhiella* | | 11,80± 1,03 a | 0,63 ± 0,024 a |
| *Tuta absoluta* | P | 10,24±1,01 a | 0,67 ± 0,026 a |
| | F1 | 12,20 ±0,98 a | 0,61 ± 0,039 a |
| | F2 | 11,52 ±0,72 a | 0,70 ± 0,042 a |
| | F3 | 9,80 ± 1,03 a | 0,43 ± 0,045 b |
| | F4 | 10,40 ± 0,75 a | 0,55 ± 0,053 a |
| | F5 | 7,12± 0,79 b | 0,54 ± 0,056 a |
| | F6 | 8,96±0,89 a | 0,48 ± 0,045 b |

Médias seguidas por letras diferentes apresentam diferenças estatísticas teste de *Tukey, ** Chi quadrado ao nível de 5% de probabilidade

A fertilidade específica (mx), número de descendentes por fêmea, produzidos no tempo de fêmeas de *T. pretiosum,* emergidas de *A. kuenhiella,* parasitando os dois hospedeiros foi semelhante (Figura 5). Quando as fêmeas emergidas de *T. absoluta* foram avaliadas por seis gerações (Figura 6) foi observada uma diminuição desta fertilidade especifica a partir da quinta geração. A sobrevivência (lx) diminuiu com o transcorrer das gerações sendo menor na F5 (Figura 6).

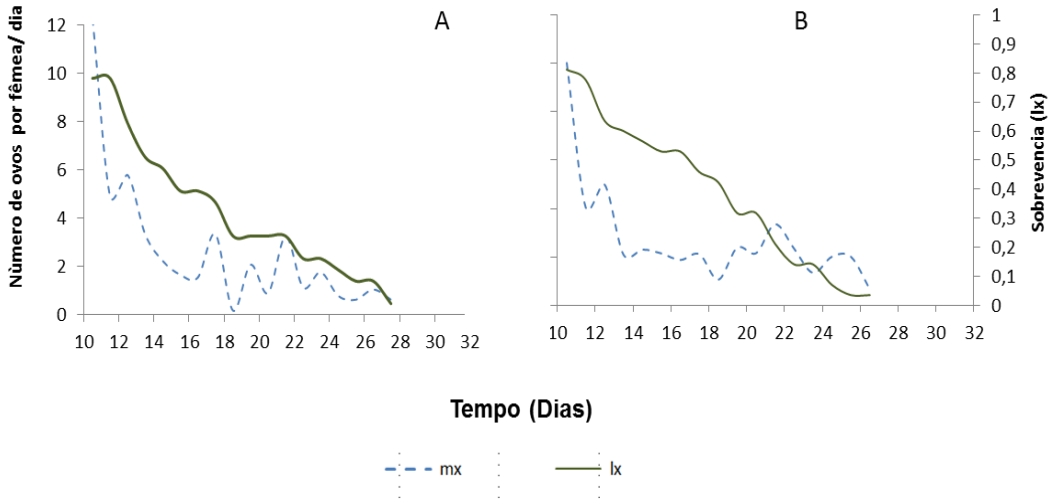


Figura 5 - Fertilidade específica (mx) e taxa de sobrevivência (lx) de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido em ovos de *Anagasta* kuenhiella (A) e *Tuta absoluta* (B)

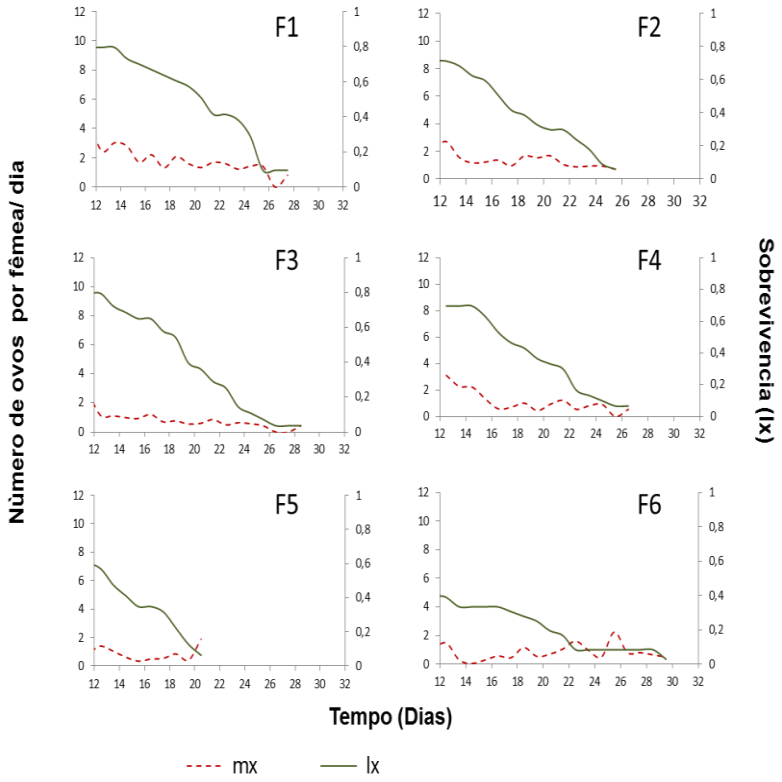


Figura 6 - Fertilidade especifica (mx) e taxa de sobrevivência (lx) de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido em ovos de *Tuta absoluta* por seis gerações

A tabela de vida de fertilidade mostrou valores de taxa líquida de reprodução (Ro) e razão infinitesimal de aumento (rm) mais altos para o parasitoide *T. pretiosum* desenvolvido no hospedeiro *A. kuenhiella* em comparação àqueles emergidos de *T. absoluta;* por outro lado a taxa finita de aumento ( λ), tempo de desenvolvimento (T) e de duplicação (Td) foram semelhantes nos dois hospedeiros(Tabela 6).

Quando avaliado o desenvolvimento no hospedeiro *T. absoluta* por seis gerações, com base em tabela de vida de fertilidade, os parâmetros Ro e rm, diminuíram a partir da primeira geração (Tabela 6) e foram menores do que os valores obtidos para os parasitoides emergidos de *A. kuenhiella*. O Td foi aumentando com as gerações, como reflexo da diminuição observada nos parâmetros populacionais avaliados.

O tamanho dos parasitoides foi maior quando estes se desenvolveram em ovos de *A. kuenhiella,* em relação àqueles desenvolvidos em *T. absoluta* os quais não diferiram entre as gerações avaliadas (Tabela 7, Figura 7).

Tabela 6 - Parâmetros de tabela de vida de fertilidade de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Anagasta kuenhiella* e de *Tuta. absoluta* (por seis gerações)

| Hospedeiro | | **Ro** | **rm** | λ | T | Td |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Anagasta kuenhiella* | | 26,01 a (221,71-82,79) | 0,25 a (0,13- 0,33) | 1,28 a (1,14- 1,40) | 13,11 a (12,90-18,49) | 2,78 a (2,07-5,17) |
| *Tuta absoluta* | F0 | 28,40 a (21,47- 70,05) | 0,24 a (0,12-0,32) | 1,29 a (1,20-1.38) | 13,56 a (13,01-19,00) | 2,81 a (2,17- 5,42) |
| | F1 | 18,66 ab (10,93 -22,16) | 0,18 ab (0,11- 0,22) | 1,20 a (1,18-1,25) | 15,81 a (15,08-20,91) | 3,74 a (3,04-5,94) |
| | F2 | 12,93 ab (7,05- 17,88) | 0,19 b (0,081-0,21) | 1,19 a (1,10-1,20) | 14,11 a (13,49-19,47) | 3,82 a (2,86-6, 88) |
| | F3 | 7,80 ab (3,93- 18,72) | 0,14 b (0,083-0,19) | 1,14 a (1,08-1.17) | 14,89 a (12,14-17,51) | 5,02 a (2,99-8,67) |
| | F4 | 8,39 b (3,48-10,68) | 0,14 b 0.537, 0.15 | 1,14 a (1,05-1,17) | 15,28 a (18,23-23,62) | 4,98 a (4,44-13,75) |
| | F5 | 4,91 b (2,26- 10,08) | 0,13 b (0,05-0,17) | 1,13 a (1,05-1,15) | 12,70 a (10,73-15,37) | 5,54 a (3,02-15,08) |
| | F6 | 5,70 b (2,84- 77,40) | 0,13 b (0,57-0,16) | 1,13 a (1,05-1,16) | 13,83 a (10,39-18,71) | 5,51 a (2,67-13,08) |

[1]Taxa líquida de reprodução (Ro); [2] razão infinitesimal de aumento (rm); [3] razão finita de aumento (λ); [4] tempo de uma geração (T) e [5] tempo de duplicação (Td).Valores seguidos pelo intervalo de confiança a 95% obtido pelo método Bootstrap com 1000 simulações

Tabela 7 – Tamanho da tibia posterior de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido em dois hospedeiros

| Geração | | Tamanho da tíbia posterior |
|---|---|---|
| *A. kuenhiella* | | 0,151 ± 0,001 a |
| *T. absoluta* | *F1* | 0,123 ± 0,003 b |
| | *F2* | 0,121 ± 0,002 b |
| | *F3* | 0,116 ±0,001 b |
| | *F4* | 0,122 ±0,001 b |
| | *F5* | 0,113 ±0,001 b |
| | *F6* | 0,117 ± 0,002 b |

Médias seguidas por letras diferentes apresentam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey, ao 5%

Figura 4 - Tíbia posterior de *Trichogramma pretiosum* desenvolvido em ovos de *Anagasta kuenhiella* (A) e de *Tuta absoluta* (B).(40X)

### 3.3.4 Capacidade de voo de *T. pretiosum* provenientes de *T. absoluta* e de *A. kuenhiella*

No teste de voo, foram capturados na tampa (voadores), uma maior porcentagem de parasitoides nos dois tratamentos avaliados (ovos de *A. kuenhiella* e *T. absoluta*) (Figura 8), mostrando que os parasitoides emergidos nos dois hospedeiros têm a capacidade de se dispersar, porém, esta porcentagem foi maior para parasitoides emergidos de *A. kuenhiella*. A porcentagem de insetos capturados no anel a 3,5 cm da base (caminhadores) e na base da gaiola (não voadores) foi maior para parasitoides desenvolvidos em *T. absoluta* em comparação aos emergidos de ovos de *A. kuenhiella.*

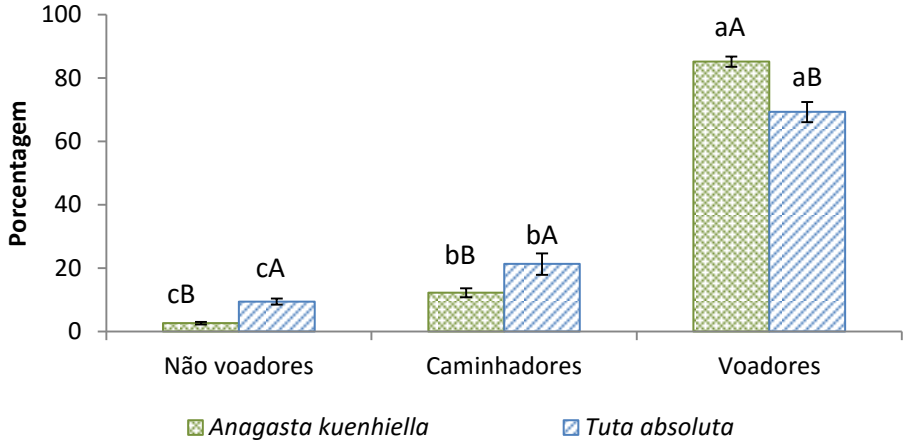


Figura 8 - Porcentagem de adultos de *Trichogramma pretiosum* não voadores, caminhadores e voadores em unidades de teste de voo modelo ESALQ provenientes de *T. absoluta* e *A. kuenhiella*.. Colunas com mesma letra minúscula (dentre a espécie) e maiúscula (entre espécies) são diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$)

### 3.3.5 Avaliação de diferentes densidades de liberação de *T. pretiosum* em ovos de *T. absoluta*

Esta praga tem preferência pelo terço superior da planta, onde se concentraram 64% (63,59± 3,06) dos ovos, confirmando os dados obtidos por (MEDEIROS et al., 2009). No terço médio foram encontrados 34% (33,50±4,71) dos ovos e no terço inferior 3% (2,91±1,04). A maioria de ovos foi localizada nas folhas na parte abaxial dos folíolos.

Quando avaliado o parasitismo (Tabela 8), foi observado que a partir de 56 parasitoides por ovo é encontrado um parasitismo superior a 50%,mostrando ser necessário um alto número de parasitoides para o controle de *T. absoluta* em tomateiro.

Tabela 8 - Número de ovos de *Tuta absoluta* parasitados por *Trichogramma pretiosum* em cinco densidades de liberação

| Parasitoides/ovo | Ovos Parasitados (%) |
|---|---|
| 16 | 34,25 ± 24,39 b |
| 24 | 19,75 ± 8,50 c |
| 48 | 24,75 ± 18,50 b |
| 56 | 51,00 ± 15,33 a |
| 72 | 62,43± 9,71 a |

Médias seguidas por letras diferentes apresentam diferenças estatísticas teste de Tukey, ao 5%

### 3.3.6 Parasitismo de ovos de *T. absoluta* por *T. pretiosum* em quatro genótipos de tomateiro com diferentes tipos de tricomas

A quantidade de ovos de *T absoluta* colocados nos genótipos estudados não mostrou diferença estatística (F= 1,16; P= 0,33; GL= 3,36) (Tabela 9), porém o parasitismo foi maior no genótipo *hairless* (hl) (F= 5,51; P<0,01; GL= 3,36) que apresenta poucos tricomas, seguido do genótipo Woolly (*Wo),* que possui grande quantidade de tricomas tipo V (Figura 9A, C, Figura 10). Os genótipos *Galapagos enhanced trichomes* (*Get) e Mt* apresentaram uma proporção de ovos parasitados menor e isto pode estar relacionado com a presença de tricomas tipo glandular do

tipo IV nas plantas *Get* e do tipo VI nas plantas Mt, presentes em ambas as superfícies da folha (Figura 9 A, C, Figura 10).

Tabela 9 - Total de ovos de *Tuta absoluta* encontrado e porcentagem de parasitismo de *Trichogramma pretiosum* em quatro genótipos de tomateiro

| Genótipos | Total de ovos de *T. absoluta* | Porcentagem parasitismo de *T. pretiosum* |
|---|---|---|
| *Get* | 40,9 ± 7,09 a | 43,49 ± 1,72 c |
| *Hl* | 31,5 ± 6.26 a | 65,15 ± 2,49 a |
| *Mt* | 31,00 ± 5,75 a | 46,59 ± 1,90 c |
| *Wo* | 21,25 ± 4,78 a | 56,19 ± 1,81 b |

Médias seguidas por letras diferentes apresentam diferenças estatísticas teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

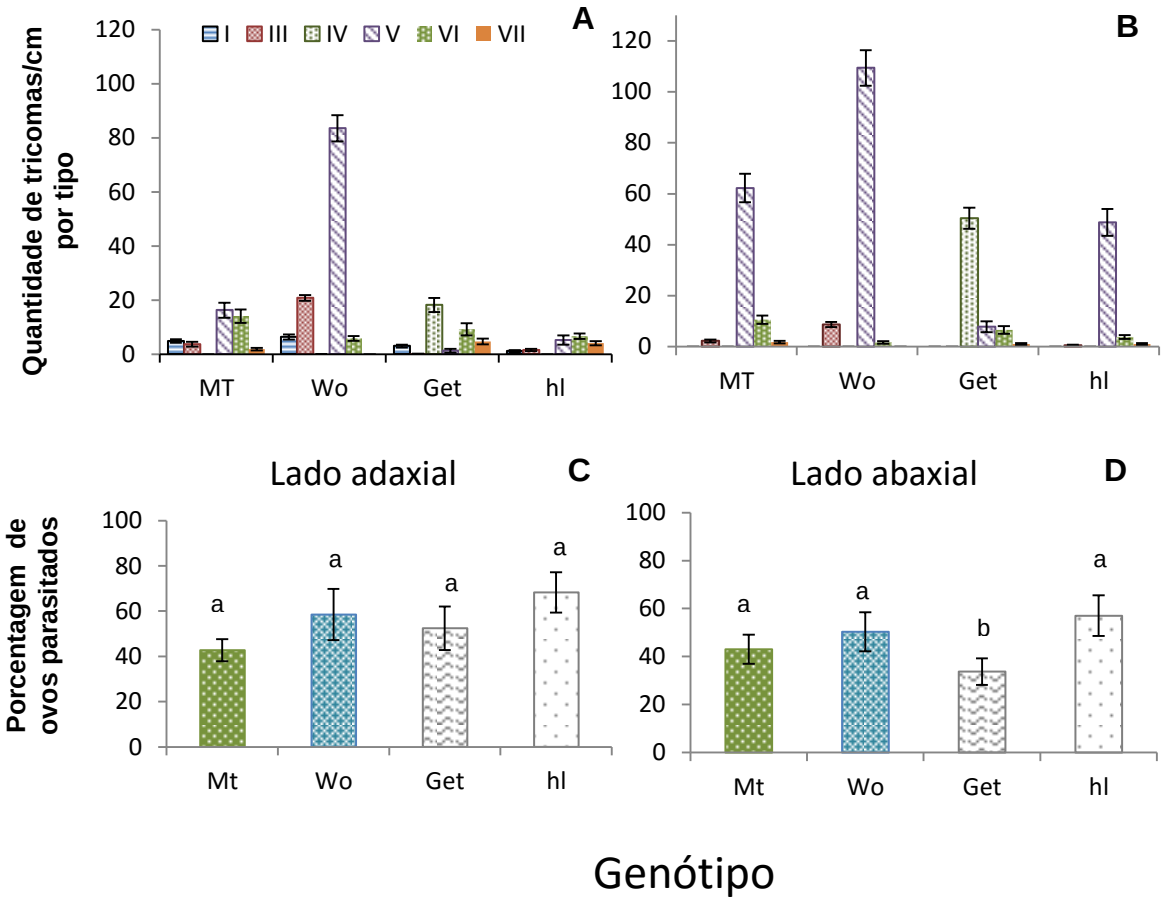


Figura 9 - Quantidade de tricomas por tipo e porcentagem de parasitismo de ovos de *T. absoluta* por *T. pretiosum* nos quatro genótipos de tomateiro avaliados face adaxial (A e C) e fase abaxial (B e D). Barras representam a média ± SE. Barras seguidas por letras diferentes apresentam diferenças estatísticas teste de Tukey, ao 5%.

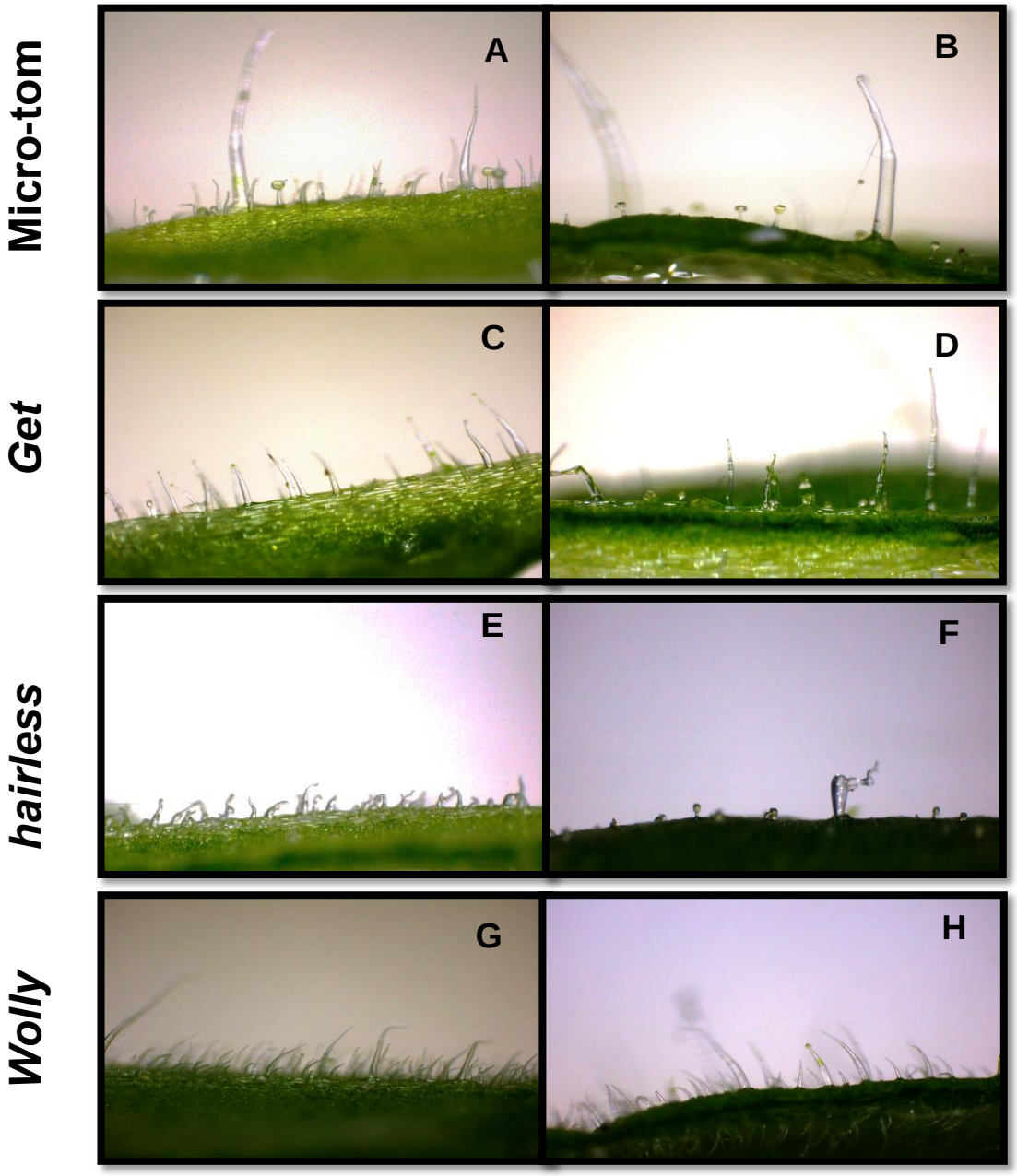


Figura 10 - Superfície abaxial (A,C, E,G) e adaxial (B, D, F, H) do cultivar Micro-tom e nos mutantes *Get, hairless* e *Wolly* (8 x)

## 3.4 Discussão

Para permitir o desenvolvimento dos experimentos com o parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley foram feitas as comparações de produção de ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dietas natural e artificial e a avaliação dos tempos de inviabilização da postura. Na comparação dos ovos de *T. absoluta* provenientes das duas dietas (natural e artificial), foi observado que embora o tamanho e a cor

dos ovos produzidos em cada condição sejam diferentes (Tabela 2 e Figura 2), eles possuem a qualidade nutricional suficiente para o desenvolvimento do parasitoide *T. pretiosum.* A avaliação de tempos de inviabilização de ovos da praga mostrou que somente 10 minutos de exposição à lâmpada germicida (Tabela 4) são suficientes para inviabilizar o desenvolvimento embrionário da traça-do-tomateiro. Este tempo baixo de exposição se deve, provavelmente ao diminuto tamanho e à fina espessura do córion desta traça, pois para inviabilizar ovos de outras espécies, como *A. kuenhiella,* são necessários 45 minutos de exposição para tal inviabilização (STEIN; PARRA, 1987). A aceitação de ovos de *T. absoluta* pelo parasitoide *T. pretiosum* pode estar relacionada ao fato de que o córion não perdeu as suas caraterísticas físicas e permite a sua utilização para o desenvolvimento do parasitoide, conforme o observado por Romeis et al. (1997) com ovos inviabilizados de *Helicoverpa armigera* (Hubner) e parasitados por *Trichogramma chilonis* Ishii.

Neste trabalho foi avaliado o desempenho de *T. pretiosum* em ovos do hospedeiro alternativo *A. kuenhiella* e de *T. absoluta* neste ultimo, por seis gerações. Esse desempenho foi medido com os indicadores fecundidade, longevidade, tamanho, capacidade reprodutiva e capacidade de dispersão considerados adequados par tal avaliação por Roitberg et al.( 2001) e Boivin ( 2010).

Foi observado que os parasitoides produzidos em ovos de *A. kuenhiella* parasitam igualmente os ovos dos dois hospedeiros estudados (*A. kuenhiella* e *T. absoluta)* (Figura 3) e isto significa que os insetos liberados no campo serão capazes de parasitar vários hospedeiros, incluindo *T. absoluta,* independentemente do tamanho do hospedeiro (CHAILLEUX et al., 2013). A progênie destes parasitoides emergiu em cerca de 80% nos dois hospedeiros (Figura 3B) o que é muito importante em programas de controle biológico, em que não somente o parasitismo, mas também a sobrevivência da progênie é essencial para o sucesso do controle (ROITBERG; BOIVIN; VET, 2001). A longevidade e fecundidade de *T, pretiosum* não foram afetadas nos dois hospedeiros com base nos resultados obtidos.

As gerações subsequentes de *T. pretiosum* emergidas de ovos de *T. absoluta* mostraram uma diminuição na fecundidade (número de ovos parasitados) (Figura 4) assim como uma diminuição paulatina da longevidade no transcorrer das gerações (Tabela 5). Observações similares já foram referidas quando parasitoides são desenvolvidos em hospedeiros menores (BAI et al., 1992; SPITZEN; VAN HUIS,

2005). Os parasitoides de ovos se desenvolvem r num ambiente com recursos limitados, pois nestas condições, esse tipo de inseto apresenta plasticidade genotípica (BOIVIN, 2010), onde a expressão de algumas características muda dependendo do ambiente no qual o organismo se desenvolve. Parasitoides de ovos têm uma plasticidade muito grande (VINSON, 2010) e podem explorar uma ampla gama de hospedeiros com características muito diferentes (MANSFIELD; MILLS, 2004. A fecundidade e longevidade têm uma correlação direta e positiva com o tamanho, como foi observado neste trabalho.

Desde a primeira geração foi observada uma diminuição no tamanho do parasitoide, resultado do pequeno volume do ovo hospedeiro (Tabela 7, Figura 4). Como mencionado anteriormente, o desempenho dos parasitoides está relacionado com diversos fatores, incluindo o tamanho do hospedeiro (SALT, 1940). Embora não tenha uma relação direta na avaliação do desempenho, é conhecida a sua correlação positiva com a fecundidade, capacidade de cópula e longevidade (ROITBERG; BOIVIN; VET, 2001) e que os parasitoides maiores têm um melhor desempenho em campo. Porém, um tamanho menor não significa que estes indivíduos sejam incapazes de se reproduzir. Deve ser destacada que a viabilidade dos parasitoides não diminuiu nas gerações estudadas, mostrando que, embora pequenos, estes indivíduos conseguem ter uma progênie viável mas com uma diminuição nas suas características biológicas como a razão sexual que diminuiu nas gerações F3 e F6 resultado de um maior número de machos obtidos, e que mostra uma baixa adequação ao hospedeiro *T. absoluta* conforme observações de Chailleux et al. (2013).

Uma ferramenta para medir a capacidade de dispersão dos parasitoides é o teste de voo (PREZOTTI et al., 2002). Neste bioensaio ficou claro que *T, pretiosum* desenvolvido em hospedeiros menores, como *T. absoluta* podem voar numa proporção maior que 60% e, portanto são capazes de buscar e explorar outros hospedeiros. Possivelmente, o seu pequeno tamanho pode ser um fator limitante com relação à distância que podem se dispersar, sendo possível que estes pequenos parasitoides procurem ovos próximos do local de emergência ou numa curta distância. Ensaios de semicampo poderiam ser feitos para calcular esta dispersão. A proporção de indivíduos caminhadores e não voadores (deformados) foi maior em comparação aos parasitoides desenvolvidos em *A. kuenhiella* (Figura 8).

As proporções de parasitoides voadores, caminhadores e não voadores são afetadas pelo tamanho e capacidade nutricional do hospedeiro (DIAS-PINI et al., 2014) já que ovos pequenos podem impedir um desenvolvimento adequado do parasitoide trazendo como consequência um desempenho menor dos inimigos naturais (BAI et al., 1992), seja por características biológicas ou físicas como a diminuição do tamanho das asas (PINTUREAU; DAUMAL, 1995).

Os parâmetros da tabela de vida para indivíduos emergidos de *T. pretiosum* parasitando ovos de *A. kuenhiella* e *T. absoluta* foram diferentes na taxa liquida de reprodução (Ro) e na razão infinitesimal de aumento (rm) o que significa que o crescimento populacional mais adequado ocorre em ovos de *A. kuenhiella.* Essa informação já é conhecida e que é um dos motivos para que este hospedeiro alternativo seja usado no controle biológico aplicado (HOFFMANN et al., 2001; PARRA; ZUCCHI, 2004; LEWIS et al., 1976) em substituição a *Sitotroga cerealella* Oliver 1789. Os valores obtidos de Ro, rm e λ para *T. absoluta* foram menores do que o encontrados por Pratissoli e Parra (2000) para este parasitoide e hospedeiros a 25ºC.

A avaliação de diferentes densidades de liberação de *T. pretiosum* por ovo de *T. absoluta* mostrou que a partir de uma proporção de 56:1 podem ser obtidos níveis de parasitismo de 50%, dados que corroboram os resultados encontrados por Vasconcelos (2012) (>50:1), e diferem daqueles encontrados por Pratissolli et al. (2005) que determinaram uma proporção de 16:1 parasitoides por ovo de *T. absoluta.* Estes resultados apoiam a necessidade de realizar liberações com frequência de tempo menor e com altas densidades para controlar esta praga em tomateiro. As possíveis razões da necessidade de liberar proporções tão altas, podem estar ligadas ao pequeno ovo do parasitoide e características físicas e químicas do tomateiro, como a presença de tricomas.

O gênero *Solanum* apresenta tricomas em quase toda a superfície, e estes podem ser de tipo glandular (I,IV, VI e VII) e não glandular (II, III, V e VIII). No tomateiro, estes tipos de estruturas podem estar presentes em alguns estádios fenológicos (VENDEMIATTI, 2015; GLAS, 2012). Os tricomas podem ser uma fonte de resistência das plantas para os insetos fitófagos seja pela produção de substâncias deterrentes de alimentação como o caso da produção de acil açúcar pelos tricomas tipo IV ou pela obstrução mecânica do encontro com o tecido vegetal,

no caso dos tricomas tectores tipo V (CORTESERO; STAPEL; LEWIS, 2000). Nos genótipos estudados foram observadas diferenças quanto ao tipo e número destas estruturas (Figura 9). Quando avaliada a oviposição de *T. absoluta* não foram observadas diferenças nos genótipos avaliados (Tabela 9). Já foi referida uma menor herbivoria de *T. absoluta* no genótipo *Get* (VENDEMIATTI, 2015), mas não se conhece se a oviposição é diferente entre estes genótipos. Na literatura é relatada uma correlação positiva entre a resistência a pragas de lepidópteros e a densidade de tricomas (HANDLEY; EKBOM; GREN; 2005). Embora nos resultados possa se observar esta tendência, são necessários mais experimentos para observar o efeito dos tricomas na oviposição de *T. absoluta.*

Os mecanismos de defesas das plantas podem afetar indiretamente os inimigos naturais (ECONOMOU; LYKOURESSIS; BARBETAKI, 2006; STYRSKY; KAPLAN; EUBANKS, 2006). Neste estudo foi observado um maior parasitismo nos genótipos de tomateiro *hl* (hairless) com poucos tricomas e *Wo* (Wolly) que possuem grande quantidade de tricomas tectores (Tabela 9, Figura 9 A C). Esta resposta era esperada, pois a superfície com menor quantidade de tricomas facilita o caminhamento e localização do hospedeiro. No caso não esperado, ou seja, nas plantas com maior quantidade de tricomas tectores, o parasitismo também foi alto, pois, provavelmente, a densidade de tricomas sendo elevada permite o caminhamento sobre estas estruturas permitindo a ação do parasitoide.

Segundo Olson e Andow (2006), no comportamento de busca hospedeira, os parasitoides podem caminhar em superfícies com tricomas curtos; tricomas mais compridos podem mudar a direção dos parasitoides, enquanto que o efeito dos tricomas longos depende da densidade deles e do tamanho do parasitoide. Estes tricomas podem retardar ou anular o encontro do hospedeiro ou podem permitir tal encontro quando a densidade é alta, desde que o parasitoide consiga caminhar sobre a superfície com tricomas. O parasitismo foi baixo nas plantas com presença de tricomas glandulares (Genótipo *Get*), o que já foi referido para *T. pretiosum* em variedades de algodoeiro (TREACY et al., 1986) e soja com produção de substâncias de defesa por estas estruturas (ROMEIS et al., 2005).

O controle biológico de *T. absoluta* com *T. pretiosum* no tomateiro requer liberações constantes (semanais) de parasitoides em quantidades altas, pois a proporção obtida para parasitoides por ovo é de 56:1 para obter nìves de

parasitismo de 50% (Tabela 8), o que exige librações de 400.00 e 800.000 parasitoides por hectare na cultura do tomateiro (PARRA; ZUCCHI, 2004). Assim, os parasitoides emergidos de ovos da praga são menores e menos competitivos do que os emergidos do hospedeiro alternativo. Porém estes parasitoides conseguem se reproduzir no hospedeiro por gerações sucessivas e podem contribuir para o controle de ovos próximos ao local de emergência. Além disto, os parasitoides conseguem superar barreiras físicas apresentadas pelos tricomas tipo V, conseguindo parasitar efetivamente a praga alvo. Porém, as variedades de tomate que apresentam o tricoma tipo IV podem ser menos parasitados, devido á produção de substâncias secundárias que afetam negativamente o parasitoide.

Assim o efeito de liberações de *T. pretiosum* (produzidos em ovos de *A. kuenhiella)* é realmente de ação instantânea, semelhante a um inseticida, pois os descendentes produzidos após a liberação, em ovos de *T, absoluta,* são menores e menos competitivos, porém ainda assim podem contribuir para o controle da praga, desde que se faça um grande número de liberações (cerca de 10) durante o desenvolvimento do tomateiro, com liberações semanais de indivíduos produzidos no hospedeiro alternativo.

## 3.5 Conclusões

- A dieta artificial permite a produção de ovos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) que têm as mesmas características daqueles obtidos em dieta natural, com base na porcentagem de parasitismo por *T. pretiosum;*
- A inviabilização de ovos de *T. absoluta* por 10 minutos, com lâmpada germicida, não prejudica o desenvolvimento do parasitoide;
- Com o passar das gerações, *T. pretiosum* criado em ovos de *T. absoluta*, diminui seu desempenho, avaliado pelo parasitismo, longevidade e razão sexual;
- *T. pretiosum* criado em *T. absoluta* tem menor capacidade de voo em relação aos insetos criados em *A. kuenhiella;*

- Altas relações parasitoide: ovo de *T. absoluta* (56:1) são exigidas para conseguir um parasitismo de 51% no controle biológico com *T. pretiosum;*
- O parasitismo pode ser afetado pela presença de tricomas. *T. pretiosum* parasita melhor ovos de *T. absoluta* colocados em folhas com tricomas pequenos (*hl*).;
- Em função dos resultados obtidos, recomenda-se que sejam liberadas altas populações de *T. pretiosum* a intervalos curtos para se ter sucesso no controle biológico de *T. absoluta.*

**Referências**

BAI, B.; LUCK, R.F.; FORSTER, L.; STEPHENS, B.; JANSSEN, J.A.M. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma Pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata,** Dordrecht, v. 64, p. 37–48, 1992.

BARRETT, M.; SCHMIDT, J.M. A comparison between the amino-acid-composition of an egg parasitoid wasp and some of its hosts. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, Dordrecht, v. 59, p. 29–41, 1991.

BLEICHER, E.; PARRA, J.R.P. Especies de *Trichogramma* parasitoides de *Alabama Argillacea* I. Biologia de três populações. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira,** Brasilia, v. 24, n. 8, p. 929–940, 1989.

BOIVIN, G. Phenotypic plasticity and fitness in egg parasitoids. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 4, p. 457–63, 2010.

BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P.; CHAGAS NETO, J.F. das; OLIVEIRA, C.P.B. Associação do parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do parasitóide larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no controle de *Diatraea saccharalis,* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 491–496, 1999

BROTODJOJO, R.R.R.; WALTER, G.H. Oviposition and reproductive performance of a generalist parasitoid (*Trichogramma pretiosum*) exposed to host species that differ in their physical characteristics. **Biological Control**, Orlando, v. 39, n. 3, p. 300–312, 2006.

CELY, L.; CANTOR, F.; RODRIGUEZ, D. Determination of levels of damage caused by different densities of *Tuta absoluta* populations (Lepidoptera: Gelechiidae) under greenhouse conditions. **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 28, n. 3, p. 401–411, 2010.

CHAILLEUX, A.; BIONDI, A.; HAN, P.; TABONE, E.; DESNEUX, N. Suitability of the pest-plant system *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)-Tomato for *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitoids and insights for biological control. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 106, n. 6, p. 2310–2321, 2013.

CORTESERO, M.; STAPEL, J. O.; LEWIS, W. J. Understanding and manipulating plant attributes to enhance biological control. **Biological Control**, Orlando, v. 17, n. 1, p. 35–49, 2000.

DEMÉTRIO, C.G.B.; HINDE, J. Half - normal plots and overdispersion. **The GLIM Newsletters**, Oxford, v. 27, p. 19–26, 1997.

DESNEUX, N.; LUNA, M.G.; GUILLEMAUD, T.; URBANEJA, A. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: The new threat to tomato world production. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 84, p. 403–408, 2011.

DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; WYCKHUYS, K.A.G.; BURGIO, G.; ARPAIA, S.; NARVÁEZ-VASQUEZ, C.A.; GONZÁLEZ-CABRERA, J.; RUESCAS, D.C.; TABONE, E.; FRANDON, J.; PIZZOL, J.; PONCET, C.; CABELLO, T.; URBANEJA, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, p. 197–215, 2010.

DIAS-PINI, N.S.; SILVA, C.S.B. da; PEÑAFLOR, M.F.G.V; PARRA, J.R.P. Does host determine short-range flight capacity of trichogrammatids? **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 138, p. 677–682, 2014.

ECONOMOU, L.P.; LYKOURESSIS, D.P.; BARBETAKI, A.E. Time allocation of activities of two heteropteran predators on the leaves of three tomato cultivars with variable glandular trichome density. **Environmental Entomology**, College Park, v. 35, n. 2, p. 387–393, 2006.

FARIA, C.A.; TORRES, J.B.; FERNANDES, A.M.V.; FARIAS, A.M.I. Parasitism of *Tuta absoluta* in tomato plants by *Trichogramma pretiosum* Riley in response to host density and plant structures. **Ciência Rural**, Santa María, v. 38, n. 6, p. 1504-1509, set. 2008

FREITAS, F.S.; TORRES, J.B.; PRATISSOLI, D.; FOSSE F. Controle, em epoca de maior ocorrência, da traça do tomateiro *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick, 1917) Por *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) E Cartap. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 41, n. 235, p. 244–253, 1994.

GEREMIAS, L.D. **Seleção de linhagens e efeito da temperatura e do alimento no desempenho de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) Lepidoptera: Crambidae) em milho**. 2008. 92 p.Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo,

Piracicaba, 2008.

GEREMIAS, L.D.; PARRA, J.R.P. Dispersal of *Trichogramma galloi* in corn for the control of *Diatraea saccharalis*. **Biocontrol Science and Technology**, London, v. 24, n. 7, p. 751–762, 2014

GILARDÓN, E.; POCOVI, M.; HERNÁNDEZ, C.; OLSEN, A. Papel dos tricomas glandulares da folha do tomateiro na oviposição de *Tuta absoluta*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasilia, v. 36, n. 3, p. 585–588, 2001.

GLAS, J.J.; SCHIMMEL, B.C.J.; ALBA, J.M.; ESCOBAR-BRAVO, R.; SCHUURINK, R.C.; KANT, M.R. Plant glandular trichomes as targets for breeding or engineering of resistance to herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 13, n. 12, p. 17077–17103, 2012.

GUEDES, R.N.C.; PICANÇO, M.C. The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance. **EPPO Bulletin**, Malden, v. 42, n. 2, p. 211–216, 2012.

HAJI, F.N.P.; FREIRE, L.C.L.; ROA, F.G.; SILVA, C.N. da; SOUZA JUNIOR, M.M.; SILVA, M.I. da. Manejo integrado de *Scrobipalpuloides absoluta* (Polvony) (Lepidoptera: Gelechiidae) no submédio São Francisco. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 587–591, 1995.

HANDLEY, R.; EKBOM, B.; ÅGREN, J. Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of *Arabidopsis thaliana*. **Ecological Entomology**, London, v. 30, n. 3, p. 284–292, 2005.

HARVEY, J.A.; HARVEY, I.F.; THOMPSON, D.J. The effect of host nutrition on growth and development of the parasitoid wasp *Venturia canescens.* **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 75, p. 213–220, 1995.

HASSAN, S.A. The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. **Pesticide Science**, Oxford, v. 37, p. 387–391, 1993.

HINDE, J.; DEMETRIO, C.G.B. Overdispersion: models and estimation. **Computational Statistics & Data Analysis**, Hinde, v. 27, p. 151–170, 1998.

HOFFMANN, M.P.; ODE, P.R.; WALKER, D.L.; GARDNER, J.; VAN NOUHUYS, S.; SHELTON, A.M. Performance of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on factitious hosts, including the target host, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Biological Control**, Orlando, v. 21, n. 1, p. 1–10, 2001.

INOUE, M.S.; PARRA, J.R.P. Efeito da temperatura no parasitismo de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 sobre ovos de *SItotroga cerealella* (Olivier,1819). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 1–7, 1998.

KANG, J.H.; SHI, F.; JONES, D.A.; MARKS, D.M.; HOWER, G.A. Distortion of trichome morphology by the hairless mutation of tomato affects leaf surface chemistry. **Journal of Experimental Botany**. Lancaster, v. 6, p. 1053-1064, 2010.

LEWIS, W.J.; GROSS JUNIOR, H.R.; PERKINS, W.D.; KNIPLING, E.F.; VOEGELÉ, J. Production and performance of *Trichogramma* reared on eggs of *Heliothis zea* and other hosts. **Environmental Entomology,** Lanham, v. 5, p. 449-452, 1976.

MANSFIELD, S.; MILLS, N.J. A comparison of methodologies for the assessment of host preference of the gregarious egg parasitoid *Trichogramma platneri.* **Biological Control**, Orlando, v. 29, p. 332–340, 2004.

MEDEIROS, M. A. De; SUJII, E. R.; RASI, G. C.; LIZ, R. S.; MORAIS, H. C. De. Padrão de oviposição e tabela de vida da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, p. 452–456, 2009.

MEYER, J.S.; INGERSOLL, C.G.; MCDONALD, L.L.; BOYCE, M.S. Estimating uncertainty in population growth rates : Jackknife vs . Bootstrap Techniques J. **Ecology**, Brooklyn, v. 67, n. 5, p. 1156–1166, 1986.

MEISSNER, R.; JACOBSON, Y.; MELAMED, S.; LEVYATUV, S.; SHALEV, G.; ASHRI, A.; ELKIND, Y.; LEVY, A. A new model system for tomato genetics. Plant Journal, Oxford, v.12, p. 1465-1472, 1997.

MIRANDA, M.M.; PICANÇO, M.C.; ZANÚNCIO, J.C.; GUEDES, R.N.C. Ecological life table of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae). **Biocontrol Science and Technology**, Oxford, v. 8, n. 4, p. 37–41, 1998.

MOLINA, R.M.S.; FRONZA, V.; PARRA, J.R.P. Seleção de *Trichogramma spp*., para o controle de E*cdytolopha aurantiana*, com base na biologia e exigências térmicas. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo v. 49, n. 1, p. 152–158, 2005.

NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society.** Series A, London, v. 135, n. 3, p. 370–384, 1972.

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

PARRA, J.R.P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: PANIZZI, A.; PARRA, J.R.P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos:** base para o manejo integrado de pragas. Brasilia: EMBRAPA; CNPq, 2009. cap. 3, p. 91–175.

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

PARRA, J.R.P.; COELHO JUNIOR, A.; GEREMIAS, L.D.; BERTIN, A.; JENSEN, C. **Criação de *Anagasta kuehniella*, em pequena escala, para produção de Trichogramma.** Piracicaba: Ocassio, 2014. 32 p.

PAVLÍK, J. The size of the female and quality assessment of mass-reared *Trichogramma spp*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 66, n. 2, p. 171–177, 1993.

PINTO, J. D. A Review of the New World Genera of Trichogrammatidae (Hymenoptera). **Journal of Hymenoptera Research**, Sofia, v. 15, p. 38–163, 2006.

PINTUREAU, B.; DAUMAL, J. Effects of diapause and host species on some morphometric characters in *Trichogramma* (Hym, Trichogrammatidae). **Experientia**, Basel, v. 51, n. 1, p. 67–72, 1995.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P. Fertility life table of *Trichogramma pretiosum* (Hym., Trichogrammatidae) in eggs of *Tuta absoluta* and *Phthorimaea operculella* (Lep., Gelechiidae) at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 124, n. 9/10, p. 339–342, 2000.

_____. Seleção de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle das traças *Tuta absoluta* (Meyrick) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina,v. 30, n. 2, p. 277–282, 2001.

PRATISSOLI, D.; THULER, R.T.; ANDRADE, G.S.; ZANOTTI, M.; SILVA, A.F. Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 40, n. 7, p. 715-718, 2005.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOVSKY, R.; DIAS, C.T.D.S.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.C.M. Teste de vôo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, p. 411–417, set. 2002.

QUERINO, R.; ZUCCHI, R.A. **Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil**. Brasilia: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. 103 p.

QUERINO, R. .; ZUCCHI, R.A.; PINTO, J.D. Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a focus on the genera attacking lepidoptera. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma**. New York: Springer, 2010. p. 191–218.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R version 3.2.3. Vienna, 2010, Disponivel em: <https://www.r-project.org/>. Acesso em: 20 dez. 2015.

ROITBERG, B.D.; BOIVIN, G.; VET, L.E.M. Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 133, p. 429–438, Dec.

2001.

ROMEIS, J.; BABENDREIER, D.; WÄCKERS, F.L.; SHANOWER, T.G. Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids: underlying mechanisms and implications. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 6, n. 3, p. 215–236, 2005.

ROMEIS, J.; SHANOWER, T.G.; ZEBITZ, C.P.W.; DIVISION, C.P. Acceptance and suitability of ultraviolet-irradiated *Helicoverpa armigera* (Hübner) eggs for *Trichogramma chilonis* Ishii. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 121, p. 441–446, 1997.

SÁ, N. de; PARRA, J.R.P. Biology and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trychogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and *Heliothis Zea* (Boddie) (Lep., Noctuidae) Eggs. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 118, p. 38–43, 1994.

SALT, G. Experimental studies in insect parasitism. VII. the effects of different hosts on the parasite *Trichogramma evanescens* Westw. (Hym. Chalcidoidea). **Proceedings of the Royal Societyof London.** Series A, London, v. 15, p. 81–95, 1940.

SIMMONS, A.T.; GURR, G.M. Trichomes *of Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. **Agricultural and Forest Entomology**, Malden, v. 7, n. 4, p. 265–276, Nov. 2005.

SPEIGHT, M.D.; MARTIN, H.; WATT, A. **Ecology of insects:** concepts and applications. 2nd ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2008. 90 p.

SPITZEN, J.; VAN HUIS, A. Effect of host quality of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) on performance of the egg parasitoid *Uscana lariophaga* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 95, n. 4, p. 341–347, 2005.

STEIN, C.P.; PARRA, J.R.P. Uso da radiação para inviabilizar os ovos de *Anagasta kuehniella* visando estudos com *Trichogramma Sp*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 6, n. 1, p. 229–231, 1987.

STYRSKY, J.D.; KAPLAN, I.; EUBANKS, M.D. Plant trichomes indirectly enhance tritrophic interactions involving a generalist predator, the red imported fire ant. **Biological Control**, Orlando, v. 36, n. 3, p. 375–384, 2006.

THOMPSON, S.N. Nutrition and culture of entomophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Standford, v. 44, p. 561–592, 1999.

TORRES, M.L.G. **Controle biológico de *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera : Tortricidae) com *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner , 1983**. 2005. 101 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

TREACY, M.F.; BENEDICT, J.H.; SEGERS, J.C.; MORRISON, R.K.; LOPEZ, J.D. role of cotton trichome density in bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg parasitism. **Environmental Entomology,** Lanham, v. 15, p. 365–368, 1986.

VASCONCELOS, G.R. **Seleção de linhagens e efeito do hospedeiro na qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para o controle de *Tuta absoluta (*Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro**. 2012. 77 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

VENDEMIATTI, E. **Compreendendo a via de desenvolvimento de tricoma glandular em tomateiro (*Solanum lycopersicum*) utilizando mutantes e variações genéticas naturais**. 2015. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fisiología e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

VINSON, B.S. Nutritional ecology of insect egg parasitoids. In: CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Egg parasitoids in agroecosystems with emphasis on Trichogramma**. 9th ed. New york: Springer, 2010. p. 25-57.

YANG, C.; LI, H.; ZHANG, J.; LUO, Z.; GONG, P.; ZHANG, C.; LI, J.; WANG, T.;ZHANG, Y.; LU, Y.; YE, Z. A regulatory gene induces trichome formation and embryo lethality in tomato. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 108, p. 11836-11841, 2011

ZACHRISSON, B.; PARRA, J.R.P. Capacidade de dispersão de *Trichogramma Pretiosum* Riley , 1879 para o controle de *Anticarsia*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, p. 3–8, 1998.